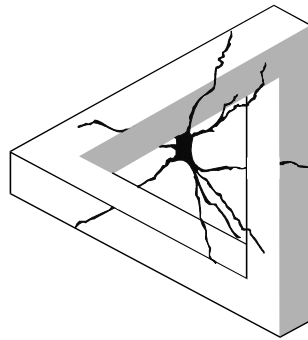


Sonderforschungsbereich 517

# **Neuronale Grundlagen kognitiver Leistungen**



**Arbeits- und Ergebnisbericht**

**1999 - 2001**

Universität Bremen

und

Carl von Ossietzky Universität Oldenburg

## **1. Allgemeiner Teil**

### **1.1 Vorbemerkung**

Wie im folgenden dargestellt, hat sich im Laufe der zweiten Förderperiode der SFB „Neurokognition“ inhaltlich und methodisch wesentlich verstärkt. Dies geschah zum einen durch eine größere Zahl von gezielten Neuberufungen (Neuschaffung von Hochschullehrerstellen, Stellenumwidmungen oder vorgezogenen Berufungen, insgesamt sieben) aufgrund der Empfehlungen der Gutachter des SFB, zum anderen durch die Neukonzeption von Teilprojekten und eine Intensivierung der Kooperation innerhalb des SFB. Die beteiligten Universitäten Bremen und Oldenburg und die beteiligten Wissenschaftsministerien haben die dem SFB zugute kommende Berufungspolitik konsequent unterstützt, insbesondere wenn es um interdisziplinär ausgerichtete Hochschullehrerstellen ging.

### **1.2 Wissenschaftliche Entwicklung des Sonderforschungsbereichs**

#### **1.2.1 Neuberufungen und Rufabwendungen**

Im Laufe der zweiten Förderperiode (1999 – 2001) hat es im Zusammenhang mit dem inhaltlichen und methodischen Ausbau des Sonderforschungsbereichs an den beteiligten Universitäten Bremen und Oldenburg eine Reihe von Neuberufungen gegeben.

##### *Universität Bremen:*

Die im Zusammenhang mit dem SFB im Studiengang Biologie neu geschaffene C4-Stelle für *Human-Neurobiologie* wurde im Frühjahr 1999 mit Prof. Dr. Manfred Fahle (zuvor Tübingen/London) besetzt. Prof. Fahle hatte bereits erfolgreich mit einem Antrag an der Begutachtung des SFB im Jahre 1998 teilgenommen (TP C 8).

Im Rahmen einer eingeworbenen Stiftungsprofessur konnte im Studiengang Biologie die Nachfolge von Prof. Flohr (Dienstende Februar 2001) vorzeitig besetzt werden, und zwar auf einer C4-Stelle für *Neuropharmakologie* zum 1. Februar 2000 mit Prof. Dr. Michael Koch (zuvor Tübingen). Der nachträglich gestellte SFB-Antrag von Prof. Koch wurde zum 1. Januar 2001 bewilligt (TP A11). Prof. Koch übernahm zum 1. März 2001 offiziell die Nachfolge von Prof. Flohr.

Im Jahre 2000 wurde im Studiengang Biologie eine befristete Hochschuldozentur (C2) für *Funktionelle Neuroanatomie* eingerichtet und zum 1. Oktober 2000 mit Frau PD Dr. Ursula Dicke besetzt. Frau Dr. Dicke gehört seit 1996 mit dem TP A4 dem SFB an.

Im Studiengang Psychologie wurde auf Empfehlung der Gutachter des SFB eine C3-Professur (mit der Möglichkeit zur Umwandlung in C4) für *Neuropsychologie* eingerichtet und zum 1. April 2001 mit Prof. Dr. Dr. Manfred Herrmann (zuvor Magdeburg) besetzt. Herr Prof. Herrmann nimmt am anstehenden Begutachtungsverfahren mit dem Antrag C7 teil.

*Universität Oldenburg:*

Im Studiengang Psychologie wurde auf Empfehlung der Gutachter des SFB eine C3-Stelle für *Neuropsychologie* eingerichtet und zum 1. September 1999 mit Prof. Dr. Mark Greenlee (zuvor Freiburg) besetzt. Der nachträglich gestellte SFB-Antrag von Prof. Greenlee wurde zum 1. März 2000 bewilligt (TP C 9).

Im Fachbereich Biologie, Geo- und Umweltwissenschaften wurde die frei gewordene C4-Stelle für Zoophysiologie zu *Zoophysiologie und Verhalten* umgewidmet und mit Prof. Dr. Georg Klump (zuvor München) besetzt. Prof. Klump wird seinen Dienst am 1. September 2001 antreten; er nimmt am anstehenden Begutachtungsverfahren des SFB teil (C 11 ). Ein weiteres von ihm geleitetes Projekt im Rahmen einer Forschergruppe wird dem SFB als assoziiertes Projekt angegliedert.

Im Fachbereich Physik wurde eine der freigewordenen Stellen der theoretischen Physik zu einer Professur für *Neurophysik* umgewidmet; der Ruf auf diese Stelle ist an Prof. Dr. L. van Hemmen (München) ergangen. Die Berufungsverhandlungen laufen noch; bei positivem Ausgang der Verhandlungen wird Herr van Hemmen einen Nachantrag stellen.

Mit diesen sieben Neuberufungen hat sich der SFB „Neurokognition“ seit der letzten Begutachtung in enger Anlehnung an die Empfehlungen der Gutachter deutlich verstärkt. Dies ist z.B. im Bereich „Neuropsychologie“ der Fall, wo je ein Fachvertreter in Bremen und in Oldenburg berufen wurde. Der inhaltliche Schwerpunkt der beiden Neuropsychologen liegt im Bereich der Erforschung höherer kognitiver Leistungen bei Gesunden und bei Patienten. Zusammen mit den ebenfalls neu berufenen Kollegen Prof. Fahle (Human-Neurobiologie) und Prof. Koch (Neuropharmakologie) wurde hierdurch auch die von den Gutachtern

geforderte Anbindung der Grundlagenforschung an die klinische Forschung verstärkt. In methodischer Hinsicht wurde durch die Berufung von Prof. Greenlee und Prof. Herrmann die Kompetenz des SFB auf dem Gebiet der funktionellen Bildgebung stark erweitert.

Prof. Dr. Dr. Kollmeier (TP C2) hat kürzlich zwei Rufe aus dem Ausland erhalten. Aufgrund gemeinsamer Anstrengungen der Universität Oldenburg und des Ministeriums für Wissenschaft und Kunst des Landes Niedersachsen und durch gezielte Unterstützung durch den SFB ist es gelungen, Herrn Kollegen Kollmeier in Oldenburg zu halten. Im Laufe dieser Verhandlungen ist es zur Einrichtung einer C3-Professur für „Sprache und Kommunikation“ gekommen. Bei der Besetzung dieser neuen Stelle werden die Interessen des SFB berücksichtigt werden.

Zugunsten der Stärkung der funktionellen Bildgebung im Bereich der Grundlagenforschung und der klinisch relevanten Forschung des SFB kam es zur Gründung des „Zentrums für Neurowissenschaften – ZeN“ als GmbH durch den vom Land Bremen getragenen „Verein zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung des Landes Bremen“. Dem ZeN gehören auch Experten für funktionelle Bildgebung der Universität Magdeburg an; der Direktor der dortigen Klinik für Neurologie II, Prof. Heinze, ist Geschäftsführer des ZeN. Das ZeN wird noch im Jahr 2001 einen 3-Tesla-Tomographen anschaffen, der auf dem Gelände der Universität Bremen in Gebäuden des Zentrums für Kognitionswissenschaften untergebracht werden wird und dann allen Mitgliedern des SFB zur Verfügung steht. Parallel hierzu wird die Universität Oldenburg zusammen mit dem Evangelischen Krankenhaus Oldenburg ein 1,5-Tesla-Gerät anschaffen, das ebenfalls Mitgliedern des SFB zur Verfügung steht. Die Volkswagen-Stiftung hat dafür bereits die beantragten Mittel zur Verfügung gestellt, mit der Inbetriebnahme ist zu Beginn 2002 zu rechnen.

Die Berufung des theoretischen Neurophysikers Prof. van Hemmen wird den Bereich der Neurotheorie stärken, ebenso die Übernahme der TP-Leitung durch Nachwuchswissenschaftler (B5, B7). Ein solcher Schritt ist notwendig durch das altersbedingte Ausscheiden von Prof. Schwegler, der bisher das TP B3 leitete.

Nicht gelungen ist uns trotz intensiver Bemühungen von Seiten der Universitätsleitungen und des SFB die Stärkung der Kognitionspsychologie innerhalb des SFB. Die Berufung eines Nachfolgers von Prof. Scheerer auf die Professur für Kognitionspsychologie an der

Universität Oldenburg wurde durch interne Auseinandersetzungen des Studiengangs Psychologie verzögert, was zur Folge hatte, dass die auf der Liste platzierten Bewerber in der Zwischenzeit andere Rufe angenommen hatten. Es besteht jedoch Hoffnung, durch die erfolgte Neuausschreibung dieser Stelle den Mangel beheben zu können. Auch im Studiengang Psychologie der Universität Bremen ließ sich bisher kein Kognitionspsychologe finden, der auf hohem wissenschaftlichen Niveau die SFB-Arbeit ergänzen könnte. Die Berufung der beiden Neuropsychologen in der Bremer und der Oldenburger Psychologie kann angesichts der noch immer herrschenden Spannungen zwischen einer neurowissenschaftlich und einer rein kognitionswissenschaftlich oder geisteswissenschaftlich orientierten Psychologie bereits als großer Erfolg gewertet werden.

### **1.2.2 Inhaltliche Weiterentwicklung des SFB**

Der SFB „Neurokognition“ hat sich die Untersuchung der Frage zum Ziel gesetzt, wie im Nervensystem von Wirbeltieren einschließlich des Menschen kognitive Leistungen zustande kommen. Dieses Ziel sollte und soll in enger Zusammenarbeit zwischen zellulär und systemisch orientierten Neurobiologen, theoretischen Neurobiologen, Psychophysikern, kognitiven Psychologen, Neuropsychologen und Neurologen verfolgt werden. Inhaltlich standen dabei drei Teilprozesse im Vordergrund, die für kognitive Leistungen besonders wichtig sind: (1) Interne Repräsentation von externen Geschehnissen; (2) Integration und Bewertung sensorischer Information; (3) Erzeugung von Bedeutung im Kontext lebens- und überlebensrelevanten Verhaltens. Diese Ziele können in unseren Augen nur durch drei Arten von „Brückenschlägen“ verwirklicht werden, nämlich (1) den Brückenschlag zwischen experimentell und theoretisch arbeitenden Projekten; (2) den Brückenschlag zwischen der molekular-zellulären Ebene, der systemischen Ebene und der Verhaltensebene; und (3) den Brückenschlag zwischen tierexperimentell und humanexperimentell arbeitenden Projekten.

Den erstgenannten Brückenschlag betreiben wir seit vielen Jahren erfolgreich, z.B. was die Zusammenarbeit zwischen den TP A4 (Dr. Dicke), A5 (Prof. Roth) und A7 (Prof. Kreiter) mit den Neurotheoretikern Prof. Schwegler/Dr. Eurich (B3) und Prof. Pawelzik/Dr. Ernst (B5) angeht. Hier ist es zu umfangreichen Modellierungen und Simulationen des visuellen Systems von Amphibien („Simulander-Projekt“) bzw. Makaken gekommen. Eine ähnlich intensive Zusammenarbeit hat sich zwischen Humanexperimentatoren (z.B. TP C2, C8 und C9) und Theoretikern ergeben. Durch die Berufung von Prof. van Hemmen an die Universität

Oldenburg und neue Teilprojekte im SFB (z.B. B7) wird sich die experimentell-theoretische Kooperation noch verstärken.

Der zweite Brückenschlag ist konzeptuell, methodisch und inhaltlich besonders schwierig. Hier hat der SFB besondere Anstrengungen unternommen, in den tierexperimentellen Teilprojekten mindestens auf zwei und möglichst auf allen drei Ebenen (zellulär-molekular, systemisch, verhaltensbiologisch) zu forschen. Dies ist in den Teilprojekten A2 (Prof. Weiler), A4 (Dr. Dicke), A5 (Prof. Roth), A7 (Prof. Kreiter), A8 (Prof. Leibfritz/Prof. Roth), A11 (Prof. Koch) und zukünftig auch in C11 (Prof. Klump) der Fall. So wurden zum Beispiel im TP A2 gentechnologische Methoden eingesetzt, um gezielt in die sensorische Verarbeitung einzugreifen und damit die auf der Basis von erarbeiteten, neuroanatomischen Daten aufgestellten Hypothesen elektrophysiologisch zu überprüfen. Außerdem wurden in den genannten Projekten elektrophysiologische und neuroanatomisch-(immun)-cytochemische Untersuchungen auf Einzelzellebene bzw. auf der Ebene von Synapsen mit Multizell-Ableitungen, Untersuchungen der Aktivität von Kerngebieten mithilfe der funktionellen Kernspintomographie und –spektroskopie sowie deren neuropharmakologischer Beeinflussung kombiniert. Diese werden schließlich durch verhaltensbiologische Untersuchungen (visuelle Objektwahrnehmung bei Amphibien, Furchtkonditionierung bei Amphibien und Ratten, Aufmerksamkeitsleistungen bei Makaken, Gedächtnis- und Lernleistungen, auditorische Leistungen bei Ratten und Mäusen) ergänzt.

Eine besondere Bedeutung kommt hierbei dem Einsatz neuropharmakologischer Methoden (TP A4, A11), Ableitungen am freibeweglichen bzw. wachen Tier (TP A7, A8) und dem Einsatz kernspintomographischer und –spektroskopischer Methoden im Tierexperiment (TP A8) zu. Auch die Weiterentwicklung von in-vitro-Untersuchungen am Ganzhirnpräparat (z.B. bei Amphibien) ist geeignet, den schwierigen Brückenschlag zwischen der zellulär-subzellulären und systemischen Ebene zu erleichtern (TP A5). Der geglückte Brückenschlag im SFB zwischen molekular-zellulärer und systemischer Ebene wird auch darin deutlich, dass durch die Einbeziehung beider Ebenen zum ersten Mal der Nachweis einer ephaptischen Kommunikation zwischen Neuronen nachgewiesen werden konnte und damit theoretische Überlegungen aus der Neurophysik experimentell bestätigt wurden. Wie im Nachfolgenden berichtet, laufen in unserem SFB zur Zeit intensive Kooperationen zwischen den TPs, um den „zweiten“ Brückenschlag weiter voran zu treiben.

Der dritte Brückenschlag, nämlich der zwischen tierexperimentell und humanexperimentell arbeitenden Forschungsprojekten, ist überall in der neurokognitiven Forschung ein großes Desiderat. Es erfordert zum einen den Nachweis dafür, dass sich bestimmte kognitive Leistungen des Menschen und von Tieren nur graduell unterscheiden (was von vielen Humanexperimentatoren und Psychologen immer noch nicht voll akzeptiert wird), und ebenso den Nachweis, dass dies für kognitive Leistungen so genannter „niederer“ und „höherer“ Wirbeltiere gilt. Diese Bemühungen stehen im Zentrum unserer Arbeit. Wir haben den humanexperimentellen Teil des SFB durch gezielte Berufungen der Kollegen Prof. Fahle, Prof. Greenlee und Prof. Herrmann und die Förderung einschlägiger Nachwuchswissenschaftler (z.B. Dr. Dau und Dr. Herzog) deutlich gestärkt. Human-Psychophysik und Neuropsychologie, die zuvor defizitär waren, sind dadurch zu einem wichtigen Bestandteil des SFB geworden. Die genannten Kollegen haben inzwischen intensive Kontakte zu tierexperimentell arbeitenden Kollegen (z.B. Prof. Kreiter, Dr. Freiwald, Prof. Leibfritz, Dr. Meier, Prof. Koch) aufgenommen, um elektrophysiologische, psychophysische und bildgebende Methoden (fMRI) zu entwickeln, die sowohl im Tierexperiment als auch im Humanexperiment eingesetzt werden können.

Durch Stärkung des humanexperimentellen Teils wurde auch die von den Gutachtern gewünschte Verstärkung des klinisch-neuropsychologischen Teils erreicht. Alle drei Neuberufenen, nämlich Prof. Fahle (Neuroophthalmologie, Psychophysik), Prof. Greenlee (Neuropsychologie) und Prof. Herrmann (Neurologie, Neuropsychologie), arbeiten gleichzeitig grundlagenwissenschaftlich mit gesunden Versuchspersonen und mit neuropsychologischen und neurologischen Patienten (TP C7/C8, C9, C10). Eine enge Kooperation gibt es zwischen den drei genannten Forschern und dem Leiter der Neurologie im Zentralkrankenhaus Bremen-Ost, Prof. Schwendemann.

Im Verlauf der letzten Berichtsperiode hat sich am Standort Oldenburg eine – seinerzeit von den Gutachtern angemahnte – intensive wissenschaftliche Kooperation der visuellen Projekte (A2, C9) mit den akustischen Projekten (C1, C2, C3) ergeben. Dabei standen vor allem Fragen nach gemeinsamen Prinzipien der Objektbildung in den beiden sensorischen Systemen im Zentrum. Diese gemeinsamen Anstrengungen führten schließlich zur Antragstellung für ein Europäisches Graduiertenkolleg „Neurosensorik“, welches von der DFG bewilligt wurde und insofern ein sichtbares Zeichen der erfolgten Kooperation innerhalb des SFB darstellt. Eine verstärkte Kooperation hat sich auch standortübergreifend zwischen den TP C1 und C2

einerseits und den Bremer Theorie-Projekten B3 (Schwegler/Eurich) und B5 (Pawelzik) sowie dem C10-Projekt (Fahle) ergeben (s. Kooperationen).

Durch die Gründung des „Zentrums für Neurowissenschaften – ZeN“ ist eine engere Zusammenarbeit mit den Magdeburger Neurologie- und Neurobiologie-Arbeitsgruppe auf dem Gebiet der bildgebenden Verfahren entstanden. Magdeburg, Bremen und Oldenburg haben im Juni beim BMBF einen Antrag auf Förderung des gemeinsamen „Center for Advanced Imaging – CAI“ gestellt, in dem eine gemeinsame Nutzung aller in Magdeburg, Bremen und Oldenburg schon jetzt bzw. in Kürze vorhandenen bildgebenden Geräte möglich ist. Dies sind zwei 4,7-Tesla-Tierscanner, drei 1,5-Tesla-Ganzkörpertomographen, zwei 3-Tesla-MR-Tomographen und – aller Voraussicht nach – ein 7-Tesla-Tomograph sowie ein MEG.

Zur Stärkung der konzeptuellen Arbeit, insbesondere hinsichtlich der für unsere Arbeit grundlegenden Begriffe *interne Repräsentation*, *Aufmerksamkeit* und *Bedeutung*, der Frage nach dem Zusammenhang von kognitiven und exekutiven Hirnfunktionen und allgemeineren neurokognitiven Fragen fanden in Zusammenarbeit zwischen dem SFB und dem Hanse-Wissenschaftskolleg eine Reihe von Tagungen unter Beteiligung international führender experimenteller und theoretischer Wissenschaftler statt. Genannt seien hier stellvertretend „Executive Control and the Coordination of Elementary Processes and Tasks“ (März 1999), "Aspects of Neural Coding" (März 1999), "Voluntary Action: Theoretical Reconstructions of Volition and Action in the Neurosciences, Behavioral, Cognitive, and Social Sciences, Philosophy, and Law" (März 2000), "Mirror Neurons and the Evolution of Brain and Language" (Juli 2000) und "Foundations of Human Knowledge Acquisition: New Evidence from Infant Research and Neuroscience" (Juni 2001). Im Mai 2002 wird ein von Prof. Fahle organisierter Workshop „From Sensory Perception to Emotion“ stattfinden.

Zum Thema „Bedeutungsentstehung im Gehirn“ fanden im Jahr 1999 im Hanse-Wissenschaftskolleg und im Jahre 2000 auf der Insel Borkum zwei SFB-interne Workshops statt. Im Jahre 2000 fand überdies auf der Nordseeinsel Langeoog ein SFB-interner Workshop „Theoretische Neurophysik“ statt. Die begrifflich-theoretische Arbeit des SFB befasste sich innerhalb und außerhalb der genannten Workshops insbesondere mit dem Zusammenhang zwischen den Phänomenen *Aufmerksamkeit* und *Bewertung* sowie mit der Frage nach der „Natur“ (bzw. den „Naturen“) des neuronalen Codes. Die Diskussionen zu den beiden



Begriffen bzw. Phänomenen *Aufmerksamkeit* und *Bewertung* und deren engen inneren Zusammenhang veranlassten uns, die inhaltliche Arbeit des SFB deutlicher als bisher zu konzentrieren. Dies führte dazu, dass im vorgelegten Verlängerungsantrag elf der experimentellen Teilprojekte (Aufmerksamkeit: A4, A7, C1, C2, C7, C8, C9 und C10; Bewertung: A5, A8, A11) und alle drei theoretischen Teilprojekte (B5, B6 und B7) explizit mit diesen beiden Phänomenen befasst sind. Die übrigen beiden Teilprojekte befassen sich mit neurosensorischen Selektionsvorgängen, die bei der Steuerung von Aufmerksamkeit eine bedeutsame Rolle spielen.

### **1.3 Entwicklung der Kooperation im Sonderforschungsbereich**

Aufgrund der thematischen und methodischen Konsolidierung und Vereinheitlichung innerhalb des SFB im Zuge der Verlängerung und seither hinzugekommener neuer Teilprojekte (s. 1.2) hat sich die Kooperation zwischen den Teilprojekten deutlich erhöht.

Einige Teilprojekte sind in sich interdisziplinär angelegt, so das TP A2 (Prof. Weiler), in dem eine Vielzahl von subzellulären, zellulären und systemischen Methoden kombiniert wird, das TP A10 zwischen Prof. Roth und Prof. Schwegler, in dem es um Experimente zur Objektwahrnehmung bei Amphibien und der Modellierung der Resultate geht („Simulander“), und im TP A8 (Leibfritz/Roth/Meier), in dem funktionelle Bildgebung und elektrophysiologische Ableitungen am sich verhaltenden Tier kombiniert werden. In unserem Verlängerungsantrag für die Förderperiode 2002 – 2004 ist die Zahl solcher „Kombinations-Teilprojekte“ weiter erhöht (s. die neuen TP B7, C8 und C10).

Darüber hinaus ergab sich bereits eine enge Kooperation zwischen den TP A2 (Prof. Weiler, A4 (PD Dr. Dicke), A5 (Prof. Roth) und dem kürzlich neu aufgenommenen TP A11 (Prof. Koch), und zwar sowohl in inhaltlicher Hinsicht (Furchtkonditionierung bei Amphibien bzw. Ratten) als auch in methodischer Hinsicht (Immunhistochemie von Neuromodulatoren und Neuropeptiden, v.a. von Dopamin). Eine Reihe von größeren Laborgeräten werden von den TPs gemeinsam genutzt.

Eine intensive Zusammenarbeit ergab sich zwischen dem TP A7 (Prof. Kreiter), dem TP A8 (Prof. Leibfritz/Prof. Roth) und dem TP C9 (Prof. Greenlee). Zum einen wurden mithilfe des in der AG von Prof. Leibfritz vorhandenen 4,7-Tesla-Kernspintomographen von einzelnen

Makakenaffen individuelle Hirnatlanten erstellt, die für die in TP A7 durchgeführten elektrophysiologischen Untersuchungen am wachen Makakenaffen von großem Vorteil sind. Zum anderen haben Dr. Freiwald und Dr. Meier gemeinsam an technischen Verbesserungen akuter und chronischer Mehrkanalableitungen am Rattengehirn gearbeitet. Beide Kooperationen sollen in der dritten Förderperiode fortgesetzt werden. Gleiches gilt für den begonnenen methodischen Austausch im Bereich der Elektrophysiologie und Auswertetechnik zwischen den Teilprojekten von Prof. Weiler, Dr. Dicke, Prof. Roth und Dr. Freiwald.

Dr. Freiwald vom TP A7 (Prof. Kreiter) beteiligte sich am Aufbau eines gemeinsamen elektrophysiologischen Messplatzes im TP A11 (Prof. Koch). Geplant sind Untersuchungen von neuronalen Oszillationen im Cortex von Ratten, bzw. deren Störungen, die zur Entwicklung eines Tiermodells für bestimmte Aspekte der Schizophrenie dienen sollen. In diesem Zusammenhang, insbesondere in Hinsicht auf die Modellierung präfrontaler Störungen, ist auch eine Kooperation mit dem TP C8 (Dr. Herzog, bisher Prof. Fahle) vorgesehen.

Ebenfalls im Bereich der Schizophrenieforschung existieren Kooperationen der Teilprojekte A11 (Koch) und C8 (Fahle/Herzog) mit OA Dr. A. Brand und Mitarbeitern des Krankenhauses Bremen Ost. Im Teilprojekt A11 werden Verarbeitungsdefizite schizophrener Patienten mit Hilfe der Prä-Puls-Inhibition untersucht, während im Teilprojekt C8 Rückwärtsmaskierung eingesetzt wird. In der kommenden Antragsperiode soll die Zusammenarbeit zwischen den Projekten A11 und C8 intensiviert werden; speziell ist geplant, dieselbe Gruppe von Patienten mit beiden Methoden zu untersuchen.

Durch die Berufung von Prof. Greenlee auf eine Professur für Neuropsychologie an der Universität Oldenburg und die Aufnahme in den SFB (TP C9) haben sich die vorhandenen Aktivitäten auf dem Gebiet der funktionellen Bildgebung (fMRI) in Kooperation zwischen TP A8 (Prof. Leibfritz/Prof. Roth), TP C8 (neu C10; Prof. Fahle) und Prof. Terwey (Institut für Magnetresonanzdiagnostik, angegliedert an das Bremer Zentralkrankenhaus St. Jürgenstraße) verstärkt. Eine weitere Verstärkung erhalten diese Kooperationen durch die Berufung von Prof. Herrmann auf eine Professur für Neuropsychologie an der Universität Bremen. Im Laufe der nächsten Monate kommt es zur Anschaffung zweier bereits genehmigter fMRI-tauglicher MR-Geräte, und zwar eines 3-Tesla-Tomographen in Bremen und eines 1,5-Tesla-

Ganzkörpergerätes in Oldenburg, die beide die vorhandenen Ressourcen (ein 4,7-Tesla-Gerät für Versuchstiere bis zur Größe von Makaken und ein 1,5-Tesla-Gerät bei Prof. Terwey) ergänzen. Die Bildgebungsaktivitäten innerhalb des SFB wurden im übrigen durch die Gründung des „Zentrums für Neurowissenschaften ZeN“ als GmbH des Landes Bremen mit Sitz auf dem Bremer Universitätsgelände gebündelt.

Kooperationsgespräche wurden zwischen den TP A7 (Prof. Kreiter), C8 (Prof. Fahle), C9 (Prof. Greenlee) und C7 (Prof. Herrmann – Neuantrag) geführt mit dem Ziel einer engen Parallelität von elektrophysiologischen Versuchen am wachen Affen, psychophysischen Versuchen am Menschen und Experimenten mit fMRI am Menschen (s. unten) und am wachen Affen. Bei der kürzlich begonnenen Zusammenarbeit zwischen TP A8 (Prof. Leibfritz/Prof. Roth) und dem TP C9 (Prof. Greenlee) geht es um die Anpassung von Paradigmen (Augenbewegungsmessungen, Response-box, Event-related Design) und zusätzlichen Messgeräten an das neue 3-T-Gerät.

Die TP C9 (Prof. Greenlee) und C7 (Prof. Herrmann) haben eine Kooperation entwickelt, in der es um die Untersuchungen exekutiver Funktionen (Arbeitsgedächtnis, Antworthemmung und Handlungsplanung) mithilfe der funktionellen MR-Bildgebung geht. In einer Zusammenarbeit mit TP C9 und TP C8 geht es um einen Vergleich zwischen „prozeduralem“ und „sensorischem Lernen“, insbesondere in Hinblick auf fMRI-Untersuchungen. In der Kooperation von TP C9 mit TP C10 (Fahle) geht es um die Analyse höherer visueller Leistungen (Formerkennung durch Bewegungsinformation - form-from-motion), fMRI und Psychophysik.

Im Bereich der zeitlichen Verarbeitung visueller und auditorischer Reize haben sich in der letzten Antragsperiode Kooperationen zwischen den Teilprojekten B3 (Schwegler/Eurich), B5 (Pawelzik/Ernst), C1 (Mellert/Dau), C2 (Kollmeier), und C8 (Fahle/Herzog) ergeben. Mit Hilfe von Differentialgleichungen ist es in den Teilprojekten B3 und B5 gelungen, den im Projekt C8 entdeckten Durchscheineffekt zu modellieren, der Implikationen für eine Vielzahl von Themen wie Aufmerksamkeit und Merkmalsbindung zulässt (hierzu liegen bereits zwei Konferenzbeiträge vor). Diese Kooperationen sollen in der nächsten Antragsperiode in den Teilprojekten B5 (Ernst/Pawelzik), B7 (Eurich/Freiwald), C8 (Herzog) und C10 (Fahle) fortgesetzt werden. Intensive Diskussionen haben zwischen den Projekten C1, C2 und C8 über Parallelen zwischen visueller und auditorischer Maskierung stattgefunden.

Für die nächste Antragsperiode sind dazu gemeinsame Projekte geplant (siehe dazu besonders Antrag C2).

Einen besonderen Durchbruch in der Kooperation zwischen Experimentatoren und Theoretikern aus den Teilprojekten A4 (PD Dr. Dicke), A5 (Prof. Roth), A7 (Prof. Kreiter), B3 (Prof. Schwegler/Dr. Eurich), C8 (Prof. Fahle/neu Dr. Herzog) und in der Kooperation zwischen Dr. Eurich, Dr. Freiwald und Dr. Ernst (neu beantragte Teilprojekte B5, B7) hat es hinsichtlich der Anwendung neuer Auswertemethoden gegeben. Hier ist insbesondere die statistische Schätztheorie zur Quantifizierung der Kodierungseigenschaften neuronaler Systeme zu nennen; sie schlägt eine Brücke zwischen der neuronalen und der Verhaltensebene und ist gerade im Hinblick auf kognitive Leistungen von Interesse. Bezüglich dieses Themas hat es regelmäßige Treffen der Teilprojektleiter und deren Mitarbeiter sowie intensive Beratungs- und Diskussionsrunden gegeben. Die verstärkte Anwendung des schätztheoretischen Ansatzes wird ein wesentlicher Punkt der Kooperation in der nächsten Förderperiode sein. Seit 1999 findet regelmäßig ein von Prof. Kreiter und Prof. Pawelzik geleitetes interdisziplinäres Hauptseminar „Theoretische Neurowissenschaften“ statt.

Die erwähnten Kooperationen zeigen, dass sich eine intensive Verknüpfung zwischen Teilprojekten innerhalb der drei Projektbereiche, zwischen den drei Projektbereichen sowie zwischen Experimentatoren und Theoretikern als auch – was innovativ ist – zwischen tierexperimentell und humanexperimentell arbeitenden Projekten entwickelt hat. In der Intensität der Zusammenarbeit auf diesen verschiedenen Ebenen ist unser SFB sicherlich vorbildlich.

Dem SFB werden zwei von der DFG bereits bewilligte Projekte, deren Themenkomplexe dem Forschungsziel des SFB nahe stehen, assoziiert werden. Bei den Projekten handelt es sich um das Projekt "Beeinflussung der Aktivität retinaler Ganglienzellpopulationen durch identifizierte Amakrinzellen während Phasen simulierter Augenbewegungen" von apl. Prof. Dr. J. Ammermüller und um das Projekt "Verarbeitung zeitlich korrelierter Signalvariationen und die Bildung von Hörobjekten" von Prof. Dr. G. Klump.

#### **1.4 Stellung innerhalb der Hochschulen**

Wie unter 1.2.1 bereits berichtet, haben die beteiligten Universitäten Bremen und Oldenburg durch insgesamt 7 Berufungen bzw. Stellenbesetzungen die Empfehlungen der Gutachter umgesetzt. Die Forschung an beiden Standorten im Bereich der kognitiven Neurowissenschaften wurde zudem durch die Gründung des „Zentrums für Neurowissenschaften – ZeN“ (Bildgebungszentrum) als GmbH durch das Bundesland Bremen und durch die Gründung des „Zentrums Neurosensorik“ an der Universität Oldenburg nachhaltig gestärkt. Am ZeN sind Arbeitsgruppen der Universitäten Bremen, Magdeburg und Oldenburg sowie das Hanse-Wissenschaftskolleg Delmenhorst beteiligt. Es hat seinen Schwerpunkt in der funktionellen Bildgebung. Im Rahmen dieses Zentrums wird es zur Anschaffung eines 3-Tesla-Kernspin-Tomographen in Bremen und eines 1,5-Tesla-Kernspin-Tomographen in Oldenburg kommen. Das 3-T-Gerät in Bremen wird ausschließlich Forschungszwecken dienen und auf dem Universitätsgelände aufgestellt sein. Das 1,5-T-Gerät in Oldenburg, für welches die Gelder mittlerweile bewilligt sind, wird gemeinsam mit dem Evangelischen Krankenhaus Oldenburg angeschafft und dient sowohl der Patientenbetreuung wie der Forschung.

Das Oldenburger „Zentrum Neurosensorik“ versteht sich als Dachorganisation der wissenschaftlichen Aktivitäten im Bereich Neurosensorik. Es umfasst neben den rein grundlagenorientierten Bereichen auch solche der anwendungsorientierten Forschung und Bereiche der direkten wirtschaftlichen Umsetzung und der klinischen Medizin. Durch diese Maßnahmen ist der Sonderforschungsbereich „Neurokognition“ zu einer wissenschaftlich führenden Einrichtung im Nordwesten Deutschlands geworden.

#### **1.5 Förderung der Lehre und des wissenschaftlichen Nachwuchses**

Seit dem Jahre 1998 wird an der Universität Bremen das Hauptstudium Neurowissenschaften durchgeführt, an dem die Disziplinen Neurobiologie, Neuropsychologie, Kognitionspsychologie, Neurophysik/Theoretische Physik, Informatik und Philosophie beteiligt sind. Getragen wird dieses Hauptstudium von Hochschullehrern, die dem SFB angehören (PD Dr. Dicke, Prof. Fahle, Prof. Koch, Prof. Kreiter und Prof. Roth). An diesem Hauptstudium sind neben Bremer Hochschullehrern aus den Studiengängen Psychologie,

Physik, Informatik und Philosophie auch Hochschullehrer aus Oldenburg beteiligt, die dem SFB angehören, z.B. Prof. Weiler und Prof. Greenlee.

Aufbauend auf der erfolgreichen Zusammenarbeit im SFB haben einige Gruppen aus Oldenburg gemeinsam mit Kollegen von der Universität Groningen ein Europäisches Graduiertenkolleg „Neurosensorik“ bei der DFG beantragt, welches bewilligt und 1999 eingerichtet wurde. Mittlerweile hat sich ein sehr reger Austausch zwischen den Stipendiaten ergeben, der geprägt ist durch eine Reihe von gemeinsamen Veranstaltungen (Seminare, Laborbesuche, Summer Schools). Die Doktoranden des SFB in Oldenburg sind alle assoziierte Mitglieder dieses Graduiertenkollegs und nehmen entsprechend an den Veranstaltungen teil.

Gemeinsam mit der Mathematik haben die Neurobiologen aus Oldenburg einen Antrag im Rahmen der Innovationsoffensive des Landes Niedersachsen auf Einrichtung eines Promotionsstudiengangs „Neurobiologie: Experiment und Mathematik“ gestellt, der sich gegenwärtig in der Begutachtung befindet. Dieser Promotionsstudiengang soll einerseits für auswärtige Studierende angeboten werden und ebenso einen Anschluss für Studierende des neu eingerichteten Studiengangs „Biomathematik“ an der Universität Oldenburg bieten und damit den Standort weiterhin attraktiv für Promovenden machen.

Die Volkswagenstiftung hat soeben eine Nachwuchsforschergruppe im Bereich Neurobiologie bewilligt. Diese Forschergruppe wird von Herrn Dr. H. Mouritzen (gegenwärtig Kanada) geleitet werden und auf dem Gebiet der „Animal Navigation“ arbeiten. Eine wesentliche Voraussetzung für die Entscheidung waren die Kooperationsmöglichkeiten sowohl im methodischen wie im theoretischen Bereich mit dem bestehenden SFB.

**Teilprojekt A 2**

**Neuronale Kodierungsprozesse und synaptische Plastizität  
in den plexiformen Schichten der Retina**

**Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Reto Weiler

AG Neurobiologie  
Universität Oldenburg, FB 7  
Postfach 25 03  
26111 Oldenburg

## **1. Einleitung**

Die Leistungen des visuellen Systems sind in einem erstaunlichen Maße unabhängig von den vorherrschenden Lichtverhältnissen, erstaunlich deshalb, weil der Gesamtintensitätsbereich wiederum außerordentlich groß ist und mehrere Zehnerpotenzen umspannt. Zum einen stellt sich die Frage, wie ein solcher Intensitätsbereich überhaupt erreicht wird bei der typischen Bandbreite von nur zwei bis drei Zehnerpotenzen einzelner Neurone, zum anderen stellt sich die Frage, wie bei diesem großen Intensitätsbereich die psychophysisch feststellbare Konstanz der visuellen Wahrnehmung neuronal erreicht wird. Die dabei beteiligten neuronalen Prozesse können gesamthaft als neuronale Adaptation beschrieben werden, und viele der Prozesse sind bereits in der Retina lokalisiert oder nehmen dort mindestens ihren Anfang. Die Analyse dieser neuronalen Adaptation ist längerfristiges Ziel dieses Projektes.

Alle bisherigen Analysen haben gezeigt, daß dabei insbesondere die laterale Verarbeitung in den beiden synaptischen Schichten der Retina eine bedeutende Rolle spielt. Diese schließt insbesondere Horizontalzellen und Amakrinzellen mit ein. Die dendritische Verarbeitung dieser Neurone im Zusammenhang mit neuronalen Adaptationsprozessen ist deshalb Forschungsgegenstand dieses Projektes. Dabei standen gemäß Forschungsprogramm für den Berichtszeitraum zum einen synaptische Interaktionen und synaptische Plastizität des Photorezeptor-Horizontalzellkomplexes und zum anderen die Rolle von AII-Amakrinzellen als Umschaltneurone zwischen hell- und dunkeladaptierter Retina im Mittelpunkt der Forschungsarbeiten.

Die Basis der Kontrast- und Farbwahrnehmung bilden synaptische Interaktionen in der äußeren plexiformen Schicht der Retina, in deren Zentrum eine negative Rückkopplung der Horizontalzellen auf die Photorezeptoren steht. Der Synapsenkomplex, innerhalb dessen diese Interaktionen ablaufen, weist eine sehr auffällige Morphologie auf, die in allen Vertebratenretinen konserviert ist, was ein Hinweis auf die Allgemeingültigkeit der darin ablaufenden Prozesse sein kann. Charakteristisches Merkmal des Synapsenkomplexes ist die präsynaptische Ribbon-Struktur in der Photorezeptorendigung. Diese Struktur ist der wahrscheinliche Ort der Neurotransmitterfreisetzung durch die Photorezeptoren. Sie wird flankiert von den in die Photorezeptorendigung invaginierenden dendritischen Fortsätze der Horizontalzellen und der Bipolarzellen. Die letzteren machen zudem auch nicht-invaginierende oder basale Kontakte mit der Photorezeptorendigung (Dowling, 1987). Für unser Projekt von Bedeutung waren eine Reihe von Arbeiten, die die Verteilung der



verschiedenen Subtypen von Glutamatrezeptoren innerhalb dieses Komplexes untersucht hatten. Das Bild, welches sich dabei ergab, war ein sehr differenziertes und ließ darauf schließen, daß es in diesem Synapsenkomplex bereits zu einer Parallelität der Verarbeitung des durch die Photorezeptoren generierten Signals kommt (Brandstätter et al., 1998). Offenbar zweigt sich dieses Signal schon in der ersten Synapse des visuellen Systems in mehrere Kanäle auf, die im folgenden verschiedene Teilaspekte der visuellen Welt signalisieren. Die bis dahin geltende Vorstellung, daß es in der äußeren plexiformen Schicht zu einer einfachen Aufteilung in einen ON- und einen OFF-Kanal kommt, muß deshalb erheblich erweitert werden. Noch ist nicht ganz deutlich, bis zu welcher Tiefe die Segregation letztendlich führt, mit Sicherheit ist davon der zeitliche und räumliche Aspekt betroffen. Zudem gibt es Hinweise, daß auch die für die Farbwahrnehmung notwendige „Color Opponency“ bereits in der äußeren plexiformen Schicht als Resultat der Beteiligung verschiedener Glutamatrezeptoren entsteht (Calkins and Sterling, 1999). Unterschiedliche Glutamatrezeptoren sind aber auch verantwortlich für plastische Prozesse, wie eine Fülle von Arbeiten zur Generierung von LTP und LTD zeigen (Sorra and Harris, 2000). In diesem Zusammenhang ist die Assoziierung von Glutamatrezeptoren mit kalziumbindenden Proteinen von großer Bedeutung, da Kalzium in den meisten Fällen die Rolle des Messengers übernimmt (Kondo et al., 1997). Kalzium steuert auch die Retraktion von Spinules, spine-ähnlichen Strukturen der Horizontalzeldendriten (Weiler and Schultz, 1993; Weiler et al., 1996), und die Aufklärung der daran beteiligten Glutamatrezeptoren und kalziumbindenden Proteinen war deshalb auch Gegenstand der vergangenen Projektperiode.

Zentraler Schaltkreis innerhalb des Photorezeptor-Horizontalzell-Komplexes ist eine negative Rückkopplung von den Horizontalzellen auf die Photorezeptoren. Seit ihrer Entdeckung in den 70er Jahren durch Baylor und Fuortes (Baylor et al., 1971) sind eine große Zahl von Arbeiten zu diesem Schaltkreis, seinen molekularen Komponenten und seiner Funktion entstanden (Übersicht: Kamermans and Spekreijse, 1999). Er gehört damit sicher zu einem der best untersuchten Schaltkreise, doch trotz aller Anstrengungen war es bisher nicht möglich gewesen, den Neurotransmitter der Rückwärts-Hemmung und die entsprechenden Rezeptoren auf der Photorezeptor-Seite zu identifizieren. Im Rahmen unserer Arbeiten zur Identifikation verschiedener Rezeptoren und Kanäle innerhalb des Synapsenkomplexes haben wir deshalb auch diesen Aspekt näher untersucht und dabei eine sehr überraschende Entdeckung gemacht.

Die Funktionsmorphologie der inneren Retina ist von einigen Arten sehr gut beschrieben, über die synaptischen Interaktionen innerhalb der inneren synaptischen Schicht ist jedoch vergleichsweise wenig bekannt. So beruhen viele der funktionellen Aussagen auf anatomischen Daten und entsprechenden Rückschlüssen von Einzelzellableitungen, ohne daß die deduzierten synaptischen Interaktionen direkt nachgewiesen wären. Wir hatten uns deshalb vorgenommen, die Methode des Calcium-Imaging so weit zu entwickeln, daß sie für eine gleichzeitige Registrierung der Aktivität einer Reihe von Zellen, die innerhalb der inneren plexiformen Schicht interagieren, anwendbar ist. Wir wurden in diesem Ansatz bestärkt durch eine Arbeit über die Retina, die nach Beginn unseres Projektes in PNAS erschien (Denk and Detwiler, 1999) sowie von weiteren Arbeiten aus anderen Bereichen des ZNS (Bacsikai et al., 1995). Im Zusammenhang mit unserem Hauptthema der neuronalen Adaptation waren wir vor allem an der Rolle der AII-Amakrinzellen interessiert. Diese Zellen speisen die Antworten des Stäbchensystems in den Zapfen-Pathway ein, da das Stäbchensystem in der Säugerretina über keine eigenen Ganglienzellen verfügt. Sie tun das über inhibierende, glycinerge Synapsen und über elektrische Synapsen (Strettoi et al., 1992). Letztere werden durch die vorherrschenden Lichtverhältnisse reguliert (Xin and Bloomfield, 1999) und waren deshalb für unsere Fragestellung von ganz besonderem Interesse.

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

### *Neuroanatomie*

Schwerpunkt der neuroanatomischen Methoden war die Immunhistologie, und zwar auf lichtmikroskopischer wie elektronenmikroskopischer Ebene. Das im Verlauf der Berichtsperiode neu angeschaffte konfokale Lasermikroskop (Leica TCS SP) hat die gestellten Erwartungen voll erfüllt und ist mittlerweile zum Routinegerät für die lichtmikroskopische Analyse geworden. Insbesondere die umfangreichen Doppelmarkierungen, die innerhalb des Projektes notwendig waren, wären ohne dieses Mikroskop kaum möglich gewesen. Alle von uns verwendeten Antikörper werden einer intensiven biochemischen Analyse bezüglich ihrer Spezifität unterzogen, in vielen Fällen haben wir für die Kontrollen auch das entsprechende Peptid verwendet. Die Immunhistologie hat in den letzten Jahren von der Entwicklung einer Reihe neuer Detektionssysteme besonders für die konfokale Laser-Mikroskopie und Verstärkermechanismen profitiert, die wir ausprobiert haben und bei Erfolg dann auch eingesetzt haben.

Für die elektronenmikroskopische Immunhistologie haben wir ein für die Retina adäquates Verfahren entwickelt und optimiert, bei dem Schnitte der Retina nur kurz mit Paraformaldehyd fixiert werden und anschließend über eine Woche in Antikörpern inkubiert werden, bevor sie in Harz eingebettet werden. Diese Methode erlaubt die Markierung des Antigens bei gleichzeitig respektablem Erhalt der Ultrastruktur. Probleme treten allerdings da auf, wo der Antikörper nur mit einer Alkoholfixierung zu einer Markierung führt. Gegenwärtig sind wir dabei, auch ein neues Verfahren für das Post-Embedding zu entwickeln. Bisherige Einbettungsmittel und die entsprechende Aushärtungsverfahren haben mit Retinaschnitten nicht zum Erfolg geführt. In letzter Zeit sind jedoch neue Polyacryle auf den Markt gekommen, die möglicherweise für die Retina anwendbar sind.

### *Elektrophysiologie*

Elektrophysiologische Experimente wurden sowohl mit scharfen Elektroden wie mit patch-clamp-Elektroden durchgeführt. Intrazelluläre Ableitungen wurden mit scharfen Elektroden aus dem evertierten Präparat des Fischauges gemacht. Nach der Feinpräparation des Auges wurde zuerst ein Augenbecherpräparat hergestellt und dieses dann auf einem domförmigen Träger invertiert montiert. Die Superfusionslösung wurde mit einer Spritzenkanüle am Apex appliziert und floß über das gesamte Präparat, was in einer die Retina bedeckende Flüssigkeitsschicht von ca. 500 µm Dicke resultierte. Dadurch ist ein schneller und vollständiger Wechsel der mittels Magnetventile gesteuerten Superfusionsmedien möglich. Die optische Stimulation erfolgte in ähnlicher Weise wie oben beschrieben, und die Stimuli wurden direkt auf die Retina projiziert. Horizontalzellen wurden aufgrund der charakteristischen Lichtantworten identifiziert, in einigen Fällen wurde dies durch die Injektion von Lucifer Yellow oder Neurobiotin bestätigt. Grundsätzlich wurden die Kennlinien der Zellen in Abhängigkeit von Intensität und Größe des punktförmigen Stimulus gemessen und daraus die Längskonstante der Zelle berechnet. Zusätzlich wurden die Lichtantworten auf ringförmige Reize gemessen und zur Beschreibung der Organisation des rezeptiven Feldes die Verhältnisse von Ringantwort zu Punktantwort gebildet. Die Anwendung der Patch-Clamp-Technik gefolgt von der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) auf der Ebene eines einzelnen Neurons ermöglicht eine elegante Kombination von elektrophysiologischer Charakterisierung und molekularer Analyse der von der Zelle exprimierten mRNA. Auf diese Weise kann einerseits das physiologische Antwortverhalten von Nervenzellen mit ihrer Ausstattung an Kanälen und Rezeptoren korreliert werden. Dies

ist insbesondere deshalb von Bedeutung, da der Nachweis der mRNA allein zwar notwendige aber nicht hinreichende Voraussetzung für die Expression funktioneller Proteine ist.

Andererseits kann die RNA-Analyse zur Identifizierung von Zelltypen eingesetzt werden. In der Retina kommen zahlreiche Interneurone vor, die sich in der Expression spezifischer Markerproteine unterscheiden. Da Antikörperfärbungen an lebenden Zellen nur selten möglich sind (membranständiges Epitop mit extrazelluläre Lokalisation), stellt die Kombination von Patch-Clamp und RT-PCR oft die einzige Alternative zur physiologischen Charakterisierung *identifizierter* Nervenzellen dar.

Das experimentelle Vorgehen soll im folgenden kurz skizziert werden: Nachdem die Ganzzell-Ableitung eines Neurons mit einer Patch-Clamp-Elektrode abgeschlossen war, wurde der gesamte Zellinhalt (Cytoplasma und Organellen) in die Spitze der Ableitelektrode aufgesaugt. Dies geschah unter visueller Kontrolle, um Kontaminationen mit benachbarten Zellen zu vermeiden. Die Glasspitze wurde dann in einem PCR-Röhrchen, das bereits Reagenzien für die reverse Transkription der RNA enthielt, abgebrochen. Als Reagenzien wurden Nukleotide (dNTP), random primers, DTT, RNasen sowie reverse Transkriptase (Rtase) eingesetzt. Nachdem die reverse Transkription abgeschlossen war, wurden dem Reaktionsgemisch weitere Primer hinzugefügt, die für die zu untersuchende cDNA-Sequenz spezifisch waren. In einer ersten PCR-Runde (initiale Denaturation, ~40 Zyklen, finale Elongation) wurde die DNA-Sequenz amplifiziert und anschließend mit Agarose-Gelelektrophorese analysiert. Es wurde in diesem Stadium auch eine Restriktionsanalyse und/oder ein Southernblot durchgeführt. In manchen Fällen wurde das DNA-Produkt einer weiteren PCR-Runde unterworfen, um entweder die Ausbeute an DNA zu erhöhen oder um eine bestimmte DNA-Sequenz in der Population amplifizierter Sequenzen zu selektieren. In diesem Fall mußte zunächst das PCR-Produkt von Primer-Dimeren gereinigt werden, bevor es weiteren PCR-Zyklen (~35) unterworfen werden konnte. Die Charakterisierung dieses zweiten PCR-Produktes erfolgte ebenfalls durch Gelelektrophorese, Restriktionsanalyse sowie Southernblot.

#### *Klonierung und Sequenzierung*

Die PCR-Produkte (20-25  $\mu$ l) wurden in 2% Agarose-Gelen aufgetrennt und zur Darstellung nach Ethidiumbromidfärbung unter ultraviolettem Licht photographiert.

Waren Amplifikationsprodukte mit einer entsprechenden Größe nachweisbar, so wurden diese Banden aus dem Gel ausgeschnitten. Das Amplifikationsprodukt wurde aus dem Gelstück eluiert und es wurde eine Re-Amplifikation mit diesem DNA-Template und dem gleichen

Primer-Set in einer zweiten PCR-Runde durchgeführt. Dieses second round Amplifikationsprodukt wurde noch einmal gelelektrophoretisch kontrolliert und anschließend kloniert (pCRII Vector/ TOPO TA Cloning Kit, Invitrogen). Kolonien, die das Ligationsprodukt enthielten, wurden mittels blue/white-Screening selektiert und das Insert mittels Sequenzierung analysiert. Vergleiche der Insert-/Amplikon-Sequenz erfolgten mit Hilfe der BLAST und FASTA Algorithmen über die EMBL-DATA BASES.

### *Calcium-Imaging*

Diese Methode wurde für die Messung von  $[Ca^{2+}]_i$  in einzelnen, isolierten Horizontalzellen verwendet und auch für die Registrierung von Änderungen von  $[Ca^{2+}]_i$  in bestimmten Abschnitten eines Retina-Schnittpräparates. Horizontalzellen der Karpfenretina wurden enzymatisch-mechanisch aus der Retina isoliert. Dazu wurden die Retinen in calciumfreier Ringerlösung mit Hyaluronidase zur Entfernung des Glaskörpers vorbehandelt und anschließend in Papain/Cystein inkubiert. Die nachfolgende mechanische Isolierung erfolgte durch Trituration mit Pasteurpipetten. Einige Tropfen der Zellsuspension wurden in der Ableitkammer mit Fura2/AM und 0.01% Crenophor EL für 30 min inkubiert. Die Fluoreszenz von Fura2 in den Horizontalzellen wurde mit einer im Rahmen dieses Projektes angeschafften Apparatur von PTI gemessen. Dazu wurden die Zellen mit einem Wasserimmersionsobjektiv und einem Zeiss Axioskop FS observiert. Die Anregung erfolgte mit dem Monochromator von PTI, und Videobilder wurden mit einer CCD Kamera (PTI IC-100) aufgezeichnet. Die Bilder wurden mit einer Auflösung von 256x240 pixel und einer 8-bit Tiefe digitalisiert und auf einem Pentium Computer weiterverarbeitet. Zur Schonung der Präparate und weil wir primär nicht an einer Quantifizierung der  $[Ca^{2+}]_i$ -Werte interessiert waren, wurden die meisten Messungen mit einer Wellenlänge (340 nm) gemacht. Die gemittelte Fluoreszenz wurde zur Ruhefluoreszenz in Relation gesetzt und ausgedrückt als das Verhältnis von  $dF/F(t)=[F(t)-F]/F$ , wobei  $F(t)$  die Fluoreszenz zur Zeit  $t$  ist und  $F$  die mittlere Ruhefluoreszenz über 1 min. Die Hintergrundfluoreszenz von ungeladenen Horizontalzellen wurde vor der Normierung abgezogen. In einigen Fällen wurde die ratiometrische Methode verwendet und die Wellenlängen zwischen 345 nm und 380 nm gewechselt. Die Steuerung der Anlage und die Datenverarbeitung erfolgte mit der ImageMaster software von PTI.

Für die Retina-Schnittpräparate wurde sowohl die Retina der Schildkröte als auch die der Maus verwendet. Nachdem die Retina vom Pigmentepithel befreit war, wurde sie auf einem Filterpapier montiert und mit einem Vibratom etwa 150  $\mu$ M dicke, transversale Schnitte

geschnitten. Die Schnitte wurden in 25  $\mu$ M Fura2/AM mit 0.02% Cremophor EL für 2 hrs inkubiert. Anschließend wurden die Schnittpräparate in eine Ableitkammer übertragen, wo sie mit einem feinen Kunststoffnetz, welches zwischen Platinbügeln gespannt ist, immobilisiert wurden. Die Kammer wurde im Mikroskop platziert und das Fura2 während 30 min mit einer Standard-Ringerlösung ausgewaschen. Alle diese Vorbereitungen wurden im Dunkeln respektive im schwachen Rotlicht vorgenommen. Die Registrierung der Fura2-Fluoreszenz erfolgte wie für die isolierten Zellen beschrieben, allerdings wurde in den meisten Fällen die Wellenlänge 380 nm verwendet. Ein kleines Abdeckungselement, welches mit einem Mikromanipulator bewegt werden konnte, diente dazu, die Photorezeptoren vom Anregungslicht abzuschirmen.

Die pharmakologische Stimulation erfolgte über die Applikation von Substanzen aus einer Mikroelektrode mittels eines Piezospritzers. Pharmaka zur Blockierung respektive Verstärkung der neuronalen Signale wurden direkt der Superfusionslösung zugegeben.

Die optische Stimulierung erfolgte mittels einer 100 W Halogenlampe und einer optischen Bank. Punktförmige oder balkenförmige Stimuli konnten in ihrer Größe, Intensität und Wellenlänge variiert werden und wurden über die Kondensatoroptik des Mikroskops auf das Schnittpräparat projiziert.

### **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

(kursive Nummern beziehen sich auf das Arbeitsprogramm)

#### 1. Glutamatrezeptorsubtypen in der äußeren plexiformen Schicht (A.1., A.2.)

Auf der Basis der zu Beginn des Projektes vorliegenden Daten über die Abhängigkeit des Calciumeinstromes in Horizontalzellen, die die Existenz von NMDA-Rezeptoren ausgeschlossen hatten, haben wir uns im folgenden auf die Lokalisation und funktionelle Rolle von AMPA- und Kainat-Rezeptorsubtypen beschränkt. Dies insbesondere auch deshalb, weil die Frage der Kolo-kalisation dieser beiden Subtypen mittlerweile zu einem wichtigen Thema innerhalb der Neurobiologie geworden war und auch innerhalb der Retina kontrovers diskutiert wurde (DeVries, 2000a; DeVries, 2000b). Wir haben aus diesem Grund unsere Analyse auch neben den Horizontalzellen auf die Bipolarzellen ausgedehnt, um so zu einem vollständigeren Bild der glutamatergen, postsynaptischen Abläufe zu kommen. Wir konnten schlüssig zeigen, daß Horizontalzellen nur GluR2/3-Rezeptoren exprimieren, Bipolarzellen hingegen GluR2/3, GluR4 und GluR5-7 exprimieren, wobei es zu keiner direkten

Kolokalisation der drei Subtypen auf einzelnen Bipolarzellen kam. Überraschend war, daß GluR2/3 auch von ON-Bipolarzellen exprimiert wurde, da diese eigentlich aufgrund ihrer Physiologie nur mGluR6 exprimieren sollten. Die Koexistenz dieser beiden Rezeptoren ist mittlerweile auch auf Bipolarzellen der Säugerretina festgestellt worden, funktionell harret er noch einer Klärung. Die Daten dieses Projektteils sind bereits publiziert (Schultz et al., 2001).

Zu Beginn der Projektperiode konnten wir auch diese Arbeiten zu einem Abschluß und zur Publikation bringen, die die Rolle von AMPA-Rezeptoren bei der Steuerung der synaptischen Plastizität untersuchen. Durch eine Kombination von Calcium-Imaging, Patch clamp und Elektronenmikroskopie konnten wir sehr überzeugend nachweisen, daß das durch einen AMPA-Rezeptor gesteuerten Kanal auf den dendritischen Endigungen der Horizontalzellen einströmende Kalzium als Signal für die Retraktion der synaptischen Spinules dient (Okada et al., 1999). Erstaunlich war, daß nur über den Kanal einströmendes Kalzium diese Signalfunktion ausüben konnte, eine generelle Erhöhung von  $[Ca]_i$  jedoch nicht diesen Effekt hatte. Dies ist ein deutlicher Hinweis auf eine sehr lokale Signalfunktion und erweitert Befunde, die kürzlich im Hippocampus erhoben wurden und zeigen, daß auch hier dem über NMDA geregelten Kanäle einfließende Calcium eine lokale Signalfunktion für die Bildung von LTP zukommt, die durch Calcium aus anderen Quellen nicht erreicht werden kann (Nishiyama et al., 2000).

Wir haben intensive elektronenmikroskopische und biochemische Studien zur Klärung der Frage durchgeführt, inwieweit die Expression von AMPA-Rezeptoren durch die Horizontalzellen durch den Adaptationszustand der Retina beeinflusst wird. Die unterschiedliche Sensitivität der Horizontalzellen in Abhängigkeit vom Adaptationszustand (Baldrige et al., 1995) ließ eine solche durchaus vermuten. Es ist uns nicht gelungen, mittels quantitativem Western-Blotting von isolierten Horizontalzellfraktionen diese Annahme zu untermauern. Auch die ultrastrukturelle Lokalisation der Rezeptoren hat keine eindeutige Umverteilung ergeben. Die beobachteten Unterschiede lagen in beiden Verfahren jeweils innerhalb der Streuungen und waren nicht signifikant. Es ist möglich, daß eine Umverteilung auf einer wesentlich kürzeren Zeitachse abläuft, als die von uns gewählten ( $> 30$  min.), oder aber die Funktionalität der Kanäle direkt geregelt wird und die Expression nur sekundär, wenn überhaupt, betroffen ist, wie es für silent Synapsen an anderen Orten beschrieben ist. Wir haben vorläufig darauf verzichtet, diese „negativen“ Befunde zu publizieren, obwohl sie uns sehr viel Zeit gekostet haben.

### Calciumbindende Proteine (A.3. und A.4.)

Wie bereits erwähnt, konnten wir einen sehr lokalen und spezifischen Effekt von Calcium auf die Retraktion der synaptischen Spinules feststellen: Nur Calcium, welches über einen AMPA-Kanal in die Horizontalzellen einfloß, konnte die Retraktion dieser Spinules einleiten. Ultrastrukturell hatten wir diesen Rezeptor dann in der Tat direkt in den Membranen der Spinules lokalisieren können (Schultz et al., 2001). Wir waren nun daran interessiert, das calciumsignalvermittelnde Molekül zu identifizieren, und richteten unser Augenmerk auf die große Gruppe calcium-bindender Proteine. Mittels Western-Blot und Horizontalzellfraktionen überprüften wir dazu als erstes verschiedene, gegen calciumbindende Proteine gerichtete Antikörper. In den Fällen einer positiven Identifikation untersuchten wir auf der lichtmikroskopischen Ebene die Markierung durch den Antikörper in Schnitten der Retina sowie in isolierten Horizontalzellen, um so einen Hinweis auf die Horizontalzell-subtypen spezifische Expression zu erhalten. Nach sicherer, zellulärer Identifikation wurde der Antikörper in der Elektronenmikroskopie eingesetzt, um zu überprüfen, ob eine spezifische Lokalisation in der Nähe der Membran der synaptischen Spinules vorlag. Diese umfangreichen Arbeiten haben letztendlich zu einem sehr schönen Resultat geführt. Wir konnten zeigen, daß Calbindin exklusiv nur in den Spinules lokalisiert ist und deshalb einen potentiellen Kandidaten für die Signalvermittlung darstellt. Alle anderen überprüften Proteine waren entweder nicht in Spinules lokalisiert oder aber auch in benachbarten Bereichen der Horizontalzellen. Ein weiteres Kandidaten-Protein ist allerdings das kürzlich beschriebene Caldendrin. Es zeigt zwar nicht die sehr distinkte Lokalisation unterhalb der Spinulesmembran wie Calbindin, dafür haben wir für dieses Protein auch eine Abhängigkeit in den Western-Blots vom Adaptationszustand der Retina festgestellt, wie wir sie auch für Calbindin gefunden haben und wie wir sie für das entsprechende Signalprotein erwarten. Zum Zeitpunkt der Berichtsverfassung führen wir gerade Ko-Präzipitationsexperimente mit GluR2/3 und Calbindin durch. Nach Abschluß dieser Arbeiten werden wir die Resultate publizieren. Wir hoffen, in der Zukunft auch auf der funktionellen Seite eine Beteiligung von Calbindin zu analysieren. Calbindin ist zwar kein unbekanntes Molekül, und es besteht eine umfangreiche Literatur darüber, doch beschränkt sich diese weitgehend auf seine Lokalisation; über seine Funktion ist ausgesprochen wenig bekannt. Es wäre deshalb sehr aufregend, eine Involvierung von Calbindin in der strukturellen, synaptischen Plastizität nachweisen zu können!



### Echtzeitregistrierung von Spinules-Ausbildung (A.5.)

In diesem Arbeitspunkt ging es darum, die Möglichkeiten der konfokalen Mikroskopie im Hinblick auf eine Echtzeitregistrierung der lichtabhängigen Ausbildung von synaptischen Spinules an den terminalen Dendriten von Horizontalzellen zu evaluieren. Im Verlauf der Versuche hat sich gezeigt, daß dies sowohl im Totalpräparat wie im Schnittpräparat mit erheblichen Problemen behaftet war, was eine erfolgreiche Bearbeitung als höchst unwahrscheinlich erscheinen ließ. Wir beschlossen deshalb, diesen Teil des Projektes vorläufig zurückzustellen. Die schwerwiegendsten Probleme waren: In Schnittpräparate der Retina werden Spinules kaum gebildet, wofür eine ganze Reihe von Ursachen in Frage kommen. Damit schied dieses Präparat für die weitere Analyse aus; auf der anderen Seite war eine zufriedenstellende anatomische Darstellung von einzelnen Horizontalzellen nur in diesem Präparat möglich. Im Totalpräparat war eine solche aufgrund der tiefen Lage von Horizontalzellen nicht mehr möglich. Hier war außerdem die selektive Aufarbeitung von wenigen Horizontalzellen ein Problem, welches wir nicht befriedigend lösen konnten. Darüber hinaus zeigte sich sehr bald, daß die notwendige Anregung der fluoreszierenden Marker im nahen Ultraviolett zu erheblicher Beeinträchtigung der Vitalität der Retina im Meßbereich führte und über die Anregung der Photorezeptoren zu unkontrollierbaren Adaptationserscheinungen führte. Beides verunmöglichte letztendlich eine kontrollierte Spinulesbildung, die Voraussetzung gewesen wäre für das weitere Vorgehen. Die Echtzeitregistrierung der Spinesbildung von hippocampalen Neuronen ist mittlerweile geglückt und hat zu sehr bemerkenswerten Resultaten geführt (Engert and Bonhoeffer, 1999). In diesen Experimenten ist allerdings die Zweiphotonen-Lasermikroskopie eingesetzt worden, und nach Meinung aller Experten ist diese Methode Voraussetzung für das von uns angestrebte Ziel. Da wir nach wie vor davon überzeugt sind, daß eine Echtzeitregistrierung der Spinulesausbildung neue Einblicke in die Mechanismen der sensorischen Plastizität eröffnen würde, hoffen wir, daß wir in Zukunft diese Fragestellungen mit einem Zweiphotonen-Lasermikroskop bearbeiten können.

### Neuronale Adaptationssignale (A.1.-A.4.)

In der letzten Projektperiode ist es uns gelungen, einen völlig neuen Neuromodulator in der Retina zu entdecken (Weiler et al., 1998). Dabei handelt es sich um Retinsäure, welche sowohl die Ausbildung von lichtinduzierten, synaptischen Spinules induziert als auch die

Leitfähigkeit der Gap junctions zwischen den Horizontalzellen reguliert. In einer Reihe von weiteren Arbeiten haben wir diesen neuen Befund näher analysiert und konnten auch zeigen, daß ein gleicher Mechanismus in der Säugerretina vorhanden ist (Pottek and Weiler, 2000; He et al., 2000). In zwei Review-Artikeln haben wir unsere bisherigen Arbeiten zusammengefaßt und sie in den entsprechenden Kontext gestellt (Weiler et al., 2000; Weiler et al., 2001). Kürzlich erschienene Arbeiten aus anderen Labors lassen darauf schließen, daß Retinsäure in seiner Funktion als Neuromodulator einen völlig neuen, membranbeständigen Rezeptor mit einer  $\beta$ RAR-Charakteristik verwendet (Zhang et al., 2000; Zhang and McMahon, 2000). In der Zwischenzeit wird Retinsäure auch als ein möglicher Neuromodulator in anderen Bereichen des ZNS, z.B. Hippocampus, diskutiert (Chiang et al., 1998), was unseren ersten Arbeiten zusätzliches Gewicht verleiht.

#### Feedback-Mechanismus zwischen Horizontalzellen und Photorezeptoren (A.1.-A.4.)

Kernstück der synaptischen Interaktionen in der äußeren plexiformen Schicht ist eine negative Rückkopplung von den Horizontalzellen auf die Photorezeptoren. Diese bildet die Grundlagen der Ausbildung der Zentrum-Umfeldorganisation der rezeptiven Felder von Ganglienzellen und der Color Opponency. Obwohl diese Rückkopplung schon seit 30 Jahren intensiv untersucht wird, blieb die Identifikation des dabei verwendeten Neurotransmitters umstritten. Es gab zwar sehr viele Hinweise, daß GABA diese Rolle übernehmen könnte, aber auch einige Befunde, die mit dieser Annahme im Widerspruch waren (Zusammenfassung: Kamermans and Spekreijse, 1999).

Im Verlaufe unserer Analyse über die synaptische Lokalisation von Glutamatrezeptoren auf den Dendriten von Horizontalzellen machten wir einen überraschenden Befund. In unmittelbarer Nähe des Freisetzungsortes von Glutamat auf den Photorezeptoren konnten wir auf den terminalen Dendriten der Horizontalzellen Connexin26 lokalisieren (Janssen-Bienhold et al., 2001a). Connexine sind die kanalbildenden Proteine der Gap junctions. Da wir jedoch an dieser Stelle keine Gap junctions lokalisieren konnten, drängte sich der Verdacht auf, daß Connexin26 an dieser Stelle womöglich Hemikanäle bilden könnte. Das wiederum warf die Frage auf, welche funktionelle Rolle Hemikanäle an dieser Stelle haben könnten. Rein aufgrund ihrer Lage spekulierten wir, daß sie in die negative Rückkopplung involviert sein könnten. Gemeinsam mit unseren holländischen Kollegen entwarfen wir ein Modell, dessen Kernstück die Annahme eines von den Hemikanälen getragenen, elektrischen

Feedbacks war. Mit einer Reihe von Experimenten überprüften wir unsere Hypothese und konnten sie im folgenden verifizieren. Die entsprechenden Befunde sind mittlerweile in Science publiziert (Kamermans et al., 2001). Sie haben bei ihrer Vorstellung auf den entsprechenden Kongressen erwartungsgemäß zu einiger Aufregung geführt. Erstens zeigen sie, daß negative Rückkopplung nicht notwendigerweise eines Neurotransmitters bedarf, sondern als Folge eines ephaptischen Mechanismus auftreten kann, und zweitens lassen sie vermuten, daß dieser Mechanismus möglicherweise weit verbreitet im ZNS ist und einen dritten Typ der synaptischen Kommunikation, neben chemischer und elektrischer Synapse, darstellt.

#### Optische Registrierung von Erregungsmustern in Amakrin- und Ganglienzellen (B.1.-B.4.)

Im Mittelpunkt dieses Projektteils stand der erstmalige Einsatz des Calcium-Imaging zur simultanen Registrierung der Aktivität verschiedener Amakrin- und Ganglienzellen. Wir verwendeten dafür ein Schnittpräparat der Schildkrötenretina, welches in Fura2-AM inkubiert wurde. Die Photorezeptoren wurden mechanisch so abgeschirmt, daß sie durch das Meßlicht nicht erregt wurden, andererseits aber durch gezielte Lichtreize stimuliert werden konnten, da neben der pharmakologischen Stimulierung auch eine solche durch Lichtstimuli geplant war. Nach erheblichen Schwierigkeiten verschiedenster Art (Vitalität des Präparats, Erhalt der Photorezeptoren, gleichmäßige Beladung mit Fura2, Reproduzierbarkeit der Messungen, Abschirmung des Streulichtes, Einfluß der emittierenden Fluoreszenz, Ausbleichung etc.) ist es uns gelungen, eine Reihe von Experimenten durchzuführen und dabei die ersten lichtinduzierten Calciumsignale von Amakrin- und Ganglienzellen zu registrieren. Diese Befunde sind mittlerweile publiziert (Okada and Weiler, 2000). Wir konnten dabei zeigen, daß die gemessenen Calciumsignale durchaus mit den bekannten elektrischen Signalen oder entsprechenden Zellen korrelieren, d. h. einer ON/OFF-Charakteristik folgten. Auch war es uns möglich, das Phänomen von Color Opponency in den Calciumantworten von Ganglienzellen nachzuweisen sowie die inhibitorischen, GABAergen Mechanismen zu isolieren. Parallel zu den Arbeiten mit der Schildkrötenretina hatten wir, wie vorgesehen, auch die Etablierung eines Mausretina-Schnittpräparates vorangetrieben. Es ist uns gelungen, auch aus dieser Retina lichtinduzierte Calciumsignale zu registrieren. Aber auch in diesem Präparat waren die Schwierigkeiten enorm und die Erfolgsrate bescheiden. Nach all unseren Erfahrungen sind wir zu dem Schluß gelangt, daß sich diese Methode, trotz unserer Erfolge, für eine systematische Analyse von Kodierungsprozessen kaum eignet, respektive eine solche

nur mit einem für unsere kleine Arbeitsgruppe nicht verantwortbaren Aufwand durchführen ließe. Die Gründe dafür sind vor allem: (i) Die Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Präparaten ist nicht gegeben, da die Beladung von Zellen jeweils unterschiedlich ausfällt und nicht kontrollierbar ist. (ii) Obwohl, wie wir gezeigt haben, das registrierte Calciumsignal im Soma ähnliche Charakteristika zeigt wie das elektrische Signal, handelt es sich bei diesem um ein integriertes Signal mit unbekanntem und nicht kontrollierbarem Anteil von verschiedenen Calciumquellen, welches nur zum Teil die dendritischen Interaktionen widerspiegelt. (iii) Photorezeptoren leiden ganz erheblich bei der Herstellung des Schnittpräparates, und der entsprechende Schaden variiert von Präparat zu Präparat. (iv) Eine sichere Identifikation von bestimmten Zellen erwies sich als äußerst problematisch; nur wenige Zellen, wie die AII-Zelle in der Mausretina, konnten mit einiger Sicherheit identifiziert werden.

Während der Berichtsperiode ist eine weitere Arbeit veröffentlicht worden, die lichtinduzierte Calciumantworten von Ganglienzellen vorstellte (Denk and Detwiler, 1999). In diesem Fall wurden die Antworten aus den Dendriten von einzelnen über die Elektrode mit Calciumindikator gefüllten Zellen registriert. Möglich wurde das durch die Verwendung eines Zweiphotonen-Lasermikroskops. Während des ARVO-Kongresses 2001 hat die gleiche Arbeitsgruppe weitere Befunde vorgestellt, bei denen die Calciumsignale aus den Dendriten von richtungssensitiven Ganglienzellen gemessen wurden. Diese Daten zeigen die prinzipielle Machbarkeit des Ansatzes, allerdings unter der Prämisse, daß ein Zweiphotonen-System zur Verfügung steht. Die Gespräche mit den Kollegen haben jedoch ergeben, daß auch in diesem Fall die Erfolgsrate ausgesprochen niedrig ist. Dies insbesondere, wenn man berücksichtigt, daß für unsere Fragestellung verschiedene Populationen von Zellen zu einem bestimmten Abschnitt mit Indikator gefüllt sein müßten, um eine Aussage über die dendritischen Aktivitäten zu erhalten.

Wir wollen deshalb diese Thematik mit anderen Methoden angehen, die Entwicklung der optischen Registrierung jedoch weiter verfolgen.

#### Rolle von AII-Amakrinzellen (B5)

In der Säugerretina projizieren die zu den Stäbchen postsynaptischen Bipolarzellen nicht direkt auf Ganglienzellen, sondern auf die AII-Amakrinzellen (Zusammenfassung: Vaney et

al., 1991; Sharpe and Stockman, 1999). Diese speisen die entsprechende Information über inhibitorische, glycinerge Synapsen in Zapfenbipolarzellen des OFF-Kanals und über elektrische Synapsen in Zapfenbipolarzellen des ON-Kanals. Diese „Verzweigungs-Schalterfunktion“ der AII-Amakrinzelle ist anatomisch gut belegt; über die funktionelle Bedeutung dieser Verzweigung und den im Verlaufe dieses Prozesses auftretenden Modulationen und Verarbeitungsschritte herrscht aber noch große Unklarheit. Ziel dieses Versuchsabschnittes war es deshalb, diese für die neuronale Adaptation und den Umschaltprozeß von skotopischem zu photopischem Sehen zentralen Funktion näher zu analysieren, wobei wir insbesondere an der Übertragung über die elektrischen Synapsen interessiert waren, zu deren Funktion wir bereits früher einen Beitrag geleistet hatten (Hampson et al., 1992). Zwei Fragen standen dabei im Mittelpunkt unseres Interesses: Aus welchen Connexinen werden die Kanäle der elektrischen Synapsen zwischen den AII-Amakrinzellen und den Zapfenbipolarzellen gebildet, und ist diese Übertragung tatsächlich für die Weiterleitung des Stäbchensignals in die Ganglienzellen funktional?

Zur Abklärung dieser Frage nach der Identität der Connexine haben wir eine Reihe von molekularbiologischen und immunhistologischen Studien durchgeführt. Dabei ging es darum, zuerst einmal die potentiellen retinalen Connexine der Mausretina festzustellen. Diese Studie wurde in Zusammenarbeit mit Kollegen aus dem Institut für Genetik der Universität Bonn durchgeführt, die über eine lange Erfahrung in der Molekulargenetik von nicht-neuronalen Connexinen verfügt. Unsere entsprechenden Befunde sind mittlerweile publiziert (Güldenagel et al., 2000). Aufgrund dieser Daten haben wir die für eine Lokalisation in AII-Amakrinzellen wahrscheinlichen Connexine näher untersucht. Durch eine Kombination von verschiedenen Doppelmarkierungen, Neurobiotin-Injektionen und Single-cell-RT-PCR konnten wir schließlich nachweisen, daß AII-Amakrinzellen Connexin36 exprimieren und dieses Connexin die Grundlage der homologen elektrischen Kopplung zwischen AII-Zellen bildet und von der AII-Zelle in der heterologen Kopplung zu den Zapfenbipolarzellen verwendet wird, diese aber ein anderes, bis dato noch unbekanntes Connexin verwenden. Diese Befunde sind bereits im Journal of Neuroscience publiziert (Feigenspan et al., 2001) und mittlerweile durch eine amerikanische Gruppe in der Kaninchenretina bestätigt worden. Zur direkten Analyse der funktionellen Beteiligung von Connexin36 und damit der elektrischen Synapse war es notwendig, Connexin36 spezifisch zu blockieren. Da es keine connexin-spezifischen Blockersubstanzen gibt, haben wir gemeinsam mit den Bonner Kollegen eine transgene Maus entwickelt, bei der das zweite Exon des Cx36-Gens deletiert ist. Diese Tiere erwiesen sich als

lebensfähig, fruchtbar und zeigten keine offensichtlichen Entwicklungsdefizite. Wir haben diese Tiere funktionell auf visuelle Defizite untersucht und insbesondere die Umschaltung von skotopischem zu photopischem Sehen analysiert. In der Tat zeigten die Tiere die Defizite, die man erwarten würde, wenn der Eingang der Stäbchen in dem ON-Zapfenbipolarweg gestört wäre. Diese funktionelle Analyse haben wir mit einer histologischen Analyse verbunden, bei der wir zeigen konnten, daß der gesamte Stäbchen-Pathway bis auf das Fehlen von Connexin36 intakt ist. Damit konnten wir die funktionellen Defizite auf das deletierte Connexin zurückführen und so zum ersten Mal eine direkte funktionelle Korrelation mit einem identifizierten Connexin herstellen. Diese Befunde sind mittlerweile im Journal of Neuroscience zur Publikation angenommen (Güldenagel et al., 2001). In den vergangenen Monaten haben wir zusätzlich damit begonnen, AII-Amakrinzellen direkt im Retinaschnittpräparat mit einer Kombination von Patch-clamp und Calcium-Imaging zu analysieren. Ziel ist es, die dendritische Verarbeitung dieser Zellen in den Wild-Typ-Tieren und den transgenen Tieren direkt zu vergleichen. Noch haben wir einige Probleme, stabile Ableitungen über einen längeren Zeitraum zu erhalten, was wohl größtenteils an der variablen Qualität der Schnitte liegt. Wir sind jedoch zuversichtlich, diese in den Griff zu bekommen, da ein ähnliches Präparat kürzlich in der Arbeitsgruppe von Herrn Wässle am MPI für Hirnforschung in Frankfurt entwickelt wurde, mit der wir in Kontakt stehen und die einige der Probleme lösen können.

#### **4. Diskussion**

Die von uns bearbeiteten Fragestellungen werden in vielen anderen Labors, insbesondere auch in den USA, bearbeitet. Entsprechend sind unsere Befunde in den Diskussionskapiteln der einzelnen Publikationen gründlich in den notwendigen Kontext gesetzt worden. Es ist uns erfreulicherweise gelungen, in einigen Bereichen auch die Vorherrschaft zu übernehmen und uns gegen die internationale Konkurrenz durchzusetzen, z. B. bezüglich der neuromodulatorischen Rolle von Retinsäure, der funktionellen Rolle von Connexin36 in der Retina und der Entdeckung eines neuartigen Mechanismus der Inhibition.

Dem Neuigkeitswert angemessen, hat die Vorstellung unserer Befunde auf verschiedenen internationalen Kongressen zu angeregten Diskussionen geführt und bereits eine Reihe von follow-up-Studien durch andere Labors angeregt. Auf der anderen Seite mußten wir auch erfahren, daß andere Labors in einigen Fällen schneller als wir auf neue Erkenntnisse reagieren konnten, was insbesondere daran liegt, daß die Bereitstellung neuer Techniken, wie

z. B. der Zwei-Photonen-Lasermikroskopie, im universitären Bereich immer noch viel zu lange dauert. Umso bedeutungsvoller war für uns die Mitgliedschaft im Sonderforschungsbereich.. Ohne diese wären die oben erwähnten Arbeiten nicht möglich gewesen. Nicht nur durch die direkte Projektunterstützung, sondern insbesondere durch das durch den SFB geschaffene Klima an unserer Universität, die Möglichkeit des regen Austausches mit den Mitgliedern des SFB, die Möglichkeit, Gastwissenschaftler an die Universität zu holen, und die Veranstaltung von Tagungen haben entscheidend zu unserer wissenschaftlichen Arbeit beigetragen.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

- Die Retraktion synaptischer Spinules der terminalen Dendriten von Horizontalzellen während der Dunkeladaptation der Retina wird initiiert durch einen lokalen Calciumeinstrom in die Spinules durch einen ionotropen Glutamatrezeptor vom AMPA-Typ (Okada et al., 1999).
- Horizontalzellen der Fischretina exprimieren ausschließlich Glutamatrezeptoren vom AMPA-Typ. AMPA- und Kainat-Rezeptoren finden sich auf unterschiedlichen Populationen von Bipolarzellen (Schultz et al., 2001).
- Retinsäure ist ein Neuromodulator in der Retina, welcher die Information über die vorherrschenden Lichtverhältnisse der inneren Retina signalisiert und als neuronales Adaptationssignal wirkt. Als Folge verändert sich die räumliche Organisation des rezeptiven Feldes von Horizontalzellen und deren chromatische Sensitivitäten (Weiler et al., 1999; Pottel and Weiler, 2000; Weiler et al., 2000; He et al., 2000; Weiler et al., 2001).
- Lichtabhängige Calciumantworten der Somata von Amakrin- und Ganglienzellen reflektieren deren elektrische Aktivität (Okada and Weiler, 2000).
- Eine Vielzahl von unterschiedlichen Connexinen - kanalbildende Proteine - , welche die Grundlagen von elektrischen Synapsen bilden, werden in der Retina exprimiert (Vaney and Weiler, 2000; Dermietzel et al., 2000; Güldenagel et al., 2000; Feigenspan et al., 2001; Janssen-Bienhold et al., 2001a; Janssen-Bienhold et al., 2001b).

- AII-Amakrinzellen, Schaltneurone zwischen skotopischem und photopischem Sehen, exprimieren Connexin36 an ihren elektrischen Synapsen, mit denen sie das Stäbchensignal in den Zapfenpathway einspeisen. Eine Deletion dieses Connexins führt zu charakteristischen Defiziten in der Signalübertragung (Feigenspan et al., 2001; Güldenagel et al., 2001).
- Horizontalzellen exprimieren Connexin26 an ihren terminalen Dendriten, welches hier Hemikanäle ausbildet. Diese Hemikanäle bilden die zentrale Komponente eines neuartigen Mechanismus der Hemmung, welcher ohne hemmenden Neurotransmitter auskommt und von uns als ephaptische Hemmung identifiziert wurde (Kamermans et al., 2001; Janssen-Bienhold et al., 2001a).

### *Offene Fragen*

Da wir mit den Themenkomplexen „Retinsäure als Neuromodulator“, „Funktionelle Rolle der AII-Amakrinzellen“ und „Hemikanäle als Komponenten inhibitierender Schaltkreise“ vorwiegend Neuland betreten haben, sind naturgemäß eine Reihe von Fragen noch unbeantwortet. Wichtige davon sind im einzelnen im neuen Antragsband des SFB aufgeführt, da wir sie im Rahmen des SFB in der kommenden Periode bearbeiten möchten.

## **6. Literaturverzeichnis**

Bacsikai BJ, Wallén P, Lev-Ram V, Grillner S, Tsien RY (1995) Activity-related calcium dynamics in lamprey motoneurons as revealed by video-rate confocal microscopy. *Neuron* 14: 19-28.

Baldrige WH, Weiler R, Dowling JE (1995) Dark-suppression and light-sensitization of horizontal cell responses in the hybrid bass retina. *Vis Neurosci* 12: 611-620.

Baylor DA, Fuortes MGF, O'Bryan PM (1971) Receptive fields of cones in the retina of the turtle. *J Physiol (Lond)* 214: 265-294.

Brandstätter JH, Koulen P, Wässle H (1998) Diversity of glutamate receptors in the mammalian retina. *Vision Res* 38: 1385-1397.

Calkins DJ, Sterling P (1999) Evidence that circuits for spatial and color vision segregate at the first retinal synapse. *Neuron* 24: 313-321.

Chiang MY, Misner D, Kempermann G, Schikorski T, Giguere V, Sucov HM, Gage FH, Stevens CF, Evans RM (1998) An essential role for retinoid receptors RARbeta and RXRgamma in long-term potentiation and depression. *Neuron* 21: 1353-1361.



- Denk W, Detwiler PB (1999) Optical recording of light-evoked calcium signals in the functionally intact retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 7035-7040.
- DeVries SH (2000a) Bipolar Cells Use Kainate and AMPA Receptors to Filter Visual Information into Separate Channels. *Neuron* 28: 847-856.
- DeVries, S. H. Selective distribution of AMPA and kainate receptors at the mammalian cone to Off bipolar cell synapse. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 41, S621. 2000b.
- Dowling JE (1987) *The Retina*. Cambridge, MA and London, GB: The Belknap Press of Harvard University Press.
- Engert F, Bonhoeffer T (1999) Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* 399: 66-70.
- Hampson ECGM, Vaney DI, Weiler R (1992) Dopaminergic modulation of gap junction permeability between amacrine cells in mammalian retina. *J Neurosci* 12: 4911-4922.
- Kamermans M, Spekreijse H (1999) The feedback pathway from horizontal cells to cones - A mini review with a look ahead. *Vision Res* 39: 2449-2468.
- Kondo M, Sumino R, Okado H (1997) Combinations of AMPA receptor subunit expression in individual cortical neurons correlate with expression of specific calcium-binding proteins. *J Neurosci* 17: 1570-1581.
- Nishiyama M, Hong K, Mikoshiba K, Poo MM, Kato K (2000) Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature* 408: 584-588.
- Sharpe LT, Stockman A (1999) Rod pathways: the importance of seeing nothing. *Trends Neurosci* 22: 497-504.
- Sorra KE, Harris KM (2000) Overview on the structure, composition, function, development, and plasticity of hippocampal dendritic spines. *Hippocampus* 10: 501-511.
- Strettoi E, Raviola E, Dacheux RF (1992) Synaptic connections of the narrow-field, bistratified rod amacrine cell (AII) in the rabbit retina. *J Comp Neurol* 325: 152-168.
- Vaney DI, Young HM, Gynther IC (1991) The rod circuit in the rabbit retina. *Vis Neurosci* 7: 141-154.
- Weiler R, Schultz K (1993) Ionotropic non-*N*-methyl-D-aspartate agonists induce retraction of dendritic spinules from retinal horizontal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 6533-6537.
- Weiler R, Schultz K, Janssen-Bienhold U (1996) Ca<sup>2+</sup>-dependency of spinule plasticity at dendrites of retinal horizontal cells and its possible implication for the functional role of spinules. *Vision Res* 36: 3891-3900.
- Weiler R, Schultz K, Pottek M, Tieding S, Janssen-Bienhold U (1998) Retinoic acid has light-adaptive effects on horizontal cells in the retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 7139-7144.
- Xin DY, Bloomfield SA (1999) Comparison of the responses of AII amacrine cells in the dark- and light-adapted rabbit retina. *Vis Neurosci* 16: 653-665.

Zhang DQ, McMahon DG (2000) Direct gating by retinoic acid of retinal electrical synapses. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 14754-14759.

Zhang, D. Q., Stone, J. F., and McMahon, D. G. Modulation by retinoic acid of electrical synaptic transmission in bass retinal neurons. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 41, S941. 2000.

### **Eigene Arbeiten im Berichtszeitraum (nur referierte Zeitschriften)**

Dermietzel R, Kremer M, Paputsoglu G, Stang A, Skerrett IM, Gomes D, Srinivas M, Janssen-Bienhold U, Weiler R, Nicholson BJ, Bruzzone R, Spray DC (2000) Molecular and functional diversity of neural connexins in the retina. *J Neuroscience* 20: 8331-8343.

Feigenspan A, Teubner B, Willecke K, Weiler R (2001) Expression of Neuronal Connexin36 in AII Amacrine Cells of the Mammalian Retina. *J Neuroscience* 21: 230-239.

Güldenagel, M., Ammermüller, J., Feigenspan, A., Söhl, G., Teubner, B., Degen, J., and Willecke, K. (2001) Visual transmission deficits in mice with targeted disruption of the gap junction gene connexin36. *J.Neuroscience* (in press).

Güldenagel M, Sohl G, Plum A, Traub O, Teubner B, Weiler R, Willecke K (2000) Expression patterns of connexin genes in mouse retina. *J Comp Neurol* 425: 193-201.

He S, Weiler R, Vaney DI (2000) Endogenous dopaminergic regulation of horizontal cell coupling in the mammalian retina. *J Comp Neurol* 418: 33-40.

Janssen-Bienhold U, Schultz K, Gellhaus A, Schmidt P, Ammermüller J, Weiler R (2001a) Identification and localization of connexin26 within the photoreceptor-horizontal cell synaptic complex. *Vis Neurosci* 18: 169-178.

Janssen-Bienhold, U., Schultz, K., Hoppenstedt, W., and Weiler, R. Molecular diversity of gap junctions between horizontal cells. Kolb, H., Ripps, H., and Wu, S. *Concepts and Challenges in Retinal Biology: A Tribute to John Dowling*. [131], 93-107. 2001b. Elsevier Science. *Progress in Brain Research*.

Kamermans M, Fahrenfort I, Schultz K, Janssen-Bienhold U, Sjoerdsma T, Weiler R (2001) Hemichannel-mediated inhibition in the outer retina. *Science* 292: 1178-1180.

Okada, Weiler R (2000) Multirecording of Ca(2+) signals from inner retinal neurons evoked by light stimulation of photoreceptors. *Vision Res* 40: 1947-1954.

Okada T, Schultz K, Geurtz W, Hatt H, Weiler R (1999) AMPA-preferring receptors with high Ca2+ permeability mediate dendritic plasticity of retinal horizontal cells. *Europ J Neurosci* 11: 1085-1095.

Pottek M, Weiler R (2000) Light-adaptive effects of retinoic acid on receptive field properties of retinal horizontal cells. *Europ J Neurosci* 12: 437-445.

Schultz, K., Janssen-Bienhold, U., and Weiler, R. (2001) Selective synaptic distribution of AMPA and kainate receptor subunits in the outer plexiform layer of the carp retina. *J.Comp.Neurol.* 435 (in press).

Vaney DI, Weiler R (2000) Gap junctions in the eye: evidence for heteromeric, heterotypic and mixed-homotypic interactions. *Brain Res Rev* 32: 115-120.

Weiler R, He SG, Vaney DI (1999) Retinoic acid modulates gap junctional permeability between horizontal cells of the mammalian retina. *Europ J Neurosci* 11: 3346-3350.

Weiler R, Pottek M, He S, Vaney DI (2000) Modulation of coupling between retinal horizontal cells by retinoic acid and endogenous dopamine. *Brain Res Rev* 32: 121-129.

Weiler, R., Pottek, M., Schultz, K., and Janssen-Bienhold, U. Retinoic acid, a neuromodulator in the retina. Kolb, H., Ripps, H., and Wu, S. *Concepts and Challenges in Retinal Biology: A Tribute to John Dowling*. [131], 309-318. 2001. Elsevier Science. *Progress in Brain Research*.

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

- 1999 - Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, Ft. Lauderdale, USA  
 Organisation and chairman of a paper session on „Horizontal cells“  
 - Göttingen Neurobiological Conference, Göttingen  
 - Schwerpunktsymposium „Molekulare Sinnesphysiologie“, Reisenburg
- 2000 - Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, Ft. Lauderdale, USA  
 - Euresco Conference „Neural Mechanisms of Learning and Memory“, Granada, Spanien  
 - Internationales Symposium „Molecular and cellular basis of neuronal organisation“, Frankfurt  
 - Internationales Symposium „Neuronal mechanisms of vision“, Bochum
- 2001 - Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, Ft. Lauderdale, USA  
 Organisation and chairman of a paper session on „Interneurons and inner retinal processing“  
 - Göttingen Neurobiological Conference, Göttingen  
 - International meeting on „Changing views of Cajal neuron“, Madrid, Spanien

Teilnahme an den zwei Theoriewochenenden des SFB, an den Berichtkolloquien des SFB, am Seminar für Neurokognition, an den Veranstaltungen des Hanse-Wissenschaftskollegs.

In 2000 Organisation einer Vortragsreihe mit dem Thema „Gehirn-Einsichten“ an der Universität Oldenburg.

In 2000 Organisation einer Vortragsreihe zur Neurosensorik im Rahmen der 25-Jahr-Feiern der Universität Oldenburg.

## **Teilprojekt A 4**

### **Visuelle Aufmerksamkeit bei Amphibien: Neurophysiologische und neuropharmakologische Untersuchungen im Tectum und in der Formatio reticularis**

#### **Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: PD Dr. Ursula Dicke

Institut für Hirnforschung  
Universität Bremen, FB 2  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

## **1. Einleitung**

Das Projekt befasst sich mit der zeitlich frühen Verarbeitung visueller Information bei Aufmerksamkeitsprozessen, einer bedeutsamen Fragestellung im Zusammenhang mit kognitiven Leistungen des Gehirns. Ziel des Projektes ist es, die Rolle des Tectum und der Formatio reticularis bei der Objekterkennung und der visuomotorischen Verhaltenssteuerung von Amphibien aufzuklären. Dies sollte bei Schleuderzungensalamandern mithilfe von Verhaltensversuchen und elektrophysiologischen Untersuchungen verfolgt werden.

Visuelle Aufmerksamkeitsprozesse sollten bei der Wahrnehmung von Beuteobjekten in Verhaltensversuchen mit frei-beweglichen Tieren untersucht werden. Amphibien orientieren sich in ihrem Beutefangverhalten vorwiegend visuell. Die motorischen Aktionen während des Beutefangs bestehen aus einer Orientierungsbewegung, der Annäherung und der Schnappbewegung. Die Orientierungsreaktion zu einem Beuteobjekt sollte in unserem Projekt genutzt werden, um die Wirksamkeit visueller Parameter für das Auslösen einer Hinwendereaktion zu testen. Dabei war es von besonderem Interesse, durch die Präsentation zweier konkurrierender Objekte mit unterschiedlichen visuellen Merkmalen Orientierungspräferenzen zu bestimmen und eine Rangfolge der Wirksamkeit visueller Objekte nach Merkmalkategorien zu erstellen. Die Ergebnisse aus den Verhaltensuntersuchungen sollten für die visuelle Stimulation bei Extrazellulärableitungen im Mittelhirndach (Tectum opticum) dieser Tiere genutzt werden.

Die funktionelle Organisation des Tectum opticum wurde in den letzten Jahren von uns durch Tracerstudien, Einzelzellanfärbungen und immunhistochemische Untersuchungen aufgeklärt. Dabei zeigte sich, dass auch bei Amphibien bei der Wahrnehmung visueller Objekte eine verteilte Verarbeitung von Merkmalen in Neuronenpopulationen stattfindet. Wie innerhalb dieses parallelverarbeitenden Systems eine Objekterkennung mit einer Kategorisierung von Merkmalen geleistet wird, sollte durch die Ableitung von Tectumneuronen untersucht werden. Dabei sollte analysiert werden, ob und wie sich die in den Verhaltensversuchen für die Auslösung einer Orientierungsbewegung als relevant erwiesenen visuellen Merkmale in den Antworteigenschaften der Neurone widerspiegeln. Des Weiteren waren Untersuchungen mit pharmakologischer Beeinflussung der modulatorischen Systeme (vor allem Acetylcholin, Serotonin) im Tectum vorgesehen.

Durch diese Untersuchungen sollen die physiologischen Mechanismen von visuellen Aufmerksamkeitsprozessen auf zellulärer Ebene analysiert und die Auswirkungen auf das Verhalten beschrieben werden.

## 2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm

Die Durchführung des Projektes litt unter der Tatsache, dass die bewilligten Stellen erst zum Februar 2000 (SFB-Stelle) bzw. zum April 2000 (Stelle aus Sondermitteln der Universität) auf Grund fehlender KandidatInnen besetzt werden konnten. Des weiteren musste sich die Antragstellerin während der Projektlaufzeit habilitieren, um als Hochschuldozentin an der Universität weiterbeschäftigt werden zu können. Der Habilitationszeitraum erstreckte sich von 1999 bis zum Abschluss im Sommer 2000. Die nach der Habilitation eingenommene C2-Stelle beinhaltet eine verstärkte Lehrverpflichtung, die sich ebenfalls erschwerend auf die Projektdurchführung auswirkte. Auf Grund der genannten Hindernisse kam es zur zeitverzögerten Durchführung der Untersuchungen. Trotz dieser Schwierigkeiten wurden Teile der geplanten Experimente auf Grund eines erheblichen persönlichen Einsatzes erfolgreich durchgeführt, führen aber zu einem „Publikationsstau“. Die entstandenen Ergebnisse sind oder werden in Kürze als Publikationen eingereicht.

### *A. Verhaltensversuche (Vorversuche Beginn 1999, Verhaltensexperimente Februar 2000)*

Die BAT IIa/2 Stelle zur Durchführung der Verhaltensversuche und der elektrophysiologischen Untersuchungen wurde zum Februar 2000 besetzt. Die Verhaltensversuche bzw. Vorversuche wurden zunächst (d.h. im Laufe des Jahres 1999) von der Antragstellerin im wesentlichen allein durchgeführt. Es wurde ein Versuchsplatz eingerichtet, ein Computerprogramm zur Präsentation visueller Stimuli erstellt, und visuelle Stimuli wurden mit Hilfe eines Computerprogramms angefertigt. Studentische Hilfskräfte testeten zunächst in Vorversuchen Salamander verschiedener Spezies, um eine Auswahl für die Verhaltensexperimente zu treffen.

Die eigentlichen Verhaltensversuche wurden dann an Salamandern der Art *Plethodon jordani* durchgeführt. Das Versuchstier wurde in seiner Heimatbox vor einem TFT-Bildschirm platziert. Ein thin-film-transistor (TFT) Bildschirm wurde verwendet, da Salamander sensibel für elektromagnetische Felder sind und herkömmliche Bildschirme auf Grund ihrer elektromagnetischen Ausstrahlungen meiden. Es wurden computeranimierte Beuteattrappen präsentiert. Diese Attrappen sollten einem natürlichen Beuteobjekt möglichst ähnlich sein. Sie wurden erstellt, indem eine laufende Grille von 1 cm Körperlänge mit einer Videokamera aufgenommen und in den Computer eingelesen wurde, um dann für die verschiedenen Attrappen jeweils ein Merkmal mit Hilfe eines Programms zu verändern. Diese Attrappen unterschieden sich in der Größe, der Bewegungsweise oder dem Kontrast einer Grille, bzw. in

der Geschwindigkeit, mit der diese Grille über den Bildschirm bewegt wurde. Ebenso wurde ein artifizielles Objekt, und zwar ein Rechteck, zur Stimulation verwendet; insgesamt wurden elf Stimuli getestet. Diese wurden zunächst einzeln präsentiert, um festzustellen, ob jeder Stimulus von den Versuchstieren mit einer Orientierungsreaktion beantwortet wurde. Dann wurden jeweils zwei Stimuli gepaart und simultan in zufallsgenerierten Kombinationen dargeboten, wobei sich ein Stimulus vom Zentrum des Bildschirms aus nach rechts und der andere nach links bewegte. Die Fütterung der Tiere erfolgte ausschließlich mit lebenden Grillen von 1 cm Größe; die Grillen wurden zufallsgeneriert nur während der Versuchsdurchläufe mit einer Pinzette vor dem Bildschirm geboten. Die Orientierungsreaktion der Tiere bzw. ihr Ausbleiben wurde protokolliert. In der statistischen Auswertung wurde mit Hilfe der „Maximum-likelihood“-Methode ein Präferenz-Index erstellt, um die Wahrscheinlichkeit einer Reaktion auf die verschiedenen Stimuli zu berechnen. Des Weiteren wurde eine Clusteranalyse mittels der „Complete-linkage“-Methode durchgeführt, bei der Stimuli mit ähnlichen Reaktionswahrscheinlichkeiten zusammengefasst werden. Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. Christian Eurich, Institut für Theoretische Neurophysik, Universität Bremen (Projekt B3).

#### *B. Elektrophysiologische Untersuchungen (Beginn Januar 2001)*

Nach Abschluss der Verhaltensversuche und Auswertung der Daten konnte im Januar 2001 mit den elektrophysiologischen Untersuchungen an Salamandern der Spezies *Plethodon jordani* begonnen werden. Diese Untersuchungen dauern zur Zeit noch an.

Um die physiologischen Eigenschaften bei der Wahrnehmung eines einzelnen Stimulus oder zweier konkurrierender Stimuli zu untersuchen, werden extrazelluläre Ableitungen im Tectum mesencephali durchgeführt. Die Tiere werden betäubt, die Schädeldecke wird im Bereich des Tectums eröffnet. Anschließend werden die Tiere immobilisiert und vor einem Bildschirm im Abstand von 15 cm positioniert. Eine Glaselektrode wird in das Tectum eingeführt und die neuronale Aktivität tectaler Neurone bei visueller Stimulation registriert. Zur visuellen Stimulation werden dieselben Stimuli wie im Verhaltensversuch verwendet, um die neuronale Antwort der Tectumneurone auf diese Stimuli mit dem Auftreten einer Orientierungsreaktion gegenüber den Stimuli im sich verhaltenden Tier in Beziehung setzen zu können. Bei einigen Neuronen wird jeder der elf Stimuli einzeln im rezeptiven Feld präsentiert; bei anderen werden gepaarte Stimuluskombinationen verwendet. Dabei wird jeweils der eine Stimulus innerhalb und der andere außerhalb des rezeptiven Feldes geboten. Für die gepaarte Stimuluspräsentation werden nur drei der insgesamt elf Stimuli miteinander kombiniert,



nämlich jeweils einer aus den drei Gruppen von Stimuli, die sich in den Verhaltensversuchen als signifikant unterschiedlich wirksam herausgestellt hatten (siehe Punkt 3). Die drei ausgewählten Stimuli laufen entsprechend dem Verhaltensversuch gepaart in allen Kombinationen und jeweils simultan: Einer der beiden Stimuli wird von der Peripherie über das Zentrum zur gegenüberliegenden Peripherie des rezeptiven Feldes bewegt, der andere Stimulus wird außerhalb des rezeptiven Feldes gegenläufig bewegt, d.h. vom anderen Stimulus fort. Die Stimuluskombination wird für eine Dauer von vier Sekunden präsentiert, jede zwischen fünf und zehn mal mit einer Pause von 10 Sekunden zwischen den einzelnen Durchläufen. Registriert wird die absolute Anzahl der Aktionspotentiale während der Stimulation, die durchschnittliche Impulsrate und die Dauer der neuronalen Aktivität.

### *C. Immunhistochemische und neuroanatomische Untersuchungen*

Begleitend zu den physiologischen Untersuchungen wurde die Chemoarchitektur des reticulo-tectalen Systems untersucht. Dies erfolgte zum Teil in Kombination mit Traceranfärbungen. Diese Arbeiten waren notwendig, um weitere Kenntnisse über die neuromodulatorische Wirkung der reticulären Formation auf das Tectum im Zusammenhang mit der Aufmerksamkeitskontrolle zu erhalten. Sie wurden durch die Bereitstellung einer BAT IIa/2-Stelle durch Sondermittel der Universität für den SFB ermöglicht. Diese Stelle wurde zum April 2000 besetzt.

Die Verteilung der klassischen Neurotransmitter GABA, Glycin und Glutamat entlang der rostrocaudalen Ausdehnung der Medulla oblongata wurde untersucht. Im Weiteren wurden Kolokalisationen dieser Neurotransmitter an Semidünnschnitten der rostralen und caudalen Medulla in den Somata nachgewiesen. Für einen Transmitternachweis medullärer Kerne mit Projektion zum Tectum mesencephali wurden Traceranfärbungen mit immunchemischen Nachweismethoden kombiniert. Ein fluoreszierender Tracer wurde in eine Tectumhälfte injiziert, um medulläre Projektionsneurone retrograd über die Axone anzufärben. Gleichzeitig erfolgte ein immunhistochemischer Nachweis von GABA bzw. Glycin gekoppelt mit einem Fluoreszenzfarbstoff. Eine Untersuchung des reticulo-tectalen Systems erfolgte an den Salamanderarten *Plethodon jordani* und *Hydromantes genei*. Zur Zeit werden Kolokalisationsuntersuchungen der Transmitter GABA und Glutamat und von ChAT (Cholinacetyltransferase) im Tectum von *Plethodon jordani* durchgeführt.

Schließlich wurde die Organisation des Tectum des Frosches *Eleutherodactylus coqui* durch Traceranfärbungen untersucht, um die Grundlagen für einen Vergleich der visuellen und

visuomotorischen Verhaltenssteuerung von Salamandern und Fröschen zu schaffen. *Eleutherodactylus coqui* zeichnet sich durch ein morphologisch komplexeres und evoluiertes Gehirn aus, welches sich in einer starken Laminierung des Tectum und einer erhöhten Zahl morphologisch unterschiedlicher Neuronentypen auszeichnet. Dieser terrestrisch lebende Frosch stammt aus Mittelamerika und ist ein akrobatischer Springer, der seine Beute auf größere Distanzen wahrnimmt als die untersuchten Salamander. Diese Arbeit wurde im Herbst 2000 begonnen, als Diplomarbeit fortgesetzt und derzeit ausgewertet. Ein Fluoreszenztracer wurde an einem in vitro-Ganzhirnpräparat in das Chiasma opticum oder in den ventralen Thalamus appliziert; ein anderer in die Medulla oblongata auf der Höhe des VII Hirnnervens aufgetragen, um die tectalen Projektionsneurone retrograd anzufärben. Mit Hilfe eines konfokalen Lasermikroskops wurden der Sitz der Somata, die Morphologie des Dendritenbaums und das axonale Projektionsmuster ausgewertet.

Weitere Untersuchungen zur Verschaltung des Tectum mit thalamischen und telencephalen Gebieten wurden von der Antragstellerin im Jahr 1999 begonnen und im Antragszeitraum fortgesetzt. Diese Untersuchungen umfassen die Aufklärung der Cytoarchitektur und Verbindung des Thalamus mit Hilfe von Tracersubstanzen an in-vitro-Ganzhirnpräparaten und werden vergleichend an Salamandern (*Plethodon jordani*, *Pleurodeles waltl*) und Fröschen (*Eleutherodactylus coqui*, *Bombina orientalis*) vorgenommen. Die unterschiedlichen Arten gehören verschiedenen Familien an, die sich durch unterschiedliche Lebensweise (terrestrisch, semiaquatisch) und durch unterschiedliche grobmorphologische Anatomie des Gehirns unterscheiden.

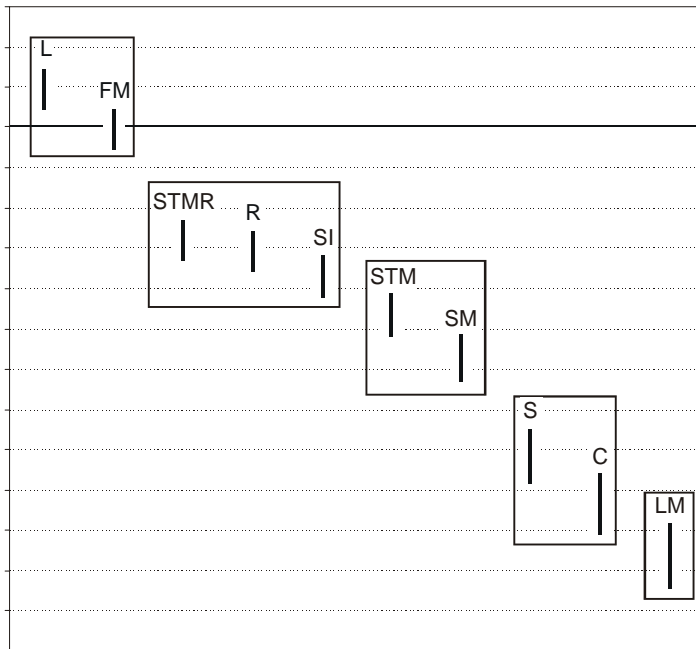
### **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

#### *Die Effekte visueller Merkmale auf das Orientierungsverhalten von Salamandern*

In den Vorversuchen zeigte sich, dass jedes getestete Tier mit einer Orientierung des Kopfes auf die Einzelpräsentation der verwendeten Stimuli reagierte. Die Reaktionsbereitschaft blieb konstant über die Monate und ist wahrscheinlich auf die zufallsverteilte Belohnung mit einer lebenden Grille zurückzuführen. In früher durchgeführten Verhaltensversuchen, in denen Verhaltensreaktionen ohne Belohnung getestet wurde, hatte sich in aller Regel eine schnelle Habituation gezeigt, und die Tiere reagierten schon nach mehreren Präsentationen nicht mehr mit Orientierungs-, Annäherungs- und/ oder Schnappverhalten, sondern wendeten sich ab. Bei der Präsentation gepaarter Stimuli führten durchschnittlich 88% der Präsentationen zu einer Orientierungsreaktion in Richtung eines der beiden präsentierten Stimuli. In den hier

durchgeführten Versuchen war die absolute Häufigkeit der Orientierungsreaktionen bei allen Tieren durchschnittlich bei dem Stimulus „große, mit Standardgeschwindigkeit bewegte Grille“ (L) am höchsten und nahm in folgender Reihenfolge ab: „schnell bewegte Grille“ (FM); „Standardgrille“ (ST, also der in den Merkmalen unveränderten, mit Standardgeschwindigkeit bewegten Grille); „ruckend bewegtes Rechteck“ (STMR); „mit Standardgeschwindigkeit bewegtes Rechteck“ (R); „mit Standardgeschwindigkeit bewegte Grille ohne Eigenbewegung“ (SI); „ruckend bewegte Grille“ (STM); „langsam bewegte Grille“ (SM); gefolgt von der „kleinen, mit Standardgeschwindigkeit bewegten Grille“ (S); der „kontrastreduzierten, mit Standardgeschwindigkeit bewegten Grille“ (C); und mit geringster Häufigkeit die „auf der Stelle laufende Grille“ (LM). Diese Reihenfolge der Stimuli blieb gleich, wenn die vorliegenden Daten für alle Tiere zusammen mit der „Maximum-likelihood“-Methode auf die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Orientierungsbewegung getestet wurde.

Durch eine Clusteranalyse (Bestimmung nach der „Complete-linkage“-Methode) konnten die Stimuli innerhalb der Rangfolge in fünf Cluster gruppiert werden. Dabei zeigte sich, dass die nach absoluter Häufigkeit erstellte Rangfolge der Stimuli zwar in der Reihenfolge gleich war, aber einen kontinuierlichen Abfall der Präferenz anzeigte, wohingegen sich nach der „Maximum-likelihood“-Methode eine deutliche Gruppierung in drei große, klar voneinander abgesetzte Gruppen ergab. Die Stimuli L, FM und St gehörten zum höchstpräferierten Cluster und überlappten in ihren Vertrauensintervallen nicht mit dem zweiten Cluster, das die Stimuli STMR, R und SI enthielt. Das dritte Cluster umfasste die Stimuli STM und SM, die in den Vertrauensintervallen teilweise mit den Stimuli im zweiten Cluster überlappten. Das vierte Cluster mit den Stimuli S und C und das fünfte Cluster mit dem einzigen Stimulus LM setzten sich wieder deutlich vom dritten Cluster ab (siehe Abb. 1). Bei der Analyse der Daten für die einzelnen Tiere nach der „Maximum-likelihood“-Methode war die Reihenfolge in Bezug auf die Stimulusgruppe mit hoher Präferenz (1. Cluster) und die Gruppe mit niedriger Präferenz (4. und 5. Cluster) gleich, variierte aber innerhalb der Gruppe mit mittlerer Präferenz (2. und 3. Cluster).



**Abb. 1** Präferenz-Skala für die verschiedenen Stimuli mit Hilfe der „Maximum-likelihood“ Methode. Die dicke horizontale Linie stellt die Wahrscheinlichkeit einer Orientierungsreaktion auf den Stimulus „Standardgrille“ als Grundlinie für die Wahrscheinlichkeit einer Reaktion auf die anderen Stimuli dar. Vertikale Balken zeigen das Vertrauensintervall für jeden Stimulus an; die Rahmen kennzeichnen die Cluster („Complete-linkage“ Methode), d.h. die Stimuli mit ähnlicher Wirksamkeit. Abkürzungen: L = große Grille; FM = schnell bewegte Grille; STMR = ruckend bewegtes Rechteck; R = mit Standardgeschwindigkeit bewegtes Rechteck; SI = Grille ohne Eigenbewegung; STM = ruckend bewegte Grille; S = kleine Grille; C = kontrastreduzierte Grille; LM = am Ort „laufende“ Grille.

Die Ergebnisse zeigen insgesamt, dass bestimmte Merkmale von Beuteobjekten, in diesem Fall *Größe* und *Geschwindigkeit*, vorrangig zum Auftreten einer Orientierungsreaktion führen. Daraus lässt sich schließen, dass auch den schnellen Orientierungsreaktionen des Salamanders eine genaue Merkmalsanalyse vorhergeht. Bisher wurde angenommen, dass bei Amphibien eine Orientierungsreaktion reflexartig durch bloße Bewegung der Beute ausgelöst wird.

Wenn der rechte und linke Stimulus bei der Präsentation identisch waren, blieb eine Orientierungsreaktion vermehrt aus, nämlich bei 63% aller ausbleibenden Reaktionen. Das Ausbleiben der Reaktionen bei *identischer* Stimuluskombination war höchstsignifikant ( $p < 0.0001$ ) gegenüber der Kombination *unterschiedlicher* Stimuli. Wenn das Ausbleiben einer Orientierungsreaktion auf Grund identischer Stimuluskombinationen nicht berücksichtigt wird, wurden nur 5% aller Präsentationen *nicht* mit einer Orientierungsbewegung beantwortet. Dies deutet darauf hin, dass das Ausbleiben einer Orientierungsreaktion eher einen Interpretationskonflikt im neuronalen System anzeigt, und weniger auf fehlende Motivation zurückzuführen ist.

Ein statistischer Test auf das Vorhandensein von Seitenpräferenzen zeigte keinen Effekt für die zusammengenommenen Daten aller Tiere. Für zwei Tiere wurde ein signifikanter Effekt bei der Einzelanalyse der Tiere festgestellt, für ein Tier für die rechte ( $p < 0.01$ ) und für ein anderes für die linke Seite ( $p < 0.02$ ). Dieses Ergebnis ist aber zu vernachlässigen, da der Effekt nicht hochsignifikant war. Eine Seitenpräferenz würde im Durchschnitt alle Antworten einer Seite betreffen, und die Rangfolge würde sich deshalb nicht verändern.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind unter dem Titel: *The effect of stimulus features on the visual orienting behavior in the salamander *Plethodon jordani**. zur Veröffentlichung beim *Journal of Experimental Biology* eingereicht. Ein Teil der Daten wurde als Abstract veröffentlicht.

*Das Antwortverhalten tectaler Neurone bei der Präsentation visueller Stimuli mit unterschiedlichen Merkmalen*

Für die Extrazellulärableitungen wurden bisher 28 Tiere (*Plethodon jordani*) verwendet; insgesamt wurde bislang von 56 Neuronen im Tectum mesencephali abgeleitet. Die Ableitorte waren über das gesamte Tectum in rostrocaudaler und mediolateraler Ausdehnung verteilt. Zur Stimulation wurden die verschiedenen Stimuli aus dem Verhaltensversuch übernommen. Bei einigen Tieren wurde während der Ableitversuche jeder der insgesamt elf Stimuli einzeln geboten, bei anderen wurden gepaarte Stimuli verwendet. Im letzteren Fall wurde der Stimulus L mit der höchsten Orientierungspräferenz (siehe oben), der Stimulus SI mit mittlerer Präferenz oder der Stimulus C mit geringer Präferenz untereinander gepaart. Zwanzig abgeleitete Neurone waren spontanaktiv, 36 waren nicht spontanaktiv. Die Ableitorte dieser beiden Neuronengruppen waren ebenfalls über das gesamte Tectum verteilt. Um den Sitz des Somas und die Morphologie des Dendritenbaums bei den abgeleiteten Neuronen zu ermitteln, wurde bei einigen Neuronen nach der Ableitung ein Farbstoff iontophoretisch appliziert (sog. juxtazelluläre Anfärbungen). Bisher war dies auf Grund methodischer Probleme nicht erfolgreich; zur Zeit durchgeführte iontophoretische Farbstoffinjektionen zeigen aber erste Erfolge. Aus diesem Grund konnte die Ableittiefe nur ungefähr durch Ablesen am Mikromanipulator bestimmt werden. Die 36 nicht spontanaktiven Neuronen wurden hauptsächlich in den oberen Schichten des *Tectum opticum* abgeleitet (200 - 300  $\mu\text{m}$  Tiefe), während sich spontanaktive Neurone überwiegend in tieferen Schichten befanden (400 - 600  $\mu\text{m}$ ). Auf Grund der bereits untersuchten Cytoarchitektur des Tectum kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei der ersteren Neuronengruppe hauptsächlich um Projektionsneurone handelt. Bis zu diesem Zeitpunkt wurde dieser nicht spontanaktive Neuronentyp einer statistischen Auswertung unterzogen.

Bei 14 der 36 Neuronen wurde das rezeptive Feld (RF) im kontralateralen und bei 7 Neuronen im ipsilateralen Gesichtsfeld lokalisiert. Fünfzehn Neurone hatten ihr RF im frontalen Gesichtsfeld, davon betrug bei 7 Neuronen die RF-Größe über 180 Grad, so dass sie nicht außerhalb des RF stimuliert werden konnten. Bei den restlichen 29 Neuronen lag die RF-

Größe zwischen 10 und 180 Grad. Bisher wurden 12 Neurone ausgewertet, deren RF-Größe von 25 - 30 Grad betrug.

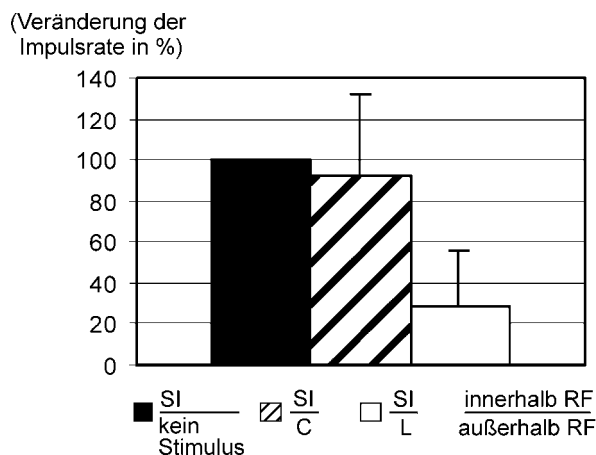
Bei Präsentation unterschiedlicher Stimuli zeigte sich, dass die induzierte Aktivität von Neuronen bei einigen der insgesamt elf Stimuli, z.B. der „großen, mit Standardgeschwindigkeit bewegten Grille“ (L) und der „langsam bewegten Grille“ (S), mit einer höheren (L) und niedrigeren (S) Impulsrate einherging, ähnlich wie diese Stimuli im sich verhaltenden Tier häufiger (L) und wenig häufig (S) eine Orientierungsreaktion auslösten. Andere Stimuli wie die „schnell bewegte Grille“, die im Verhalten besonders häufig eine Orientierungsreaktion auslöste, führten zu geringer oder keiner Aktivierung von Neuronen. Dies lässt vermuten, dass tatsächlich einige der abgeleiteten Neurone, nämlich die mit erstgenannten Antworteigenschaften, Verbindung zur Prämotorik haben, das „Endprodukt“ einer sensorischen Verarbeitung kodieren und somit ein sensomotorisches Interface darstellen. Andere Neurone sind offenbar innerhalb einer Population eher in die sensorische Verarbeitung involviert und verarbeiten bestimmte Merkmalskombinationen von Objekten in unterschiedlicher Gewichtung.

Bei der gepaarten Stimuluspräsentation wurden drei der insgesamt elf Stimuli verwendet; dabei wurde einer der Stimuli *innerhalb* und der andere *außerhalb* des rezeptiven Feldes präsentiert. Es wurden nur Neurone mit einer rezeptiven Feldgröße unter 90 Grad ( $n = 30$ ) verwendet, da

-bedingt durch die Bildschirmgröße- eine Stimuluspräsentation außerhalb des RF nur so möglich war. Bei größeren RF wäre die Präsentation der Stimuli nur in Teilbereichen des RF möglich gewesen.

Die Neurone antworteten mit einer Erhöhung der Impulsfrequenz auf die Präsentation des Stimulus „große, mit Standardgeschwindigkeit bewegte Grille“ (L) im RF. Acht dieser 30 Neurone antworteten jedoch nicht auf die Präsentation des Stimulus „mit Standardgeschwindigkeit bewegte Grille ohne Eigenbewegung“ (SI) oder des Stimulus „kontrastverminderte, mit Standardgeschwindigkeit bewegte Grille“ (C) im RF. Die restlichen 22 Neurone zeigten eine hohe (L), mittlere (SI) oder niedrige (C) neuronale Aktivität bei der einzelnen Präsentation der drei genannten Stimuli im RF und entsprachen damit ihrer Wirkung in den Verhaltensversuchen bei gepaarter Stimuluspräsentation. Wenn die für die Neurone gemittelte Impulsfrequenz bei der Präsentation des Stimulus L im RF als 100% Aktivität definiert wird, so verringerte sich die Impulsfrequenz um durchschnittlich 40 % bei der Präsentation des Stimulus SI und um durchschnittlich 73 % bei der des Stimulus C.

Bei gepaarter Stimuluspräsentation mit jeweils einem Stimulus innerhalb und außerhalb des RF wurde bei 16 von 22 Neuronen die neuronale Aktivität durch einen Stimulus *außerhalb* des rezeptiven Feldes beeinflusst. Dabei veränderte sich nach Einzelpräsentation des Stimulus SI im RF die Impulsrate der Neurone kaum, wenn gleichzeitig C außerhalb des RF präsentiert wurde. Bei der Stimuluskombination SI im RF und L außerhalb des RF verringerte sich hingegen die Impulsrate um durchschnittlich 60 % (siehe Abb. 2). Dieses Ergebnis zeigt, dass die Aktivität von Neuronen bei der Wahrnehmung von Objekten mit bestimmten Merkmalskonfigurationen massiv inhibiert werden kann, wenn andere Neuronenpopulationen durch Objekte mit anderer Merkmalskombination aktiviert werden.



**Abb. 2** Durchschnittliche Veränderung der Impulsrate tectaler Neurone ( $n = 12$ ) bei visueller Stimulation. Die Impulsrate bei Präsentation des Stimulus SI (bewegte Grillenattrappe ohne Eigenbewegung) im rezeptiven Feld wurde als 100% gesetzt. Nachfolgend wurden gepaarte Stimuli (ein Stimulus innerhalb und der andere außerhalb des RF) präsentiert. C = kontrastreduzierte Grillenattrappe; L = große Grillenattrappe. Vertikale Balken = Standardabweichung.

Im Verlauf der Stimulationszeit von 4 Sekunden konnte bei der Einzelpräsentation der drei Stimuli zunächst ein Anstieg der Impulsrate beobachtet werden, bis der Stimulus das Zentrum des RF erreicht hatte. Zur Peripherie des RF hin fiel die Impulsrate wieder ab. Dies zeigte sich auch bei gepaarter Stimuluspräsentation des Stimulus SI im RF und des Stimulus C außerhalb des RF. Bei Präsentation des Stimulus L außerhalb des RF zeigte sich ein entgegengesetzter Effekt, indem die Impulsrate im RF-Zentrum am geringsten war. Diese zeitliche Komponente kann durch die intrinsischen Eigenschaften der Geometrie des Dendritenbaums als auch durch Inhomogenitäten des dynamischen rezeptiven Feldes verursacht sein und funktionell zu einer höheren Ortsauflösung der wahrgenommenen Objekte bei der Aktivierung vieler solcher benachbarter Neurone beitragen.

Von den 20 spontanaktiven Neuronen konnten 4 nicht durch visuelle Stimulation beeinflusst werden. Ein Großteil der übrigen 16 Neurone hatten rezeptive Feldgrößen von über 100 Grad, was die Durchführung der gepaarten Stimuluspräsentationen problematisch machte. Bei 7 Neuronen waren die RF im kontralateralen Gesichtsfeld lokalisiert, bei 3 Neuronen im ipsilateralen und bei 6 Neuronen im bilateralen Gesichtsfeld. Bei 4 der 16 Neuronen betrug die Größe des RF über 180 Grad, so dass eine Stimulation außerhalb des RF aus

methodischen Gründen nicht möglich war. Fünf der 16 Neuronen konnten durch Einzelstimuluspräsentation als auch durch gepaarte Stimuluspräsentation in ihrer Aktivität beeinflusst werden. Bei den übrigen 11 Neuronen kam es bei Einzelpräsentation der Stimuli im RF zwar auch zu einer Erhöhung der Impulsfrequenz und zu Unterschieden in der Wirksamkeit der verschiedenen Stimuli ähnlich wie bei den nicht spontanaktiven Neuronen, jedoch war dies nur gelegentlich der Fall bzw. nicht für alle Präsentationsdurchläufe. Acht dieser 11 Neurone konnten bei gepaarter Stimuluspräsentation durch den Stimulus außerhalb des RF nicht beeinflusst werden.

Diese Resultate deuten an, dass Neuronensembles während der Wahrnehmung von Objekten stark miteinander interagieren. Diese dynamischen Prozesse sind auch wirksam, wenn Objekte weiter voneinander entfernt in verschiedenen Bereichen des Gesichtsfeldes auftauchen. Ihnen liegen vermutlich nicht nur lokal wirkende, d.h. zwischen direkt benachbarten Neuronen, sondern auch global, auf größere Populationen wirkende Mechanismen zugrunde. Kandidaten für solche Beeinflussungen sind die neuromodulatorischen Systeme des Tegmentum und der *Formatio reticularis*, die in das Tectum projizieren und vermutlich selektiv über Regelschleifen auf die Aktivität tectaler Neurone einwirken (s. unten).

Teile der Ergebnisse aus den elektrophysiologischen Untersuchungen wurden als Abstract veröffentlicht. Eine Veröffentlichung wird nach Abschluss der zur Zeit durchgeführten elektrophysiologischen Untersuchungen von Neuronen stattfinden, wenn genügend Daten für die statistische Auswertung unter den verschiedenen Stimulationsbedingungen vorliegen. Des weiteren sollen diese Daten genutzt werden, um in Zusammenarbeit mit Dr. Christian Eurich, (bisher Teilprojekt B3, beantragtes Teilprojekt B7) ein neuronales Modell für die Aufmerksamkeitssteuerung zu erstellen.

#### *Immunhistochemische und anatomische Organisation der *Formatio reticularis* und reticulo-tectale Projektionen*

Diese Untersuchungen wurden durchgeführt, um den Ursprung von Projektionen in das Tectum zu lokalisieren und die dabei wirksamen Transmitter zu bestimmen. Eine serotonerge Projektion der Raphekerne in das Tectum wurde bereits von uns identifiziert, ebenso wurde eine cholinerge Projektion des tegmentalen Nucleus isthmi beschrieben. Reticulo-tectale Projektionen hingegen wurden zwar allgemein beschrieben, aber nicht weiter charakterisiert. Eine genaue Beschreibung der Zellgruppen in der Medulla oblongata einschließlich ihrer



Transmitterausstattung wurde deshalb von uns vorgenommen. Die Ergebnisse sind die Grundlagen für die Auswahl der Substanzen für die pharmakologischen Untersuchungen ebenso wie für die geplante Analyse der synaptischen Verschaltung mit Hilfe von Rezeptornachweisen.

Bei der Analyse der immunhistochemischen Daten ließ sich die Medulla oblongata anhand anatomischer Landmarken in vier Longitudinalzonen einteilen, nämlich in eine dorsale und eine laterale Zone, welche die sensorische Flügelplatte bilden und eine mediale und mediane Zone, welche die motorische Grundplatte bilden. In der dorsalen Zone befindet sich der Nucleus dorsalis mit auditorischen und substratgebundenen vibratorischen Eingängen, in der lateralen Zone ist der Nucleus vestibularis lokalisiert. In der medialen Zone befindet sich der Nucleus reticularis medius; die mediane Zone enthält die Nuclei raphes. Diese genannten Kerngebiete projizieren alle zum Tectum mesencephali.

Die Medulla oblongata von Salamandern ist in eine dorsal gelegene, periventrikuläre Zellkörperschicht und eine ventral gelegene Faserschicht zweigeteilt. GABAerge, glycinerge und glutamaterge Somata wurden hauptsächlich in der Zellschicht der Medulla lokalisiert; vereinzelt wurden GABAerge oder glycinerge Somata in der Faserschicht gefunden.

Die Verteilung der untersuchten Neurotransmitter variiert innerhalb der vier verschiedenen Longitudinalzonen der Medulla oblongata, und zwar sowohl in der rostrocaudalen Ausdehnung als auch im Querschnitt von medial nach lateral. Anhand der ermittelten Häufigkeiten und der Verteilung der immunreaktiven Zellen lässt sich die rostrale Medulla oblongata, die sich nach caudal bis zur Höhe des Eintrittes des neunten Cranialnerven erstreckt, von der caudalen Medulla unterscheiden. Im Bereich der rostralen Medulla kommen die meisten immunpositiven Neurone in der medialen Zone der reticulären Formation vor, während in der caudalen Medulla viele immunpositive Zellen auch in der dorsalen und lateralen Zone vorkommen. Die Hauptmenge aller Neurone war glutamaterg (von ca. 35% bis zu 70% in den verschiedenen Zonen). Der höchste Anteil GABAerger und glycinерger Zellen beträgt bis zu 30% in der medialen Zone der rostralen Medulla oblongata und 30-40% in der dorsalen und lateralen Zone der caudalen Medulla.

Kolokalisationsnachweise an Semidünnschnitten zeigten, dass rein glutamaterge Neurone am häufigsten vorkommen (bis zu 45%), während rein GABAerge oder glycinerge Somata bis zu 10% nachgewiesen wurden. Kolokalisationen ließen sich besonders häufig in Gebieten nachweisen, die eine hohe Dichte von Somata aller Transmitter aufzeigten, nämlich in der medialen Zone der rostralen Medulla und der dorsalen und lateralen Zone der caudalen Medulla. Glutamat war dabei häufig mit GABA kolokalisiert (10-20%). Es bleibt ungeklärt,

ob es sich bei diesen Zellen um echte Kolokalisationen handelt, da Glutamat bei der Biosynthese von GABA als Precursor auftritt. Bisherige Nachweise von GAD, dem synthetisierenden Enzym von GABA, waren auf Grund der Nichtspezifität der GAD-Antikörper für die hier untersuchten Salamander nicht erfolgreich. Weiterhin ließen sich bis zu 10% glyciniger Zellen kolokalisiert mit Glutamat oder GABA nachweisen. Ebenso konnten Somata nachgewiesen werden, die sowohl GABA- als auch Glycin- und Glutamat-immunreaktiv waren (<5%).

In der rostralen Medulla oblongata ließen sich folgende Besonderheiten in der Verteilung erkennen: GABAerge Neurone waren innerhalb der Zellkörperschicht überwiegend im dorsalen Teil zu finden, also eher ventrikelnah, und waren in mediolateraler Achse über alle Zonen verteilt. Aufgrund ihrer gleichmäßigen Verteilung in diesen Bereichen handelt es sich bei den meisten GABAergen Zellen vermutlich um Interneurone. Glutamat hingegen kam innerhalb der dorsoventralen Achse der Zellkörperschicht vorwiegend im mittleren Bereich vor; deshalb traten Kolokalisationen von GABA und Glutamat besonders in den dorsalen und mittleren Bereichen der Zellkörperschicht auf. Glycin wurde verstärkt im ventralen Bereich der Zellkörperschicht, d.h. entlang der Grenze zur Faserschicht lokalisiert, so dass Kolokalisationen von Glycin und Glutamat vermehrt in den mittleren und ventralen Bereichen der Zellkörperschicht gefunden wurden. Des weiteren lagen glycinerge Neurone in der dorsalen Zone relativ gleichmäßig verteilt vor, waren aber in der lateralen und medialen Zone in Clustern angeordnet. Der in der medialen Zone gelegene Zellcluster ließ sich in einen lateralen und medialen Subnucleus unterteilen. Die Kolokalisation von Glycin und Glutamat wurde in beiden Subnuclei nachgewiesen. Im lateralen Subnucleus wurden besonders Kolokalisationen von Glycin und GABA gefunden, ebenso wie die Dreier-Kolokalisation von GABA, Glycin und Glutamat. Der mediale Subnucleus wies hingegen viele rein glycinerge Neurone auf.

Anhand von Fluoreszenzdoppelmarkierungen für die Transmitter GABA oder Glycin und einem Tracer konnte nachgewiesen werden, dass es sich bei den glycinergen Zellclustern in der medialen Zone der Medulla oblongata um Zellen des medialen reticulären Nucleus handelt, die aufsteigend in die tieferen Schichten des Tectum projizieren. Das Vorhandensein von glycinergen Fasern in diesen Schichten war auf Grund immunchemischer Untersuchung des Tectum bereits bekannt. Weiterhin konnten glycinerge Projektionsneurone des vestibulären Nucleus in der lateralen Zone identifiziert werden. Bisher wurde davon ausgegangen, dass die aufsteigende Projektion aus dem medialen Kern der Formatio reticularis Einfluss über die Ausschüttung von Glutamat nimmt. Es konnte aber für das

Tectum zweifelsfrei festgestellt werden, dass Glycin der Transmitter dieses aufsteigenden reticulären Systems ist.

Immunnegative Zellcluster konnten besonders in der medialen und lateralen Zone der rostralen Medulla an der Grenze zur Faserschicht und in der medianen Zone der rostralen Medulla identifiziert werden. Bei den beiden ersteren Clustern handelt es sich um cholinerge Motorneurone und beim letzteren um die serotonergen Raphekerne.

In der caudalen Medulla oblongata kamen alle drei Neurotransmitter sowie ihre Kolokalisationen in den vier Longitudinalzonen relativ gleichmäßig verteilt vor. Es konnten keine transmitterspezifischen Zellcluster nachgewiesen werden.

Diese Befunde lassen zusammengenommen erkennen, dass die rostrale Medulla oblongata einen starken Einfluss auf das Mittelhirn ausübt. Zusätzlich zu den serotonergen Projektionen der Raphekerne in die retinalen Schichten des Tectum gibt es starke Projektionen zum Tectum aus dem medialen retikulären und dem vestibulären Kerngebiet. Diese sind zu einem großen Teil glycinerg und projizieren in die tectalen Schichten, in denen die Axone und Primärdendriten der Tectumneurone verlaufen und in denen sich auch die Dendritenbäume bestimmter Neuronentypen befinden. Eine Beeinflussung der visuellen Verarbeitung durch glycinerge Fasern könnte also besonders effektiv werden, wenn synaptische Kontakte zu Axonen und somanah gelegenen Primärdendriten bestehen würden. Zudem ist aus von uns durchgeführten Doppelanfärbungen bekannt, dass die Raphekerne nicht nur zum Tectum, sondern auch parallel zum medialen reticulären Kern projizieren. Das reticulo-tectale Netzwerk ist also in komplexer Weise verschaltet.

Die Ergebnisse wurden zur Veröffentlichung beim Journal of Comparative Neurology eingereicht. Titel: The distribution of GABA, glycine and glutamate in neurons of the medulla oblongata and their projections to the midbrain tectum in plethodontid salamanders. Teile der Ergebnisse zur Verteilung von GABA und Glycin wurden als Abstract veröffentlicht.

*Das Tectum mesencephali und seine Projektionsneurone bei Eleutherodactylus coqui.*

Das Tectum von Fröschen besteht aus neun Faser- und Zellkörperschichten unterschiedlicher Dicke und Dichte. Es wurden fünf Neuronentypen mit absteigenden Axonen zur Medulla oblongata identifiziert; davon besaßen vier dieser fünf Neuronentypen gleichzeitig ein aufsteigendes Axon zum Thalamus. Die Axone eines sechsten Neuronentyps projizierten nur aufsteigend zum Thalamus.

Fünf dieser Neuronentypen konnten mit denen von Salamander homologisiert werden. So besitzt der Neuronentyp mit rein absteigenden Axonen einen Dendritenbaum, der sich bis zu den oberflächlichen retinalen Schichten erstreckt; er ist der einzige Typ, dessen Axon im Tegmentum zur Gegenseite kreuzt und weiter absteigt. Von den restlichen vier Neuronentypen mit ab- und aufsteigenden Axonen wurden drei auch bei Salamandern gefunden, nämlich zwei mit je einem breiten oder schlanken Dendritenbaum in den retinalen Schichten, aber nur mit wenigen Dendriten zur Oberfläche greifend, und mit ipsilateral absteigenden Axonen zur Medulla, die dort im ventrolateralen Teil verlaufen. Ein dritter, ebenfalls bei Salamandern beschriebener Typ besitzt einen tiefer in den Faserschichten arborisierenden weiten Dendritenbaum und ein ipsilateral absteigendes Axon. Unklar ist, ob diese drei Neuronentypen ipsi- und kontralateral aufsteigende Axone zum Thalamus besitzen. Der fünfte bei *Eleutherodactylus coqui* identifizierte Neuronentyp mit ab- und aufsteigendem Axon wurde nicht bei Salamandern gefunden. Er zeichnet sich durch einen Dendritenbaum aus, der schräg nach dorsal, über weite Distanz verlaufende Primärdendriten in den retinalen Schichten besitzt und Neuropile an den Terminalien der Primärdendriten aufweist. Dadurch umspannt der Dendritenbaum insgesamt eine beträchtliche Weite, die nur punktuell, nämlich an den Neuropilen, dichte Arborisation besitzt. Der Neuronentyp mit rein aufsteigenden Axonen ist ebenso wie bei Salamandern der häufigste, und hat mittelgroße Dendritenbäume in den retinalen Schichten.

Bei Salamandern befinden sich die Somata der Projektionsneurone mehrheitlich in der dorsal gelegenen Schicht 6 der beiden Zellkörperschichten. Bei Fröschen, die eine deutlichere Schichtung des Tectum mit mehr migrierten Somata aufweisen, sitzen die Somata der Projektionsneurone in den Schichten 2, 4, 6, 7 und 8. Dabei befinden sich diejenigen von solchen Typen mit rein aufsteigenden Axonen vermehrt in den Schichten 7 und 8; die anderen befinden sich bevorzugt in Schicht 6, und weniger in den Schichten 4 und 2.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die tectale Organisation von Salamandern und Fröschen ähnlich ist. Der Frosch *Eleutherodactylus coqui* hat zwar ungefähr 17 mal mehr Neurone im Tectum als ein Schleuderzungensalamander, aber offenbar keine prinzipiell andere cytoarchitektonische Ausstattung. Frösche und Salamander unterscheiden sich in ihren visuellen Leistungen durch die Größe des visuellen Gesichtsfeldes, nämlich eine Rundumsicht bei Fröschen und ein frontal ausgerichtetes Gesichtsfeld bei Salamandern. Des weiteren können Frösche über weitere Distanzen sehen als Salamander. Deshalb ist es wichtig zu untersuchen, ob die bei Salamandern gefundenen Ergebnisse zur visuellen Aufmerksamkeitssteuerung bei Fröschen ähnlich sind oder sich grundsätzlich unterscheiden.

Von Interesse ist dabei die Frage, ob diese deutlich höhere Zahl von Neuronen zu einer veränderten visuellen Aufmerksamkeits- und Lernleistung beiträgt.

#### *Tecto-thalamo-telencephale Verbindungen bei Amphibien*

Parallel zu den geschilderten Ergebnissen wurden Resultate aus einer vergleichenden Tracerstudie an Salamandern und Fröschen gewonnen. Die Aufklärung der Verschaltung des Tectum mit dem Thalamus und der weiteren Verbindung zum Telencephalon ist eine Untersuchung größeren Umfangs, welche die Antragstellerin zum Teil in Kooperation mit Projekt A5 durchführt. Teilergebnisse dieser Untersuchungen wurden zusammengefasst dargestellt in der im Jahr 2000 angefertigten Habilitationsschrift der Antragstellerin. Eine Veröffentlichung dieser Ergebnisse ist geplant und erfolgt teilweise in Kooperation mit Teilprojekt A5.

Die Untersuchungen zur Organisation der thalamischen Kerngebiete sind für dieses Projekt von Bedeutung, da die visuelle tectale Verarbeitung vermutlich auch durch thalamische Eingänge beeinflusst wird. Der Thalamus erhält wie das Tectum direkte retinale Eingänge und ist reziprok mit dem Tectum verbunden. Gleichzeitig haben thalamische Kerne Verbindung zu einer Reihe von telencephalen Gebieten, z.B. den Basalganglien, der Amygdala, dem Septum und dem medialen und dorsalen Pallium. Visuelle Information über die thalamo-telencephalo-thalamische Schleife scheint nach ersten Erkenntnissen auf Grund ihrer anatomischen Verknüpfung eher einem limbischen „Pfad“ zu entsprechen. Ob und mit welchen Inhalten diese durch den Thalamus erfolgte Verarbeitung das Tectum in seinen Leistungen tatsächlich beeinflusst, gilt es dabei in erster Frage zu klären. Eine detaillierte Bestandsaufnahme der Verbindungen ist demnach der erste Schritt zur Aufklärung der thalamo-tectalen Interaktion bei der visuellen Aufmerksamkeitssteuerung.

Unsere Untersuchungen haben ergeben, dass thalamische Projektionsneurone sich in fünf große Gruppen untergliedern. Eine zahlenmäßig große dorsal gelegene Gruppe hat aufsteigende Projektionen zum dorsalen und ventralen Striatum und zur lateralen Amygdala, und eine im anterioren Thalamus befindliche, zahlenmäßig kleine Gruppe von Neuronen projiziert zur medialen Amygdala, zum Septum und zum medialen und dorsalen Pallium. Die Neurone einer weiteren dorsal gelegenen Kerngruppe entsenden ihre Axone nur in das basale Telencephalon, und zwar zum ventralen Striatum, zur Amygdala und zum Septum. Eine vierte Neuronengruppe mit Sitz im dorsalen und ventralen Thalamus hat ausschließlich Projektionen zum Prätectum und Tectum, andere Neurone des ventralen Thalamus entsenden ihre Axone nur zum Tegmentum und zur Medulla oblongata. Es bleibt ungeklärt, wie groß der Anteil der

Interneurone im Thalamus ist, da sich bei in vitro-Einzelzelluntersuchungen mit elektrischer Stimulation des Sehnerven nur Projektionsneurone ableiten und anfärben ließen. Im Zusammenhang mit Gedächtnis- und Aufmerksamkeitsleistungen ist die Interaktion des Thalamus mit dem medialen und dorsalen Pallium besonders wichtig.

Weitere Tracerstudien sind notwendig, um ein vollständiges Bild der Lagebegrenzungen und Neuronenzahl der Kerngebiete zu erhalten. Ebenso müssen die Verknüpfung mit retinalen und tectalen Eingängen mit Hilfe von Doppelmarkierungsstudien geklärt werden. Diese Untersuchungen können aber zur Zeit nicht fortgesetzt werden, da der Arbeitsvertrag der derzeit beschäftigten technischen Assistentin im Juni 2001 ausläuft, und auf Grund der erreichten Fünfjahresgrenze nicht verlängert werden kann.

Die Ergebnisse zur Morphologie und Verschaltung thalamischer Neurone sind beim Journal of Comparative Neurology als Manuskript eingereicht unter dem Titel: Morphology, axonal projection pattern and responses to optic nerve stimulation of thalamic neurons in the fire-bellied toad, *Bombina orientalis*.

#### **4. Diskussion**

Verhaltensversuche zur visuellen Verhaltenssteuerung von Amphibien wurden im Antragszeitraum nur in unserem Labor durchgeführt. Frühere Untersuchungen an Salamandern und Fröschen zur visuellen Steuerung des Beutefangverhaltens kamen zu den Ergebnissen, dass Parameter wie Bewegungsmuster u.a. in Kombination mit Geschwindigkeit eine wichtige Rolle für das Auslösen einer Beutefanghandlung spielen (Übersicht bei Roth 1987). In der hier durchgeführten Untersuchung zeigte sich jedoch klar, dass die Stimulusmerkmale Größe und Geschwindigkeit des Beuteobjekts Grille für das Auftreten einer Orientierungsreaktion die wichtigste Rolle spielen. Das Auftreten von Orientierungsreaktionen und das von Beutefanghandlungen scheint eventuell von unterschiedlichen Stimulusparametern beeinflusst zu werden. Die früheren und die hier durchgeführten Untersuchungen lassen sich aber nicht direkt miteinander vergleichen, da nicht nur unterschiedliche Versuchstiere und Verhaltensleistungen betrachtet werden, sondern sich auch die Art der verwendeten Stimuli, die Art der Präsentation und die Durchführung der Versuche (z.B. mit Belohnung) beträchtlich unterscheiden. Die Möglichkeiten einer mehr standardisierten und möglichst naturnahen Präsentation haben sich erst in den letzten Jahren durch computeranimierte Stimulation ergeben.

Des Weiteren ist nicht auszuschließen, dass die Ergebnisse aus diesen Untersuchungen nur für das Beuteobjekt „Grille“ gelten, da die Tiere mit dieser Beute gefüttert werden, und die verwendeten Stimuli die verschiedenen Merkmale einer laufenden Grille variieren.

Erfahrungen mit bestimmten Futtertieren haben nachweislich Einfluss auf die Präferenz des Beutefangverhaltens (Luthard und Roth, 1979a). Auf Grund komplexer Konstellationen verschiedener Merkmale von Beuteobjekten könnte eine andere Beuteattrappe zu einem anderen Präferenzindex von Merkmalen führen. So haben andere Autoren für das Auslösen der kompletten Sequenz des Beutefangverhaltens von Feuersalamandern (Orientierungsreaktion, Annäherung, Zuschnappen) Parameter wie die räumliche Orientierung und Bewegungsmuster von Stimuli als die wichtigsten Merkmalskriterien festgestellt (Luthard und Roth, 1979b).

Die Verhaltensversuche zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit einer Orientierungsreaktion stark von den visuellen Merkmalen beeinflusst wird. Es ergaben sich deutliche Präferenzen in Bezug auf die Merkmale Größe und Geschwindigkeit des Beuteobjekts Grille. Diese Untersuchung zeigt weiterhin, dass die Bewertung vertrauter Beuteobjekte bei allen untersuchten Tieren in vergleichbarer Weise abläuft und somit eine geeignetes Paradigma ist, um weitere Untersuchungen des neuronalen Systems durchzuführen.

Bei bisherigen elektrophysiologischen Untersuchungen der Tectumneurone von Salamandern wurden zur Stimulation einzelne artifizielle Stimuli verwendet, um Rückschlüsse auf neuronale Verarbeitungsprinzipien zu ziehen (Grüsser-Cornehls und Himstedt, 1973; Himstedt und Roth, 1980). Es war jedoch nicht möglich, auf Grund der neuronalen Aktivität einzelner Neurone auf den präsentierten Stimulus bzw. auf die im Verhalten gezeigten Präferenzen während des Beutefangverhaltens rückzuschließen. Neuronale Aktivität und Präferenz im Verhalten konnten auch mit den in diesen früheren Untersuchungen verwendeten naturgetreueren Beutestimuli nur ansatzweise in Beziehung gesetzt werden.

Die bei allen Neuronen getesteten drei Stimuli, welche im Orientierungsverhalten signifikant unterschiedlich präferiert wurden, induzierten unterschiedliche neuronale Aktivität bei einzelnen Neuronen, und zwar entsprechend der im Verhalten gezeigten höheren oder niedrigeren Präferenz mit unterschiedlicher starker neuronaler Aktivität, wenn sie einzeln innerhalb des RF oder bei gepaarter Stimulation außerhalb des RF präsentiert wurden. Dieser Zusammenhang war jedoch nicht bei allen Stimuli erkennbar. Im Falle des Stimulus „sich schnell bewegende Grille“, der im Verhaltensversuch mit zweithöchster Wahrscheinlichkeit beantwortet wurde, induzierte bei der extrazellulären Ableitung von Neuronen bei

Präsentation dieses Stimulus im RF nur relativ geringe Aktivität, hatte aber wiederum bei Präsentation außerhalb des RF einen relativ starken Einfluss auf die Aktivität des abgeleiteten Neurons.

Diese Befunde machen deutlich, dass einzelne Neurone offenbar nicht in der Lage sind, eindeutig zwischen unterschiedlichen Merkmalsparametern wie Größe, Geschwindigkeit oder Bewegungsmuster zu unterscheiden. Hierfür sprechen auch Befunde von Extrazellulärableitungen bei *Hydromantes italicus* unter Verwendung von horizontal oder vertikal orientierten Rechtecken oder Quadraten als Stimuli, die zeigten, dass das Quadrat die höchste Spikefrequenz auslöste, die anderen Stimuli aber auch gut beantwortet wurden (Roth 1982). Offenbar unterliegt die sensorische Verarbeitung und visuomotorische Transformation auch bei Amphibien wesentlich komplexeren Grundlagen als bisher angenommen. Es wird vermutet, dass ein Stimulus mit bestimmten Merkmalskombinationen eine ganze Population von Neuronen aktiviert, wobei jedes einzelne Neuron durch alle Merkmale in der Aktivität beeinflusst werden kann (an der Heiden und Roth, 1987), wenn auch in unterschiedlicher Gewichtung für die verschiedenen Merkmale.

Aus diesem Grund kann die Initiierung situationsgerechter motorischer Handlungen erst durch die komplexe Integration des Aktivitätsniveaus jedes einzelnen Neurons innerhalb einer Population ermöglicht werden. Deshalb wählen wir in unseren Untersuchungen eine gepaarte Präsentation konkurrierender Stimuli, um durch die Aktivierung verschiedener Populationen und ihrer Beeinflussung zugrundeliegende Mechanismen erschließen zu können.

Untersuchungen visueller Orientierungsleistungen und der Einfluss aufmerksamkeitsabhängiger Verschiebungen auf die neuronale Aktivität wurden bisher nur an Säugern durchgeführt (Bushnell, 1995; Robinson and Kertzman, 1995). Da es u.U. nicht oder nur schwer möglich ist, einen Salamander zu instruieren, seine Aufmerksamkeit auf ein bestimmtes Objekt zu richten, haben wir die Ergebnisse aus dem Verhaltensversuch als Grundlage genommen, um diese sensorisch geleitete „Aufmerksamkeit“ zwischen verschiedenen Neuronenpopulationen „aufzuteilen“. Bei zwei konkurrierenden Stimuli mit unterschiedlichen Merkmalen werden verschiedene Populationen in unterschiedlichem Ausmaß aktiviert, und aller Wahrscheinlichkeit nach initiiert die Population mit dem höchsten Aktivitätsniveau nach dem „winner-take-all“-Mechanismus eine motorische Aktion. Die Vermutung, dass dies mit einer Inhibition der konkurrierenden Populationen einhergeht (Stull & Gruberg 1998), wird durch die vorliegenden Ergebnisse gestützt. Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass auch bei sog. „niederen Wirbeltieren“ wie Salamandern sensorisch induzierte



Aufmerksamkeitsprozesse bei der Objekterkennung relevant sind und Einfluss auf die Aktivitätsniveaus verschiedener Neuronenpopulationen nehmen.

Untersuchungen zur Verteilung der klassischen Neurotransmitter Glutamat, GABA und Glycin in der Medulla oblongata von Amphibien sowie eine immunhistochemische Charakterisierung des aufsteigenden reticulo-tectalen Systems wurden im Antragszeitraum nur von unserer Arbeitsgruppe durchgeführt. Die Verteilung und Kolokalisation von GABA, Glycin und Glutamat im vestibulären Komplex der Frösche (*Rana temporaria*) wurde von Reichenberger und Kollegen (1997) untersucht und in Hinblick auf die Funktion des vestibulo-okulären und vestibulo-spinalen System diskutiert. Andere Autoren früher durchgeführter Untersuchungen an Amphibiengehirnen lieferten Beschreibungen zur groben Verteilung einiger dieser Transmitter und nur in der rostralen Medulla (Naujoks-Manteuffel et al., 1994). Während des Antragszeitraumes wurden einige wenige Untersuchungen zur immunhistochemischen Charakterisierung des absteigenden reticulo-spinalen Systems durchgeführt. Adli und Kollegen (1999) konnten mit Hilfe immunhistochemischer Nachweise von Serotonin, Enkephalin, Somatostatin und Substanz P eine Reihe von reticulären Nuclei in der Medulla oblongata von *Rana pipiens* identifizieren, die absteigende Projektionen zur Medulla spinalis aufweisen. Ebenso wurden kürzlich von Sanchez-Camacho und Kollegen (2001) zum Teil ins Spinalmark projizierende catecholaminerge Neurone im Nucleus tractus solitarius an Arten aus allen drei Amphibienordnungen (Frösche, Salamander, Blindwühlen) nachgewiesen. Das in unserer Arbeitsgruppe untersuchte aufsteigende reticulo-tectale System wurde bisher nicht charakterisiert. Ebenso wurde die in unserer Untersuchung gefundene glycinerge Projektion in das Tectum bisher nicht beschrieben; pharmakologische Untersuchungen im Frosch- und Salamandertectum wiesen einen modulatorischen Effekt von Glycin nach (Sivilotti und Nistri 1986; Kahl, 1999).

Ebenso haben in den letzten Jahren außer in unserer Arbeitsgruppe keine Untersuchungen zur Morphologie und Verschaltung der Tectumneurone von Fröschen stattgefunden.

Rekonstruktionen zur funktionellen Organisation des Froschtectum basieren auf Einzelzell- und Golgifärbungen früherer Untersuchungen und wurden bisher noch nicht vollständig anhand von Anfärbungen moderner Tracersubstanzen durchgeführt. Auch die in unserer Arbeitsgruppe bisher durchgeführte Untersuchung stellt nur den Vergleich von Tectumneuronen mit absteigenden Projektionen zwischen Salamandern und Fröschen dar (Dicke und Roth, 1996).

**Zitierte Literatur:**

- Adli D.S.H., Stuesse S.L., Cruce W.R. (1999) Immunohistochemistry and spinal projections of the reticular formation in the northern leopard frog, *Rana pipiens*. *J. Comp. Neurol.* 404:387-407
- An der Heiden U., Roth G. (1987) Mathematical model and simulation of retina and tectum opticum of lower vertebrates. *Acta Biotheor.* 36:179-212.
- Bushnell P.J. (1995) Overt orienting in the rat: parametric studies of cued detection of visual targets. *Behav. Neurosci.* 109:1095-1105.
- Dicke U., Roth G. (1996) Similarities and differences in the cytoarchitecture of the tectum of frogs and salamanders. *Acta Biol. Hung.* 47:41-59.
- Grüsser-Cornehls U., Himstedt W. (1973) Responses of retinal and tectal neurons of the salamander (*Salamandra salamandra* L.) to moving visual stimuli. *Brain Behav. Evol.* 7:145-168.
- Himstedt W., Roth G. (1980) Neuronal responses in the tectum opticum of *Salamandra* to visual prey stimuli. *J. Comp. Physiol.* 135:251-257.
- Kahl H. (1999) Pharmakologische und elektrophysiologische Untersuchungen zur retinotectalen Transmission, intratectalen Verarbeitung sowie zur praetecto-tectalen Beeinflussung bei *Plethodon jordani* (Ordnung: Caudata). Diss. Universität Bremen.
- Luthard G., Roth G. (1979a) The influence of prey experience on movement pattern preference in *Salamandra salamandra* L. *Z. Tierpsychol.* 51:252-259.
- Luthard G., Roth G. (1979b) The relationship between stimulus orientation and stimulus movement pattern in the prey catching behavior of *Salamandra salamandra*. *Copeia* 3:442-447.
- Naujoks-Manteuffel C., Himstedt W., Gläser-Cipollone, G. (1994) Distribution of GABA-immunoreactive neurons in the brain of adult and developing salamanders (*Pleurodeles waltli*, *Triturus alpestris*). *Cell Tissue Res.* 276:485-501.
- Reichenberger I., Straka H., Ottersen O.P., Streit P., Gerrit, N.M., Dieringer N. (1997) Distribution of GABA, glycine, and glutamate immunoreactivities in the vestibular nuclear complex of the frog. *J. Comp. Neurol.* 377:149-164
- Robinson D.L., Kertzman C. (1995) Covert orienting of attention in macaques. III. Contributions of the superior colliculus. *J. Neurophysiol.* 74:713-721.
- Roth G. (1982) Responses in the optic tectum of the salamander *Hydromantes italicus* to moving prey stimuli. *Exp. Brain Res.* 45:386-392.
- Roth G. (1987) Visual behavior in salamanders. Berlin, New York: Springer.

Sanchez-Camacho C., Marin O., Smeets W.J.A.J., Ten Donkelaar H.J., Gonzalez A. (2001) Descending supraspinal pathways in amphibians. II. Distribution and origin of the catecholaminergic innervation of the spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 434:209-232

Sivilotti L., Nistri A. (1986) Biphasic effects of glycine on synaptic responses of the frog optic tectum in vitro. *Neurosci. Lett.* 66:25-30.

Stull A. K., Gruberg E. R. (1998) Prey selection in the leopard frog: Choosing in biased and unbiased situations. *Brain Behav. Evol.* 52:37-45.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

Verhaltensversuche zur visuellen Steuerung des Orientierungsverhalten von Salamandern der Art *Plethodon jordani* haben gezeigt, dass bei computergenerierter standardisierter Präsentation verschiedener Stimuli die Merkmale visueller Objekte das Auftreten von Orientierungsreaktionen beeinflussen. Dabei wurden die jeweils in einem Parameter veränderten Stimuli einer Grillenattrappe (Größe, Kontrast, Geschwindigkeit, Form und Bewegungsweise) und ein artifizieller Stimulus Rechteck getestet, die einzeln präsentiert eine Orientierungsreaktion der Tiere verursachten. Bei zwei rechts und links simultan präsentierten Stimuli waren die Größe und die Geschwindigkeit einer bewegten Grille die bevorzugten Merkmale, welche eine Orientierungsreaktion hervorriefen. Daraus lässt sich schließen, dass bei diesen Versuchstieren entgegen bisherigen Vorstellungen die neuronale Verarbeitung spezifischer Objektaspekte eine sensorisch geleitete Auslenkung von Aufmerksamkeit verursacht, die sich in einer Orientierungsreaktion zum Objekt des Interesse äußert. Ob diese Fokussierung auf bestimmte Objektmerkmale ein generelles Muster darstellt oder für das spezielle Beuteobjekt "Grille" *erlernt* ist, muss noch geklärt werden. Ebenso bleibt zu klären, ob Amphibien prinzipiell ein solches merkmalsbasiertes Orientierungsverhalten zeigen, und welche Strukturen und Mechanismen im neuronalen System dazu beitragen.

Des weiteren wurde der Einfluss bestimmter Objektmerkmale auf die Aktivität einzelner Neuronen im Mittelhirndach, dem visuellen Zentrum für Objekterkennung und Objektlokalisierung, untersucht. Zur visuellen Stimulation wurden dieselben Stimuli und dasselbe Versuchsdesign wie im Verhaltensversuch verwendet, um den Einfluss sensorisch getriggelter Aufmerksamkeitsprozesse bei der Aktivierung tectaler Neurone zu untersuchen und so Rückschlüsse auf die Verarbeitungsprinzipien von Neuronenpopulationen ziehen zu können. Im weiteren Rahmen geht es darum, beobachtete Verhaltensentscheidungen auf neuronaler Ebene nachvollziehen zu können. Es zeigte sich, dass bestimmte visuelle Parameter einen starken Einfluss auf das Aktivitätsniveau der abgeleiteten Neurone haben,

wenn sie innerhalb des RF präsentiert werden. Die Aktivität einzelner Neurone wird aber auch durch die Präsentation bestimmter Stimuli außerhalb des RF beeinflusst, wenn auch nicht für alle Objektmerkmale, die im Verhalten wirksam waren.

Für die weitere Aufklärung der gefundenen Verarbeitungsprozesse ist es wichtig, durch iontophoretische Farbstoffapplikationen die abgeleiteten Neurone zu lokalisieren und morphologisch zu charakterisieren, um die Architektur der Neuronenpopulationen und die physiologischen Eigenschaften zusammenzuführen. Ebenso stellt sich die Frage nach den Mechanismen der gegenseitigen Beeinflussung gleichzeitig aktiver Neuronenpopulationen. Auf Grund der rezeptiven Feldgröße und der bekannten Retinotopie der tectalen Neurone lässt sich vermuten, dass die festgestellte Inhibition neuronaler Aktivität auch in räumlich getrennten Neuronenpopulationen stattfindet. Eine Beeinflussung erfolgt offenbar nicht nur lokal durch Umfeldhemmung sondern ist auch distant wirksam. Es stellt sich die Frage, durch welche Strukturen und Substanzen eine solche Beeinflussung vermittelt wird. Eine Beteiligung modulatorischer Systeme bzw. Substanzen wird in diesem Zusammenhang diskutiert. Deshalb sollen während der visuellen Stimulation Neuropharmaka in den Bereich von abgeleiteten Neuronen appliziert werden, um den Einfluss modulatorischer Systeme bei visuell induzierten Aufmerksamkeitsverschiebungen zu untersuchen (siehe Fortsetzungsantrag).

Die Durchführung dieser Untersuchungen war in der laufenden Antragsperiode geplant, konnte aber auf Grund der zeitlich späten Einstellung des Mitarbeiters noch nicht durchgeführt werden. Der voraussichtliche Beginn dieser Experimente wird gegen Ende des laufenden Antragszeitraumes sein.

Mit Hilfe immunhistochemischer Nachweismethoden, zum Teil kombiniert mit Tracingmarkierungen konnte nachgewiesen werden, dass die Medulla oblongata der Salamander das Tectum massiv über aufsteigende Projektionen beeinflusst. Die Medulla ist in longitudinal verlaufenden Zonen und rostral und caudal unterschiedlich organisiert. Die Hauptmasse stellen in beiden Teilen glutamaterge Neurone dar. Im rostralen Teil befinden sich Kerngebiete mit aufsteigenden Projektionen, welches mit einer Clusterbildung vermehrt glycinerge Somata vor allem innerhalb der medialen Längszone einhergeht. In der caudalen Medulla findet sich eine erhöhte Dichte aller drei Transmitter in der lateralen Längszone um den Fasciculus tractus solitarius. Glycinerge Neurone des medialen reticulären Nucleus, der zum aufsteigenden Aktivierungssystem gehört, und des vestibulären Nucleus, welcher als sekundärer Umschaltkern für vestibuläre Informationen gilt, projizieren in die tiefen

Schichten des Tectum mesencephali. Trotz der bisher beschriebenen modulatorischen Wirkung von Glycin bleibt die Frage nach dem Wirkort innerhalb der tectalen Strukturen und die Funktion bei der Verarbeitung sensorischer und/oder visuomotorischer Informationen offen. Zur genaueren Klärung der funktionalen Rolle und der Analyse der tectalen Netzwerkarchitektur sollen parallel zu den pharmakologischen Beeinflussungen während der Ableitung tectaler Neurone Untersuchungen zur Verteilung glycinerner Rezeptoren und Rezeptoren weiterer im Tectum modulatorisch einwirkender Substanzen durchgeführt werden. Dazu gehören Serotonin, von den Raphekernen der rostralen Medulla stammend, und das aus tegmentalen Kerngebieten als auch intrinsisch im Tectum ausgeschüttete Acetylcholin (siehe Fortsetzungsantrag).

## **6. Literaturverzeichnis**

Begutachtete und eingereichte Veröffentlichungen:

Dicke U. (1999) Morphology, axonal projection pattern, and response types of tectal neurons in plethodontid salamanders. I: Tracer study of projection neurons and their pathways. *J. Comp. Neurol.* 404:473-488

Roth G., Dicke U., Grunwald W. (1999) Morphology, axonal projection pattern, and response types of tectal neurons in plethodontid salamanders. II: Intracellular recording and labeling experiments. *J. Comp. Neurol.* 404:489-504

Roth G., Dicke U., Wiggers W. (1999) Wie das Gehirn eine Fliege erkennt. *Spektrum der Wissenschaft*, 11:56-64

Deban S., Dicke U. (1999) Motor control of prey capture in plethodontid salamanders. *J. Exp. Biol.*, 202:3699-3714

Dicke U. (2000) Die Verarbeitung visueller Reize im Gehirn von Salamandern und Fröschen und ihre Einwirkung auf die Verhaltenssteuerung. Übersichtsartikel zur Habilitation, Universität Bremen.

Schülert N., Schmonsees U., Stemmann H., Dicke U.; The effect of stimulus features on the visual orienting behavior in the salamander *Plethodon jordani*. *J. Exp. Biol.*, eingereicht.

Landwehr S., Dicke U.; The distribution of GABA, glycine and glutamate in neurons of the medulla oblongata and their projections to the midbrain tectum in plethodontid salamanders. *J. Comp. Neurol.*, eingereicht.

Roth G., Grunwald W., Dicke U.; Morphology, axonal projection pattern and responses to optic nerve stimulation of thalamic neurons in the fire-bellied toad, *Bombina orientalis*. J. Comp. Neurol., eingereicht.

Abstracts:

Landwehr, S., Dicke, U. (1999) Distribution of GABA- and glycine-like-immunoreactivities in the medulla oblongata of plethodontid salamanders. In N. Elsner, U. Eysel (eds.) Proceed. 1<sup>st</sup> Götting Conf. German Neurosci. Soc., Vol.II Georg Thieme, Stuttgart, New York, p. 602.

Schülert und Dicke (2001) The effect of stimulus features on the visual orienting behavior and spike characteristics of visual neurons in the salamander *Plethodon jordani*. In N. Elsner, G.W.Kreutzberg (eds.) Proceed. 4<sup>th</sup> Götting Conf. German Neurosci. Soc., Vol.II Georg Thieme, Stuttgart, New York, p. 570.

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

An den Veranstaltungen und Kolloquien des Sonderforschungsbereiches haben alle Mitarbeiter des Teilprojekts teilgenommen; auf SFB internen Kolloquien wurden die Forschungsergebnisse des Teilprojekts vorgestellt.

Vorträge auf bzw. Teilnahme an folgenden Tagungen, Kolloquien oder Workshops:

### **1999**

Vortrag, Teilnahme und Präsentation von Forschungsergebnissen auf der „Conference of Neurobiology“ in Göttingen; Posterpräsentation von Mitarbeitern und Vortrag über eigene Arbeiten innerhalb Symposium XI „Structures, Functions, Behaviors....“

Tutorin und Teilnahme an der Summerschool des Schwerpunkts “Sensomotorische Integration” der DFG im Hanse-Wissenschaftskolleg Delmenhorst

Teilnahme und Vortrag am Workshop des SFB 517 der Universität Bremen

“Bedeutungsentstehung im Gehirn Teil I”

### **2000**

Vortrag zur Vorstellung des SFB 517 anlässlich des Besuchs des Senators für Bildung und Wissenschaft des Landes Bremen

Teilnahme und Vortrag am Workshop des SFB 517 der Universität Bremen

„Bedeutungsentstehung im Gehirn Teil II“ auf Borkum

Referentin an der Fortbildungseinrichtung "Sommeruniversität" an der Universität Bremen

Teilnahme am Workshop "Brainstorm Meeting: The avian tectofugal system" der Abtlg. Biopsychologie, Ruhr-Universität Bochum

Vortrag und Teilnahme am Symposium „Neural control of movement synergy“ der DFG und des MPI für psychologische Forschung München in Ohlstadt

## **2001**

Referentin des Grundkurses „Neurobiologie“ im "Interdisziplinären Kolleg" der Gesellschaft für Kognitionswissenschaften in Gününe

Durchführung eines Intensivkurses „Funktionelle Neuroanatomie“ im Rahmen der Aus- und Fortbildungseinrichtung „Neuronord“

Vortrag im Nachwuchsworkshop der Deutschen Vereinigung für Sportwissenschaften an der Universität Bremen

Teilnahme und Präsentation von Forschungsergebnissen auf der 28th Göttingen Neurobiology Conference; Posterpräsentation

Referentin an der Fortbildungseinrichtung "Sommeruniversität" an der Universität Bremen

Eine methodisch-technisch als auch inhaltlich basierte Kooperation besteht zur Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Wolfgang Walkowiak, Köln, und Prof. Dr. Onur Güntürkün, Bochum.

Der Schwerpunkt der Kölner Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Walkowiak liegt in der Erforschung der audiomotorischen Integration von Fröschen und steht von seinem Methodenspektrum her meinem Forschungsprojekt im SFB nahe. Eine gemeinsame Durchführung von Experimenten fand bei einem Besuch von Frau Dr. H. Endepols aus der Kölner Arbeitsgruppe zum Thema „Organisation sensomotorischer Interfaces bei Amphibien“ statt, in dem neue Ansätze zur Darstellung neuronaler Strukturen und ihrer neurochemischen Verknüpfung getestet wurden.

Die innerhalb der Bochumer Arbeitsgruppe bestehenden Forschungsschwerpunkte umfassen unter anderem die Aufklärung der Funktionen des Tectum von Vögeln. Die Kontakte zur Arbeitsgruppe wurden genutzt, um bei gegenseitigen Laborbesuchen Techniken wie für die in unserem Projekt erforderlichen Farbstoffinjektionen bei den Extrazellulärableitungen vorzubringen ebenso wie Diskussionen zum funktionell-anatomischen Vergleich von Amphibien und Vögel Tecta zu führen.

Ein gemeinsames Forschungsprojekt wird seit dem Dezember 2000 mit Dr. J. Rustemeyer in Zusammenarbeit mit der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Zentralkrankenhaus St.-Jürgen Straße, Bremen durchgeführt, in dem Grundlagenforschung

mit enger klinischer Anlehnung stattfindet. Thema dieser experimentellen Zusammenarbeit ist die Entwicklung von Nervrekonstruktionsverfahren im Tierversuch. Dabei werden Verfahren mit künstlichen Schienen oder mit Nervengewebe eines Spenderorganismus unter medikamentöser Ausschaltung der Abstoßungsreaktion an Ratten getestet.



**Teilprojekt A 5**

**Die Rolle des limbischen Systems bei der visuellen Verhaltenssteuerung  
und beim Lernen von Amphibien**

**Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Dr. Gerhard Roth

Institut für Hirnforschung  
Universität Bremen, FB 2  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

## **1. Einleitung**

Ziel des Teilprojekts war die Aufklärung der Struktur und der funktionalen Organisation des limbischen Systems von Fröschen und Salamandern im Zusammenhang mit der visuellen Beutefangsteuerung und der Furchtkonditionierung. In der vorausgegangenen Förderperiode waren bei Salamandern die für den Beutefang relevanten visuellen Bahnen vom Tectum opticum zum Thalamus mithilfe intrazellulärer Anfärbungen und Ableitungen untersucht worden. Ebenso war es gelungen, bei Fröschen einen ersten Nachweis für die an der Furchtkonditionierung beteiligten limbischen Zentren zu erbringen. In der zweiten Förderperiode sollten die Untersuchungen zu den vom Thalamus zum Telencephalon aufsteigenden limbisch-assoziativen Bahnen bei Salamandern (*Plethodon jordani*) abgeschlossen und bei Fröschen (*Bombina orientalis*) durchgeführt werden. Parallel hierzu sollte die Cytoarchitektur des medialen und dorsalen Pallium (dem Homologon des Hippocampus bzw. des Cortex der Säuger) bei *Plethodon jordani* und *Discoglossus pictus* untersucht werden, und entsprechende Untersuchungen der Amygdala und des ventralen Striatum/Nucleus accumbens sollten begonnen werden. Weiterhin sollten die Experimente zur Furchtkonditionierung bei *Bombina orientalis* standardisiert werden, an die sich neuropharmakologische Untersuchungen anschließen sollten. Schließlich war der Aufbau einer Patch-Clamp-Anlage zur Untersuchung von Veränderungen von Membranleitfähigkeiten von limbischen Neuronen im Zusammenhang mit der Furchtkonditionierung vorgesehen.

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

Das Arbeitsprogramm umfasste:

1. Verhaltensbiologische Untersuchungen zum Vermeidungslernen bei der Rotbauchunke *Bombina orientalis*.
2. Neuroanatomische und elektrophysiologische Untersuchungen zur Organisation und Konnektivität des limbischen Systems (Thalamus, mediales/dorsales Pallium, Amygdala, ventrales Striatum) bei Fröschen und Salamandern.
3. Aufbau einer Patch-Clamp-Anlage

### **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

1. Neuroanatomische Untersuchungen zur Organisation und Konnektivität des limbischen Systems bei Fröschen und Salamandern.

Im Zentrum dieses Teilvorhabens stand die Aufklärung der strukturellen und funktionalen Organisation und Konnektivität des medialen und dorsalen Pallium, des Thalamus, der Amygdala und des ventralen Striatum/Nucleus accumbens. Diese Strukturen bilden das „Rückgrat“ der an der emotionalen Konditionierung beteiligten neuronalen Zentren. Die Amygdala erhält bei Säugern über den Thalamus sensorische (d.h. visuelle, auditorische und somatosensorische) sowie limbisch-assoziative Afferenzen, während der Hippocampus sensorische Detailinformationen über emotionale Geschehnisse bzw. deren Kontext vermittelt. Bei Amphibien waren die Verbindungswege zwischen den genannten limbischen Zentren unklar bzw. umstritten. Deshalb wurden von uns parallel bei Salamandern (vornehmlich beim amerikanischen Waldsalamander *Plethodon jordani*) und Fröschen (beim gefleckten Scheibenzüngler *Discoglossus pictus* und der nahe verwandten Rotbauchunke *Bombina orientalis*) Untersuchungen mithilfe von intrazellulären Anfärbungen durchgeführt, bei denen im in-vitro-Ganzhirnpräparat in Neurone Biocytin injiziert wurde. Die Gehirne wurden fixiert, in 50 µm dicke Schnitte geschnitten, und die Biocytin-gefüllten Zellen wurden nach Standardmethode sichtbar gemacht (s. Roth und Grunwald, 2000). In den meisten Fällen waren die Zellen bis in die kleinsten Details angefärbt, eine genaue Rekonstruktion der dendritischen Arborisation und der axonalen Projektionen war möglich.

1.1 Cytoarchitektur und Konnektivität des medialen und dorsalen Pallium bei Amphibien (G. Westhoff und G. Roth).

Insgesamt wurden 77 Neurone im medialen und dorsalen Pallium des Frosches *Discoglossus pictus* und 58 Neurone im medialen und dorsalen Pallium des Salamanders *Plethodon jordani* intrazellulär mit Biocytin angefärbt und rekonstruiert.

Bei *Discoglossus pictus* projizierten die Neurone des ventralen medialen Pallium (Typ-I Neurone) über die Commissura anterior und C. hippocampi sowie ipsilateral zu allen telencephalen Kerngebieten einschließlich Striatum, laterale Amygdala und interne granuläre Zellschicht des Bulbus olfactorius. Kontralaterale Projektionen erreichten das Septum, das olfaktorische Tuberkel, das mediale und dorsale Pallium und die mediale Amygdala (im Sinne von Northcutt und Kicliter, 1980). Bilateral absteigende Projektionen liefen zu fast allen

Kernen des dorsalen Thalamus, zum ventralen Thalamus und Hypothalamus sowie zur präoptischen Region, zum posterioren entopeduncularen Nucleus und ipsilateral zum posterioren Tuberkel. Im dorsomedialen medialen Pallium projizierten die Neurone (Typ-II Neurone) über die Commissura hippocampi und bilateral zu septalen und pallialen Regionen sowie ipsilateral absteigend zu thalamischen und hypothalamischen Kernen. Die im dorsalen medialen Pallium befindlichen Neurone (Typ-III Neurone) projizierten über die Commissura hippocampi bilateral zum medialen und dorsalen Pallium sowie ipsilateral zum lateralen Pallium und zu septalen Regionen. Im ventro-lateralen Teil des medialen Pallium wurde ein Neuron angefärbt (Typ-IV Neuron), das sich durch fast spinelose Dendriten auszeichnete, die zur Zona limitans medialis gerichtet waren. Dieses Neuron projizierte zur ipsilateralen medialen Amygdala und zum anterioren Thalamus. Die Neurone des *dorsalen Pallium* von *Discoglossus pictus* projizierten ausschließlich zum ipsilateralen medialen und lateralen Pallium.

Die Neurone des *medialen Pallium* von *Plethodon jordani* zeigten im Unterschied zu Fröschen insgesamt weiterreichende Projektionen, jedoch keine Efferenzen zum dorsalen Thalamus. Die Neurone des ventralen medialen Pallium projizierten uneinheitlich in das ipsilaterale dorsale Pallium, zum kontralateralen Nucleus praeopticus und Hypothalamus sowie bilateral zum medialen Pallium, Nucleus accumbens und Septum. Die Neurone des dorsalen medialen Pallium projizierten bilateral zum gesamten Pallium, zum Septum, zum Nucleus accumbens, zur Mitralzellschicht des Bulbus olfactorius, zur präoptischen Region sowie zum Neuropil des Striatum. Bilateral absteigende Projektionen liefen zum ventralen Thalamus und Hypothalamus. Die Neurone des *medialen dorsalen Pallium* von *Plethodon jordani* schickten Axonkollaterale zum kontralateralen medialen Pallium und Septum. Ipsilateral projizierten diese Neurone zum Septum, Nucleus accumbens, zur medialen Amygdala und zur internen granulären Zellschicht des Bulbus olfactorius. Die Neurone des *lateralen dorsalen Pallium* projizierten nur zum ipsilateralen medialen Pallium und in einigen Fällen zum Septum.

Insgesamt zeigten die Ergebnisse bei *Discoglossus* und *Plethodon* ein sehr einheitliches Bild. Aufgrund unserer Untersuchungen schlagen wir eine Zweiteilung des medialen Pallium in einen ventralen und einen dorsalen Teil vor, die dem Subiculum und dem Ammonshorn des Hippocampus der Säuger entsprechen könnten, sowie eine Zweiteilung des dorsalen Pallium in einen medialen und einen lateralen Teil, wie sie sich auch bei Reptilien findet. Ob und inwieweit diese Teile dem Isocortex der Säuger homolog sind, ist unklar. Allerdings fehlen dem dorsalen Pallium der Amphibien (ebenso wie dem der Reptilien) primäre, topisch

angeordnete sensorische und motorische Areale, wie sie für den Säuger-Isocortex typisch sind. Unsere vorläufige Deutung ist, dass es sich beim dorsalen Pallium der Salamander und Frösche um ein Äquivalent des limbisch-assoziativen „Cortex“ der Säuger handelt.

Publikationen: Roth und Westhoff (1999), Westhoff und Roth (2001).

## 1.2 Cytoarchitektur, Konnektivität und Antwortverhalten thalamischer Neurone beim Salamander *Plethodon jordani* und bei der Unke *Bombina orientalis* (G. Roth und W. Grunwald).

Die in der vorhergehenden Förderperiode begonnenen Untersuchungen zur Cytoarchitektur und Konnektivität des Thalamus beim Salamander *Plethodon jordani* wurden abgeschlossen und publiziert (Roth und Grunwald, 2000). Einige Tracing-Experimente wurden in Zusammenarbeit mit dem TP A4 durchgeführt. Es bestätigte sich in den abschließenden neuroanatomischen und elektrophysiologischen Untersuchungen, dass Neurone im dorsalen Thalamus zum einen zum medialen und dorsalen Pallium (mögliche Homologa des Hippocampus und des Cortex der Säuger) und zum anderen zum dorsalen und ventralen Striatum, zur Amygdala und zum Septum projizieren, dass aber – soweit dies auf der Grundlage elektrophysiologischer Experimente gesagt werden kann – alle diese Neurone keine direkten (d.h. monosynaptischen) Eingänge von der Retina erhalten. Neurone im ventralen Thalamus erhalten hingegen direkte retinale Eingänge, projizieren aber nicht aufsteigend zum medialen oder dorsalen Telencephalon, sondern absteigend zum Tectum opticum, Hirnstamm oder Rückenmark. Es konnte somit festgestellt werden, dass Salamander keine retino-thalamo-palliale Bahn besitzen, die der retino-geniculo-corticalen Bahn der Säuger homolog oder funktional äquivalent ist.

Dieselben Untersuchungen wurden anschließend an der Rotbauchunke *Bombina orientalis* durchgeführt, ergänzt durch Tracing-Experimente in Zusammenarbeit mit TP A4. Der dorsale und ventrale Thalamus von *Bombina orientalis* zeigt die für Frösche typische Einteilung in medial und lateral angeordnete Kerne, so dass eine Zuordnung der angefärbten Neurone leichter ist als beim Salamander *Plethodon jordani*, dessen Thalamus aus einer homogenen periventriculären Zellschicht besteht. Trotz dieser deutlichen Unterschiede in der Cytoarchitektur ergaben unsere Untersuchungen auf der Grundlage von insgesamt 141 intrazellulär mit Biocytin angefärbten Neuronen ein Projektionsmuster, das mit dem bei *Plethodon jordani* gefundenen nahezu identisch ist. Neurone des anterioren Kerns des dorsalen Thalamus projizieren zum medialen und dorsalen Pallium, Neurone des zentralen

Kerns des dorsalen Thalamus zum Striatum, zur medialen, zentralen und lateralen Amygdala (sensu Northcutt und Kicliter) und Neurone des posterioren Kerns zum optischen Tectum. Daneben gibt es im dorsalen Thalamus wie bei Salamandern Neurone, die sowohl aufsteigende (zum Striatum) als auch absteigende Projektionen zum Tegmentum, zum optischen Tectum und zur Medulla oblongata besitzen. Neurone im ventralen Thalamus projizieren generell nur absteigend zu diesen Zielen. Ebenso zeigte sich, dass die aufsteigend projizierenden Neurone im dorsalen Thalamus keine direkten retinalen Eingänge erhalten. Stichprobenartige Untersuchungen an den Fröschen *Discoglossus pictus* und *Eleutherodactylus coqui* zeigten dasselbe Bild.

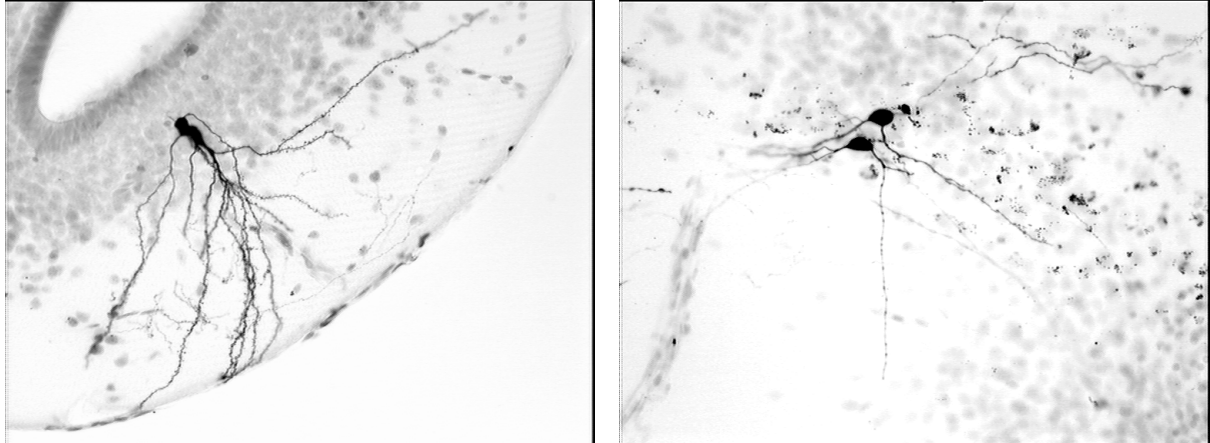
Insgesamt kann festgestellt werden, dass der dorsale Thalamus von Salamandern und Fröschen keine primären sensorischen oder motorischen, sondern assoziativ-limbische Funktionen ausübt. Für die weiteren Untersuchungen sind die Projektionen zum medialen und dorsalen Pallium einerseits und zu den verschiedenen Kernen der Amygdala andererseits wichtig. Bei *Bombina orientalis* zeigte sich, dass unterschiedliche Neuronengruppen (1) zur lateralen Amygdala und zum ventralen und dorsalen Striatum, (2) zur zentralen Amygdala und (3) zur medialen Amygdala (sensu Northcutt und Kicliter, 1980) projizieren.

Publikationen: Roth und Grunwald (2000), Roth, Grunwald und Dicke (2001, eingesandt).

1.3 Cytoarchitektur und Konnektivität von Neuronen des ventralen Telencephalon (Amygdala, Striatum, Nucleus accumbens, Septum) bei der Rotbauchunke *Bombina orientalis* (G. Roth).

Mithilfe intrazellulärer Biocytin-Anfärbungen wurden inzwischen 44 Neurone und Neuronencluster angefärbt, davon 10 im dorsalen Striatum, 18 im ventralen Striatum/Nucleus accumbens und der lateralen Amygdala, 12 in der medialen und zentralen Amygdala und im lateralen Septum. Die Neurone der lateralen Amygdala (wahrscheinlich homolog der corticomediale Kerngruppe der Säuger) projizieren in den primären und akzessorischen olfaktorischen Bulbus; Nucleus accumbens und dorsales Striatum haben reziproke Verbindungen, Neurone der medialen Amygdala projizieren u.a. zum Septum. Neurone des dorsalen Striatum und der zentralen Amygdala projizieren absteigend zum Tectum opticum (tiefe Schichten), zum Tegmentum, zum Torus semicircularis, zum Hypothalamus und zur Medulla oblongata. Eine besonders starke Projektion der zentralen Amygdala endet im Tegmentum in Nähe eines Gebiets, das als Homologon des zentralen Höhlengrau der Säuger

angesehen wird. Bemerkenswert ist, dass ein großer Teil der angefärbten Dendriten des ventralen Striatum/Nucleus accumbens und der Amygdala stark mit Spines besetzt ist, was sich außerhalb des ventralen Telencephalon nur im medialen Pallium findet. Dies deutet stark auf eine Rolle beim Lernen bzw. bei der Konditionierung hin. Diese Untersuchungen werden zur Zeit fortgesetzt.



**Abb. 1:** Fotos intrazellulär angefärbter Neurone des Amygdala-Komplex von *Bombina orientalis*. **A:** Zwei angefärbte Neurone aus dem Bereich der lateralen Amygdala. Der ausgedehnte Dendritenbaum ist mit zahlreichen Dornensynapsen (Spines) besetzt. **B:** Zwei angefärbte Neurone im Bereich der medialen Amygdala.

## 2. Verhaltensbiologische Untersuchungen zum Vermeidungslernen bei der Rotbauchunke *Bombina orientalis*.

Die Experimente zur Furchtkonditionierung bei der Rotbauchunke wurden unter zwei Strafreiz-Bedingungen durchgeführt, und zwar zum einen mit lebenden, stechenden Bienen und zum anderen mit einem milden Elektroschock als Strafreiz.

### 2.1 Furchtkonditionierung mit Bienen (W. Henjes und M. Göckel)

Die Experimente zum Vermeidungslernen wurden an 12 Rotbauchunken durchgeführt. Die Tiere erhielten freibewegliche Bienenarbeiterinnen als Beuteobjekte. Alle Tiere schnappten spontan nach der Biene, d.h. ein „angeborenes“ Vermeidungsverhalten gegenüber Bienen existiert nicht bei Rotbauchunken (ebenso wenig wie bei allen anderen getesteten Amphibien). Die Tiere wurden gestochen, spuckten die Bienen aus oder verschlangen sie. Zehn der zwölf Versuchstiere vermieden darauf hin die Biene und zeigten ein deutliches

aversives Verhalten, das z.T. über eine Woche andauerte. Die den Versuchstieren bekannten Futtertiere, Grillen, wurden dagegen in allen Fällen, auch unmittelbar nach der Furchtkonditionierung, gefressen. Dies zeigt, dass die Versuchstiere spezifisch auf die stechende Biene mit Vermeidungsverhalten reagierten. Zwei der zwölf Tiere zeigten beim Wiederanblick der Biene typische aversive Reaktionen, fraßen aber die Bienen mit Ausnahme des Tests 1 Stunde nach der Erstkonditionierung.

Bei denselben 12 Tieren wurde die elektrodermale Reaktion (d.h. Veränderung des Hautwiderstandes, EDR) beim Anblick einer Biene und einer Grille gemessen. Dabei zeigten die 10 Versuchstiere, die ein Vermeidungslernen nach einmaliger „Bienenstich-Erfahrung“ aufwiesen, eine signifikant veränderte EDR gegenüber der Präsentation einer Biene vor der „Bienenstich-Erfahrung“ im Vergleich zur Präsentation einer Grille. Bei den zwei Versuchstieren, die trotz „Bienenstich-Erfahrung“ kein Vermeidungsverhalten zeigten, konnte keine derartige signifikante Änderung der EDR bei Präsentation der Biene registriert werden.

Die Versuche zeigten, dass die Mehrzahl der untersuchten Rotbauchunken aufgrund einer einmaligen „Bienenstich-Erfahrung“ Vermeidungsverhalten entwickeln, das zwischen einer Woche und einem Monat andauerte. Zugleich erwies sich das Auftreten der EDR als verlässlicher Indikator für eine erfolgreiche Furchtkonditionierung.

Publikation: Göckel, Henjes, Lindemann und Roth (2001, eingesandt).

## 2.2 Furchtkonditionierung mit elektrischen Strafreizen (M. Göckel)

Trotz des erfolgreichen Ablaufs der soeben geschilderten Experimente erwies sich die Konditionierung durch „Bienenstich-Erfahrung“ als nicht hinreichend kontrollierbar. Insbesondere konnte nicht ausgeschlossen werden, dass es zu einem antagonistischen Effekt zwischen der negativen Bienenstich-Erfahrung und der positiven Erfahrung des Fressens eines Beutetiers kam. Weiterhin war die Kombination visueller, taktiler und möglicherweise olfaktorischer Reize (z.B. Angst-Pheromon der Biene) unerwünscht. Es wurde deshalb versucht, das Gestochen-Werden als Strafreiz durch einen milden Elektroschock zu ersetzen, der beim Schnappen nach unterschiedlicher Beute verabreicht wurde. Die Beute wurde den Versuchstieren unter einer kleinen Glaskuppel geboten, so dass die Tiere zwar nach der Beute schnappen, diese aber nicht verspeisen konnten. Der Strafreiz bestand in einem Elektroschock von 14-30  $\mu$ A und 500 ms Dauer, der über die Bodenplatte verabreicht wurde (Abb. 2).





**Abb. 1:** Versuchsaufbau zum Konditionierungsexperiment. Links: Terrarium mit Leiterplatte und einer Glaskuppel, unter der sich das Versuchstier befindet. In einem verschlossenen Glasröhrchen (links neben der Kuppel) wird das Futterobjekt dargeboten. Rechts: Reizgenerator.

In einer ersten Versuchsserie wurde den Unken eine ihnen zuvor unbekannte Beute geboten, nämlich Wachsmottenlarven (*Galleria melonella*). Die Larven der Wachsmotte stellen für *Bombina orientalis* ein gern gefressenes Beuteobjekt dar, die untersuchten Tiere waren jedoch ausschließlich mit Grillen gefüttert worden und hatten keine Erfahrung mit Wachsmottenlarven. Die Versuchstiere reagierten beim ersten Sichtkontakt auf Larven mit einer raschen Hinwende- und Schnappbewegung. Sie verfolgten die Bewegungen der Larven mit einer regen Aktivität und zeigten spontane Schnappreaktionen. In den Experimenten wurden die Versuchstiere mit dem Elektroschock „bestraft“, wenn sie nach den Larven schnappten; als Vergleich wurden Grillen derselben Körperlänge geboten, die den Unken bekannt waren. Gemessen wurde die Zeit zwischen der ersten Hinwendereaktion und der ersten Schnappreaktion sowie die Anzahl der Schnappreaktionen innerhalb eines Zeitraumes von 3 Minuten.

Es traten nach 9 Durchgängen große Unterschiede bezüglich der Dauer zwischen der ersten Hinwendereaktion und der darauffolgenden Schnappreaktion auf. Die Unken schnappten nach den Grillen (Schnappreaktion wurde nicht bestraft) schon nach 12,7 s, während sie nach den Larven (Schnappreaktion wurde bestraft) erst nach durchschnittlich 110 s schnappten; dieser Unterschied ist höchstsignifikant (Wilcoxon:  $p < 0,0001$ ). Ebenso verminderte sich über die neun Durchgänge die Anzahl der Schnappreaktionen nach Larven im Vergleich zu denen gegenüber der Grille signifikant ( $p < 0,05$ ).

In einer zweiten Versuchsserie mit wiederum 9 Durchgängen wurde statt der Wachsmottenlarve eine weiß eingefärbte Grille verwandt, die sich nur in diesem einen Merkmal von den bekannten Beutetieren, d.h. dunkelbraunen bis schwarzen Grillen, unterschied. Die Unken reagierten vor Beginn der Konditionierung mit etwa derselben Schnapphäufigkeit nach diesen „neuen“ Beutetieren wie nach der dunklen Grille. Nach Bestrafung der Schnappreaktionen nach weißen Grillen sank jedoch die Schnapphäufigkeit hochsignifikant im Vergleich zur Schnapphäufigkeit nach schwarzen Grillen ab ( $p < 0,0001$ ; Abb. 3). Die Versuchstiere zeigten weiterhin Aufmerksamkeitsreaktionen bei der Präsentation

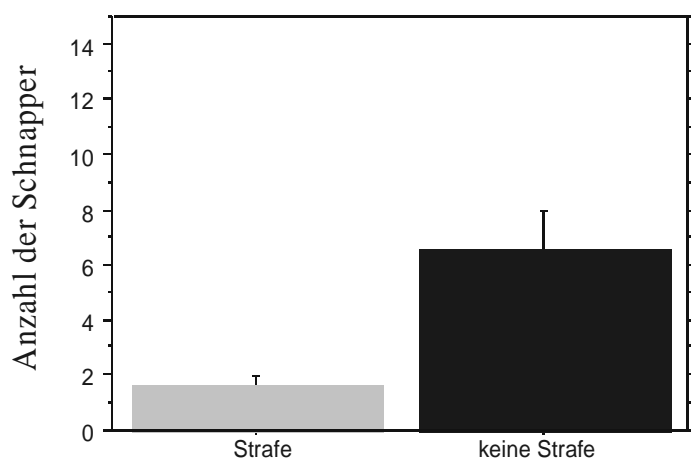


Abb. 3: Vergleich der über alle Durchgänge gemittelten Schnappreaktionen auf die Präsentation schwarzer Grillen (nicht bestraft, schwarze Säule) und auf die Darbietung weißer Grillen (mit Fußschock bestraft, graue Säule).

der weißen Grillen, Schnappreaktionen traten aber nicht oder nur sehr reduziert auf. Eine mehrfaktorielle Varianzanalyse ergab für den Vergleich der 9 Durchgänge Strafe/keine Strafe einen signifikanten Unterschied ( $p < 0,01$ ). Diese Versuche zeigen, dass Unken ihr Beutefangverhalten gegenüber fremden oder „verfremdeten“ Beutetieren aufgrund eines elektrischen Schocks schon nach wenigen Durchgängen, z.T. nach

einmaliger Bestrafung, signifikant reduzieren. Dabei genügte es bereits, wenn Beutetiere sich in nur einem auffallenden Merkmal (z.B. der Farbe) von bekannter Beute unterschieden.

Die Anwendung elektrischer Strafreize hat gegenüber der „Bienenstich-Erfahrung“ den großen Vorteil, dass der Strafreiz in seiner Stärke und seinem Zeitpunkt genau kontrolliert werden kann und dass keine Verfälschung durch einem „Fütterungseffekt“ auftritt.

Interessanterweise hatten in der Vergangenheit in anderen Labors die meisten Untersuchungen zum Vermeidungslernen von Amphibien mithilfe von elektrischen Strafreizen zu keinen Ergebnissen geführt. Die Gründe hierfür konnten von uns klar ermittelt werden: Zum einen wurden in den meisten Untersuchungen den Versuchstieren Beutetiere geboten, die sie sehr gut kannten. In einem solchen Fall ist es bei Amphibien wie auch bei fast allen untersuchten Wirbeltieren schwer bis unmöglich, den Beutefang mithilfe eines Strafreizes zu unterdrücken oder auch nur signifikant zu reduzieren, da die positive Wirkung der Beute offenbar zu sehr „konsolidiert“ war. Zum zweiten wurde ein regungsloses Verharren der Versuchstiere (und nicht ein Fortspringen) nach der Applikation des Elektroschocks als „Desinteresse“ bzw. als „Nichtkonditionierbarkeit“ fehlinterpretiert und nicht als „Erstarren“, bei dem es sich um eine klare aversive Reaktion handelt.

Publikation: Dissertation M. Göckel (2001), Göckel und Roth (in Vorbereitung).

### 3. Blockieren der Aktivität des medialen Pallium und der Amygdala beim Furchtlernen und Kontextlernen von *Bombina orientalis*.

Im Antrag für den Förderzeitraum 1999 – 2001 waren Experimente vorgesehen, bei denen durch Applikation von unterschiedlichen NMDA-Antagonisten (AP5, MK-801) in die Amygdala und das mediale Pallium die Furchtkonditionierung bei *Bombina orientalis* blockiert werden sollte. Die hierfür beantragte Tierversuchsgenehmigung wurde jedoch durch die Tierschutzkommission und anschließend durch die Aufsichtsbehörde abgelehnt, und zwar aufgrund der (nachweislich falschen) Begründung, Furchtkonditionierung sei bereits an Ratten vollständig aufgeklärt (!) und müsse nicht mehr an Fröschen untersucht werden. Der von mir als Projektleiter angedrohte Gang zum Verwaltungsgericht wurde vorerst hinfällig, weil der mit diesen Versuchen sowie mit den Durchführungen der Patch-Clamp-Experimente betraute wissenschaftliche Mitarbeiter (Dr. Kahl) kurzfristig eine Stelle in der Pharmaindustrie antrat. In Kürze wird ein neuer Antrag zur Durchführung neuropharmakologischer Experimente gestellt werden; eine veränderte Zusammensetzung der Tierschutzkommission lässt diesmal keine größeren Schwierigkeiten erwarten.

#### 4. Patch-Clamp-Ableitungen von Neuronen im limbischen System von Amphibien

Mit Dienstantritt des wissenschaftlichen Mitarbeiters Dr. Hauke Kahl am 1. 8. 1999 wurde mit dem Aufbau einer Patch-Clamp-Anlage begonnen. Leider traten bei einigen Teilen Lieferverzögerungen von 9 Monaten und mehr auf, so dass die meisten erforderlichen Teile erst im Frühjahr 2000 zur Verfügung standen. Der anschließende Zusammenbau der Anlage wurde durch den plötzlichen Weggang von Dr. Hauke Kahl im Frühjahr längerfristig unterbrochen. Bei der erneuten Stellenausschreibung gelang es mir nicht, einen Doktoranden oder Postdoktoranden mit Patch-Clamp-Erfahrung zu finden, zumal diese Person hätte bereit sein müssen, einen Arbeitsvertrag mit einer Laufzeit unter zwei Jahren zu akzeptieren. Ich war deshalb gezwungen, auf das Ende der Dissertation einer Doktorandin in meiner Abteilung, Frau Mühlenbrock-Lenter, zu warten, die bereit war, die Stelle für die Restlaufzeit von knapp einem Jahr zu übernehmen. Frau Dr. Mühlenbrock-Lenter ist seit dem 1. Januar 2001 im Teilprojekt tätig.

Die methodische Einweisung von Frau Dr. Mühlenbrock-Lenter in die Patch-Clamp-Technik erfolgte im Februar 2001 in einem Einführungskurs am Physiologischen Institut des Magdeburger Klinikums bei Prof. Pape. Anschließend wurde die Einrichtung eines Patch-Clamp-Arbeitsplatzes fortgeführt. Zur Konstanthaltung des Badlösungspegels wurde die Anlage durch ein System aus kommunizierenden Röhren ergänzt. Die Anlage wird zur Zeit getestet. Das Aufnahme- und Stimulationsprogramm (p-clampex 8.0) wurde installiert, getestet und Stimulationsprotokolle wurden erstellt. Da die in Magdeburg bei Ratten angewandten Methoden nicht in jeder Hinsicht auf das Amphibiengehirn übertragbar sind, wurden methodische Anpassungen vorgenommen. Die Slice-Technik wurde z.B. aufgrund der geringen Gehirngröße und der Wärmeempfindlichkeit des Amphibienghirns abgeändert. Die geringe Gehirngröße erfordert ebenfalls eine andere Architektur der Stimulationselektroden. Die extrazellulären Badlösungen und die Pipettenlösungen wurden an die Verhältnisse des Amphibienghirns angepasst. Verschiedene Slice-Techniken (Einbettungstechnik, Schnittdicke, -richtung) werden für die Untersuchung der Kerngebiete und ihrer synaptischen Verbindungen auf der Grundlage der Ergebnisse der intrazellulären Ableitungen und Einzelzellanfärbungen in der Amygdala und dem medialen Pallium optimiert.

#### **4. Diskussion**

Unsere Untersuchungen sind die ersten, die sich detailliert mit den neurobiologischen Grundlagen der Furchtkonditionierung bei „niederen Wirbeltieren“ beschäftigt haben. Sie

haben ergeben, dass das limbische System der Amphibien wie vermutet ähnlich aufgebaut ist wie das der Säuger.

Es gelang uns, bei der Rotbauchunke ein verlässliches Paradigma für Furchtkonditionierung zu etablieren, das eine sehr gute Grundlage für die weiteren vorgesehenen elektrophysiologischen Untersuchungen zu den zellulären Grundlagen der Furchtkonditionierung und des emotionalen Kontextlernens darstellt. Ebenso konnten wir bei Fröschen und Salamandern die thalamischen Afferenzen zur Amygdala und zu den anderen limbischen Zentren aufklären. Dies ermöglicht es uns, in den elektrophysiologischen Versuchen die aufsteigenden limbischen Bahnen spezifisch zu reizen. Schließlich wurden die für das emotionale Kontextlernen wichtigen Verbindungen zwischen medialem und dorsalem Pallium (Homologa des Hippocampus und des limbischen Cortex), dem Thalamus und den ventralen limbischen Zentren bei Fröschen und Salamandern identifiziert.

Wir stehen in engem Kontakt mit deutschen und internationalen Arbeitsgruppen, die auf diesem Gebiet arbeiten, z.B. diejenigen von Prof. Pape (Universität Magdeburg), Dr. Fendt (Universität Tübingen) und Dr. Fanselow (UCLA, USA). Dr. Fanselow wird sich als Fellow des Hanse-Wissenschaftskollegs für ein Jahr in Delmenhorst bzw. an der Universität Bremen aufhalten.

Die Ergebnisse unserer Arbeit wurde auf mehreren internationalen Tagungen vorgetragen und wie berichtet publiziert. Der Leiter dieses TP's hat über das limbische System und seine Funktionen in den vergangenen drei Jahren ungefähr 20 akademische und öffentliche Vorträge gehalten.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

Trotz der genannten aufgetretenen Schwierigkeiten wurden im Berichtszeitraum wichtige Fortschritte bei der Standardisierung des Verhaltensparadigmas, d.h. der Furchtkonditionierung, und bei der Aufklärung der strukturellen und funktionalen Organisation des limbischen Systems gemacht. Insbesondere konnten die Afferenzen vom Thalamus und vom medialen Pallium zur Amygdala und zum ventralen und dorsalen Striatum bei Salamandern und Fröschen abschließend identifiziert werden. Dies ermöglicht nun eine genaue Stimulation der amygdalären Afferenzen, die bei der Furchtkonditionierung eine Rolle

spielen. Zu klären bleiben die genauen zellulären Mechanismen, die der Furchtkonditionierung zugrunde liegen. Dies soll mithilfe von intrazellulären und Patch-Clamp-Ableitungen am in-vitro-Ganzhirn und im Hirnschnitt geklärt werden. Im verhaltensbiologischen Teil stehen die Untersuchungen zum Kontextlernen und zur Extinktion der Furchtkonditionierung an.

## **6. Literaturverzeichnis**

Veröffentlichungen zum Teilprojekt:

Lindemann, S. O. G. und G. Roth (1999): A fear acquisition system in amphibians. *Neural Plast.* 1: 65

Roth, G., U. Dicke, and W. Grunwald (1999): Morphology, axonal projection pattern and response types of tectal neurons in plethodontid salamanders. II. Intracellular recording and labeling experiments. *J. Comp. Neurol.* 404: 489-504.

Roth, G. and W. Grunwald (2000): Morphology, axonal projection pattern and responses to optic nerve stimulation of thalamic neurons in the salamander *Plethodon jordani*. *J. Comp. Neurol.* 428: 543-557

Roth, G., W. Grunwald and U. Dicke: Morphology, axonal projection pattern and responses to optic nerve stimulation of thalamic neurons in the fire-bellied toad, *Bombina orientalis*. *J. Comp. Neurol.* 428: 543-557 (eingesandt)

Roth, G. and G. Westhoff: Morphology and axonal projection pattern of neurons in the medial pallium of the frog *Discoglossus pictus*. *European J. Morphol.* 37: 166-171 (1999).

Westhoff, G. and G. Roth: Morphology and projection pattern of medial and dorsal pallial neurons in the frog *Discoglossus pictus* and the salamander *Plethodon jordani*. *J. Comp. Neurol.* (nach Überarbeitung eingesandt).

### **Diplomarbeiten im Rahmen des Teilprojekts:**

Henjes, J. (1999): Verhaltenskonditionierung beim Beutefang der Chinesischen Rotbauchunke *Bombina orientalis* (Anura, Amphibia) und dem Waldsalamander *Plethodon jordani* (Caudata, Amphibia). Diplomarbeit Universität Bremen.

### **Doktorarbeiten im Rahmen des Teilprojekts:**

Lindemann, S.O.G. (2000): Verhaltensbiologische und immunhistochemische Untersuchungen zur Funktion des limbischen Systems bei Amphibien. Dissertation Universität Bremen.

Kahl, H. (1999): Pharmakologische und elektrophysiologische Untersuchungen zur retino-tectalen Transmission, intra-tectalen Verarbeitung sowie zur praetecto-tectalen Beeinflussung bei *Plethodon jordani* (Ordnung: Caudata). Dissertation Universität Bremen.

Westhoff, G. (2000): Das mediale Pallium der Amphibien. Eine vergleichende anatomische Studie an *Discoglossus pictus* (Ordnung: Anura) und *Plethodon jordani* (Ordnung: Caudata). Dissertation Universität Bremen

Göckel, M. (2001): Der Einfluss visueller und olfaktorischer Merkmale auf das Beutefangverhalten von Amphibien. Dissertation Universität Bremen.

### **Habilitationen:**

Dicke, U. (2000): Die Verarbeitung visueller Reize im Gehirn von Salamandern und Fröschen und ihre Einwirkung auf die Verhaltenssteuerung. Universität Bremen.

### **Veröffentlichungen im weiteren Zusammenhang mit der Thematik des Teilprojekts oder des SFB**

Roth, G. (1999): Kleine Gehirne – große Gehirne. Evolutionäre Aspekte und funktionelle Konsequenzen. *Naturwiss. Rundschau* 52: 213-219.

Roth, G. (1999): Entstehen und Funktion von Bewußtsein. *Deutsches Ärzteblatt* 96: 3-7.

Roth, G. (1999): The neurobiological basis of consciousness in man and animals. *Evolution and Cognition* 5: 137-148.

Roth, G., U. Dicke und W. Wiggers (1999): Wie das Gehirn eine Fliege erkennt. *Spektrum der Wissenschaft* November 1999, S.56-64.

Roth, G. (1999): Bewusste und unbewusste Handlungssteuerung aus neurobiologischer Sicht. In: F. Meyer-Krahmer und S. Lange (Hrsg.): *Geisteswissenschaften und Innovation*. Physica-Verlag/Springer-Verlag Heidelberg, S. 77 – 111.

Roth, G. (2000): Die Evolution von Geist und Bewußtsein. In: N. Elsner und G. Lüer (Hrsg.), *Das Gehirn und sein Geist*. Wallstein-Verlag, Göttingen, S. 167-188.

Roth, G. (2000): Hirnforschung als Geisteswissenschaft. In: M. Huber und G. Lauer (Hrsg.): *Nach der Sozialgeschichte. Konzepte für eine Literaturwissenschaft zwischen Historischer Anthropologie, Kulturgeschichte und Medientheorie*. Max-Niemeyer-Verlag, Tübingen, S. 29-46.

Roth, G. (2000): The evolution of consciousness. In: *Brain Evolution and Cognition*. G. Roth and M.F. Wullmann (Hrsg.). Wiley-Spektrum, New York – Heidelberg, S. 555-582.

Roth, G. und D.B. Wake (2000): Evolution and devolution: The case of bolitoglossine salamanders. In: *Brain Evolution and Cognition*. G. Roth and M.F. Wullmann (Hrsg.). Wiley-Spektrum, New York – Heidelberg, S. 237-263.

Roth, G. (2000): Geist ohne Gehirn? Hirnforschung und das Selbstverständnis des Menschen. *Forschung & Lehre* 5: 249-251.

Roth, G. (2000): The evolution and ontogeny of consciousness. In: Neural Correlates of Consciousness, T. Metzinger (ed.). Bradford Book – MIT Press, 77-97.

Roth, G. (2001): Die neurobiologischen Grundlagen von Geist und Bewusstsein. In: Neurowissenschaften und Philosophie, M. Pauen und G. Roth (Hrsg.). UTB-W. Fink, München, S. 155- 209.

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

Als Sprecher des SFB habe ich an allen Veranstaltungen des SFB teilgenommen und sie z.T. geleitet.

Eine enge Zusammenarbeit aufgrund eines gemeinsamen NSF-Antrags (NSF 0110666 "IRC: The Evolution of a Pheromone Signaling System: From Molecules to Mating") besteht mit Prof. Dr. Lynne Houck, University of Oregon, USA. Im Rahmen dieses Projektes wird von mir die Verarbeitung von Sexualpheromonen in der Amygdala des Salamanders *Plethodon jordani* durchgeführt. Engere Kontakte mit Wissenschaftlern außerhalb des SFB bestanden und bestehen mit Prof. Dr. Christian Pape, Physiologisches Institut der Universität Magdeburg, in dessen Labor ich mich im August 2000 aufhielt, um mir die Patch-Clamp-Technik anzueignen; darüber hinaus ergaben sich mehrere gegenseitigen Besuche, um über unsere Forschungen auf dem Gebiet des Limbischen Systems zu sprechen. Entsprechende Kontakte bestanden zu Prof. Dr. H. Schwegler und PD Dr. R. Linke, Anatomisches Institut der Universität Magdeburg und zu Prof. Dr. W. Walkowiak, Zoologisches Institut der Universität Köln.

In den letzten drei Jahren habe ich ca. 90 Vorträge auf Kongressen, Tagungen und Kolloquien zur Funktion des Limbischen Systems und zu Fragen der kognitiven Neurowissenschaften gehalten. Diese fanden neben dem Hanse-Wissenschaftskolleg in Delmenhorst an den Universitäten Berlin ( Humboldt-U.), Bochum, Bonn, Bremen, Gießen, Hamburg, Hannover, Klagenfurt, Mainz, München (LMU), München (TU), Münster, Osnabrück, Wien, Zürich (ETH), Zürich (Universität) sowie auf zahlreichen nationalen und internationalen Tagungen statt. Im Herbst 1999 der TP-Leiter in Wien die Mendel-Lecture auf Einladung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften.



**Teilprojekt A 7**

**Der Einfluß selektiver visueller Aufmerksamkeit auf die zeitliche Koordination  
neuronaler Antworten**

**Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Andreas Kreiter

Institut für Hirnforschung  
Universität Bremen, FB 2  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

## **1. Einleitung**

Der visuelle Cortex läßt sich als stark vernetztes, distribuiertes, dynamisches System betrachten, welches sich durch zahlreiche parallele Verarbeitungspfade und Rückprojektionen auszeichnet. Dementsprechend basiert seine Funktionsweise auf Populationskodierung. Jedes einzelne Neuron trägt nur eine limitierte und i.d.R. uneindeutige Information über einen oder mehrere Stimuli, die mit den Aktivitäten vieler anderer Neurone verglichen werden muß. Eindeutige Information ist somit nur im Aktivitätsmuster größerer Populationen zu finden.

Die Verarbeitung solch verteilter Information erfordert, daß diejenigen Neurone, deren Aktivität sich auf den gleichen Stimulus bezieht, selektiv miteinander interagieren können. Durch die Aktivitäten anderer Neurone, die zur gleichen Zeit zur Verarbeitung anderer Stimuli beitragen, sollten sie trotz synaptischer Verbindungen möglichst wenig gestört werden. Dritte Neurone müssen außerdem zwischen distribuerter Aktivität, die sich auf einen bestimmten Inhalt, etwa einen visuellen Reiz bezieht, und anderen Aktivitäten, die andere Reize bzw. den Hintergrund repräsentieren, unterscheiden können, da der Populationscode für einen bestimmten Inhalt nur interpretiert werden kann, wenn die entsprechenden Signale als zusammengehörig identifiziert und von anderen unabhängigen Signalen unterschieden werden können.

Ein dynamischer Mechanismus, der bei wechselnden Stimuluskonstellationen die Reizantworten einzelner Neurone in wechselnden Konstellationen funktionell bindet, ist die präzise zeitliche Synchronisation der Aktionspotentiale dieser Antworten (Milner, 1974; Grossberg, 1980; Abeles, 1982; Abeles, 1991; von der Malsburg, 1985; von der Malsburg, 1986; Gerstein et al. 1989; Singer, 1990; Singer, 1993; Singer and Gray, 1995, Freiwald et al., 2001). Der Haupteffekt dieses Mechanismus besteht darin, daß die synchronen postsynaptischen Potentiale (PSP), die von den Neuronen des gleichen Assemblies hervorgerufen werden, effektiver in den Dendritenbäumen ihrer postsynaptischen Zielzellen summieren (Abeles, 1991, Softky, 1994). Dies erhöht ihre elektrophysiologische Effizienz und bewirkt ihre gemeinsame Verarbeitung. Wegen der fehlenden Synchronizität zwischen den neuronalen Aktivitäten unterschiedlicher Assemblies wird die Verarbeitung unterschiedlicher Inhalte zeitlich separiert. Dies reduziert die Möglichkeit zu unerwünschtem Signalaustausch und entsprechender falscher Konjunktionen zwischen unabhängigen Reizen und ermöglicht die getrennte simultane Verarbeitung unabhängiger Inhalte im gleichen Netzwerk (Kreiter and Singer, 1996). Aus diesen Gründen wird synchrone Aktivität in der

jüngerer Literatur oft als die definierende Eigenschaft neuronaler Assemblies betrachtet. Experimentelle Untersuchungen der Vorhersagen der Korrelationshypothese (vgl. Reviews von Singer und Gray (1995) und Singer et al. (1997) ) zeigen, daß stark synchronisierte Aktivität verschiedener Neuronen von deren Koaktivierung durch den gleichen Stimulus abhängt. Da diese synchronen Aktivitätsmuster offenbar weitgehend automatisch entstehen, sollten sie präattentiven Verarbeitungs- bzw. Segmentierungsmechanismen entsprechen.

Abgesehen von trivialen Situationen beruht die Verarbeitung visueller Szenarien bis hin zur Identifikation verhaltensrelevanter Stimuli und der Selektion entsprechend passender Verhaltensweisen nicht ausschließlich auf automatisch ablaufenden Bottom-up-Prozessen, sondern unterliegt den steuernden Einflüssen von Top-down-Mechanismen. Hierzu gehört insbesondere selektive visuelle Aufmerksamkeit, ein ursprünglich psychologisch definierter Prozess, der einen bestimmten Reiz für die weitere Verarbeitung in einem kapazitätslimitierten System bzw. im Hinblick auf eine mögliche Aktion auswählt. Auf neurophysiologischer Ebene muß selektive Aufmerksamkeit daher die Verarbeitung in den neuronalen Assemblies bzw. Verarbeitungswegen befördern und diese vor störenden Signalen anderer Reize abschirmen, die den attendierten Reiz repräsentieren (Colby, 1991, Van Essen et al., 1991; Olshausen et al., 1993; Desimone and Duncan, 1995). Bisherige Theorien und experimentelle Ergebnisse vor allem in den Arealen V4, TE0, IT, MT, sowie dem posterioren parietalen Cortex legen nahe, daß dies vor allem durch Modulation der Feuerraten erreicht wird (Goldberg and Bruce, 1985; Moran and Desimone, 1985; Haenny and Schiller, 1988; Haenny et al. 1988; Colby, 1991; Motter, 1993; Colby et al. 1996; Treue and Maunsell, 1996; Luck et al. 1997; Gottlieb et al. 1998). So führt Aufmerksamkeitszuwendung auf den Stimulus zu einer moderaten Steigerung der Aktivität bei einem Teil der untersuchten Neurone während Aufmerksamkeitsabwendung zu einer Reduktion der Feuerrate führen kann.

Diese Beobachtung wird i.d.R. dahingehend interpretiert, daß die Visibilität der neuronalen Assemblies des attendierten Reizes innerhalb des Netzwerks erhöht und störende Einflüsse seitens anderer Zellen reduziert werden. Es bleiben jedoch Zweifel, ob die beobachteten Rateneffekte einen hinreichenden Mechanismus für die aufmerksamkeitsabhängige Selektion einer Reizrepräsentation darstellen. So ist der Rateneffekt i.d.R. moderat und fehlt in V1 und V2 oft ganz. Außerdem kann die Zahl der Neurone, die durch nicht attendierte Reize bzw. den Hintergrund aktiviert werden, in natürlichen Szenen um Größenordnungen höher sein als die Zahl der Neurone, die durch den attendierten Stimulus aktiviert werden. Selbst bei

beträchtlicher Reduktion ihrer Aktivität würde ihre Gesamtaktivität die des attendierten Reizes immer noch beträchtlich übersteigen.

Eine weitere Möglichkeit, die Visibilität eines neuronalen Assemblies innerhalb des Systems zu erhöhen, besteht darin, die Aktionspotentiale der beteiligten Zellen besser zu synchronisieren als die anderer Assemblies (Niebur et al. 1993; Goebel, 1996). Dies führt auf den Dendritenbäumen der untereinander verbundenen Zellen des selektierten Assemblies sowie auf den Dendritenbäumen dritter Zellen, die Afferenzen aus diesem Assembly erhalten, zu einer besseren räumlichen Summation der postsynaptischen Potentiale aus dem selektierten Assembly. Dies hat mehrere Konsequenzen: 1) Die Visibilität des selektierten Assemblies wird innerhalb des gesamten Nervensystems erhöht, ähnlich wie durch eine Anhebung der Feuerrate. Die schlechter bzw. nicht synchronisierten Aktionspotentiale anderer Assemblies haben diesen Vorteil nicht und wirken daher weniger effektiv auf andere Teile des Nervensystems ein. 2) Synchron einlaufende exzitatorische postsynaptische Potentiale (EPSP) treiben Zielzellen schneller über die Schwelle und beschleunigen daher die Verarbeitungszeit für einen Reiz. 3) Die präzise Synchronisation der EPSPs garantiert, daß diese auch tatsächlich auf dem Dendritenbaum direkt miteinander interagieren und zusammengehörige Information auch gemeinsam verrechnet werden kann. 4) Die durch die Synchronisation bewirkte Konzentration der informationstragenden Signale auf relativ kurze Zeitabschnitte verbessert das Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Aktivitätsmuster eines Assemblies. EPSPs aus anderen Assemblies, die mit denen des selektierten Assembly nicht synchronisiert sind und daher zum größten Teil in die inhierten Phasen zwischen zwei synchronen Entladungen fallen, können daher kaum mit dem Verrechnungsprozess während der synchronen Entladungen interferieren. Zusammengenommen könnte eine Verbesserung der Synchronisation der Zellen, die den attendierten Reiz repräsentieren bzw. eine Abschwächung der Synchronisation zwischen Zellen, die nicht attendierte Reize repräsentieren, genau die Effekte implementieren, die typischerweise durch selektive Aufmerksamkeit bewirkt werden - verbesserte und beschleunigte Verarbeitung eines Reizes und seine Selektion für die Steuerung potentiellen Verhaltens. Diese Hypothese steht nicht im Widerspruch zu dem oben diskutierten Mechanismus der Ratenmodulation, da Synchronisationsgrad und Entladungsrate im Prinzip unabhängig voneinander moduliert werden können. Es ist darüber hinaus plausibel (wenn auch nicht notwendig), daß erhöhte Kooperativität infolge von Synchronisation innerhalb eines Assemblies auch entsprechende Rateneffekte bewirken kann.

Direkte experimentelle Evidenz für aufmerksamkeitsabhängige Änderungen der Korrelation zwischen Zellen im visuellen System fehlte bisher weitgehend. Indirekte Evidenz insbesondere für die Verhaltens- und Kontextabhängigkeit synchroner Zustände im frontalen Cortex des Makaken (Vaadia et al. 1995) bzw. im visuellen System der Katze (Bouyer et al. 1981; Sheer, 1989; Roelfsema et al. 1997) deutet jedoch darauf hin, daß auch die raumzeitliche Struktur neuronaler Aktivität durch Top-down Mechanismen beeinflußt werden können. Ziel des laufenden Projektes ist daher die Untersuchung der Bedeutung, die raumzeitlich strukturierte Aktivität und insbesondere Synchronisation für die Mechanismen selektiver visueller Aufmerksamkeit hat. Hierzu sollten zwei experimentelle Ansätze entwickelt werden, mit denen der Einfluß selektiver Aufmerksamkeit auf die Synchronisation neuronaler Signale im ventralen (V4) und im parietalen Verarbeitungsweg (MT) des visuellen Systems der Primaten untersucht werden kann.

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

*Laboraufbau:* In den der Arbeitsgruppe zur Verfügung stehenden provisorischen Räumen war zum Beginn der Förderperiode ein erster Arbeitsplatz, bestehend aus einer ca. 4 m<sup>2</sup> großen Kammer für das Versuchstier und einem davor befindlichen Raum für Gerätschaften und Experimentatoren eingerichtet worden. Dieser wurde von Herrn D. Wegener in der laufenden Förderperiode für die Arbeiten im parietalen Cortex (Area MT) genutzt und weiter ausgebaut. Weiter wurde in der laufenden Förderperiode ein zweiter Arbeitsplatz von Frau Katja Taylor aufgebaut, die die Untersuchungen in V4 durchführt und im Mai 1999 ihre Tätigkeit aufgenommen hat. Auch der zweite Arbeitsplatz wurden zunächst für das initiale Fixationstraining mit vorhanden älteren Geräten bzw. Programmen zur Steuerung des Trainingsablaufs und der Generierung der Reize ausgestattet. Aufgrund der bestehenden behördlichen Auflagen wurde zunächst in der ersten Kammer ein Search-Coil-System für die „indirekte Methode“ modifiziert und aufgebaut. Hierzu mußten eine Reihe von technischen Problemen mit Hilfe des Elektroingenieurs und der mechanischen Werkstatt des Fachbereichs gelöst werden, um das Verfahren an die gegebenen experimentellen Bedingungen anzupassen. Hierzu gehörten insbesondere die Erzeugung eines hinreichend starken magnetischen Wechselfeldes, die Unterdrückung zahlreicher Störungen aus der direkt benachbarten Technikzentrale des Gebäudes sowie seitens eines starken Radiosenders und das Erreichen eines ausreichenden Signal-Rausch Verhältnisses. Weiter mußten eine Reihe mechanischer Umbauten erprobt werden, da das Verfahren extrem empfindlich auf geringste Bewegungen

der Meß-Spulen reagiert. Im Anschluß wurde das gleiche System für den zweiten Arbeitsplatz redupliziert und weiter verbessert.

Nachdem absehbar wurde, daß die dringend benötigte endgültige Unterbringung keinesfalls innerhalb des zugesagten Zeitrahmens (bis Ende 1999) erfolgen würde (nach derzeitigem Stand frühestens ab Sommer 2001), haben wir eine dritte kleine Kammer behelfsmäßig mit den notwendigen (dafür wiederum zu modifizierenden) Geräten ausgestattet, die für die Dressur der weiteren Tiere notwendig waren.

*Stimulationsprogramme:* Da die Erzeugung der komplexen Figuren mit Hilfe der älteren visuellen Stimulationssysteme nicht möglich war und die damals verwendete Spezialhardware nach einem Defekt nicht mehr ersetzt werden konnte, mußte umfangreiche Software zur Erstellung der benötigten visuellen Reize unter Windows 2000 erstellt und getestet werden. Der u.a. hierfür im Rahmen der letzten Begutachtung zugesagte Programmierer wird aus verschiedenen Gründen wohl erst Mitte 2001 eingestellt werden, deshalb mußten die notwendigen Programme entgegen dem ursprünglichen Arbeitsplan in Eigenarbeit erstellt werden. Entsprechendes gilt für die Datenaufnahmesysteme und die Datenauswertung.

*Dressur:* Aufgrund der besonderen Haltungsbedingungen begann die Dressur für jedes Tier zunächst mit einer vier- bis zwölfwöchigen Gewöhnungsphase an den Primatenstuhl. Anschließend wurden die Tiere für beide Teile des Projekts auf ein Fixationsparadigma trainiert, bei dem sie während eines zufällig variierenden Zeitintervalls von bis zu 6 Sekunden eine an der Grenze zur Wahrnehmungsschwelle liegende Änderung der Leuchtdichte des Fixationspunktes ( $0.2^\circ$  Kantlänge) detektieren mußten.

Nach Abschluß des Fixationstrainings wurden die MT-Tiere darauf trainiert, extrafoveal Geschwindigkeitsänderungen eines regelmäßig über den Bildschirm hin und her bewegten Balkens so schnell wie möglich über einen Hebel zu signalisieren (Bewegungsgeschwindigkeit:  $1,4^\circ/s$  –  $1,8^\circ/s$ ). Dabei mußte die Blickrichtung strikt auf den Fixationspunkt gerichtet bleiben. Neben dem zu attendierenden Balken wurde ein zweiter, identischer Balken in Gegenphase über den Bildschirm bewegt. Dieser beschleunigte wie der erste zu zufälligen Zeitpunkten seine Geschwindigkeit, mußte aber ignoriert werden. Welcher der beiden Balken zu beobachten war, wechselte zufällig von Durchgang zu Durchgang. Der verhaltensrelevante Balken wurde durch ein kurzes Erscheinen und wieder Verschwinden vor dem gemeinsamen

Erscheinen und dem Bewegungsbeginn beider Balken gekennzeichnet. Dieses Paradigma wurde in zwei räumlichen Varianten trainiert. In der ersten waren die Trajektorien der beide Balken relativ weit voneinander entfernt, i.d.R. in verschiedenen Gesichtsfeldern. In der zweiten Variante lagen die parallel verlaufenden Trajektorien so nahe beieinander, daß beide Balken sich innerhalb der überlappenden rezeptiven Felder bewegten. Beide Varianten dieses von Treue und Maunsell (1996) entwickelten Paradigmas bewirken im Gegensatz zu früher in der Literatur verwendeten Paradigmen deutliche Änderungen der Feuerraten im Areal MT. Dies legt den Schluß nahe, daß dieses Paradigma Mechanismen selektiver Aufmerksamkeit aktiviert, die sich auf die Verarbeitung im Areal MT auswirken. Mit der Wahl dieses Paradigmas sollte vor allem sichergestellt werden, daß das untersuchte Areal MT an der Verarbeitung der Reize beteiligt ist und der Erfolg der Dressur eines selektive Aufmerksamkeit erfordernden Paradigmas anhand der zu erwartenden Rateneffekte jederzeit überprüft werden kann.

Für die Untersuchungen in V4 wurde eine neue, kurz als Schlauchmorphingparadigma bezeichnete, Aufgabe entwickelt, welche Aufmerksamkeit anhaltend auf einen Reiz lenken soll, der möglichst vielfältig an die Eigenschaften der abgeleiteten Neuronenpopulationen in V4 angepaßt werden kann. Hierfür erlernten die Tiere zunächst in einer Sequenz dargebotener Schlauchfiguren das erneute Auftreten der ersten Figur (Sample) über einen Hebel innerhalb einer beschränkten Reaktionszeit zu melden. Jede einzelne Schlauchfigur besteht aus einem geschlossenen Schlauch, welcher einer Spline-Funktion folgend einem imaginären Polygon (Acht- oder Zwölfeck) angepaßt wurde. In weiteren Schritten wurde zunächst die Zeitdauer zwischen diesen Figuren auf Null reduziert und der Übergang von einer Figur zur nächsten mit Hilfe eines Morphingalgorithmus immer weniger sprunghaft und zunehmend fließend gestaltet. Im fertig trainierten Zustand wird die erste Figur 1300 ms stationär ausgeboten und verformt sich anschließend kontinuierlich durch eine Sequenz anderer Figuren. Tritt in dieser Sequenz die Ausgangsfigur wieder auf, muß dies über einen Hebel innerhalb eines Zeitfensters von 1600 ms signalisiert werden. Neben der zu beobachtenden Figur, die durch eine rasch verblässende Farbe am Anfang der stationären Phase gekennzeichnet ist, wurden weitere auf ansonsten gleiche Weise konstruierte Distraktoren eingeführt. Welche der Figuren Distraktor und welche Target war, wechselte zunächst blockweise und dann von Durchgang zu Durchgang zufällig. Abschließend wurden verschiedene Orte im Gesichtsfeld mit diesem Paradigma trainiert.

*Implantationen:* Nach Abschluß des Fixationstrainings wurde bei allen Tieren mit Hilfe von Standardoperationstechniken unter Vollnarkose ein Implantat aus Knochenzement, welches einen Haltebolzen trägt, auf dem Schädel befestigt. Während der folgenden sechswöchigen Einheilphase wurde ein dem Bulbus angepaßter Goldring für die Messung der Augenbewegungen unter die Conjunctiva implantiert. Nach Beendigung der anschließenden Dressur auf die spezifische Aufmerksamkeitsaufgabe, wurde über dem Areal MT jeweils ein Titanzylinder implantiert, auf dem während der elektrophysiologischen Ableitungen der Multielektrodenrieb befestigt wurde. Für die Feldpotentialmessungen über V4 wurde ein epidurales Multielektrodenarray entwickelt, welches 35 Meßpunkte in einem quadratischen 3mm Raster enthält. Die Form des Multielektrodenarrays wurde mit Hilfe von Schädelabdrücken und individuellen Kernspintomographischen Aufnahmen der Hirnkrümmung angenähert. Die Materialien für das Mikroelektrodenarray, die Knochenschrauben und der Haltebolzen wurden NMR-kompatibel gewählt und im 4,7 Tesla MRT getestet.

*Kernspintomographie:* Für die Erstellung detaillierter individueller anatomischer Bilder der Gehirne einzelner Versuchstiere wurde in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Leibfritz eine Vorrichtung entwickelt, die es erlaubt, die leicht narkotisierten Tiere im 4,7 Tesla-Kernspintomographen stabil zu lagern, mit Atemgasen zu versorgen und zu überwachen. In einer Reihe von Untersuchungen wurden die Geräteparameter für eine möglichst kontrastreiche Darstellung des Gehirns ermittelt. Die gewonnenen Bilder dienen insbesondere der Konstruktion und Implantation chronischer Elektrodenarrays.

*Elektrophysiologische Messungen und Datenauswertung:* Die Messung der elektrophysiologischen Daten erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie die letzte Dressurstufe. Während die V4-Tiere ihre Verhaltensaufgaben durchführen, werden die Feldpotentialsignale sowie das Augenpositionssignal, die Stellung der Taste und Stimulusinformation mit einem Multikanaldataaufnahmesystem fortlaufend gespeichert. Die Datenauswertung erfolgt mit Verfahren der Waveletanalyse, die unter Mithilfe von Dr. Udo Ernst (B5) implementiert werden.

Die extrazellulären Messungen im Areal MT werden mit lackisolierten Wolframelektroden durchgeführt. Der Zeitverlauf der einzelnen Aktionspotentiale wird für die Separation der Multi-Unit Signale in Single-Unit Signale gespeichert. Die Analyse der Daten erfolgt mit PSTH's, Auto- und Kreuzkorrelogrammen in den Zeitperioden, in denen weder der



Targetbalken noch der Distraktorbalken beschleunigt haben. Verglichen werden Feuerrate und zeitliche Struktur der Aktivität einzelner Neurone bzw. Neuronengruppen und deren Synchronisation zwischen Perioden, in denen die Neurone durch den Targetbalken bzw. durch den Distraktorbalken aktiviert wurden.

*Kooperationsprojekt zu den Neuronale Grundlagen objektbasierter Aufmerksamkeit in Area MT:* In Vorbereitung des Gastaufenthalts von Dr. V. Rodriguez beim SFB im November und Dezember 1999 sowie am Hanse-Wissenschaftskolleg von Mai bis November 2000 wurden Einrichtungen für Dressur und Elektrophysiologie aufgebaut und ein Makake auf eine Aufgabe zur Untersuchung objektbasierter Aufmerksamkeit trainiert. Bei dieser Aufgabe muß eines von zwei verschiedenfarbigen und überlappenden Random-Dot-Feldern attendiert werden. Nachdem die beiden Felder zunächst gegenläufig rotieren, führen sie anschließend Translationsbewegungen in verschiedene Richtungen durch. Die Bewegungsrichtung des Target-Feldes muß durch eine Saccade angezeigt werden. Aufgrund der vollständigen Überlappung der beiden Scheiben ist in diesem Paradigma ein raumbasierter Aufmerksamkeitsmechanismus ausgeschlossen. Eigenschaftsbasierte Aufmerksamkeit ist für die Durchführung der Aufgabe nicht ausreichend, weil eine Stimulusdimension (Farbe) zur Identifizierung des Targets verwendet wird, aber über eine zweite Dimension (Bewegungsrichtung) Auskunft gegeben werden muß. Während des Aufenthaltes von Dr. Rodriguez wurde die Dressur vervollständigt und Ableitungen von Einzelzellen und kleinen Zellgruppen in Area MT durchgeführt und ausgewertet. Um den Datensatz zu komplettieren, führt Frau Dr. Rodriguez an ihrem Heimatinstitut, dem Cuban Neuroscience Center in Havanna, derzeit Einzelzelleableitungen durch, während in Bremen ein zweites Tier auf dieses Paradigma trainiert und für Multikanalableitungen vorbereitet wird.

### **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

#### 3.1. Methodische Ergebnisse

*Schlauchmorphingparadigma:* Das neu eingeführte Paradigma wurde bisher von einem Tier vollständig erlernt, ein zweites hat erhebliche Teile erlernt. Das Verhalten der Tiere zeigt, daß auch nach längerer Dressur eine nicht unbeträchtliche Zahl an Fehlern gemacht wird. Diese erhöht sich deutlich, wenn neue Figuren eingeführt werden oder wenn die Position der Target- oder Distraktorfigur verändert wird. Häufigster Fehler ist dann der Versuch, zur Targetfigur hin zu schauen. Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß diese Aufgabe auch nach längerer Dressur nicht automatisiert werden kann. Im zeitlichen Verlauf eines Durchgangs treten keine

ausgezeichneten Zeitpunkte wie das Erscheinen einer zu beurteilenden Figur auf und alle Veränderungen erfolgen fließend. Dies läßt erwarten, daß die Mechanismen der Aufmerksamkeit nicht nur kurzfristig sondern anhaltend die Repräsentation der Targetfigur selektieren. Für die Untersuchung zeitlicher Strukturen neuronaler Aktivität ist dies von erheblichem Vorteil. Weiter läßt sich der Schwierigkeitsgrad des Schlauchmorphingparadigmas über die Charakteristika der Schlauchfiguren wie z.B. die Zahl der Eckpunkte und die Unterschiedlichkeit der Figuren leicht steuern. Die Schlauchfiguren bieten darüberhinaus eine Vielfalt von Möglichkeiten, durch geeignete Texturierung oder Streifung die Stimuli bezüglich der Stimulusselektivität der untersuchten Neurone zu optimieren.

*NMR:* Gemeinsam mit der Arbeitsgruppe von Prof. Leibfritz (A8) konnten die notwendigen gerätetechnischen Voraussetzungen und Verfahren zur Erstellung von kernspintomographischen Aufnahmen von Makakengehirnen in dem relativ kleinen (20 cm verfügbarer Innendurchmesser) 4,7 Tesla-NMR-Gerät geschaffen werden. Da aufgrund des beschränkten Raumangebots kein herkömmlicher stereotaktischer Rahmen aus Kunststoff eingesetzt werden konnte, wurde eine ca. 150 cm lange Plexiglasröhre mit 20 cm Außendurchmesser mit einer im Querschnitt sitzenden Scheibe versehen, die neben Durchbrüchen für die Zu- und Abfuhr der Atemgase einen flexibel positionierbaren Halter für die Haltebolzen der Makaken bietet. Für die bessere Handhabbarkeit wurde die Zylinderwand mit Durchbrüchen auf der Höhe des Kopfes versehen. Die gesamte Röhre konnte einschließlich des narkotisierten Tieres jederzeit rasch aus dem Tomographen herausgezogen bzw. in ihrer Position verändert werden. Aufgrund der im Vergleich zu klinischen Standardgeräten hohen Feldstärke erwiesen sich auch kleinere Bewegungen als besonders störend. Nach entsprechender Anpassung des Narkoseprotokolls (10mg/kg Ketamin + 0.2 mg/kg Midazolam) gelangen gute Aufnahmen, die für die Konstruktion wie Implantation der Elektrodenarrays sehr hilfreich waren. Damit wurde für die gegenwärtigen wie für die kommenden Arbeiten die Möglichkeit geschaffen, individuelle anatomische Atlanten einzelner Versuchstiere zu erhalten, die Implantation chronischer Elektroden sowie die Orte von Ableitungen präziser zu planen, die Form von Elektrodenarrays der individuellen Form der Hirnoberfläche anzupassen und ggf. die Positionierung von Elektroden zu überprüfen. Dies wird zur Vereinfachung und Beschleunigung von Ableitungen bzw. zur Interpretation ihrer Ergebnisse beitragen, insbesondere wenn Zweifel bestehen bezüglich der hirnanatomischen Strukturen, die mit einer Elektrodenposition erreicht werden können. Da die bisherigen Messungen mit einer Oberflächenspule durchgeführt wurden und daher immer nur

Teilbereiche des Gehirns klar erkennbar waren, wird zur Zeit gemeinsam mit Prof. H. Merkle von der Center for Magnetic Resonance Research der University of Minnesota in Minneapolis eine passende Kopfspule entwickelt, mit der auch eine verbesserte Darstellung stereotaktischer Marken erreicht werden soll.

*Multielektrodenarray:* Für die epidurale Messung von Feldpotentialen in V4 wurde ein Array von mit 35 Elektroden sowie die entsprechenden Herstellungsverfahren entwickelt. Die Inter-elektrodenabstände sind durch den gemeinsamen ca. 0.5 mm dicken Silikonträger fixiert, variieren nur geringfügig und können nötigenfalls exakt vermessen werden. Dies ist eine notwendige Voraussetzung, um eine Current-Source-Density Analyse sowie darauf aufbauende Schritte der Datenanalyse auf die gemessenen Signale anwenden zu können. Weiter konnte eine der Krümmung der Hirnoberfläche angenäherte Wölbung des Arrays erzielt werden. Dies begünstigt einen gleichmäßigen Kontakt der Elektroden mit der Hirnoberfläche.

*Augenpositionsbestimmung:* Die „indirekte“ Search-Coil-Methode zur Messung der Augenposition, bei der das Signal einer kurzgeschlossenen Augenspule über eine externe Empfängerspule gemessen wird, wurde an die örtlichen und inhaltlichen Gegebenheiten angepaßt. Aufgrund der relativ raumgreifenden Geräteanordnungen von Multielektrodenexperimenten in der Nähe des Kopfes erwies sich die Anordnung der Spulen auf Wänden und Boden der Ableitkammern als vorteilhaft gegenüber den üblichen Helmholtzspulen mit 0,5 bis 1 Meter Kantenlänge. Der durch die Vergrößerung der Spulen bewirkte Verlust an Feldstärke sowie Unzulänglichkeiten der Flankensteilheit konnten durch Änderungen in der Schaltung des Leistungsteils teilweise kompensiert werden. Asymmetrien von X- und Y-Signal wurden durch getrennte Nachverstärker kompensiert. Externe Störungen wurden durch den Einbau von Filtern vor dem Demodulator und einem aktiven Vorverstärker in der Nähe der Mess-Spule reduziert. Mechanische Probleme, die sich aus der starken Bewegungsempfindlichkeit der Mess-Spule und der Kompensationsspule ergeben und zu Offsetverschiebungen führen, wurden durch eine von den übrigen Halterungen völlig getrennten Aufhängung der beiden Spulen deutlich reduziert. Weiter wurden für die Halterung des Tieres extrem steife, metallfreie Konstruktionen entwickelt. Im Ergebnis konnte das Rauschen auf einen Wert unter  $0.2^\circ$  Schinkel (peak to peak) gedrückt werden. Bisherige Schwächen der Augenringe konnten durch Veränderungen von deren Geometrie und Herstellungsverfahren beseitigt werden.

3.2 Raumbasierte Aufmerksamkeit in den Arealen MT und V4: Im ersten auf das MT-Paradigma trainierten Tier wurde Area MT elektrophysiologisch genau lokalisiert. Ableitungen wurden an bislang ca. 30 Elektrodenpositionen durchgeführt. Abbildung 1 und 2 zeigen das typische Ergebnis solcher Ableitung. Jeweils im oberen Teil der Abbildung ist die Lage des rezeptiven Feldes relativ zum Fixationspunkt und der zeitliche Verlauf des Paradigmas zu sehen. In Abb. 1 überstreicht einer der beiden balkenförmigen, sich in gegenläufiger Richtung bewegendem Reize das rezeptive Feld, während der andere sich im

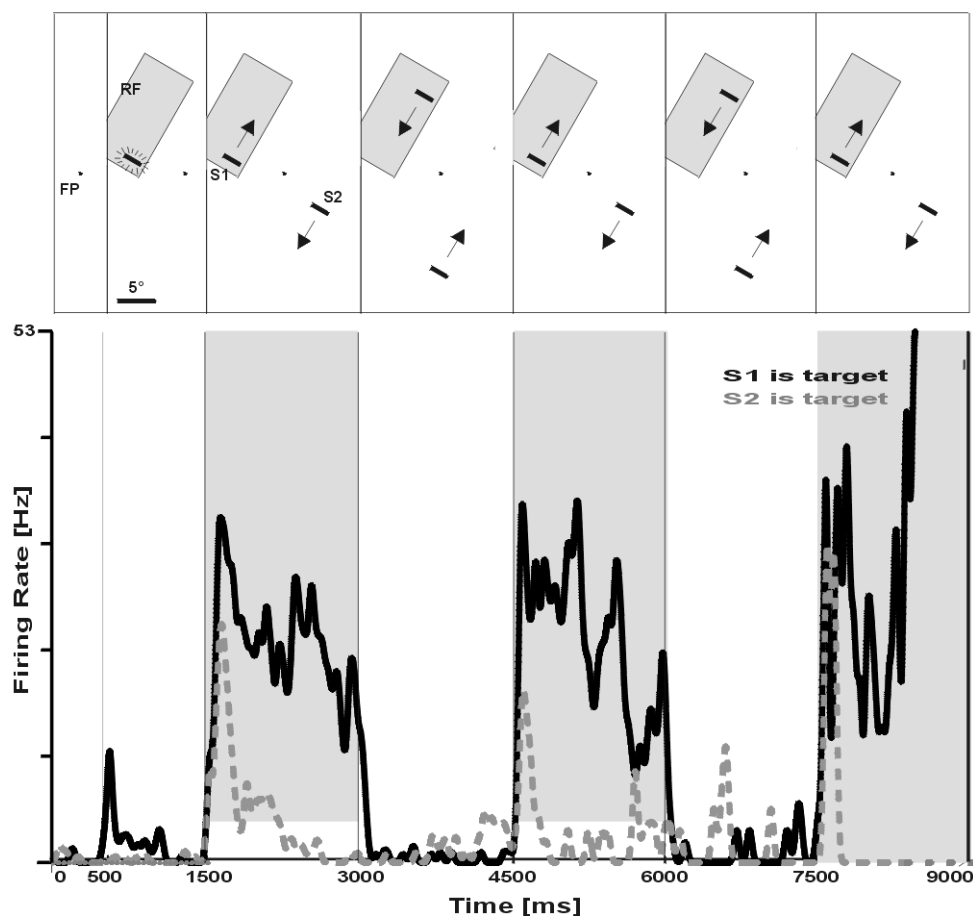


Abb. 1

gegenüberliegenden Gesichtsfeld befindet. Im unteren Teil der Abbildung ist der Verlauf der Aktivität des untersuchten Neurons zu sehen. Die durchgezogene Linie zeigt das PSTH für Stimulationen in der die selektive Aufmerksamkeit dem Reiz galt, der das rezeptive Feld aktivierte, die gestrichelte Linie das PSTH für jene Stimulationen, bei denen die Aufmerksamkeit dem Reiz außerhalb des rezeptiven Feldes galt. In diesem Fall ist eine besonders starke Abnahme der Feuerrate bei Aufmerksamkeitsabwendung zu beobachten.

Abb. 2 zeigt ein anderes Beispiel für die zweite Variante dieses Paradigmas, bei der sich beide Reize gegenläufig innerhalb des rezeptiven Feldes der untersuchten Zelle bewegen. In beiden Fällen ist die Antwortstärke größer, wenn die Aufmerksamkeit auf den Reiz gerichtet ist, der

das Neuron gerade aktiviert. In den meisten Fällen ist der Unterschied deutlich stärker, wenn der Distraktor sich innerhalb des rezeptiven Feldes befindet. Diese Beobachtungen bestätigen die von Treue und Maunsell (1996) beschriebenen Ergebnisse und dokumentieren, daß unter den gewählten Bedingungen selektive Aufmerksamkeit erfolgreich auf einzelne Reize gelenkt wird. Messungen mit 2 Elektroden werden zur Zeit durchgeführt und werden Aufschluß über mögliche Änderungen der Synchronisationsstärke in Abhängigkeit von selektiver Aufmerksamkeit bringen. Ergebnisse elektrophysiologischer Messungen für V4 liegen zur Zeit noch nicht vor.

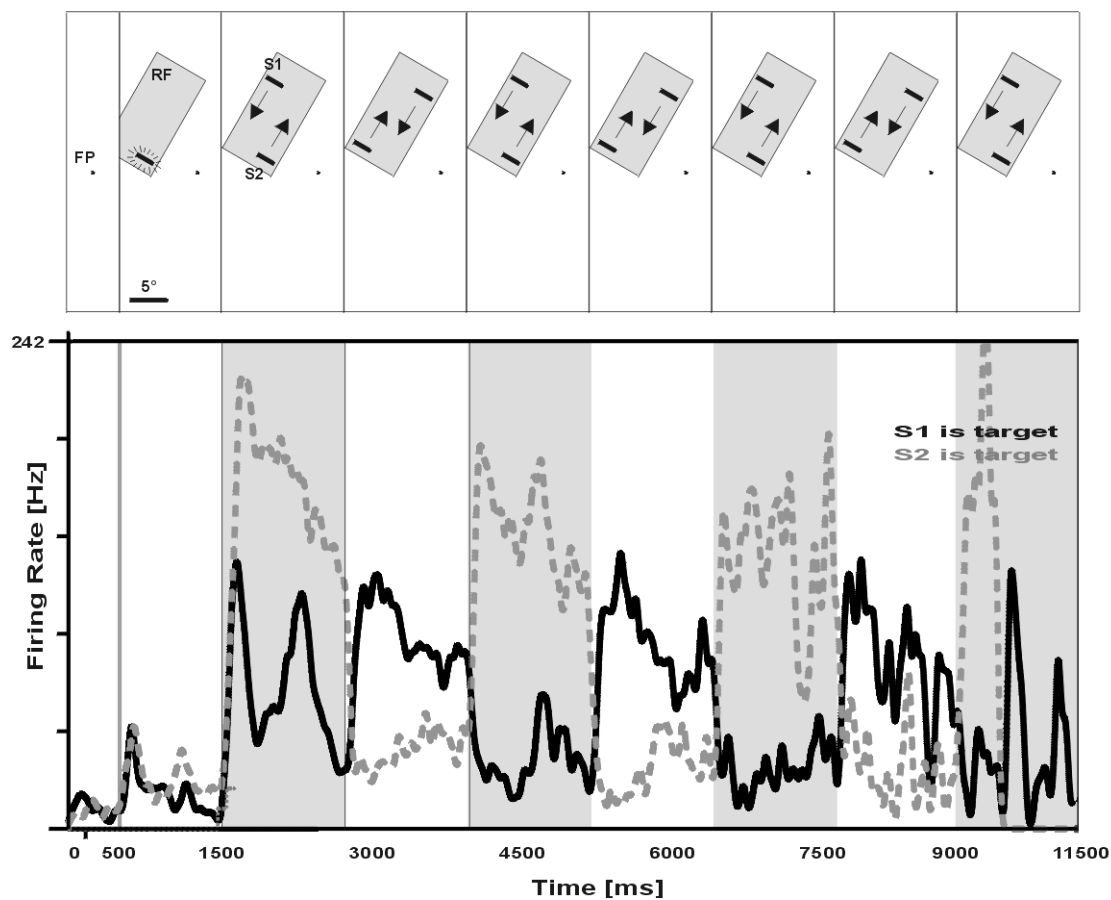


Fig. 2

*3.3 Neuronale Grundlagen objektbasierter Aufmerksamkeit in Area MT:* Anhand der bislang erhobenen Daten lassen sich folgende Ergebnisse formulieren: (1) Die Antwortstärke von Neuronen in Area MT wird bei Aufmerksamkeit auf eine der Random-Dot Flächen im Vergleich zur reinen Fixationsbedingung im Mittel erhöht. Dieser Befund wurde sowohl für die Rotationsphase des Stimulus als auch für die Translationsphase beobachtet. Während der zufällig eingestreuten Versuchsdurchgänge, in denen nur die Fixationsaufgabe durchgeführt werden mußte, scheint die Aufmerksamkeit sehr wirksam vom Stimulus abgezogen worden zu sein. In einem Fall in dem dieser Effekt besonders deutlich ausgeprägt ist, stellte sich bei Aufmerksamkeitszuwendung ein rapider Anstieg der Feuerrate von 10Hz auf 60Hz beim

Übergang von Rotation zu Translation ein, während in der Fixationsaufgabe die Feuerrate zum gleichen Zeitpunkt sogar noch etwas sank. (2) Die Feuerrate der Antwort eines Neurons ist im Mittel höher wenn die Random-Dot Fläche, die sich in Vorzugsrichtung bewegt, Target ist als wenn sie Distraktor ist. Dieser Unterschied kann sowohl durch Verstärkung der Antwort auf den Vorzugsreiz bei Aufmerksamkeitszuwendung im Vergleich zur Fixationsaufgabe, als auch durch Suppression bei Aufmerksamkeitsabwendung geschehen. Beide Effekte wurden auch in derselben Zelle beobachtet. (3) Weiter zeigt sich in den bisher ausgewerteten Beispielen deutliche Synchronisation zwischen Zellen, die von der gleichen Elektrode abgeleitet wurde, d.h. direkt benachbart waren. Diese Synchronisation erwies sich als sehr robust gegenüber physikalischen Details der Stimuli wie etwa der Farbe. Auch der Wechsel der Aufmerksamkeit zwischen beiden Random-Dot Flächen führt in den bisher untersuchten Fällen zu keinen deutlichen Änderungen der Synchronisation. Deutliche und schnelle Änderungen der Synchronisation wurden hingegen bei Wechseln der Reizkonstellation, wie beispielsweise dem Übergang von Rotation zu Translation beobachtet.

#### **4. Diskussion**

*Raubasierte Aufmerksamkeit in den Arealen MT und V4:* Die zum gegenwärtigen Zeitpunkt vorliegenden Resultate der Untersuchungen in MT bestätigen die Beobachtungen von Treue und Maunsell (1996). Damit ist sichergestellt, daß die Versuchstiere tatsächlich selektive visuelle Aufmerksamkeit zur Lösung der Aufgabe einsetzen und keine Umgehungsstrategien gefunden haben. Aus diesem Ergebnis folgt weiter, daß die selektive Aufmerksamkeit sich direkt im untersuchten Areal MT auswirkt. Damit sind die entscheidenden Faktoren für die Relevanz der Ergebnisse der Korrelationsanalyse gegeben.

Während der laufenden Antragsperiode sind zwei Publikationen erschienen, die für das laufende Projekt von besonderer Relevanz sind. Steinmetz et al. (2000) konnten zeigen, daß beim Wechsel von einer visuellen Aufgabe zu einer somatosensorischen Aufgabe 17% der untersuchten Neuronenpaare in SII des Makaken den Grad ihrer Synchronisation verändern, 80% davon in Richtung verstärkter Synchronisation. Inwiefern dieser Effekt spezifisch für jene SII-Neurone ist, die den relevanten taktilen Stimulus verarbeiten, oder aber unspezifisch für SII-Neurone generell gilt, bleibt offen. In letzterem Fall würde der Effekt nicht den Erwartungen an einen Mechanismus selektiver Aufmerksamkeit entsprechen.

Für ein Paradigma, in dem selektive Aufmerksamkeit auf einen Gitterreiz gelenkt werden sollte, indem dessen geringfügige farbliche Veränderung in Anwesenheit gleichartiger, räumlich separierter Distraktoren zu detektieren war, untersuchten Fries et al. (2001) Änderungen der Synchronisation zwischen Neuronen mit überlappenden Feldern in V4. Dabei konnte einerseits keine Änderung der Synchronisationsstärke zwischen den Spikefolgen von V4 Neuronen nachgewiesen werden. Andererseits nahm die Kohärenz zwischen Spikefolgen und lokalen Feldpotentialen im Mittel um 19% zu. Diese eher geringen Effekte sind mit dem gleichen Problem behaftet, das bereits für geringe Ratenschwankungen diskutiert wurde (s.o.). Die beobachteten Effekte führen nur zu einer relativ schwachen Verbesserung der Sichtbarkeit des selektierten Assemblies im Vergleich zur potentiell großen Zahl nicht selektierter Assemblies. Eine mögliche Ursache für die relativ schwachen Effekte könnte in der Wahl der relativ einfachen Detektionsaufgabe liegen. Ist dies der Fall, dann sollte die schwierige Trackingaufgabe in unseren eigenen Untersuchungen zu wesentlich stärkeren Effekten führen.

### **Objektbasierte Aufmerksamkeit in Area MT**

Bestätigen sich die oben skizzierten Ergebnisse, können sie als die erste eindeutige Beschreibung eines neurophysiologischen Korrelats objektbasierter Aufmerksamkeit auf dem Niveau einzelner Zellen und Zellgruppen gelten. Bislang ist erst eine Arbeit auf der Basis von Multizellableitungen aus Area V1 mit einem Paradigma publiziert worden (Roelfsema et al.), in dem vermutlich eine Kombination aus raum- und objektbasierten Aufmerksamkeitsformen zum Tragen kommt. Unseren Ergebnissen zufolge moduliert objektbasierte Aufmerksamkeit bereits die frühe visuelle Verarbeitung im dorsalen Verarbeitungspfad – in Übereinstimmung mit ERP-Messungen im Menschen (Valdes-Sosa, Bobes, et al., 1999), bei denen ein nah verwandtes Paradigma verwendet wurde. Da ebenfalls in MT raum- und eigenschaftsbasierte Aufmerksamkeitsmechanismen beschrieben worden sind (Treue & Martínez Trujillo, 1999), scheinen die drei Formen auf derselben Verarbeitungsebene anzusetzen. Treue und Martínez Trujillo fanden Additivität zwischen der Modulationsstärke raum- und eigenschaftsbasierter Effekte und schlossen daraus, daß beiden Aufmerksamkeitsformen eigenständige Mechanismen zugrunde liegen können. Ob die von Treue und Martínez Trujillo beschriebene nicht-raumbasierte Aufmerksamkeitsform rein eigenschaftsbasiert ist oder mit der von uns gefundenen objektbasierten identisch ist, kann zur Zeit nicht festgestellt werden und muß durch zukünftige Versuche geklärt werden.

Die von uns gefundenen objektbasierten Aufmerksamkeitseffekte umfassen auch einen allgemeinen Anstieg des Aktivitätsniveaus bei Aufmerksamkeitszuwendung. Dieser Befund scheint zunächst im Widerspruch zu Ergebnissen von (Reynolds, Chelazzi, et al., 1999) aus den Arealen V2 und V4 zu stehen, denen zufolge durch Aufmerksamkeit die Aktivität einer Zelle bei gleichzeitiger Präsentation zweier Reize in ihrem rezeptiven Feld zwischen dem Niveau bei Einzelstimulation mit dem besten und dem Niveau bei Einzelstimulation mit dem schlechtesten der beiden Reize moduliert wird. Unsere Ergebnisse scheinen mit dieser Theorie nicht übereinzustimmen, obwohl das Paradigma ein idealer Testfall ist, da sich die Stimuli räumlich komplett überlappen und somit die Konkurrenz zwischen den beiden Reizen maximiert ist. Die in Vorbereitung befindlichen Anschlußversuche sollen diese Frage durch genauere Quantifizierung der Aktivitätsniveaus bei Einzelstimulation abschließend klären.

Aufgrund der noch geringen Zahl untersuchter Korrelationen sind die entsprechenden Ergebnisse noch als vorläufig zu betrachten. Jedoch fand sich in Übereinstimmung mit der Arbeit von Fries et al. (2001) keine deutliche Änderung der Synchronisationsstärke in Abhängigkeit von selektiver Aufmerksamkeit. Ein möglicher Grund dafür ist, dass bei räumlich eng benachbarten, oder wie in diesem Fall vollkommen überlappenden Reizen die funktionelle Kopplung dieser Neurone an Assemblies in anderen Arealen dann besonders selektiv erfolgen kann, wenn auch die Assemblies der nicht attendierten Reize in sich synchronisiert bleiben. Diese könnten nur im synchronisierten Zustand ihre Aktivität in zeitliche Antikorrelation zu der Aktivität des attendierten Assemblies bringen und damit die zeitliche Überlappung ihrer Signale mit denen des attendierten Assemblies besonders effektiv minimieren, um so eine optimale funktionale Trennung zu erreichen.

Die Maximierung der Konkurrenz zwischen neuronalen Assemblies bei Verwendung räumlich überlappender Stimuli ist möglicherweise auch der Grund für die Stärke der beobachteten Synchronisationsänderungen zwischen einzelnen Zellen bei Änderung der Stimuluskonstellation. Besonders bemerkenswert dabei ist, daß selbst Korrelationen benachbarter Zellen komplett und mit hoher Geschwindigkeit verschwinden und aufgebaut werden können. In einer ausführlichen Untersuchung des Einflusses solcher Korrelationen auf die Codierungsleistung neuronaler Populationen in MT konnten Bair et al. (2001) nur geringe Änderungen der Synchronisationsstärke benachbarter Zellen feststellen, denen dennoch genauso wie der Ratenkovariation (Zohary et al., 1994) eine entscheidende Bedeutung bei der



Stimuluskodierung zukommen kann. Wenn sich Synchronisation unter anderen Aufgabenbedingungen so drastisch und rasch ändern kann wie von uns beobachtet, dürfte ihre Bedeutung im Hinblick auf Fragen der Codierungsleistung noch deutlich steigen.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

Zusammenfassend läßt sich zum Zeitpunkt dieser Niederschrift feststellen, daß es trotz der schwierigen Bedingungen für das Projekt gelungen ist, die notwendigen Labore aufzubauen, notwendige neue Techniken zu entwickeln bzw. zu etablieren, zwei geeignete Verhaltensparadigmen zu etablieren und ein drittes neu zu entwickeln, sowie erste elektrophysiologische Ergebnisse zu gewinnen. Für die Beantwortung der Frage, ob selektive Aufmerksamkeit zu selektiver verstärkter Synchronisation unter den Zellen führt, die in den Arealen MT und V4 durch den attendierten Reiz aktiviert werden, müssen die zur Zeit erfolgenden Messungen abgewartet werden. Sollte sich dabei eine deutliche Modulation der Synchronisation in Abhängigkeit von der Aufmerksamkeitszuwendung finden, spräche dies für einen Mechanismus, der die generelle Visibilität des selektierten Assemblies innerhalb des Nervensystems erhöht. Ist der Unterschied der Synchronizität wie in den ersten ausgewerteten Ergebnissen in Area MT hingegen eher gering, so würde dies dafür sprechen, daß der Grad an Synchronie zwischen mehr oder minder benachbarten Neuronen des gleichen corticalen Areals vornehmlich Ausdruck präattentiver Verarbeitungsmechanismen wie z.B. basaler Bindungsprozesse ist. Wie ließen sich dann aber schwache Änderungen der Synchronisation, wie die von Fries et al. (2001) beobachteten, deuten? Selektive Aufmerksamkeit muß nicht nur die generelle Visibilität eines selektierten Assemblies erhöhen, sondern vor allem auch selektiv Kopplungen zwischen Assemblies herstellen, die in verschiedenen kortikalen Arealen aktiviert wurden. Ein solches, flexibel umschaltbares, selektives Routing von Signalen durch das Netzwerk corticaler Areale könnte durch selektive Synchronisation derjenigen Assemblies erreicht werden, die gerade miteinander verbunden werden sollen. Der Grad interner Synchronizität jedes einzelnen Assemblies muß dabei nicht notwendig verändert werden. Es würde jedoch temporär ein größeres, arealübergreifendes Assembly als Verarbeitungsweg für die selektierten Signale entstehen. Größere Assemblies sind i.d.R. stabiler, was sich u.a. in einer leicht verbesserten zeitlichen Synchronizität ausdrückt und damit zu einer geringfügigen Erhöhung auch der internen Synchronizität der einzelnen Assemblies innerhalb der verschiedenen Areale führen könnte. Die Beobachtung einer geringen, aufmerksamkeitsabhängigen Änderung der Synchronizität innerhalb eines Areals könnte

daher nicht nur Zeichen eines Mechanismus sein, der unspezifisch die Visibilität und Wirksamkeit einer Neuronengruppe in einer Vielzahl von Projektionsgebieten generell erhöht, sondern auch eines Mechanismus, der selektiv den Signalaustausch zwischen zwei (oder mehr) Neuronengruppen verbessert. Eine zentrale Frage für die weitere Entwicklung des Projektes ist daher die Frage, ob ein solcher selektiv zwei Neuronengruppen miteinander verbindender Routingmechanismus existiert, der auf selektiver Synchronisation der beiden Neuronengruppen beruht und durch selektive Aufmerksamkeit gesteuert werden kann. Die Bearbeitung dieser Frage soll in der nächsten Antragsperiode begonnen werden.

#### Literatur:

Abeles M (1982) Local cortical circuits. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag.

Abeles M (1991) Corticonics. Cambridge: Cambridge University Press.

Bair W, Zohary E, and Newsome WT (2001) Correlated firing in macaque visual area MT: time scales and relationship to behavior. *J Neurosci.* 2001 Mar 1;21(5):1676-97.

Bouyer JJ, Montaron MF, and Rougeul A (1981) Fast fronto-parietal rhythms during combined focused attentive behaviour and immobility in cat: cortical and thalamic localizations. *Neurosci* 51:244-252.

Colby CL (1991) The neuroanatomy and neurophysiology of attention. *J Child Neurol* 6:S90-S118.

Colby CL, Duhamel J-R, and Goldberg ME (1996) Visual, presaccadic, and cognitive activation of single neurons in monkey lateral intraparietal area. *J Neurophysiol* 76:2841-2852.

Desimone R and Duncan J (1995) Neural mechanisms of selective visual attention. *Ann Rev Neurosci* 18:193-222.

Gerstein GL, Bedenbaugh P, and Aertsen AMHJ (1989) Neuronal assemblies. *IEEE Trans Bio-Med Eng* 36:4-14.

Fries P, Reynolds JH, Rorie AE, and Desimone R (2001) Modulation of oscillatory neuronal synchronization by selective visual attention. *Science* 291:1560-1563.

Goebel R (1996) Visuelle Aufmerksamkeit, perzeptive Organisation und invariante Objekterkennung: Eine Integration neurobiologischer und Psychologischer Befunde in einem neuronalen Netzwerk-Modell.

Goldberg ME and Bruce CJ (1985) Cerebral cortical activity associated with the orientation of visual attention in the rhesus monkey. *Vision Res* 25:471-481.

Gottlieb, JP, Kusunoki M, Goldberg ME (1998) The representation of visual salience in monkey parietal cortex. *Nature* 391:481-484

- Grossberg S (1980) How does a brain build a cognitive code? *Psychol Rev* 87:1-51.
- Haenny PE, Maunsell JHR, and Schiller PH (1988) State dependent activity in monkey visual cortex II. retinal and extraretinal factors in v4. *Exp Brain Res* 69:245-259.
- Haenny PE and Schiller PH (1988) State dependent activity in monkey visual cortex I. single cell activity in v1 and v4 on visual tasks. *Exp Brain Res* 69:225-244.
- Kreiter AK and Singer W (1996) On the role of neuronal synchrony in the primate visual cortex.  
In: *Brain Theory: Biological Basis and Computational Theory of Vision*. (eds. A. Aertsen, V. Braitenberg) Elsevier, Amsterdam
- Luck SJ, Chelazzi L, Hillyard SA, and Desimone R (1997) Neural mechanisms of spatial selective attention in areas V1, V2, and V4 of macaque visual cortex. *J Neurophysiol* 77:24-42.
- Milner PM (1974) A model for visual shape recognition. *Psychol Rev* 81:521-535.
- Motter BC (1993) Focal attention produces spatially selective processing in visual cortical areas V1, V2, and V4 in the presence of competing stimuli. *J Neurophysiol* 70:909-919.
- Moran J and Desimone R (1985) Selective attention gates visual processing in extrastriate cortex. *Science* 229:782-784.
- Niebur E, Koch C, and Rosin C (1993) An oscillation-based model for the neuronal basis of attention. *Vision Res* 18:2789-2802.
- Olshausen BA, Anderson CH, and Van Essen DC (1993) A neurobiological model of visual attention and invariant pattern recognition based on dynamic routing of information. *J Neurosci* 13:4700-4719.
- Reynolds JH, Chelazzi L, and Desimone R (1999) Competitive Mechanisms Subserve Attention in Macaque Areas V2 and V4. *J. Neurosci.* 19:1736-1753.
- Roelfsema PR, Engel AK, König P, and Singer W (1997) Visuomotor integration is associated with zero time-lag synchronization among cortical areas. *Nature* 385:157-161.
- Roelfsema PR, Lamme VA, and Spekreijse H. (1998) Object-based attention in the primary visual cortex of the macaque monkey. *Nature* 395:376-81.
- Sheer DE (1989) Sensory and cognitive 40-Hz event-related potentials: behavioral correlates, brain function, and clinical application. In: *Brain Dynamics* (Basar E, Bullock TH, eds), pp 339-374. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag.
- Singer W (1990) Search for coherence: a basic principle of cortical self-organization. *Concepts in Neurosci* 1:1-26.
- Singer W (1993) Synchronization of cortical activity and its putative role in information processing and learning. *Annu Rev Physiol* 55:349-374.

Singer W, Engel AK, Kreiter AK, Munk MHJ, Neuenschwander S, and Roelfsema PR (1997) Neuronal assemblies: necessity, signature and detectability. *Trends in Cognitive Science* 1(7):252-261

Singer W and Gray CM (1995) Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Ann Rev Neurosci* 18:555-586.

Softky W (1994) Sub-millisecond coincidence detection in active dendritic trees. *Neurosci* 58(1):13-41.

Steinmetz PN, Roy A, Fitzgerald PJ, Hsiao SS, Johnson KO, and Niebur, E. (2000) Attention modulates synchronized neuronal firing in primate somatosensory cortex. *Nature* 404:187-190.

Treue S and Maunsell JHR (1996) Attentional modulation of visual motion processing in cortical areas MT and MST. *Nature* 382:539-541.

Treue S and Martinez, Trujillo JC (1999) Feature-based attention influences motion processing gain in macaque visual cortex. *Nature* 399:575-579

Valdes-Sosa M, Bobes MA, Rodriguez V, and Pinilla T. (1998) Switching attention without shifting the spotlight object-based attentional modulation of brain potentials. *J Cogn Neurosci* 10:137-151

Van Essen DC, Olshausen B, Anderson CH, and Gallant JL (1991) Pattern recognition, attention and information bottlenecks in the primate visual system. *SPIE Conf Visual Information Processing: From Neurons to Chips* 1473:17-28.

von der Malsburg C (1986) Am I thinking assemblies? In: *Brain Theory* (Palm G, Aertsen A, eds), pp 161-176. Berlin: Springer-Verlag.

Zohary E, Shadlen M, Newsome WT (1994) Correlated neuronal discharge rate and its implications for psychophysical performance. *Nature* 370:140-143.

## **6. Literaturverzeichnis**

Zeitschriftenbeiträge:

W.A. Freiwald, P. Valdes, J. Bosch, R. Biscay, J.C. Jimenez, L.M. Rodriguez, V. Rodriguez, A.K. Kreiter, W.Singer. Testing non-linearity and directedness of interactions between neural groups in the macaque inferotemporal cortex. *J. Neurosci. Methods* 94(1):105-119 (1999)

Freiwald WA, Kreiter AK, Singer W (2001) Synchronization and assembly formation in the visual cortex. *Progress in Brain Research* 130:111-140

C. Tallon-Baudry, A. Kreiter, O. Bertrand. Sustained and transient oscillatory responses in the gamma and beta bands in a visual short-term memory task in humans. *Vis. Neurosci.* 16(3):449-459 (1999)

Kreiter AK (2001) Functional Implications of Temporal Structure in Cortical Processing. (to appear in *Zoology*)

Martignon L, Deco G, Laskey K, Diamond M, Freiwald WA, Vaadia E (2000) Neural coding: higher order temporal patterns in the neurostatistics of cell assemblies. *Neural Computation* 12: 2621-2653

Rodríguez V, Valdés-Sosa M, Freiwald WA (2001) Dividing attention between form and motion during transparent surface perception. (submitted to *Cognitive Brain Research*)

### **Abstracts:**

Freiwald WA, Kreiter AK, Singer W (1999a) Stimulus Influences on the Synchronous Firing of Neurons in the Macaque Inferotemporal Cortex. In: *Göttingen Neurobiology Report 1999*, 491, Thieme: Stuttgart, New York.

Freiwald WA, Kreiter AK, Singer W (1999b) Temporally Structured Activity in the Macaque Inferotemporal Cortex. International Workshop "Aspects of Neural Coding" (25<sup>th</sup>-28<sup>th</sup> March 1999, Hanse Wissenschaftskolleg Delmenhorst)

Freiwald WA, Kreiter AK, Singer W (1999c) Synchronization in the mammalian cortex: a possible solution for the binding problem. Abstracts of the 7th International Conference on Cognitive Neuroscience (ICON), Budapest, Ungarn, 27. Juni 3.Juli, 1999

Freiwald WA, Kreiter AK, Singer W (1999d) Synchronous and oscillatory activity in the macaque temporal pathway. *Cognitive Neuroscience* (Bremen, 31.10.-3.11. 1999)

Freiwald WA, Stemmann H, Wannig A, Kreiter AK, Hofmann UG, Hills MD, Kovacs GTA, Kewley DT, Bower JT, Eurich CW, Wilke SD (2001) Stimulus representation in rat primary visual cortex: multi-electrode recordings and estimation theory. 10<sup>th</sup> Annual Computational Neuroscience Meeting, San Francisco & Pacific Grove, CA, USA

Kreiter AK, Freiwald WA, Tallon-Baudry C, Wegener D, Mandon S. (2000) Neurophysiologie kognitiver Prozesse im visuellen System von Säugetieren. Lison, AE and Diehl, HA. Lengerich, Pabst Science Publishers. *Medizinische Forschung und Gesundheitswissenschaften in Bremen*. 313-318

Tallon-Baudry C, Mandon S, Freiwald WA, Kreiter AK (2001) Task-dependency of stimulus-induced gamma oscillations in areas V4 and TEO: chronic field potential recordings in awake, behaving monkeys. In: *Göttingen Neurobiology Report*

Rodriguez V, Freiwald W, Cobo A, Valdes M (2001) Neural substrate of object-based attention in non-human primates: preliminary results. 2<sup>nd</sup> Experimental Neuroscience Meeting "Regeneration, Plasticity and Repair", Havana, Cuba

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

Die Mitarbeiter des Projektes haben an allen Aktivitäten des SFBs teilgenommen. Einige Ergebnisse wurden auf den SFB-Kolloquien vorgestellt. Wissenschaftliche Kontakte wurden u.a. zu Prof. Nancy Kanwisher geknüpft, wodurch ein einjähriger Auslandsaufenthalt von W. Freiwald in ihrem Labor möglich gemacht werden konnte. Mitarbeiter und Leiter des

Teilprojektes haben an der Göttinger Neurobiologentagung 1999 und 2001, dem Internationalen Workshop "Aspects of Neural Coding" am Hanse Wissenschaftskolleg 1999, der ICON, Budapest 1999 und dem Annual Computational Neuroscience Meeting, San Francisco 2001 teilgenommen. Der Teilprojektleiter bietet Lehrveranstaltungen im Rahmen des mit dem SFB verbundenen „Zentrums für Kognitionswissenschaften“ an. Gemeinsam mit Prof. Klaus Pawelzik (B5) wird das interdisziplinäre Seminar „Spezielle Themen der theoretischen Neurobiologie und Neurophysik“ angeboten. Gemeinsame Arbeitsbesprechungen wurden vor allem mit den Teilprojekten A8 (Prof. Leibfritz), B3 (Prof. Pawelzik) und C8 (Prof. Fahle) durchgeführt.

#### Vorträge (Kreiter)

Freiburg, 11.01.1999, auf Einladung von Prof. A. Aertsen im Rahmen der Ringvorlesung „Wege zur Erforschung des Gehirns“: „Zeitlich strukturierte neuronale Aktivität als Mechanismus kohärenter Informationsverarbeitung im Gehirn“

München, 01.03.1999, auf Einladung der katholischen Akademie in Bayern: „Neurobiologie integrativer Hirnfunktionen. Die Mechanismen von Wahrnehmung und Denken“

Leipzig, 18.05.1999, „Die Neurobiologie Integrativer Hirnfunktionen“

Delmenhorst, 04.12.1999, auf Einladung von G. Hering und O. Engler im Rahmen eines Forschungskolloquiums der Studienstiftung: „Methoden in den Neurowissenschaften“

Papenburg, 24.02.2000, auf Einladung von Dr. Peters, Stv. Leiter des Cusanuswerkes: „Die Welt und ihre Bilder im Gehirn“

Osnabrück, 08.06.2001, auf Einladung von Prof. Jeserich im Rahmen des Symposiums „Cognition“ der Jahrestagung der DZG: „Functional Implications of Temporal Structure in Cortical Processing“

**Teilprojekt A 8**

**Aktivierung limbischer Strukturen mit und ohne Theta – Rhythmus :  
Elektrophysiologische und kernspintomographische Untersuchungen**

**Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Dieter Leibfritz

Institut für Organische Chemie  
Universität Bremen, FB 2  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

Prof. Dr. Dr. Gerhard Roth

Institut für Hirnforschung  
Universität Bremen, FB 2  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

## **1. Einleitung**

Im Rahmen eines biologisch sinnvollen Lernparadigmas wurde die Beziehung lernrelevanter neurophysiologischer Prozesse, speziell die P300 und der Theta-Rhythmus, im sich verhaltenden Tier (Ratte) untersucht. Es wurde ein Modell erarbeitet, um mit Hilfe der funktionellen Kernspintomographie (fMRI) mit hoher Orts- und Zeitauflösung den Hippocampus im Zustand der Theta-Aktivität sichtbar zu machen. Im elektrophysiologischen Teil wurden die an der Entstehung der P300 beteiligten hippocampalen Afferenzen untersucht und der Zusammenhang zwischen Theta-Rhythmus und P300 beim Belohnungslernen analysiert. Im kombinierten verhaltensbiologisch-elektrophysiologischen und NMR-Bildgebungsteil ist der Frage nachgegangen worden, inwieweit die Aktivierung hippocampaler Eingänge in Gegenwart und Abwesenheit des Theta-Rhythmus im Hirn untrainierter und trainierter Ratten nichtinvasiv nachweisbar ist. Hierfür wurden zunächst am vorhandenen Tierscanner (Biospec 4.7/40) die verschiedenen Verfahren der funktionellen Bildgebung ( $T_2^*$ -Kontrast oder BOLD-Effekt) implementiert, verfahrensoptimiert und an einem etablierten Modell (elektrische Vorderpfotenstimulation bei der Ratte) erprobt. Wir haben begonnen für unseren Modellansatz die regionale Durchblutung (Perfusion) mit Hilfe von spin tagging-Methoden als zweite MR-Methode zu etablieren. Diese muß zunächst ebenfalls am Beispiel der Vorderpfotenstimulation bei der Ratte optimiert werden, um ein weiteres Messverfahren gegebenenfalls für die vaskuläre Aktivierung zu erhalten. Bis zum Ende dieser Antragsperiode sollen mit Hilfe von fMRI die mit der Aktivität des Hippocampus auftretenden Aktivitäten im präfrontalen Kortex, anterioren Thalamus, Nucleus accumbens und im Striatum untersucht werden („scouting“). Schließlich wollen wir mittels lokalisierter, diffusionsgewichteter  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie die Freisetzung von Neurotransmittern in Zentren des limbischen Systems (Hippocampus, Septum, basales Vorderhirn) im Theta-Zustand überprüfen.

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

### **2.1 Elektrophysiologische Methoden**

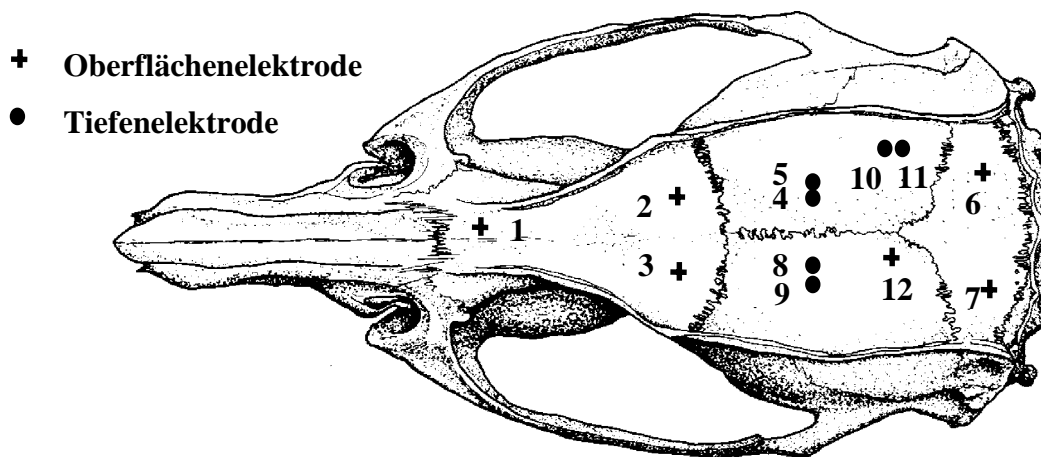
Mit insgesamt 24 Tieren wurde im abgelaufenen Zeitraum ein umfangreiches Verhaltenstraining durchgeführt. In Kooperation mit dem Brain Science Institut (Dr. G. Brankatschk) wurden Daten von einer gleich großen Gruppe von Tieren, die zum Teil bei Arbeitsaufenthalten im Riken Institut selbst bearbeitet wurden, in die Auswertung mit einbezogen.



Postnatal “gehändelte” Long-Evans Ratten (Charles River) wurden in einer Verhaltenskammer trainiert, zwischen bedeutsamen (Bekräftigung durch Wasser) und irrelevanten (keine Bekräftigung) Ton-Signalen zu unterscheiden (oddball Paradigma). Nach Erlernen der Aufgabe wurden mehrere Elektroden chronisch implantiert (Abb. 2.1). Nach einer postoperativen Erholungsphase und eventuellem Nachtraining wurden Potentiale sowohl auf relevante Signale als auch auf irrelevante Ereignisse registriert, gemittelt und deren Differenzen gebildet.

Experiment 1: Die Ausprägung der P300 in verschiedenen hippocampalen Regionen:

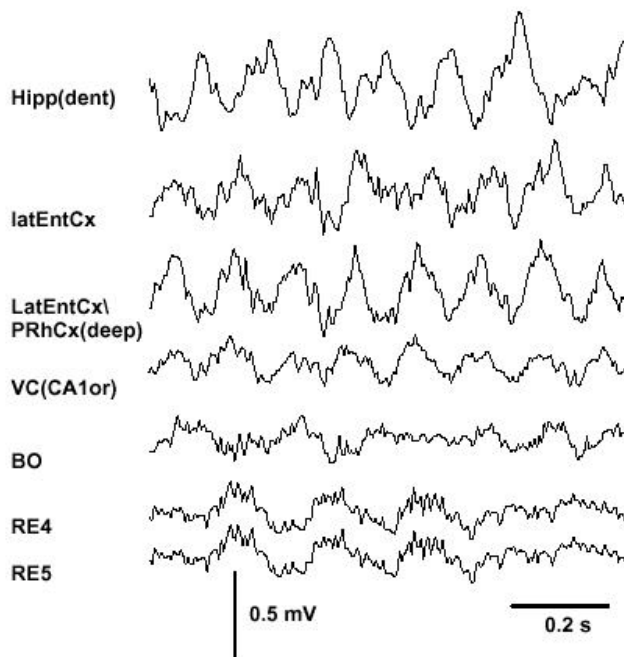
In dieser Versuchsreihe wurde an 10 trainierten Long Evans Ratten mit chronisch implantierten Elektroden in der CA1 (Stratum radiatum), CA3 (Stratum radiatum/Stratum lucidum), im Hilus und dem Gyrus dentatus (Stratum moleculare) die P300 ausgelöst und deren Latenz- und Amplitudenkorrelationen untersucht.



**ELEKTRODENPOSITIONEN :**

- |                            |                             |
|----------------------------|-----------------------------|
| 1: (Bulbus Olfactorius BO) | 7: Referenz Elektrode (GND) |
| 2: (Ventr. Hipp. Com. mv)  | 8: (DHipLd)                 |
| 3: (Ventr.Hipp.Com ld)     | 9: (DHipLv)                 |
| 4: (DHipRd)                | 10: (VHipRd)                |
| 5: (DHipRv)                | 11: (VHipRv)                |
| 6: (INDIFFERENT)           | 12: (RSA)                   |

*Abb. 2.1 Die Abbildung zeigt die verwendeten Standardelektrodenpositionen als Markierung in einer Aufsicht auf den Schädel einer Ratte*



**Abb.2.2:** intracraniales EEG von verschiedenen Ableitpositionen (Hippocampus, lateraler Entorhinaler Cortex, Bulbus Olfactorius, Nucleus Reuniens). Deutlich sichtbar ist die oszillatorische Aktivität im Niederfrequenzbereich.

**Experiment 2:** *Interaktion hippocampaler Afferenzen mit der durch bedeutsame Töne ausgelösten P300 im Hippocampus.*

Unserer Hypothese folgend haben wir Stimulationen von hippocampalen Afferenzen durch stromkonstante Einzelimpulse (0.1 ms Dauer, mittlerer Intensität) vor dem bedeutsamen Ton vorgenommen. Dabei haben wir untersucht, ob diese Stimulationen die P300 auslösende Wirkung des bedeutsamen Tones übernehmen können.

Es wurden/werden die Bedeutung von drei afferenten Systemen untersucht:

- im *lateralen und medialen perforanten Trakt* (latPP, medPP) erfolgte jeweils eine monopolare Stimulation.
- in der ventralen hippocampalen Kommissur (VHC) wurde mit bipolarer Stimulation gearbeitet, d.h. es wurde die jeweils geeignetere Polarität gewählt.
- für die septo-hippocampalen Afferenzen in der Fimbria/Fornix wurden bei bipolarer Stimulation jeweils im einzelnen Versuch zu ermittelnde optimierte Reizparameter gewählt.

**Experiment 3:** *Implantation von mehreren Einzelelektroden im Hippocampus und Untersuchung der Beziehung zwischen Theta-Rhythmus und der P300 unter Anwendung*

*unterschiedlicher Versuchsparadigmen (Paradigmen mit Theta Rhythmus und solche ohne Theta-Rhythmus)*

Folgende zwei Versuchsserien wurden durchgeführt:

- (a) Die bedeutsamen Signale werden während der Lokomotion im Laufrad mit zufälliger oder regelmäßiger Phasen-Beziehung zum Theta-Rhythmus gegeben (der Theta-Rhythmus ist während der Lokomotion im Laufrad maximal ausgeprägt).
- (b) Die bedeutsamen Signaltöne werden nur bei Immobilität des Tieres (im Zustand ohne Theta-Rhythmus) appliziert.

*(a) Die Bedeutung der Phasenbeziehung zwischen relevantem Reiz, Theta-Rhythmus und P300*

In diesem Teilvorhaben wurde bislang an 6 (von geplanten 10) trainierten Ratten mit chronisch implantierten Elektroden untersucht, ob und in welcher Weise die P300 von der Applikation des relevanten Tones in einer bestimmten Phase des Theta-Rhythmus beeinflusst wird. Alle Töne wurden nach 10 s Dauer eines kontinuierlichen Theta-Rhythmus appliziert. Das Reizintervall aller Stimuli lag randomisiert zwischen mindestens 4 und maximal 10 s. Der relevante Ton von 8 KHz wird mit einer Auftrittswahrscheinlichkeit von 0,1 (in der Trainingsphase von 1,0 bis 0,1) zufällig appliziert.

Die Phasenlage der Tonapplikationen konnte zwischen 90° und 270° variiert werden.

*(b) Der Einfluß des "Sharp-Wave"-Funktionszustandes auf die P300*

In diesem Experiment wurden bislang ebenfalls 6 von geplanten 10 trainierten Ratten untersucht. Zwei Töne mit geringer Auftrittswahrscheinlichkeit ( $p=0,1 - 0,2$ ) und ein häufiger und irrelevanter Stimulus werden in zufälliger Reihenfolge appliziert. Die Töne werden nur dann gegeben, wenn im hippocampalen EEG *kein* Theta-Rhythmus vorlag, sondern gelegentlich "sharp waves" auftreten; spontan auftretender Theta-Rhythmus (z.B. durch Bewegungen verursacht) unterbricht die Stimulusapplikation. Einer der beiden Töne mit geringer Auftrittswahrscheinlichkeit signalisiert dem Tier die Gabe von Wasser, der andere relevante Ton wird während des Trinkens (dabei tritt im EEG des Hippocampus *kein* Theta-Rhythmus auf, sondern es werden "sharp waves" beobachtet) appliziert bzw. durch "sharp waves" ausgelöst. Die relevanten Signale wurden in unterschiedlichen Intervallen nach dem Auftreten der "sharp waves" appliziert.

**Experiment 4:** *Stimulation in unterschiedlichem Verhaltenskontext (hier Laufrichtung und Kopfausrichtung in Bezug zum Ort der Belohnung) mit einem Testsystem zur synchronen Verhaltens- und EEG-Datenerfassung*

Aus der Beobachtung, dass einige Tiere mit einer starken Präferenz für eine Laufrichtung eine stabilere Performance zeigten als Tiere mit wechselnder Laufrichtung, entstand die Frage, ob die Ausrichtung des Tieres zum Zeitpunkt der Stimulation einen Einfluss auf das Wahlverhalten der Tiere hat. Mit Hilfe eines Videotrigger-Systems wurden die jeweiligen Trials der Tiere im Laufe des Verhaltenstrainings klassifiziert und konnten so mit den übrigen Verhaltensdaten und EEG-Ableitungen in Beziehung gesetzt werden.

**Erweiterung der Auswertemethoden. Entwicklung einer Waveletkoeffizienten gestützten Auswertung von Single-Trials (zu Beginn waren nur gemittelte Trials auswertbar)**

Die interessierenden P300 Komponenten werden erst aus einer Anzahl gemittelter EEG-Ableitungen sichtbar und erlauben so keine direkte Korrelation eines einzelnen Trials mit dem beobachteten Verhalten. Die spektrale Betrachtung der EEG-Signale wird zudem insofern ungenau, da mit den gängigen Methoden der Fourierzerlegung oder Spektrographie eine zentrale Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieser Methoden (i.e. die Voraussetzung mit stationären Signalen zu arbeiten) mißachtet wird.

Mit Hilfe der Wavelet-Zerlegung, die diese Annahme nicht voraussetzt, also zuverlässige Ergebnisse auch mit nicht-stationären Signalen liefert, wurden die Ableitungen einzelner Trials untersucht. Die Waveletkoeffizienten-Methode (R. Quiñan Quiroga, 2000) erlaubt zudem eine verlustfreie Filterung und eine in weiten Grenzen unabhängige Zeit- Frequenz-Darstellung der Signale.

Die Ergebnisse dieser Methode entstanden aus einer Kooperation mit dem „John von Neumann Institut“.

## 2.2 MR- Bildgebende Verfahren

### 2.2.1 Funktionelle MR-Bildgebung (fMRI, T<sub>2</sub>\*-Kontrast)

Da unterschiedliche fMRI-Sequenzen unterschiedliche Vor- und Nachteile aufweisen, wurden mehrere Pulssequenzen zur Aufnahme von T<sub>2</sub>\*-gewichteten NMR-Bildern (BOLD-Effekt) implementiert und optimiert, um abhängig von der Messaufgabe und den experimentellen Bedingungen, die am besten geeignete Pulssequenz einsetzen zu können. Um die Durchführung der Experimente zu vereinfachen, kann die Parameterwahl und -kontrolle jeweils mit dem entsprechenden Tcl/Tk-Shell-Programm erfolgen. Der Sequenzbeginn kann

nach Wahl auch extern getriggert werden (z.B. Atemtriggerung o. ä.). Ferner besteht die Möglichkeit, Triggerpulse zur Steuerung von Stimuli (Vorderpfotenreizung, „tail pinch“ etc.) auszugeben.

Es wurden folgende Sequenzen für Anwendungen am Rattenhirn implementiert:

- $T_2^*$ -gewichtete optimierte Gradientenecho-Sequenz (FLASH)
- $T_2^*$ -gewichtete U-FLARE-Sequenz
- $T_2^*$ -gewichtete Mehrschicht-U-FLARE-Sequenz
- $T_2^*$ -gewichtete Echo-Planar-Imaging-Sequenz

Diese Sequenzen werden im folgenden kurz dargestellt und hinsichtlich ihrer Vor- und Nachteile und der sich daraus ergebenden bevorzugten Anwendungsgebiete charakterisiert.

### Optimierte Gradientenecho-Sequenz (FLASH)

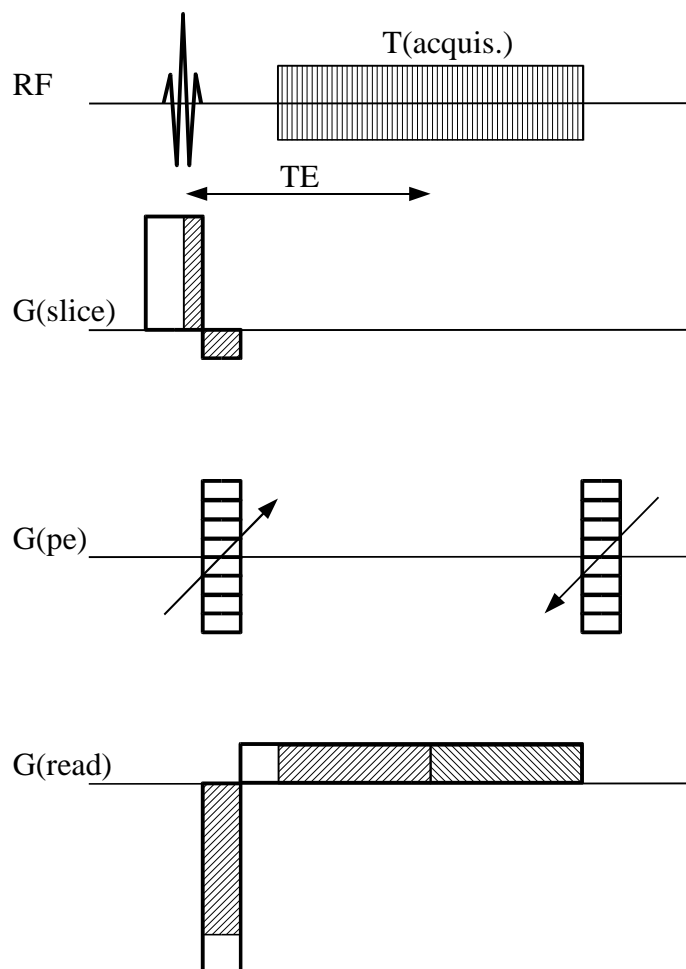


Abb.2.2.1: Schema der Pulssequenz zum  $T_2^*$ -gewichteten FLASH Imaging.

Die Sequenz wurde hinsichtlich des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (SRV) optimiert.

(a) Dies beinhaltet, dass die Echozeit TE der typischen Abklingkonstante des Signals  $T_2^*$  in Rattengehirn entspricht, da bei  $TE = T_2^*$  die durch Änderungen von  $T_2^*$  hervorgerufenen Signaländerungen maximal sind. Auf der Basis von mittels EPI-Messungen ermittelten  $T_2^*$ -Maps wurde deshalb bei in-vivo-Messungen mit Echozeiten von 20-40 ms gearbeitet, meist  $TE = 30$  ms gewählt.

(b) Die Akquisitionszeit pro Echo wurde optimiert. Sie soll einerseits möglichst lang sein, da das SRV proportional mit der Wurzel der Akquisitionszeit wächst. Wegen notwendiger Gradientenpulse vor der Datenakquisition muss die Akquisitionszeit kleiner als  $2 \cdot TE$  sein. Zudem bedingt eine lange Akquisitionszeit eine kleine Bandbreite bei der Signalabtastung, was die Auflösung in Auslese-Richtung begrenzt und/oder auch zu Bildverzerrungen führen kann. Weiterhin ist das detektierte Echosignal zunehmend unsymmetrisch zur Echomitte, was wiederum die Auslöschung von dispersionsartigen Signalanteilen im Bildbereich reduziert und somit die Punktverbreiterungsfunktion in Ausleserichtung verbreitert bzw. die Ortsauflösung verschlechtert. Für die typische Echozeit von 30 ms wurde deshalb eine Akquisitionszeit von 25.6 ms gewählt, was der Messung von 128 komplexen Datenpunkten bei einem Frequenzbereich von 5 kHz entspricht.

(c) Zur Maximierung des SRV wurde ein Kippwinkel von  $20-25^\circ$  verwendet.

(d) Es wurde ein optimierter sinc-artiger amplitudenmodulierter HF-Puls zur Signalanregung verwendet, um die Abweichung des Schichtprofils von der Form eines Rechtecks zu minimieren. Die typischen Schichtdicken betragen 1-2 mm.

(e) Die minimale Wiederholzeit TR betrug 50ms, meist wurde mit  $TR = 60-70$  ms gearbeitet.

(f) Die meist verwendete Bildmatrixgröße betrug  $128 \cdot 64$  bei einem Bildfeld (field-of-view, FOV) von  $32\text{mm} \cdot 32\text{mm}$ , was einer nominellen Voxelgröße von  $0.25\text{mm} \cdot 0.5\text{mm} \cdot 1.5\text{mm}$  entspricht.

(g) Da die Aufnahmezeit pro Bild typisch 3.2s-4.5s beträgt, ist die Sequenz recht anfällig gegen Bewegung des Tieres, z.B. die Atem- oder Zungenbewegung, die auch im Gehirnbereich Magnetfeldänderungen induzieren können. Der Sequenzbeginn kann daher wahlweise auf die Atembewegung getriggert werden. Weiterhin können Auslese- und Phasenkodierrichtung vertauscht werden, um im Bereich des Gehirns eine Signalfehllokalisierung zu reduzieren. Beide Maßnahmen führten jedoch zu keiner wesentlichen Verbesserung der Bildstabilität bei spontan atmenden Ratten.

Die derzeitig erreichte Signalstabilität bei FLASH-Messungen  $TR/TE=70\text{ms}/30\text{ms}$ ;  $FOV:32\text{mm}*32\text{mm}$ , 2mm Schichtdicke, Bildmatrix:  $128*64$  beträgt im Kortex bzw. Hippocampus von spontan atmenden Ratten etwa 0.5-1.0 % (Standardabweichung/Mittelwert). Dieser Wert, der sich auch post mortem nicht weiter verbesserte, wurde jedoch nicht in allen in-vivo-Experimenten erreicht. Bei einigen Tieren wurden Werte von bis zu 2-4 % gemessen, was auf den Einfluss von Bewegung hindeutet. In diesen Fällen weisen Differenzbilder zufällige Strukturen auf, die die Detektion von durch die Stimulation hervorgerufenen Signaländerungen be- oder sogar verhindern.

Derzeitig wird überprüft, ob diese in vivo-Messungen auftretenden Schwankungen durch Einsatz der Projektion-Rekonstruktions-Methode (an Stelle des derzeitig eingesetzten Fourier-Verfahrens) reduziert werden kann.

Weiterhin wird z. Z. die Hauptursache des Rauschens, das auch post mortem gemessen wird, also nicht durch Bewegung hervorgerufen wird, untersucht. Dabei wird vor allem die Stabilität des HF-Leistungsenders untersucht, da bei einer FLASH-Sequenz durch Schwankungen des Kippwinkels hervorgerufene Signalschwankungen nach der Fouriertransformation zu einem erhöhten Rauschen in Phasenkodierrichtung führen können. Auch diese Schwankungen könnten durch den Einsatz der Projektion-Rekonstruktions-Methode reduziert werden.

### **$T_2^*$ -gewichtetes U-FLARE imaging**

Die Pulssequenz basiert auf einer "displaced U-FLARE " Sequenz, in der nur die Signale der geraden Echofamilie detektiert werden. Wiederum wurde die Sequenz hinsichtlich des SRV optimiert. Typische Sequenzparameter sind:  $128*64$  Bildmatrix, 1.5-2 mm Schichtdicke,  $32\text{mm}*32\text{mm}$  FOV; Echoabstand innerhalb des Echozuges: 4.8 ms; Messzeit/Bild: 350-400 ms, Kippwinkel der refokussierenden HF-Pulse:  $90-135^\circ$ . Der Bildabstand entspricht der gewählten Repetitionszeit TR (ca. 2-3s). Kürzere Bildabstände als 1s sind kaum sinnvoll, da das Relaxationsdelay erst nach dem letzten refokussierenden HF-Puls beginnt.

Der  $T_2^*$ -Kontrast wird durch ein zusätzliches Zeitintervall von typisch 20-40 ms erreicht, das in eine dem Echozug vorausgehende Spinechosequenz eingefügt wird oder dem eine Schicht anregenden  $90^\circ$  Puls folgt.

Die derzeitig erreichte Signalstabilität bei in-vivo-U-FLARE-Messungen mit

$TR/\Delta TE=3\text{s}/30\text{ms}$ ,  $FOV:32\text{mm}*32\text{mm}$ , 2mm Schichtdicke, Bildmatrix:  $128*64$  beträgt im

Kortex bzw. Hippocampus von spontan atmenden Ratten minimal etwa 0.7-1.3 % (Standardabweichung/Mittelwert). Die Signalschwankungen innerhalb einer Messserie sind im Gehirn vergleichbar zu den Schwankungen außerhalb des Objektes. Der Einfluss von Bewegungen ist demnach vernachlässigbar.

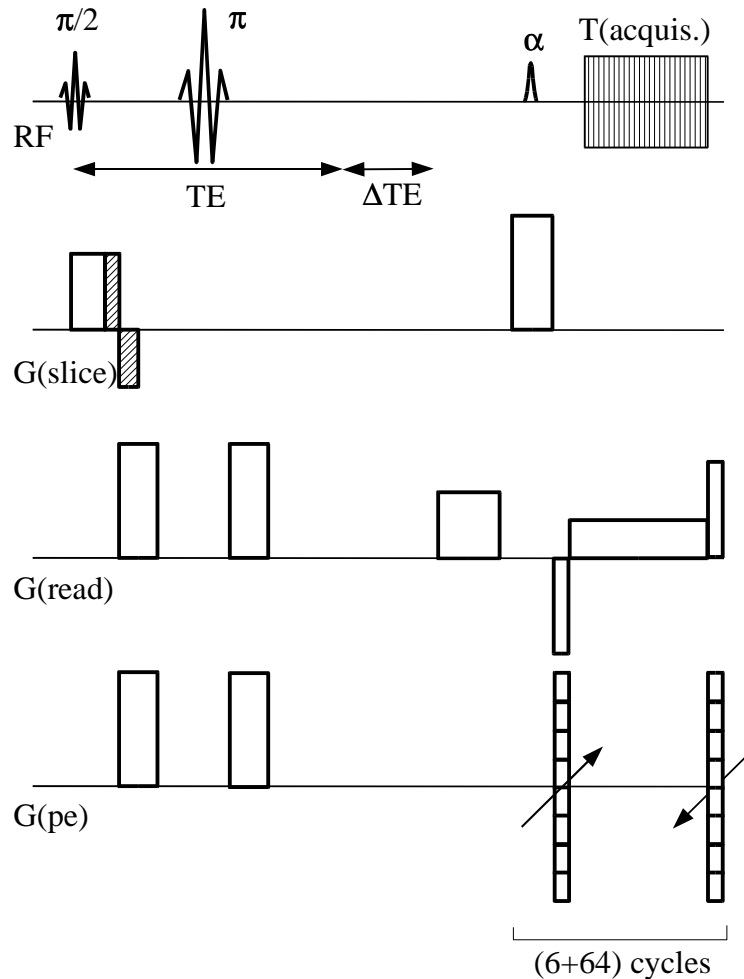


Abb.2.2.2: Schema der Pulssequenz zum  $T_2^*$ -gewichteten U-FLARE Imaging.

Die U-FLARE-Sequenz bietet prinzipiell die Möglichkeit zu sequenziellen Mehrschichtmessungen, wobei die Zahl der Schichten durch die gewählte Repetitionszeit und die Messzeit pro Bild gegeben ist. Bei einem TR von 2-3 s sind also maximal 5-7 Schichten sequenziell messbar. Diese Option ist jedoch zur Zeit noch nicht verfügbar, soll jedoch in den kommenden Monaten implementiert werden.

Der Vorteil der  $T_2^*$ -gewichteten U-FLARE-Bildgebung liegt in der im Vergleich zu FLASH höheren Zeitauflösung. Die Zeitauflösung ist zwar deutlich geringer als für EPI-Messungen,



dagegen wirken sich aber starke  $B_0$ -Inhomogenitäten (geringe  $T_2^*$ -Zeiten) nur als lokale Signalabschwächungen aus, und führen im Gegensatz zu EPI nicht zu Bildverzerrungen und/oder verschlechterter Ortsauflösung.

### **Neuentwicklung und Implementierung einer Einzel-Schuss-Mehrschicht - $T_2^*$ -gewichteter U-FLARE-Sequenz für die funktionelle Bildgebung**

Insbesondere für fMRI-Messungen mit hoher Zeitauflösung und/oder Messung von Einzelereignissen ist die gleichzeitige Messung möglichst vieler paralleler Schichten wünschenswert. Auf der Jahrestagung der ISMRM 2000 wurde von D. Feinberg et al. die Methode des 'simultaneous image refocusing' (SIR) vorgestellt als eine neue Methode für Mehrschicht-EPI-Messungen [1]. Wir haben eine Einzel-Schuss-Mehrschicht-U-FLARE-Sequenz (UFLARE = 'ultrafast low angle RARE', [2]) entwickelt, die die Messung von  $N_{S1}$  Schichten mit einem Echozug ermöglicht, wobei je 2 Schichten identische  $T_2^*$ -Wichtung haben können. Weiterhin ist, im Gegensatz zur EPI-basierten SIR-Methode, der zeitliche Abstand zwischen Echos, die von einer Schicht stammen, konstant, wodurch Bildartefakte in Phasenkodierichtung vermieden werden. Diese Methode wurde im April 2001 auf der Jahrestagung der ISMRM in Glasgow vorgestellt.

Zur einfacheren Darstellung ist die Sequenz für eine 2-Schicht-Messung schematisch dargestellt. Nach der gleichzeitigen Anregung aller Schichten ( $t=0$ ) beginnt ein Zug von Spinechos bei  $t=TE$ . Von allen Schichten werden getrennt nacheinander zwischen je 2 refokussierenden  $\alpha$ -Pulsen Bilder aufgenommen, wobei das oben beschriebene "displaced U-FLARE" verwendet wird [3]. Innerhalb des Intervalls  $TE$  zwischen Signalanregung und dem Beginn des Echozuges werden schichtselektive  $180^\circ$ -Pulse zur Zeit  $t_{ref,m}$  eingestrahlt, was zu einer  $T_2'$ -Wichtung ( $1/T_2^* = 1/T_2 + 1/T_2'$ ) von etwa  $|TE - 2 \cdot t_{ref,m}|$ . Werden passende  $B_0$ -Gradienten zwischen den schichtselektiven  $180^\circ$ -Pulsen eingesetzt, so werden die Echos der unterschiedlichen Schichten verschoben und können in unterschiedlichen Teilen des Akquisitionsfensters detektiert werden. Vorteilhaft ist, dass die Signale von je 2 Schichten simultan mit identischer  $T_2'$ -Wichtung gemessen werden können. Da für alle Phasenkodierschritte die Reihenfolge der Signale der einzelnen Schichten konstant ist, werden Bildartefakte („Geister“) in dieser Bildrichtung von vornherein unterdrückt.

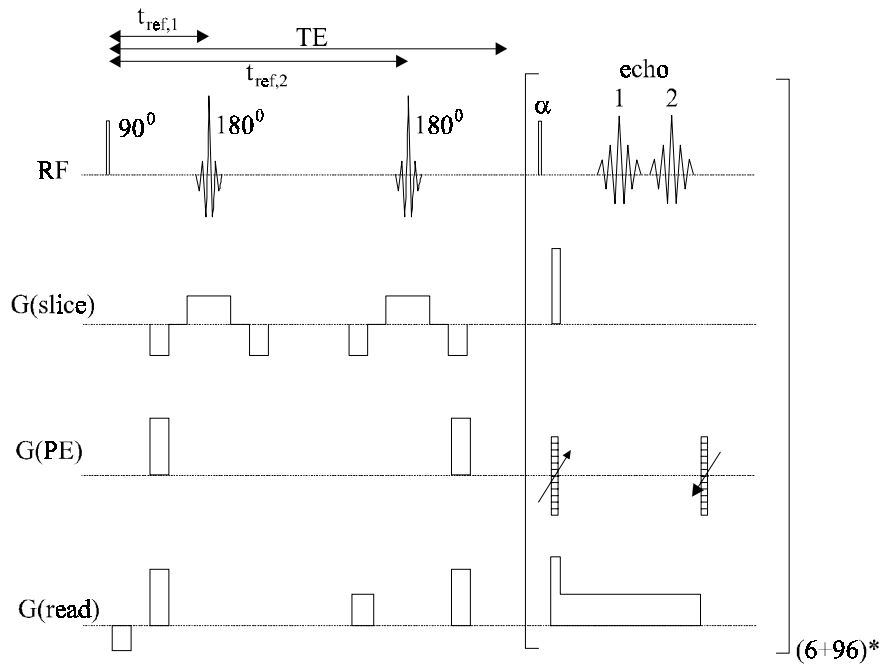


Abb.2.2.3: Schema der Pulssequenz zur Einzel-Schuss-Mehrschicht-U-FLARE Imaging mit  $T_2^*$ -Wichtung

Diese Pulssequenz wurde durch Messungen mit und ohne elektrischer Vorderpfotenstimulation (1 mA für je 0.3 ms mit 3 Hz Frequenz [4]) getestet. Die in-vivo Messungen wurden an gesunden mit  $\alpha$ -Chloralose narkotisierten Ratten durchgeführt. Die Gesamtmessdauer betrug 5 Minuten wobei die Dauer der Ruhe- und Stimulationsphasen je 1 Minute betrug (aus/an/aus/an/aus).

Die Pulssequenzparameter waren im einzelnen: FOV:  $48 \times 48 \text{ mm}^2$ ; 2 Schichten; Schichtdicke: 2 mm; Abstand der Schichtzentren: 2.5 mm; displaced U-FLARE mit 102 Echos (6 dummy und 96 PE), Interechoabstand: 4.84 ms,  $\alpha = 90^\circ$ , wobei der Kippwinkel der ersten beiden  $\alpha$ -Pulse optimiert wurde, um die Stabilisierung der Echoamplitude zu beschleunigen [5]; Akquisitionszeit pro Echo 3.2 ms ( $2 \times 1.6 \text{ ms}$ ) mit je 128 komplexen Punkten pro Schicht;  $T_2^*$ -Wichtung: 20.8 ms; TR: 3.0 s.

Die Datenverarbeitung beinhaltete eine sine-bell-Apodisation in  $k_x$  und  $k_y$ , eine 2D FFT und anschließende Betragsberechnung. Ein Bonferroni-korrigierter t-Test wurde verwendet um die Signifikanz der Signaländerung zu ermitteln.

In Abb. 2.2.4. sind die  $T_2^*$ -gewichteten U-FLARE-Bilder beider Schichten (a,b) sowie das Stimulationsgebiet in Schicht 1 (c) abgebildet. Ebenfalls sind die zeitlichen

Signalentwicklungen in den Zentren der Stimulationsgebiet in (d) dargestellt. Während in Schicht 1 eine deutliche Signaländerung detektiert wurde, ist die Stimulation in Schicht 2 nur geringfügig. Die Position und Größe des Stimulationsgebietes stimmt gut mit den in [4] beschriebenen Ergebnissen überein.

Der Nachteil von simultanen Mehrschichtmessungen besteht in einem verringerten SRV (um Faktor  $N_{sl}^{1/2}$ ), was auf die reduziert Akquisitionszeit pro Echo zurückzuführen ist. Dies trifft jedoch auch auf andere Einzel-Schuss-Verfahren zu [1]. Wenn aber die zeitliche und/oder räumliche Auflösung für den inhaltlichen Wert einer fMRI-Studie entscheidend ist, so stellt die beschriebene Einzel-Schuss-Mehrschicht-fMRI-Messung eine wertvolle Option dar.

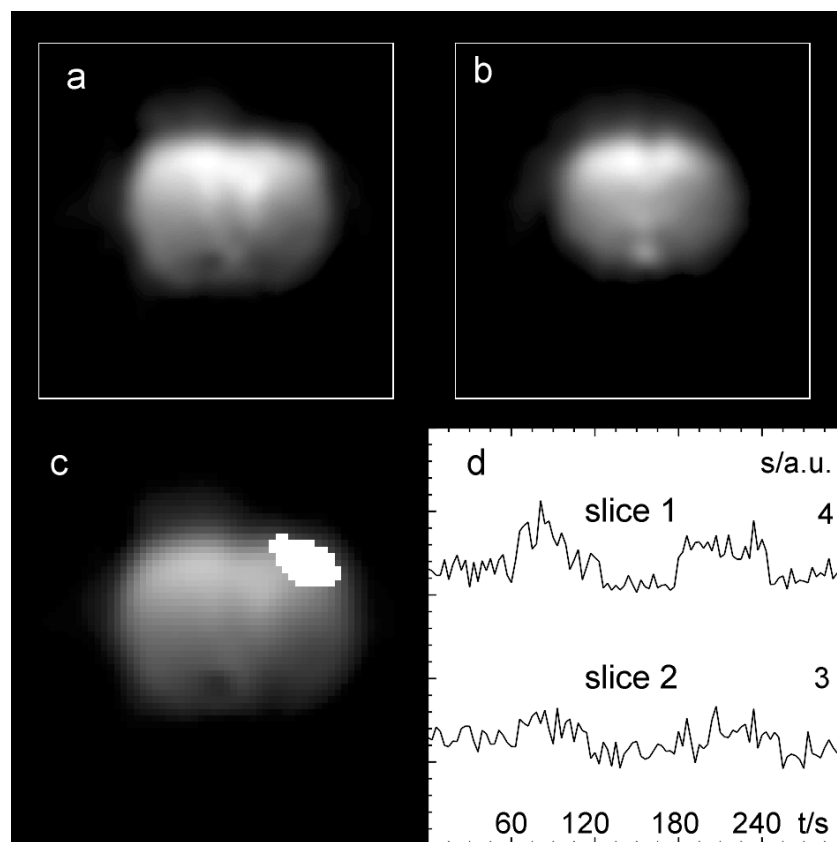


Abb. 2.2.4:  $T_2^*$ -gewichtete U-FLARE Bilder des Rattengehirns. (a) Schicht 1, (b) Schicht 2; (c) Bildausschnitt aus (a) mit überlagertem Stimulationsareal ( $p < 0.001$ ), (d) zeitlicher Signalverlauf im Zentrum der Aktivierungsareale. Abgebildetes FOV für (a),(b):  $24\text{mm} \times 24\text{mm}$ , weiter reduziert für (c).

## Literatur

- [1] Feinberg, D. et al., Proc. ISMRM, 2000, p.681.
- [2] Norris, D.G., Magn. Reson. Med. 17, 539(1991).

[3] Norris, D.G., Börnert, P., J. Magn. Reson. A 105, 123(1993).

[4] Bock, C. et al., NMR Biomed. 11, 115(1998).

[5] Le Roux, P.; Hinks, R.S., Magn. Reson. Med. 30, 183(1993).

### T<sub>2</sub>\*-gewichtete Messungen mit EPI

Das Echo Planar Imaging (EPI) unterscheidet sich von konventionellen kernspintomografischen Methoden dadurch, dass die gesamten Messdaten innerhalb eines Zuges von Gradientenechos aufgenommen werden. Während des Abklingens des FIDs (free induction decay) oder während eines Spinechos werden im „Ein-Schuss-Verfahren“ 64 Gradientenechos erzeugt und unterschiedlich phasenkodiert. Ähnlich wie beim bereits beschriebenen U-FLARE wird dann aus den gesammelten Echos ein Bild erzeugt. Dieses Verfahren erlaubt Bildaufnahmen in 60 -100 ms bei großem SRV. Die notwendige Phasenkorrektur der einzelnen Echos erfolgt mithilfe eines „Template-Scans“, einer Aufnahme der Bildmatrix ohne Kodiergradienten. Diese Korrekturparameter werden für einen definierten Parametersatz nur einmal erzeugt. Ein weiterer Nachteil des EPI ist die hohe Empfindlichkeit gegenüber Feldinhomogenitäten, wie sie zum Beispiel durch den Ohrkanal (Grenzschichten Luft-Knochen-Dura-Hirn) erzeugt werden. Zur Korrektur dieser Artefakte können Aufnahmen des Gehirns mit Spin- oder Gradientenechosequenzen sowie EPI kombiniert werden, um eine Korrektur („Entzerrung“) der EPI-Bilder zu ermöglichen.

Die implementierte Variante von EPI (MPIL Code, Max-Planck-Institut für Neuropsychologische Forschung Leipzig, NMR-Gruppe, Christopher J. Wiggins) ermöglicht neben dem Gradientenecho-EPI auch Spinecho-EPI, welches weniger anfällig gegenüber Feldinhomogenitäten ist. Funktionelle Untersuchungen mit EPI werden wegen des T<sub>1</sub>-Effekts im dynamischen Gleichgewicht („steady state“) aufgenommen. Dies wird durch Verkürzung des Anregungswinkels und durch „dummy scans“ (nicht gespeicherte Scans vor der eigentlichen Messung) erreicht. Der T<sub>2</sub>\*-Kontrast kann durch das Intervall zwischen Anregungsimpuls und dem Lese-Gradienten variiert werden. Die Bildrekonstruktion wird mit selbst erstellten C-Programmen (optimierter Fast Fourier Transformation) durchgeführt. (Abb. 2.2.5, Bp. Einer Untersuchung Abb 2.3.2)

## Blipped GE-EPI Sequenz

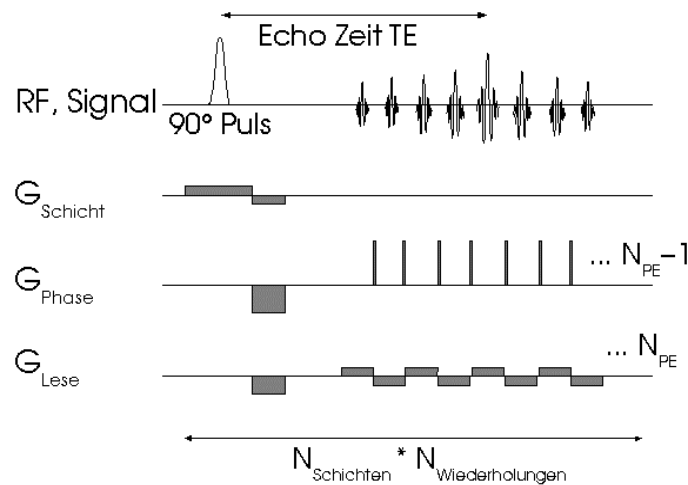


Abb. 2.2.5: EPI-Pulsprogramm: Die unteren drei Kurven geben den Zeitverlauf für die Schaltung der Lese-, Phasen- und Schichtgradienten wieder. Die obere Kurve gibt die Zeitpunkte wieder, an denen der Anregungsimpuls eingestrahlt wird (links) und das Signal auftritt (rechts).

### 2.2.2 Perfusions-MR-Bildgebung

Um perfusionsgewichtete Messungen zu ermöglichen, wurde eine Pulssequenz implementiert, die das Prinzip des "Spin-Tagging" nutzt. Dabei werden abwechselnd Bilder einer Schicht aufgenommen, nachdem entweder die Spins einer Schicht vor oder hinter der zu messenden Schicht durch Sättigungs- oder Inversionspulse präpariert worden sind. Durch Differenzbilder können dann die Bereiche mit Blutfluss oder Perfusion abgebildet werden. Durch Vergleich derartiger Bilder, die mit oder ohne Stimulation gemessen wurden, können Perfusionsänderungen detektiert werden.

#### Pulssequenz zur perfusionsgewichteten NMR-Bildgebung

Als Bildgebungsmodul wird eine snapshot-FLASH-Sequenz mit folgenden Parametern eingesetzt: Kippwinkel 5-15° (typisch 9°), Echoabstand: 5.5 ms, FOV: 32mm\*32mm, Schichtdicke:  $\geq 2$ mm (typ. 2mm), 64\*64 Bildmatrix, Akquisitionszeit pro Echo: 2.56 ms. Vor dem Bildgebungsmodul werden  $N_{\text{inv}}$  Inversionspulse im Abstand von  $T_{\text{inv}}$  eingesetzt. Dies ergab im Vergleich zu Sättigungspulsen ein deutlich besseres SRV. Ebenfalls wurde ein höheres SRV durch den Einsatz mehrerer Inversionspulse erreicht. Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass entweder die Verweildauer der Spins in der präparierten Schicht so kurz ist, so dass meist nur eine einzelne Inversion erfolgt. Wenn die Verweildauer deutlich größer als  $T_{\text{inv}}$  ist, so ist zumindest näherungsweise mit einer effektiven Sättigung der Spins

zu rechnen. Derartig "langsame" Spins tragen jedoch ohnehin wegen der  $T_1$ -Relaxation, die während des Weges in die zu messende Schicht erfolgt, nicht entscheidend zum Signal des perfusionsgewichteten Bildes bei. Typische Parameter des "Tagging"-Vorexperiments waren:  $N_{\text{inv}}=30$ ,  $T_{\text{inv}}=100$  ms, 2 ms sechs-Pulse zur schichtselektiven Inversion, 10 mm Inversionsschichten, Abstand der Zentren von Inversions- und zu messender Schicht: 10 mm. Durch im Vergleich zu üblichen Messungen geringe Abstand zwischen Inversions- und zu messender Schicht werden teilweise von beiden Richtungen in die Schicht fließend Spins markiert, im Differenzbild aber mit entgegengesetztem Vorzeichen markiert und daher unterscheidbar.

Der Vorteil der Perfusionsmessungen gegenüber  $T_2^*$ -Messungen liegt insbesondere in der Vermeidung von Signalabschwächungen und Bildverzerrungen, die durch  $B_0$ -Inhomogenitäten hervorgerufen werden. Dagegen ist die zeitliche Auflösung der Messungen eher geringer, speziell wenn Einzel-Schuss-MRI-Sequenzen für die  $T_2^*$ -gewichtete Bildgebung eingesetzt werden (U-FLARE, EPI).

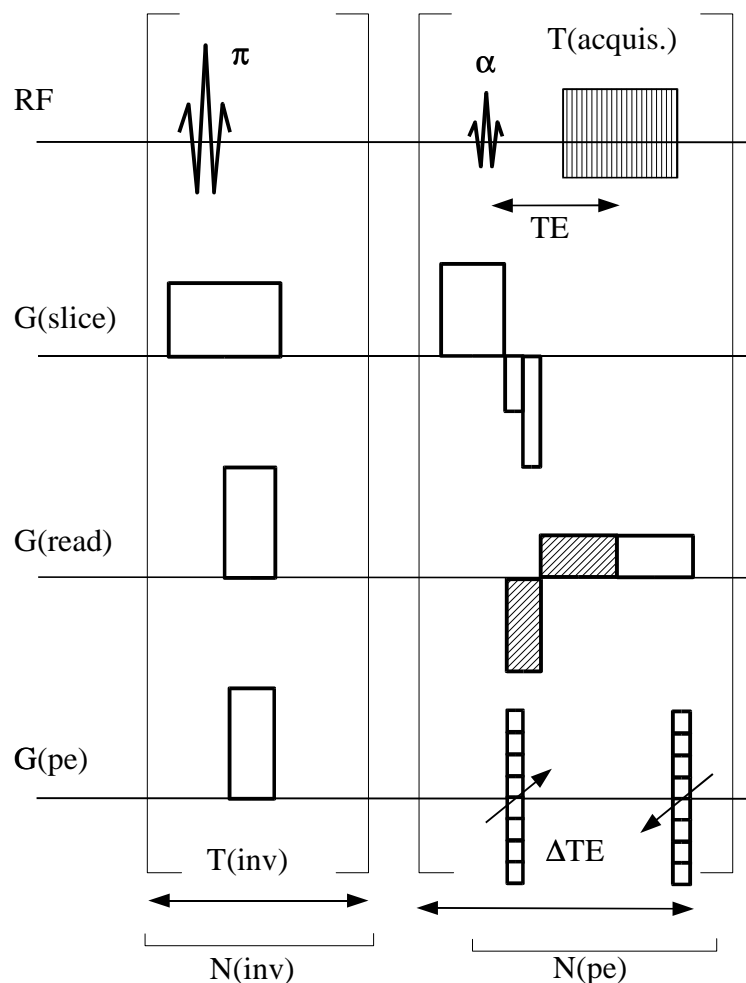
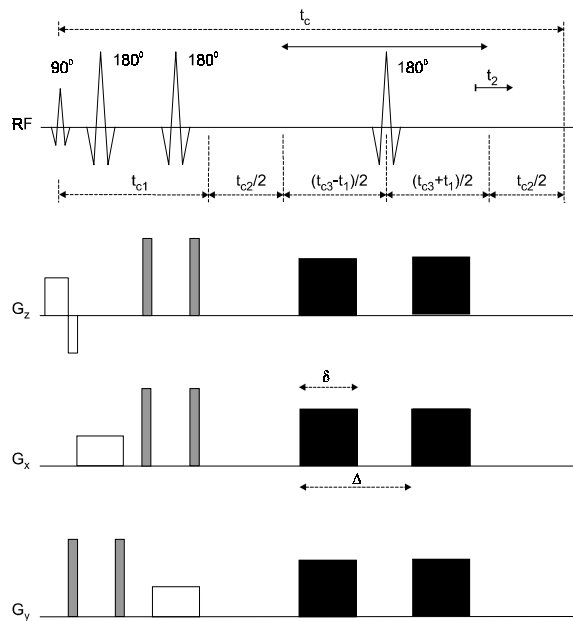


Abb. 2.2.6: Schema der verwendeten Pulssequenz zu Perfusions-Bildgebung.

### 2.2.3 *In vivo* MRS (diffusionsgewichtete, lokalisierte Spektroskopie (DW-MRS) bzw. spektroskopische Bildgebung)

Es wurden Pulssequenzen für die diffusionsgewichtete (DW), lokalisierte Spektroskopie (MRS) sowie spektroskopische Bildgebung (SI) entwickelt.

Die eingesetzte Grundsequenz zur lokalisierten MRS, DW-CT-PRESS, wurde in unserem Labor entwickelt und 1999 publiziert [1]. Nachfolgend wurde die Sequenz durch Diffusionsgradienten erweitert.



**Abb. 2.2.7.** : Schematische Darstellung der Pulssequenz für DW-CT-PRESS

Um eine gleichzeitig noch höhere zeitliche und räumliche Auflösung (bei hohem SRV) zu erhalten, wurde eine neue Methode zur schnellen spektroskopischen Bildgebung, "spectroscopic RARE" entwickelt [2], die auf der Jahrestagung der ISMRM 2000 vorgestellt und gemeinsam mit der Siemens AG zum Patent angemeldet wurde [3]. Die Methode zeichnet sich vor allem durch eine kurze Mindestmesszeit sowie durch ein hohes SRV aus. Weiterhin wird eine effektive homonukleare Entkopplung erreicht, was zu einer verbesserten Signaltrennung führt. Typische Sequenzparameter sind: FOV: 48mm\*24mm, 32\*16 Matrix innerhalb einer 2-4 mm Schicht, Mindestmesszeit pro spektroskopisches Bild: 2-4 Min, bei einem TR von 1.5 s bzw. 3 s und 64-128 Kodierschritten in der Phasenkodierichtung (typ. 96).

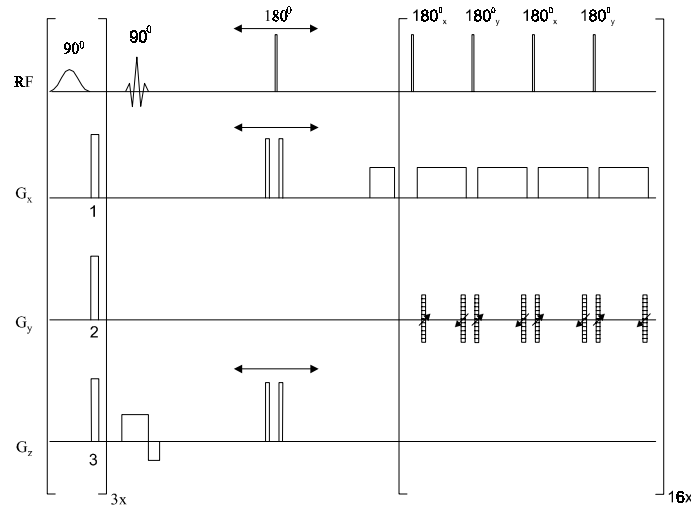


Abb. 2.2.8 : Schematische Darstellung der Pulssequenz für spectroscopic RARE

### Literatur

- [1] W. Dreher, D. Leibfritz, Magn. Reson. Imaging 17, 141-150(1999).
- [2] W. Dreher, D. Leibfritz, Proc. ISMRM, Denver (USA), 2000, p371.
- [3] W. Dreher, D. Leibfritz, Patent "spectroskopisches Bildgebungsverfahren",  
Anm.-Nr. 10015265.1.

### 2.3 Bildauswertung von fMRI und Perfusionskontrast-MR Bildern

Da aus den aufgenommenen Rohdaten erst nach Differenzbildung zweier Ausgangsbilder (i. e. ohne/mit Stimulation bzw. ohne/mit Spinsättigung) ein Differenzbild gewonnen wird, muss sichergestellt werden, dass von null verschiedene Differenzen signifikant und nicht artefaktbehaftet sind. Die Daten wurden daher mit folgenden Methoden ausgewertet, um u. a. auch Limitierungen der numerischen Auswerteverfahren kennenzulernen und optimierte Auswerteverfahren zu erhalten.

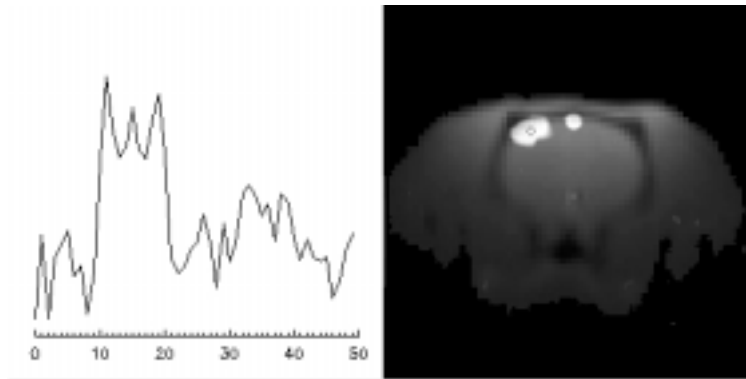
- **Differenzbilder:** Differenzbilder mit geeigneten Schwellenwerten versehen geben in erster Näherung Areale mit interessantem Signalverlauf wieder (Abb 2.3.1a)
- **Students t-Test:** Die Diskriminierung von aktiver und Kontrollphase erfolgt über Mittelwerte und Standardabweichungen der jeweiligen Phasen (Abb 2.3.1b)
- **Zeitkorrelation:** Der Verlauf des Signals wird mit dem angewandten Stimulationsparadigma korreliert (Abb 2.3.1c)
- **Fuzzy Cluster Analyse (FCA):** FCA ist eine paradigmatafreie Datenanalyse. Es werden im dreidimensionalen Datenraum Pixel mit gleichen Vektoren („Geschichte“) zu Clustern zusammengefasst. Für Untersuchungen in der Kognitionsforschung ist FCA besonders gut



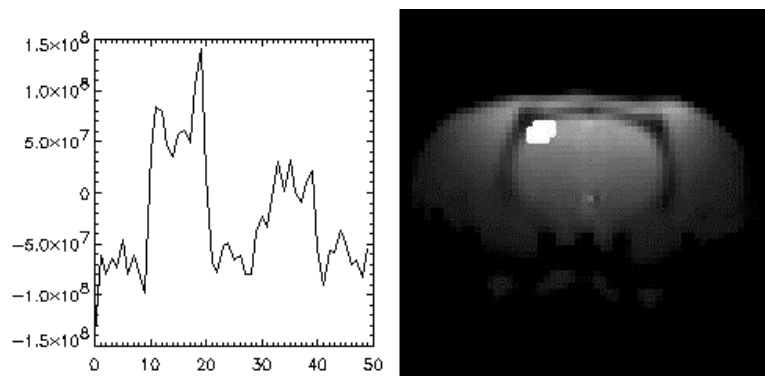
geeignet; in diesem Forschungsgebiet rechnet man mit komplexen und daher schwer vorhersehbaren Antworten auf Stimulierungen, sowohl zeitlich als auch räumlich. Die Antworten auf Stimulationen sind möglicherweise periodisch fluktuierender Natur mit unterschiedlichen Phasen, was die Definition eines Paradigmas erschwert. Die Analyse mit FCA ist daher dem t-Test und der Zeitkorrelation unter den geschilderten Bedingungen weit überlegen (Abb 2.3.1 d)

Diese Methoden sind in folgenden Softwarepaketen enthalten:

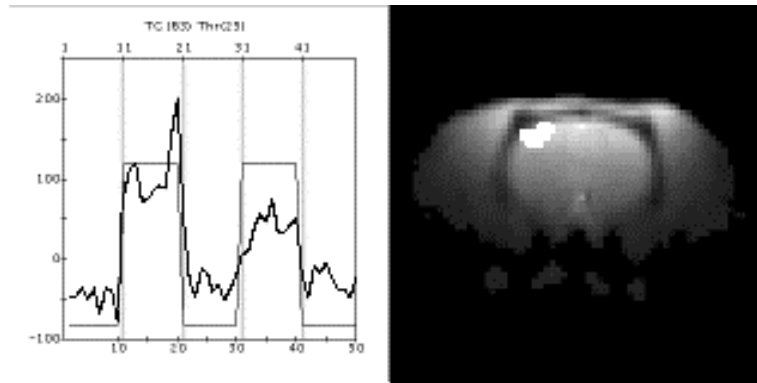
- Selbstgeschriebene Software in **Interactive Data Language** (IDL, Research Systems, Boulder, Colorado, USA.). Die Programme dienen der Qualitätskontrolle der Spulen (Signal zu Rauschen Verhältnis, SRV), der Analyse der aufgenommenen Daten (z.B. Darstellung von Differenzbildern (Abb. 2.3.1a rechts) des Signalverhaltens in ausgewählten Pixeln (Abb 2.3.1a links) und schliesslich der quantitativen Statistik (Students t-Test, Abb. 2.3.1b). Mithilfe dieser Software konnten funktionelle Aktivierungen in Datensätzen bestimmt werden, die bei einer ersten Sichtung mit anderen Programmen als effektlose Stimulation angesehen worden waren. Der Vorteil selbstgeschriebener Programme liegt darin, dass sie individuell an das jeweilige Paradigma angepasst werden können und die Differenzbilder „on-line“ erzeugen.
- Das Programm **Stimulate** (J. Strupp, CMRR Minnesota, USA) wird von vielen Gruppen für fMRI-Bilder angewandt. Für unsere Zwecke dient das Programm in erster Linie als Referenz für die Qualität der eigenen Programme. Für „on-line“ Auswertungen ist Stimulate allerdings wegen der erforderlichen Eingabe von Startwerten zu umständlich. Da Stimulate international weit verbreitet ist, wird diese Option für Veröffentlichungen (Qualitätsvergleich der Resultate) weiter mitgenutzt.
- **EvIdent** (NRC Winnipeg, Kanada.): EvIdent (s. Abb. 2.3.1c,d) gewinnt zunehmend an Beachtung, da dieses FCA Programm paradigmengleich ist. Damit ist eine "on-line" Auswertung nahezu möglich. Es müssen allerdings immer noch einige Menüschritte vorgenommen werden, bevor die Berechnung des Datensatzes beginnt.
- **Automated Image Registration** (AIR, R. Woods, UCLA, Kalifornien, USA,) AIR ermöglicht die Aufsummierung mehrerer Datensätze über das "Warping" und bietet so die Möglichkeit, durch das Mitteln über mehrere Datensätze im Einzelexperiment nicht erkennbare Aktivierungen zu lokalisieren.



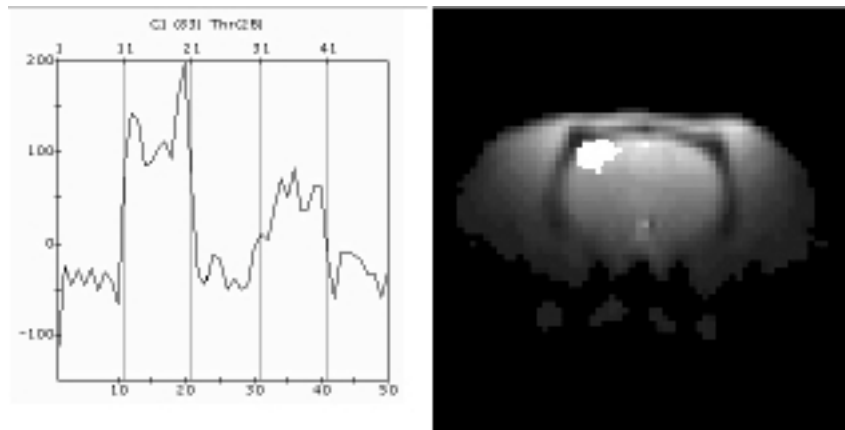
**Abb. 2.3.1a:** Differenz von Perfusions-Bildern, die während einer elektrischen Pfotenstimulation aufgenommen worden sind. Die aktivierten Areale (somatosensorischer Kortex und Sinus Sagittalis) sind weiß markiert. Die Kurve im linken Bildteil gibt den Signalverlauf an der Stelle wieder, welche im somatosensorischen Kortex mit einer Raute markiert worden ist. Insgesamt wurden 50 Perfusionsdifferenzen erzeugt, von denen die Bilder 11 bis 20 und 31 bis 40 (Zahlenwerte der Abszisse) während der elektrischen Stimulation aufgenommen worden sind. Das Hintergrundbild (rechts) stellt die Summe aller aufgenommenen Perfusionsbilder dar.



**Abb. 2.3.1b:** t-Test von Perfusionsdaten, die während einer elektrischen Pfotenstimulation aufgenommen und in Abbildung 2.3.1a bereits vorgestellt worden sind. Die Kurve im linken Bildteil beschreibt den Signalverlauf im signifikanten Areal (weiße Fläche im rechten Bildteil,  $p < 0.01$ , Änderung 44 %).



*Abb. 2.3.1c: Zeitkorrelation von Perfusionsdaten, die während einer elektrischen Pfortensimulation aufgenommen worden sind (siehe oben). Die Kurve im linken Bildteil beschreibt den Signalverlauf im signifikanten Areal (weiße Fläche im rechten Bildteil,  $p < 0.01$ ).*



*Abb. 2.3.1d: Fuzzy Cluster Analyse von Perfusionsdaten, die während einer elektrischen Pfortensimulation aufgenommen worden sind (siehe oben). Die Kurve im linken Bildteil beschreibt den Signalverlauf im signifikanten Areal (weiße Fläche im rechten Bildteil,  $p < 0.01$ ).*

#### 2.4 Hardware Eigenentwicklungen

**Halterung für Ratten im Kernspintomografen:** Der in der Arbeitsgruppe bislang benutzte Halter für Ratten eignet sich nicht für f-MRI Studien, da Bewegungsartefakte damit nicht vollständig vermieden werden konnten. Deshalb wird der Kopf mit Ohrstiften und einer Beissstange fixiert, wobei die Position der Halterungen für Ohrstifte und Beissstange zur Anpassung flexibel bleiben müssen. Ferner muss der Tierhalter in der rohrförmigen Sendespule (Sattelspule) mit Stellschrauben arretierbar sein. Der Bau des Halters wurde von der mechanischen Werkstatt der Uni Bremen durchgeführt.

**Spulen:** Um ausreichend Ersatzspulen für den Notfall zu haben und kein Tierexperiment abbrechen zu müssen, wurden mehrere gleichwertige, neue Spulen gebaut. Die Spulen unterliegen einer ständigen Qualitätskontrolle, die durch die Messung des Verhältnisses von Signal zu Rauschen (SRV) eines mit Nickelsalzen dotierten Agarose-Gels (gelöst in D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O, gefüllt in einen kugelförmigen Hohlkörper mit einem Durchmesser von ca 3,5 cm) verifiziert wird. Die Sequenz, mit der das SRV bestimmt wird, ist eine FLASH Sequenz (GEFI\_BT, Paravision1.1, Bruker, Karlsruhe) mit folgenden Einstellungen: Field of View (fov) 8 cm, Scheibendicke 1 mm, 16 aneinanderliegende Scheiben, TR 360 ms, TE 9 ms, Flip-Winkel 40°, Matrix 256x256. Die Software zur Analyse war ein selbstgeschriebenes Programm in Interactive Data Language (IDL, Research Systems, Boulder, Colorado, USA). Die aufgenommenen Bilder werden als erstes einer Glättung unterworfen (IDL Modul "Median" von 9x9 Pixeln). Als Rauschen wird die Standardabweichung des Signals in einem 400 Pixel großen Gebiet am Bildrand gewählt. Als Signal wird der maximale Wert gewählt, der auf dem Bild (nach der Glättung) vorhanden ist. Diese Werte werden über alle 16 Bilder gemittelt und am Ende der Auswertung als Maximalwert, Mittelwert und Standardabweichung ausgegeben.

**Pneumatisches Gerät zur Induktion des Theta-Rhythmus:** Analog zum manuellen „tail-pinch“ wurde ein ansteuerbares Gerät für diese Funktion entwickelt und aus handelsüblichen Teilen gebaut. Ein Steuergerät schaltet ein Ventil, über das komprimiertes Stickstoffgas in einem Zylinder Druck aufbaut und dadurch mit einem Kolben auf einer definierten Fläche auf den Schwanz des Tieres drückt. Über ein zweites Ventil wird der Druck abgelassen und der Schwanz aktiv entlastet. Die Triggerung kann über die Pulssequenz festgelegt oder von der Atmung abhängig gemacht werden. Eine Triggerung über den Puls erschien wegen der hohen Puls-Frequenz (~5-6 Hz bei der Ratte) wenig sinnvoll.

**Tierüberwachung:** Stimulationen führen nur dann zu Aktivierungen, wenn die physiologischen Daten denen im wachen Zustand gleichen. Dies gilt besonders für die Körpertemperatur und den Blutdruck. Standardmässig werden folgende Messungen zur Tierüberwachung durchgeführt:

Die Messung der Atemfrequenz erfolgt über ein Luftkissen unter dem Tier und einem daran angeschlossenen Druckwandler. Wird Halothan-Narkose angewandt, dient die Atemfrequenz ausserdem zur Optimierung der Narkosetiefe, d. h. der Regulierung des Halothananteils.

Die Körpertemperatur wird über einen rektalen Thermofühler gemessen. Für reproduzierbare Ergebnisse bei der funktionellen Aktivierung sind Normaltemperaturen Voraussetzung. Abweichungen von bis zu einem Grad sind jedoch tolerabel. Die Körpertemperatur wird über ein Warmwasser-Heizkissen reguliert.

Mit der Hilfe eines Blutgasanalysegerätes, das uns durch die AG Flohr/AG Koch zur Verfügung gestellt wurde, konnten ebenfalls diese Parameter in die Überwachung mit einbezogen werden. Da dieses Gerät jedoch relativ große Blutvolumina zur Probenaufbereitung erfordert, wurde dies nicht routinemässig sondern nur im Einzelfall durchgeführt.

### **Halterung für Makaken im Kernspintomografen (SFB Teilprojekt A7)**

Für den Bau von Tierhalterungen wurden Erfahrungen genutzt, die Dr. Bockhorst während seiner Forschungszeit am Herchel Smith Laboratory for Medicinal Chemistry (HSLMC) der Universität Cambridge UK (Prof. L.D.Hall) mit dem Bau von Haltern für Katzen gewonnen hatte. Modifizierungen wurden gemeinsam von H. Merkle (CMRR Michigan, Minnesota, USA), der AG Kreiter und AG Leibfritz geplant. Für den Affenhalter wurde ein Rohr aus Perspex ("Plexiglas") mit Ausparungen versehen, durch die die Fixierung des Tieres und der Spule an den Halter ermöglicht wird. Eine Scheibe aus Macrolon transversal zum Rohr dient zur Fixierung des Affenkopfes und der schalenförmigen Oberflächenspule (gebaut von H. Merkle). Die Scheibe ist ebenfalls mit Aussparungen versehen, durch die die Oberflächenspule abgestimmt und angeschlossen wird und Schläuche für die physiologische Überwachung (Zusammensetzung des ausgestossenen Atems etc) gelegt werden. Außen am Halter befinden sich Stellschrauben zur Justierung der Position des Affenkopfes im Magneten. Die Anordnung diente zur Lokalisation implantierter Elektrodenarrays. Es stellte sich jedoch als Nachteil heraus, dass die Oberflächenspule nur die ihr zugewandte Seite des Hirns abbildet. Da die kontralaterale Hirnhälfte für die Lokalisierung des Implantats ebenfalls bedeutsam ist, wurde auch eine Volumenspule von H. Merkle gebaut (Innendurchmesser 11.3 cm).

## **2.5 Überwachungsgeräte/Kontrollmassnahmen bei Tierexperimenten:**

**PulsOximeter (Lasertechnik)** zur Messung von Sauerstoffsättigung des Blutes und Pulsfrequenz.

**Blutdruck:** Ein aus der Neonatalogie stammender Sensor ist vorhanden, allerdings lassen sich gerätebedingt nur relative Änderungen messen.

**Sonstiges:** Die Augen der Tiere werden mit Bepanthen® Augensalbe vor dem Austrocknen

geschützt. Die Temperatursonde wird vor der rektalen Einführung mit Vaseline behandelt. Zur Vermeidung einer übermäßigen Verschleimung der Atemwege erfolgte unterstützend die Injektion von Atropin (sc). Die Verschleimung führt ansonsten zu unruhiger Atmung, was wiederum unerwünschte Bewegungsartefakte schaffen kann.

### **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

#### **3.1 Vorderpfotenstimulation**

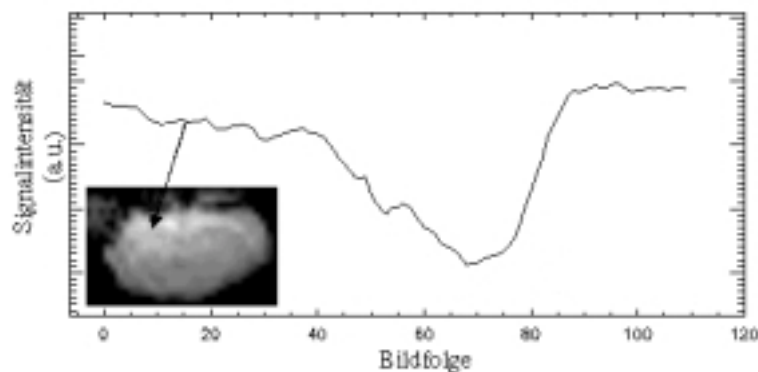
Um die implementierten fMRI und Perfusions-Methoden in einem etablierten Paradigma zu validieren bzw. gegenüber Literaturwerten gegebenenfalls zu verbessern, wurde das Modell der elektrischen Pfotenstimulation bei der Ratte unter  $\alpha$ -Chloralose Narkose gewählt [2,3,4]. In eine der Vorderpfoten werden zwei Elektroden implantiert. Über diese Elektroden werden Ströme der Stärke von  $1 \pm 0.5$  mA als Rechteckpulse in die Pfoten geleitet. Dieser Reiz führt im kontralateralen sensorischen Kortex zu einem messbaren BOLD-Effekt. Auch bei optimalen Versuchsbedingungen ist dieses Phänomen nicht immer zu beobachten, sondern nur in 60 - 80 % aller Versuchstiere. Es wurden Signalanstiege bis zu 15% ( Gyngell et al. bis zu 12 % bei 3 Hz, 4.7 T, BOLD, [2]) beobachtet, bei der Perfusions-fMRI sogar bis zu 50% (Abb. 2.3.1 a-d).

Abbildung 2.3.1: stellt mit der Perfusions-Methode eine Aktivierung des somatosensorischen Kortex durch Vorderpfotenstimulation einer Ratte dar. Die Reizungen wurden während der Aufnahmen 11 bis 20 und 31 bis 40 vorgenommen (insgesamt 50 Perfusionsdifferenzen). Das Hintergrundbild rechts in den Abbildungen 2.3.1 a -d repräsentiert die Summe aller aufgenommenen Daten (koronal, Rattenhirn). Das weiße Areal über dem Hintergrundbild von Abb 2.3.1 markiert die anhand von Schwellenwerten skalierte Differenz von Aktivierung und Kontrolle. Die Grafik im linken Teil beschreibt den Verlauf der Signalintensität im Volumenelement, welches rechts mit einer Raute markiert ist. In Abbildung 2.3.1 b wurde ein Students t-Test auf den Datensatz angewandt. Das aktivierte Areal über dem Hintergrundbild ist statistisch signifikant (t-Test, korrigiert nach Bonferroni,  $p < 0,01$ ). Die Kurve im linken Bildteil gibt den Signalverlauf im gesamten aktivierten Areal wieder. Abbildung 2.3.1 c ist das Ergebnis einer Zeitkorrelation ( $p < 0,01$ ) von Paradigma und Signalverhalten (EvIdent, NRC, Winipeg, Kanada). Die Kurve im linken Bildteil spiegelt den Signalverlauf im signifikanten Areal wieder. Abbildung 2.3.1 d gibt schliesslich das Ergebnis einer Fuzzy Cluster Analyse wieder. In diesem Test wird ohne Berücksichtigung des angewandten

Paradigmas das Zeitverhalten der aufgenommenen Volumenelemente registriert und nach der Verwandtschaft mit dem Zeitverhalten aller anderen Volumenelemente in Cluster zusammengefasst. Das weiße Areal im rechten Bildteil entspricht einem  $p < 0,01$ . Die Überlegenheit der Perfusionsmessungen ist dabei eindeutig: Da keine  $T_2^*$ -Wichtung zur Darstellung der Aktivierungen erforderlich ist, treten die gängigen Artefakte beim BOLD-Kontrast (Grenzflächen, Hohlräume, Blutgefäße etc.) nicht auf. Die Aufnahmen zweier Einschuss-Bilder (Spin-Tagging im Halsbereich, Spin-Tagging im Nasenbereich) reichen, um die Aktivierung darzustellen. Aufgrund der starken  $T_1$  Wichtung der Snapshot FLASH Sequenz sind die Gewebestrukturen im anatomischen Hintergrundbild nur wenig differenziert.

Ferner wurde auch die echoplanare funktionelle Bildgebung (EPI-fMRI) angewandt, die ebenfalls wie die FLASH-Sequenzen  $T_2^*$  gewichtet ist. Der große Vorteil von EPI ist die schnelle Wiederholzeit (200 ms pro Bild), welche das EPI daher speziell zur Darstellung kurzzeitiger oder alternierender Phänomene prädestiniert.

Abbildung 3.1.1 zeigt eine EPI-Messung der Signalintensität im Hippocampus einer Ratte (noch nicht veröffentlichte Ergebnisse) über einem Zeitraum von etwa 3 Minuten. Nach einer Minute wurde (ca.10%) Kohlendioxid dem Atemgas (~30  $O_2$ , 70  $N_2O$ , 1 % Halothan) zugemischt, worauf die Atemfrequenz auf ca 50 % des Normalwertes absinkt. Es wird ein negativer BOLD -Effekt (über 20 % Abnahme des Signals) beobachtet, vermutlich aufgrund der Zunahme desoxygenierten (paramagnetischen) Hämoglobins. Dies steht im Widerspruch zu Untersuchungen am (nicht narkotisierten) Menschen, bei dem die Atemfrequenz deutlich zunimmt. Nach zwei Minuten wurde das Kohlendioxid wieder gedrosselt, worauf das Tier hyperventilierte und der erwartete positive BOLD Effekt beobachtet wurde. Das koronale Bild links unten in der Grafik stellt die Summe aller aufgenommenen EPIs dar. Der Pfeil in Abb. 3.1.1 gibt den Ort im Gehirn wieder, an dem der Signalverlauf gemessen wurde.



*Abb. 3.1.1: Epi-Aufnahmen der Signalintensität im Kortex einer Ratte (Zeitraum: 3 Minuten). Nach etwa einer Minute wurde dem Narkosegas (ca. 10%) Kohlendioxid zugemischt. Die Atemfrequenz sank spontan auf etwa die Hälfte ab und ein negativer BOLD-Effekt (global) mit etwa 20%iger Signalreduktion wurde beobachtet. Nach zwei Minuten wurde der CO<sub>2</sub>-Zustrom unterbrochen, woraufhin die Ratte hyperventilierte und ein positiver BOLD-Effekt auftrat. Der Pfeil markiert die Stelle, deren Messwerte in der Grafik dargestellt sind.*

Literatur:

[1] Eis M, Dissertation, Verlag Mainz, Aachen, s.62 (1993)

[2] Gyngell M et al, MRM 36:13-15 (1996)

[3] Bock C et al, NMR Biomed 11, 115-119 (1998).

[4] Ueki M et al, JCBF 8:486-494 (1988).

### 3.2 *Theta-Rhythmus*

#### 3.2.1 **Elektrophysiologische Studien**

##### 1. *Die Ausprägung der P300 in verschiedenen hippocampalen Regionen*

Ableitungen in: CA1(Stratum radiatum), CA3 (Stratum radiatum/Stratum lucidum), im Hilus und dem Gyrus dentatus (Stratum moleculare)

Es wurde eine deutliche oszillatorische Aktivität (Theta-Band) in Rattenhirn vor der Ausbildung einer P300 Komponente in den o.g. Gebieten gemessen. Eine signifikante Unterscheidung anhand von Latenz- oder Amplitudenwerten der P300 an den Ableitpositionen ergab sich nicht.

##### 2. *Interaktion hippocampaler Afferenzen*

Es wurden/werden die Bedeutung von drei afferenten Systemen untersucht:

Dem *lateralen und medialen perforanten Trakt* (latPP, medPP), die ventrale hippocampale Kommissur (VHC) und die septo-hippocampalen Afferenzen in der Fimbria/Fornix

Die Untersuchung der Interaktion hippocampaler Afferenzen mittels elektrischer Stimulation hat zu widersprüchlichen Ergebnissen bezüglich der Auslösbarkeit der P300 geführt. Dies erfordert eine genaue Klärung der Ursachen und weitere Bearbeitung. Dafür soll die Fallzahl erhöht und eine Modifikation der Versuchsparameter durchgeführt werden. Daher kann zum jetzigen Zeitpunkt noch keine Aussage über diesen Versuchspunkt getroffen werden. Wir



gehen jedoch davon aus, daß noch bis zum Ende dieses Projektzeitraumes genügend Datenmaterial für ein publikationsfähiges Ergebnis vorliegen wird.

3. *Die Bedeutung der Phasenbeziehung zwischen relevantem Reiz, Theta-Rhythmus und P300.*

Eine Theta-Phasenabhängige Stimulation beeinflusst das Lernen von Ratten während eines Oddball-Paradigmas. Im Vergleich zu einer Gruppe von Tieren, denen zu zufälligen Phasenwerten die Stimuli präsentiert wurden (Kontrollgruppe), zeigen Tiere, denen die Stimuli ausschließlich zur positiven Phase der Theta-Aktivität (CA1) präsentiert wurden, eine dramatische Reduktion ihrer Lernrate. Demgegenüber ist die Lernleistung bei Tieren, denen die Stimuli zur negativen Phase präsentiert wurden, nicht signifikant unterschiedlich zur Kontrollgruppe. Hierzu wurde auf der Jahrestagung der Society for Neuroscience 2000 ein Poster präsentiert, eine Publikation ist eingereicht.

4. *Der Einfluß des "Sharp-Wave"-Funktionszustandes auf die P300*

Die Tonapplikation im Funktionszustand „Sharp-Wave“ hat bei vier der untersuchten sechs Tiere dazu geführt, dass keine P300 bzw. eine deutlich in der Amplitude verringerte und in der Latenz verlängerte P300-Komponente ausgelöst wurde. In zwei Fällen konnte jedoch eine dem Theta-Zustand vergleichbare P300 unter diesen Bedingungen ausgelöst werden. Ob die P300 aus einer Theta-Welle entsteht oder der Theta-Aktivität eher eine modulierende, evtl. Aufmerksamkeit oder Verhaltensmustersauswahl betreffende Funktion zukommt, läßt sich aus diesen noch widersprüchlichen Ergebnissen nicht klären. Die Nachanalyse der Daten ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen.

5. *Verhaltensanalyse*

Eine Analyse der Bewegungsabläufe zeigt Regularitäten in der Theta-Aktivität des Hippocampus der Ratte während der Ausführung einer Unterscheidungsaufgabe im Hinblick auf Aufmerksamkeitseffekte. Die Ausrichtung der Tiere in Richtung auf den Ort der Belohnung führt nicht nur zu einer höheren Rate an Falschwahl, sondern korreliert auch mit einem früheren Anstieg der Mittenfrequenz des Theta-Bandes. Das beobachtete und protokollierte Verhalten der Tiere im jeweiligen Versuchsparadigma hat zu weiteren interessanten Befunden geführt. Grob lassen sich zwei Gruppen von Lernstrategien unterscheiden. Bei sehr aufmerksamen Tieren mit raschem Anstieg der Lernkurve führt diese Form der Aufmerksamkeit zu einer schnellen Beantwortung der Stimuli mit einer mittleren

Latenz (early trials), die deutlich unter der von weniger aufmerksamen Tieren (late trials) liegt, deren Verhalten treffender mit dem Begriff „automatisch“ beschrieben werden kann. Über die Gesamtzahl der untersuchten Tiere läßt sich dabei die Aussage treffen, dass die mittlere Amplitude und Latenz der P300 jeweils größer bei einer langsamen richtigen Beantwortung (delay-go) als bei einer schnellen richtigen Beantwortung (quick-go) der im Oddball-Paradigma verwendeten Stimuli ist.

Die aus der Trainingserfahrung gewonnene Erwartung eines Stimulus und als zunächst grobe Beschreibung, der damit einhergehende motivationale Zustand des Tieres, lassen bei einer entsprechenden Klassifikation der Verhaltensweisen im Laufrad und der Kammer eine Korrelation mit spezifischen Aktivitätsmustern im EC zu. Unsere Daten zeigen eine gleichmäßige Gamma-Aktivität und bei erhöhter Aufmerksamkeit ebenfalls erhöhte Beta-Aktivität. Der Beta-Aktivität (12-35Hz) kommt daher möglicherweise die Funktion eines Aufmerksamkeitssignals zu. Hierzu wurde ein Poster für die SFN-Tagung 2001 angemeldet. Eine Publikation befindet sich in Vorbereitung.

6. *Weitere Befunde aus den Ableitungen der bislang untersuchten Tiere:*

- I) Änderungen in der Hauptfrequenzkomponente der CA1-Theta-Aktivität, sogenannter „Theta-Shift“ nach dem task-relevanten Ton, treten bei den Tieren zeitgleich mit dem Erreichen einer Antwortrate von 75% Richtigwahl auf. Dieser Theta-Shift verliert sich auch nach mehr als 30 Tagen nicht, d.h. es tritt keine Habituation nach wiederholtem „Odd-Go“ auf.
- II) In einer für jedes Tier unterschiedlich langen Übergangsphase beantworten alle Ratten sowohl den task-relevanten (Odd) als auch den irrelevanten (Frq) Ton. Während dieses Zeitraumes wurden, im Unterschied zu I, vorübergehende Veränderungen in der Hauptfrequenz der Theta-Aktivität mit geringerer Amplitude und kürzeren Latenzen unter ‚Frq-Go‘ und ‚Frq-No-Go‘ Bedingungen beobachtet.
- III) Die Einzeltrial Analyse zeigt, dass auch bei Tieren, die einen Theta-Shift nach Erreichen des o.g. Antwortniveaus aufweisen, bei Trials ohne Bewegungsinitiation keine Theta-Frequenz Anhebung festzustellen ist.
- IV) Das Erreichen des Maximums der Theta Frequenz im Zeitverlauf des „Theta-Shift“ korrespondiert mit der mittleren Latenz der motorischen Aktivität.

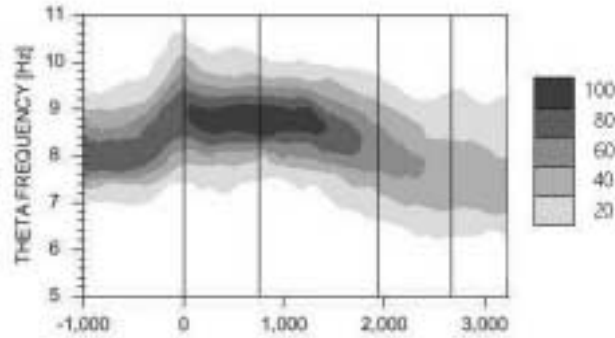
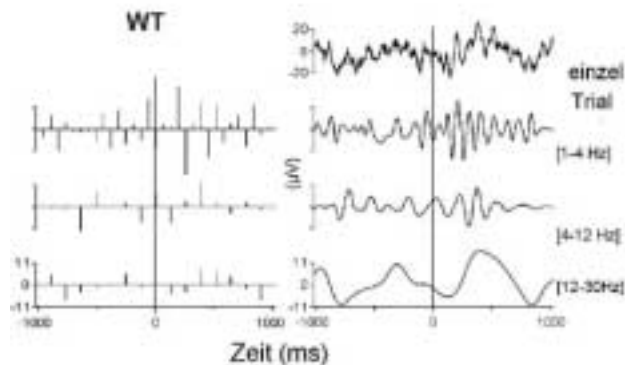


Abb. 3.2.1 Theta-Shift: Abszisse: Zeit in Sekunden. Ordinate: Frequenz des Theta-Bandes.  
Legende rechts: Graustufenkodierte relative Intensität der jeweiligen Frequenz

## 7. Methodische Verbesserungen

Aus der Kooperation mit dem John von Neumann Institut ergab sich eine wesentliche methodische Verbesserung der Signalanalyse: Eine Waveletkoeffizienten gestützte Auswertung von Single-Trials (vorher waren nur gemittelte Trials auswertbar) wurde ermöglicht (Publikation eingereicht).



**Abb3.2.2.** Einzelner Trial (Bandpass 0.1-40 Hz) Peristimulus Zeitbereich (2 sec). **Links:** Waveletkoeffizienten Satz im Bereich 1-4 Hz (alpha), 4-12 Hz (theta) und 12-30 Hz (delta). Jede „Oktave“ enthält nur die zur Darstellung des Frequenzbandes notwendigen Koeffizienten. **Rechts:** Durch eine Waveletsynthese (spline Funktion) kann das Zeitsignal im jeweiligen Frequenzband rekonstruiert werden

Eine Zeit-Frequenzanalyse wurde auf die abgeleiteten Signale, insbesondere auf die ereignis-korrelierten Potentiale (ERPs) angewandt, um das Auftreten multipler Komponenten im Latenzbereich der P300 zu untersuchen. Die Wavelet-Transformation (WT) wurde eingesetzt, da sie simultane oder teilweise sich überlappende Komponenten in ERPs ohne den Verlust ihrer zeitlichen Beziehung erfasst. Die Anwendung von Daubechies und quadric B-Spline Wavelet-Transformationen auf der Ebene von Einzel-Trials ermöglichte die Detektion unterschiedlicher Frequenzkomponenten während der Ausprägung der P300. Mehrere

oszillatorische Frequenzkomponenten im delta-, theta- und alpha-Band sind während target und non-target Unterscheidung in unterschiedlicher Ausprägung vorhanden. Dieses Ergebnis unterstützt unsere Befunde, dass die P300 aus mehreren funktionalen Komponenten zusammengesetzt ist und die WT-Methode sich von großem Nutzen für eine genauere Untersuchung der funktionellen Korrelate der P300-Komponente erweist.

### **3.3 MR-Studien**

Mithilfe von EEG Ableitungen unter gleichartigen Bedingungen, jedoch außerhalb des Magneten, konnte gezeigt werden, dass das experimentelle Setup („tail-pinch“ unter Urethan) Theta-Aktivität im Hippocampus erzeugt.

#### ***Visualisierung des aktivierten Hippocampus.***

Entwicklung eines Versuchsparadigmas zur Darstellung des Hippocampus im Zustand mit und ohne Theta-Aktivität.

Den Hippocampus der Ratte im Zustand der Theta-Aktivierung vom nicht-Theta-Zustand mit fMRI-Methoden zu unterscheiden, ist zwar ein attraktives aber aus mehrerer Hinsicht auch ein problematisches Unterfangen. Allein die geringe Größe dieser Struktur in der Ratte stellt höchste experimentelle Anforderungen an die räumliche und zeitliche Auflösung der Bildgebungssequenzen. Ein geeignetes Modellsystem zu entwickeln, bei dem im immobilisierten Zustand Theta-Aktivität im Hippocampus ausgelöst werden kann, hat zusätzlich die Überwindung einer Reihe von Problemen erfordert. Aus diesem Grunde haben wir uns schrittweise an die Erarbeitung eines Modellparadigmas herangearbeitet. Es war bekannt, dass auch unter Urethan-Anaesthesie ein unspezifischer Stimulus, der sogenannte „tail-pinch“, eine Theta-Aktivität im Hippocampus auslöst. Für die bildgebenden Verfahren ist zur Korrelation des Signalverlaufes ein Zeitmarker notwendig, der den Beginn der Stimulation definiert. Unsere elektrophysiologischen Vorexperimente haben jedoch ergeben, dass der extern applizierte Stimulus nicht unmittelbar mit dem Beginn der Theta-Aktivität zusammenfällt. Das hat eine nicht prädiktive Phasenverschiebung zwischen dem Zeitsignal der Stimulation und der eigentlichen Aktivierung zur Folge. Erschwerend kommt hinzu, dass dendritische Ströme im Hippocampus der wachen Ratte unter Urethan-Anaesthesie vermindert sind (Ylinen et al., Hippocampus 1995:5:78-90). Mit dem Kunstgriff der artifiziellen Theta-Auslösung unter Narkose mittels Urethan vermindert sich daher auch das zu erwartende fMRI-Signal. Ferner war a priori nicht zwangsläufig von einer summarischen Erhöhung der Neuronenaktivität im Hippocampus auszugehen, denn auch eine Erniedrigung

aufgrund der ausgeprägten Inhibition im Hippocampus (s. Abb.3.3.3) oder im ungünstigsten Falle sogar nur eine räumlich geringfügige Verschiebung der Aktivitätsmuster waren ebenfalls in Betracht zu ziehen unter Berücksichtigung der bekannten Verschaltungsprinzipien und von uns gefundenen Synchronisations- bzw. Desynchronisationseffekten. Jede dieser Modellvorstellungen hätte unterschiedliche Auswirkungen auf den indirekten MR-Messparameter Blutfluss. Aus den o.g. Gründen waren umfangreiche und zeitintensive Vorarbeiten notwendig, um ein Versuchsparadigma zu erarbeiten, das Theta-Aktivität zeitlich korrelierbar und unter der notwendigen Bedingung der Immobilisierung im Magneten, der natürlichen Situation ausreichend vergleichbar auslösen kann. Erst unter dieser Voraussetzung war eine Entwicklung von problemangepassten Bildgebungssequenzen und der Vergleich ihrer Effizienz möglich. Aus diesem Grund haben wir bislang noch keine Messungen an trainierten Tieren durchführen können, sondern haben Theta-Auslösung vorerst ausschliesslich an unserem Modellsystem vorgenommen. Die erfolgreiche Differenzierung und Darstellung des Hippocampus der Ratte unter den Bedingungen unseres Modellsystems (siehe Abb.3.3.1+3.3.2) haben unsere Einschätzung jedoch bestärkt, dass dies unter Anwendung geeigneter Kautelen und differenzierter Einstellung der Versuchsparameter der Nachweis von Theta-Aktivierung möglich ist. Der Hippocampus ist eine unter natürlichen Bedingungen einer Vielzahl von Regulationsmechanismen unterliegende Struktur, welcher im Verhaltenskontext eine Funktion bei Aufmerksamkeit, Gedächtnisbildung, Abruf und Bewegungsmusterauswahl zugesprochen wird. Er ist jedoch unter MRI-Laborbedingungen am narkotisierten Versuchstier nur schwer in zwei distinkte und damit mit Bildgebungsmethoden unterscheidbare Zustände zu bringen. Dies gelingt uns mit dem bereits in unseren elektrophysiologischen Untersuchungen erfolgreich genutzten Verhaltensparadigma. Dass wir erste Ergebnisse in dieser Richtung auch für die fMRI vorlegen können, werten wir selbst als ein positives Indiz und Etappe für die Erreichung der von uns im NMR-Teil formulierten Projektziele. Die von uns bislang zur Ableitung benutzten Materialien und Geräte erwiesen sich auch nach Modifikation als nicht im Magneten bzw. zusammen mit Bildgebungssequenzen einsetzbar. Ein für Ratten geeignetes kommerzielles Produkt ist nach unseren Recherchen nicht auf dem Markt. Momentan arbeiten wir daher mit neuen Materialien intensiv an der Implementierung der zur MR-Bildgebung parallelen Elektrophysiologie im Magneten, die eine direkte Beurteilung des Theta-Zustandes im Hippocampus ermöglicht.

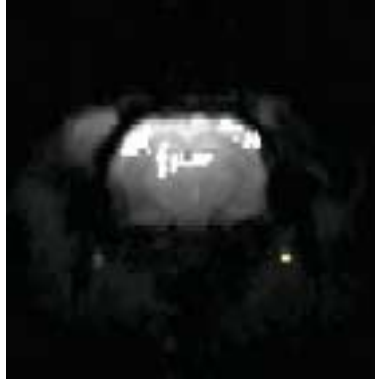


Abb.3.3.1 Aktivierter Hippocampus und Cortex, Flash-Bild,  $p < 0.01$ , Fuzzy Cluster Analyse. Eine Signaländerung ist ebenso in den ventralen Gefäßen zu sehen. Weiße Flächen markieren die aktivierten Bereiche



Abb.3.3.2: **LINKS:** Rechter Hippocampus aktiviert durch „tail-pinch“ unter Urethan, Flash-Bild,  $p < 0.01$ , aktivierte Bereiche als weiße Fläche markiert. **RECHTS:** Zum Vergleich ein schematisiertes Schnittbild aus: G. Paxinos *The Rat brain in stereotaxic coordinates*

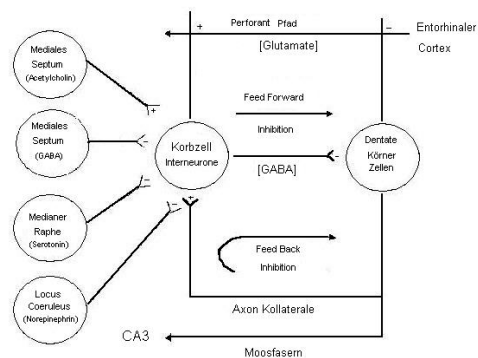


Abb.3.3.3: Schematisches Diagramm der Inhibition im Hippocampus. Zusammengefaßt aus Literaturdaten.

### 3.4 Metabolitendiffusion

Die unter 2.2.3 beschriebene Pulssequenz wurde erfolgreich zur Detektion der Veränderung des Diffusionsverhaltens von Metaboliten nach Einsetzen einer fokalen Ischämie im Rattengehirn eingesetzt. Dabei wurden die Diffusionskonstanten der Metabolite verglichen, die in der ipsilateralen und contralateralen Hemisphäre 1-4 Stunden nach Einsetzen der Ischämie gemessen wurden. Diese Ergebnisse wurden 2001 publiziert (W. Dreher, E. Busch, D. Leibfritz, „Changes in apparent diffusion coefficients of metabolites in rat brain after middle cerebral artery occlusion measured by proton magnetic resonance spectroscopy“, Magn. Reson. Med. 45, 383-389(2001)).

Es wurden ähnliche scheinbare Diffusionskonstanten (apparent diffusion constant, ADC) für eine Vielzahl von Metaboliten in den jeweiligen Hemisphären gemessen. In der ischämischen ipsilateralen Hemisphäre waren die ADCs  $(0.083-0.116) \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$  für Lactat (Lac),  $\gamma$ -Amino Buttersäure (GABA), N-Acetyl-aspartat (NAA), Glutamin (Gln), Glutamat (Glu), Gesamt-Creatin (tCr), Cholinehaltige Metabolite (Cho), und myo-Inosit (Ins), während in der contralateralen Hemisphäre ADCs von  $(0.138-0.158) \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$  für NAA, Glu, tCr, Cho und Ins gemessen wurden. Lediglich für Taurin wurden höhere ADCs bestimmt ( $0.144 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$  ipsilateral,  $0.198 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$  contralateral). In der ischämischen Hemisphäre wurde für NAA, Glu, tCr, Cho, Ins und Tau eine relative Abnahme des ADC auf 65-75 % des Wertes der contralateralen Hemisphäre bestimmt, was mit der Änderung des ADCs des Wassers (auf 67 %) übereinstimmt. Daher legen diese Messergebnisse die Hypothese nahe, dass es eine gemeinsame Ursache bzw. ähnliche Mechanismen gibt, die zu der beobachteten Absenkung des ADCs von Wasser und von Metaboliten führen.

Um Messungen mit hoher räumlicher Auflösung zu ermöglichen, wurde die oben erwähnte neue Methode zur schnellen spektroskopischen Bildgebung, „spectroscopic RARE“, mit integrierten Diffusionsgradienten eingesetzt. Erste Experimente zum Einsatz dieser Methode mit integrierten Diffusionsgradienten am Rattenmodell mit elektrischer Vorderpfotenstimulation zeigten jedoch noch keinen direkten und nicht-invasiven Nachweis der Freisetzung von Neurotransmittern bei einem Stimulationsexperiment. Dies ist wohl vor allem auf die kleine räumliche Ausdehnung des Stimulationsareals und das mit dem kleinen Voxel verbundene geringe SRV zurückzuführen. Deshalb sollten Versuche, mittels DW-MRS oder DW-SI die Freisetzung von Neurotransmittern messen zu können, an anderen Tiermodellen mit einem größeren Stimulationsareal bzw in Humanexperimenten fortgesetzt werden.

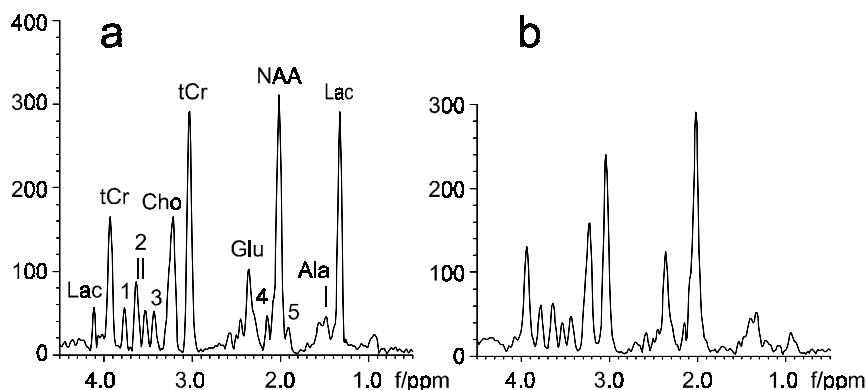


Abb.3.4.1 : Typische CT-PRESS Spektren aus der (a) ipsilateralen bzw. (b) contralateralen Hemisphäre des Rattenhirns nach einseitiger MCAO.

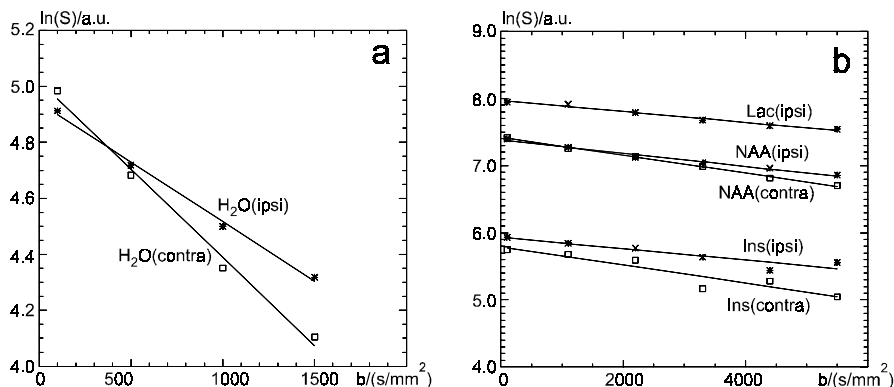


Abb. 3.4.2 : Signaländerung versus b-Wert (Diffusionswichtung) für (a) das Wassersignal und (b) einige Metabolitensignale (Laktat (Lac), N-acetylaspartat (NAA) und Myo-Inosit (Ins)). Messungen in der contra- und ipsilateralen Hemisphäre nach einseitiger MCAO

#### 4. Diskussion

Das bisherige Arbeitsprogramm hat gezeigt, daß sich mit den vorliegenden Experimenten Hinweise auf die beteiligten Strukturen und Mechanismen bei der hippocampalen Theta-Aktivität und der Generierung der P300 gewinnen lassen. Die vorliegenden elektrophysiologischen Ergebnisse zeigen, daß unsere ursprüngliche Arbeitshypothese: bei der P300 handelt es sich um eine getriggerte Welle der hippocampalen Theta-Aktivität, in folgender Weise modifiziert werden muss. An der Auslösung der P300 sind über den hippocampalen Theta hinaus noch weitere oszillatorische Komponenten beteiligt. Insbesondere sind im Zusammenhang mit Aufmerksamkeit und „Motivation“ höherfrequente Komponenten zu nennen. Der Theta-Aktivität kommt jedoch eine entscheidende Bedeutung im Kontext des Lernvorganges und des Gedächtnisabrufes zu, wie insbesondere die



Untersuchung der phasenabhängigen Stimulation zeigen konnte. Die vorliegenden Arbeiten zeigen daher auch einen vielversprechenden Ansatz zum Verständnis der hippocampalen Beteiligung bei Lernen und Gedächtnis.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Amplitude der späten positiven Welle P300 bei der trainierten Ratte signifikant größer bei *oddball* targets als bei *frequent* non-targets auftritt. In den gemittelten Potentialen erscheint die P300 als eine einzelne ERP-Welle. Demgegenüber zeigt die Wavelet-Analyse, daß während der Oddball-Aufgabe multiple Frequenzkomponenten im Bereich der P300 Latenz vorhanden sind. Die WT teilt die ERPs über unabhängige Zeit-Frequenz Komponenten auf, die auch spezifische Muster über die Ableitpositionen aufweisen. Daher ist es sehr wahrscheinlich, dass diese Komponenten unterschiedliche funktionelle Teilprozesse widerspiegeln, die während der P300-Ausprägung auftreten. In einer reinen Zeitdomänen-Analyse können diese Komponenten im P300 Potential nicht unterschieden werden, da die entsprechenden Teilprozesse simultan oder teilweise überlappend aktiv sind. Die Zeit-Frequenz-Komponenten unterscheiden sich zwischen *oddball* Targets und *frequent* Non-Targets. Dies weist auf eine funktionelle Bedeutung und ihre Relevanz für die Oddball-Aufgabe hin.

### **MR-Analyse:**

Die funktionellen NMR-Untersuchungen am Modell der Pfotenstimulation der Ratte belegen die exzellente Qualität der implementierten Aufnahmesequenzen. Die registrierten Signaländerungen bei BOLD-Messungen (15 % Signaldifferenz zwischen Messungen mit und ohne Stimulation) entsprechen bzw. übertreffen sogar veröffentlichten Literaturwerten (z.B. [2] in Kapitel 3.1). Bemerkenswert ist ferner die Stabilität des Messsignals, die durch die Modifikation und Optimierung vorhandener Pulssequenzen bzw. durch die mechanische Fixierung der Versuchstiere in einem speziell angefertigten Tierhalter erzielt wurde. Die neu implementierte Perfusionsequenz zeichnet sich durch besonders große Signaländerungen aus (40 -50%), was u.a. durch die Anwendung der multiplen Spininvertierung erzielt wurde. Sie ist weniger anfällig gegenüber Bewegungsartefakten im Vergleich zu den BOLD-Messungen, insbesondere der FLASH-basierten T2\*-gewichteten Pulssequenz.

Die breite Palette von vorhandenen Analysemethoden stellt sicher, dass neben Aktivierungen mit konventionellem Antwortverhalten (Differenzbildung, t-Test, Zeitkorrelation) auch solche mit nicht-prädiktivem Antwortverhalten (Fuzzy Cluster Analyse) erfasst werden können. Der Vergleich der Resultate, die die unterschiedlichen Analysemethoden auf den selben Datensatz liefern (Abbildungen 2.3.1.a-d), belegen die Kompatibilität und Zuverlässigkeit der

Methoden. Speziell zugeschnittene Software im IDL-Code ermöglicht die „on-line“ Auswertung und gewährleistet eine rasche Reaktion auf die Versuchsergebnisse und damit eine Optimierung des Messprotokolls.

Unter Urethan-Anaesthetie vermag ein unspezifischer Stimulus, der sogenannte „tail-pinch“, eine Theta-Aktivität im Hippocampus auslösen, welche sowohl mit der  $T_2^*$ -gewichteten Bildgebung (BOLD-Effekt) als auch mit der Perfusionsbildgebung (Blutflussmessung durch „spin-tagging“) sichtbar gemacht werden kann. Obwohl die involvierten Strukturen aufgrund ihrer geringen räumlichen Ausdehnung und *a priori* schwer prognostizierbaren Lokalisation den Nachweis erschweren, konnte bei drei Tieren die vasale Aktivierung eindeutig erfasst werden.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

Mit der Anwendung der Wavelet-Analyse wurde ein effizientes Werkzeug für die Untersuchung der hippocampalen RSA und P300 in der Zeit- und Frequenzdomäne gewonnen. Die vorliegenden Ergebnisse deuten auf das Vorhandensein von mehreren funktionellen Komponenten im Zeitbereich der P300 während einer *Oddball*-Aufgabe hin. Weitere Untersuchungen können die spezifischen Details ihrer Ausprägung im Hinblick auf z.B. Neuigkeit, Aufmerksamkeit und anderer kognitiver Variablen aufzeigen und darüber hinaus eine präzisere Bestimmung der funktionellen Korrelate dieses endogenen Potentials ermöglichen.

Nachdem es gelungen ist, mit dem „tail-pinch“-Modell eine Theta-Aktivität im Hippocampus der Ratte auszulösen und sowohl mit der  $T_2^*$ -gewichteten Bildgebung als auch mit der Perfusionsbildgebung nachzuweisen, müssen die Messungen künftig an trainierten Tieren angewandt werden. Hierzu müssen angesichts der kleinen Dimensionen des Rattengehirns, im Gegensatz zum menschlichen Gehirn, im beantragten Projekt die physikalisch realisierbaren Gerätereserven maximal ausgeschöpft werden. Da in Anbetracht der zur Verfügung stehenden Gerätekonstellation die Variante auf höhere Feldstärken überzuwechseln nicht gegeben ist, müssen im Fortsetzungsantrag noch effizientere HF-Spulen eingesetzt werden, um die Orts- bzw. Zeitauflösung weiter zu steigern.

## 6. Literaturverzeichnis

### **Zeitschriftenartikel:**

M. Barth, A. Metzler, M. Klarhöfer, S. Röhl, E. Moser, D. Leibfritz. Functional MRI of the human motor cortex using single-shot, multiple gradient-echo spiral imaging. *Magn. Reson. Imag.* 17, 1239-1243 (1999).

D.P. Bradley, M.I. Smith, C. Netsiri, J.M. Smith, K.H.J. Bockhorst, L.D. Hall, C.L.-H. Huang, R.A. Leslie, A.A. Parsons, M.F. James. The effects of sumatriptan and tonabersat (SB-220453) on cortical spreading depression detected with magnetic resonance imaging. *Experimental Neurology*, submitted (2001).

K.H.J. Bockhorst, J.M. Smith, M.I. Smith, D.P. Bradley, G.C. Houston, T.A. Carpenter, L.D. Hall, N.G. Papadakis, A.A. Parsons, C.L.-H. Huang, M.F. James. A quantitative analysis of cortical spreading depression events in the feline brain characterized with diffusion-weighted MRI. *J. Magn. Reson. Imaging* 12, 722-733 (2000).

W. Dreher, D. Leibfritz. Detection of homonuclear decoupled *in vivo* proton spectra using constant time chemical shift encoding: CT-PRESS. *Magn. Reson. Imaging* 17, 141-150(1999).

W. Dreher, D. Leibfritz. Improved proton spectroscopic U-FLARE imaging for the detection of coupled resonances in the rat brain *in vivo*. *Magn. Reson. Imaging* 17, 611-621(1999).

W. Dreher, D. Leibfritz, A new method for fast proton spectroscopic imaging: spectroscopic GRASE. *Magn. Reson. Med.* 44, 668-672 (2000).

W. Dreher, E. Busch, D. Leibfritz. Changes in apparent diffusion coefficients of metabolites in rat brain after middle cerebral artery occlusion measured by proton magnetic resonance spectroscopy. *Magn. Reson. Med.* 45, 383-389 (2001).

A. Ebel, W. Dreher, D. Leibfritz. A fast variant of  $^1\text{H}$  spectroscopic U-FLARE imaging using adjusted chemical shift phase encoding. *J. Magn. Res.* 142, 241-253 (2000).

M. Hentschel, W. Dreher, P. Wust, S. Röhl, D. Leibfritz, R. Felix. Fast spectroscopic imaging for noninvasive thermometry using the Pr[MOE-DO3A] complex. *Phys. Med. Biol.* 44, 2397-2408 (1999).

M.F. James, M.I. Smith, K.H. Bockhorst, L.D. Hall, G.C. Houston, N.G. Papadakis, J.M. Smith, A.J. Williams, D. Xing, A.A. Parsons, C.L. Huang, T.A. Carpenter. Cortical spreading depression in the gyrencephalic feline brain studied by magnetic resonance imaging. *J. Physiol.* 519, 415-25 (1999).

B. Kühn, W. Dreher, L. Leibfritz. Homonuclear uncoupled  $^1\text{H}$ -spectroscopy of the human brain using weighted accumulation schemes. *Magn. Reson. Imaging* 17, 1193-1201(1999).

D. Leibfritz, W. Dreher. Magnetization transfer MRS. *NMR Biomed.* 14, 65-76 (2001).

D. Leibfritz, J. Pfeuffer, U. Flögel, Ch. Meier, St. Bröer. Cell volume and water exchange in neural cells monitored by diffusion weighted  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. In "Volume transmission Revisited" (Eds.: Luigi Agnati, Kjell Fuxe, Charles Nicholson, Eva Sykova) Progress in Brain Res. 125, Elsevier (2000).

D. Mayer, W. Dreher, D. Leibfritz. Fast echo planar based correlation-peak imaging: Demonstration on the rat brain *in vivo*. Magn. Reson. Med. 44, 23-28 (2000).

S. A. Röhl, W. Dreher, D. Leibfritz, Combining CW- and pulsed saturation allows *in vivo* quantitation of magnetization transfer observed for total creatine by  $^1\text{H}$ -NMR-spectroscopy of rat brain, Magn. Reson. Med. 42, 222-227(1999).

G. Roth, D. Leibfritz, J. Brankatschk, M. Meier, Elektrophysiologische und kernspintomographische Untersuchungen bei Ratten, in Medizinische Forschung und Gesundheitswissenschaften in Bremen (eds. A.E. Lison & H.A. Diehl), Pabst Science Publ., Lengerich 2000.

J.M. Smith, M.F. James, K.H.J. Bockhorst, M.I. Smith, D.P. Bradley, N.G. Papadakis, T.A. Carpenter, A.A. Parsons, R.A. Leslie, L.D. Hall, C.L.-H. Huang. J. Anat , in print (May 2001).

C. Zwingmann, C. Richter-Landsberg, A. Brand, D. Leibfritz. Alanine as precursor of glutamate and GABA - A multinuclear NMR study. Adv. in Hepatic Encephalopathy and Metabolism in Liver Disease, ihan Yurdaydin and Hakan Bozkaja, eds., Ankara University Press, 311-318 (2000)

C. Zwingmann, Ch. Richter-Landsberg, A. Brand, D. Leibfritz. A NMR spectroscopic study on the metabolic fate of  $[3-^{13}\text{C}]$ alanine in primary astrocytes, neurons, and cocultures: Implications for glia-neuron interactions in neurotransmitter metabolism. Glia 34, 200-212 (2001).

C. Zwingmann, U. Flögel, J. Pfeuffer, D. Leibfritz. High-resolution and diffusion weighted  $^1\text{H}$ -NMR study on effects of ammonia exposition on glioma cells: changes in cell volume and organic osmolytes. Dev. Neurosci. 22, 463-71 (2000).

#### **Patentschrift:**

W. Dreher und D. Leibfritz, Spektroskopisches Bildgebungsverfahren, D(2000), Aktenzeichen 10015265.1.; "Spectroscopic Imaging Method", 2000P08533 US.

#### **Konferenzbeiträge (Abstracts):**

K. Bockhorst, M. Meier, E. Busch, W. Dreher, G. Roth, D. Leibfritz. Activation of the hippocampus with and without theta rhythm: An f-MRI study. JCBF Supplementary , accepted (2001), brain01 in Taipei, Taiwan.

D.P. Bradley, M.I. Smith, C. Netsiri, J.M. Smith, K.H.J. Bockhorst, L.D. Hall, C.L.-H. Huang, A.A. Parsons, M.F. James. Inhibition of cortical spreading depression (CSD) initiation in the cat brain by tonabersat, but not sumatriptan, detected with diffusion-weighted magnetic resonance imaging (DWI). JCBF Supplementary , accepted (2001), brain01 in Taipei, Taiwan.

E. Busch, K. Bockhorst, M. Meier, S. Huege, G. Roth, D. Leibfritz, W. Dreher. Functional MRI of the rat motor cortex using passive forepaw movement. Submitted to Society for Neuroscience, 31<sup>st</sup> Annual meeting, San Diego, 10-15<sup>th</sup> November 2001.

W. Dreher, D. Leibfritz. Spectroscopic GRASE - A new method for fast <sup>1</sup>H spectroscopic imaging combining reduced minimum total measuring time and effective homonuclear decoupling. 7th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Philadelphia, USA, 1999, book of abstracts, p.256.

W. Dreher, D. Leibfritz. Changes in apparent diffusion coefficients of metabolites in rat brain after occlusion of the right MCA measured by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy with effective homonuclear decoupling. 7th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Philadelphia, USA, 1999, book of abstracts, p.627.

W. Dreher. MT effects in MRS. Proc. 16th Ann. Meet. ESMRMB, Sevilla, 1999, no.155.

W. Dreher, D. Leibfritz. A new method for fast spectroscopic imaging with high signal-to-noise ratio: Spectroscopic RARE. 8th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Denver, USA, 2000, book of abstracts, p.371.

W. Dreher, D. Mayer, D. Leibfritz. Split-displaced U-FLARE: A new variant of fast spin echo imaging. 8th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Denver, USA, 2000, book of abstracts, p.679.

W. Dreher, D. Leibfritz. On the use of complex geometric averaging for automatic correction of B<sub>0</sub> field drifts and/or phase fluctuations in localized <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. Proc. 17th Ann. Meet. ESMRMB, Paris, 2000, no.408.

W. Dreher, E. Busch, K. Bockhorst, M. Meier, D. Leibfritz. Single-shot multislice U-FLARE imaging. Application to functional MRI. 9th Ann. Sci. Meet. ISMRM and 18th Ann. Sci. Meeting ESMRMB, Glasgow, UK, 2001, book of abstracts, p.1220.

W. Dreher. MRS-localisation and SI. Proc. 17th Ann. Meet. ESMRMB, Paris 2000, no.28.

W. Dreher, E. Busch, K. Bockhorst, M. Meier, D. Leibfritz. Single-shot Multislice U-FLARE imaging. Application to functional MRI. Proc Intl Soc Magn Reson Med 9, 1220 (2001).

Z. Dong, W. Dreher, D. Leibfritz. Quantification of metabolites by <sup>1</sup>H MRS in rat brain without water suppression: A preliminary study. Proc. 17th Ann. Meet. ESMRMB, Paris 2000, no.209.

Z. Dong, W. Dreher, D. Leibfritz. Quantification of proton MR spectroscopy without prior and post acquisition water suppression. 8th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Denver, USA, 2000, book of abstracts, p.1954.

Ebel, W. Dreher, D. Leibfritz. A fast variant of <sup>1</sup>H spectroscopic U-FLARE imaging using adjusted chemical shift phase encoding. 7th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Philadelphia, USA, 1999, book of abstracts, p.1595.

C. Geppert, W. Dreher, D. Leibfritz. PRESS sequences with very short echo times using symmetric RF pulses. Application to the rat brain in vivo. 9th Ann. Sci. Meet. ISMRM and 18th Ann. Sci. Meeting ESMRMB, Glasgow, UK, 2001, book of abstracts, p.1022.

- M. Hentschel, W. Dreher, W. Wlodarczyk, P. Wust, D. Leibfritz, R. Felix. Fast MR thermometry utilizing the Pr-MOE-DO3A complex and 3D echo planar spectroscopic imaging. 7th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Philadelphia, USA, 1999, book of abstracts, p.683.
- D. Mayer, W. Dreher, D. Leibfritz. Optimized cross peak imaging using interleaved asymmetric echo planar spectroscopic imaging: demonstration on the rat brain *in vivo*. Proc. 16th Ann. Meet. ESMRMB, Sevilla, 1999, no.53.
- D. Mayer, W. Dreher, D. Leibfritz. A combination of 2D correlation spectroscopy and multi-slice proton echo planar spectroscopic imaging: Application to the rat brain *in vivo*. 7th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Philadelphia, USA, 1999, book of abstracts, p.254.
- D. Mayer, W. Dreher, D. Leibfritz. Fast  $^1\text{H}$  spectroscopic imaging combined with 2D correlation spectroscopy uncoupled in both frequency domains. 8th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Denver, USA, 2000, book of abstracts, p.370.
- D. Mayer, W. Dreher, D. Leibfritz. Reduced measurement time in U-FLARE based correlation peak imaging by circular chemical shift encoding. 9th Ann. Sci. Meet. ISMRM and 18th Ann. Sci. Meeting ESMRMB, Glasgow, UK, 2001, book of abstracts, p.626.
- C. Meier, W. Dreher, D. Leibfritz. Water diffusion and exchange in rat brain measured *in vivo* at very high b-values. 7th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Philadelphia, USA, 1999, book of abstracts, p.563.
- C. Meier, W. Dreher, D. Leibfritz. Comparison of a Monte-Carlo-simulation and an analytical solution for PGSE-experiments on a tissue model. Proc. 16th Ann. Meet. ESMRMB, Sevilla, 1999, no.472.
- C. Meier, W. Dreher, D. Leibfritz. The correlation between cell size and transmembrane water flux for diffusion weighted MR-experiments on rat brain tissue studied by Monte-Carlo-simulations. 8th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Denver, USA, 2000, book of abstracts, p.770.
- C. Meier, D. Mayer, W. Dreher, D. Leibfritz. Is a multiexponential decay of diffusion weighted water signal an indicator for multicompartmentalized tissue? 8th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Denver, USA, 2000, book of abstracts, p.472.
- M. Meier. Hippocampal theta oscillation and stimulus expectation in wheel running rats. Submitted to Society for Neuroscience, 31<sup>st</sup> Annual meeting, San Diego, 10-15<sup>th</sup> November 2001.
- M. Meier. Theta phase locked stimulation and learning in rats. Society for Neuroscience, 30<sup>th</sup> Annual meeting, New Orleans, 4-9<sup>th</sup> November 2000.
- S. A. Röhl, W. Dreher, D. Leibfritz. Magnetization transfer parameter mapping. 7th Ann. Sci. Meet. ISMRM, Philadelphia, USA, 1999, book of abstracts, p.1922.
- I. Vorisek, V. Herynek, M. Burian, M. Hajek, K. Nicolay, W. Dreher, D. Leibfritz, E. Sykova. MRS and diffusion changes in a rat model of traumatic injury. Proc. 17th Ann. Meet. ESMRMB, Paris, 2000, no.301.

**7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

- SFB-Workshop „Bedeutungsentstehung im Gehirn“ 10. & 11. Dezember 1999  
„Imaging-Daten, Einzelzell- und Multizellableitungen versus Verhaltensdaten“
- Teilnahme am Workshop des SFB 517 auf Borkum, 13.-15. Mai 2000

**Teilprojekt A 10**

**Visuelle Objektwahrnehmung bei Amphibien :  
Experimente und Modellierung**

**Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.06.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Dr. Gerhard Roth

Institut für Hirnforschung  
Universität Bremen, FB 2  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

Prof. Dr. Helmut Schwegler

Institut für Theoretische Physik  
und Institut für Theoretische Neurophysik  
Universität Bremen, FB 1  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen



## **1 Einleitung**

Im vorliegenden Teilprojekt sollte die langjährige Zusammenarbeit zwischen Experimentatoren und Theoretikern zur Erforschung und Modellierung der visuellen Verhaltenssteuerung bei Amphibien, insbesondere bei Schleuderzungensalamandern (Projekt „Simulander“), in Hinblick auf *Objekterkennung* fortgesetzt werden.

Auf experimenteller Seite sollten bei den Salamandern *Plethodon jordani*, *Hydromantes genei* und *Hydromantes italicus* Antworten tectaler Neurone auf komplexere Gestalt- und Bewegungsreize analysiert werden. Ebenso sollten mithilfe neuroanatomischer und neuropharmakologischer Methoden und intrazellulärer Ableitungen die Eigenschaften tectaler Netzwerke und ihrer Afferenzen analysiert werden. Daneben sollte die Frage geklärt werden, in welcher Weise die extrazellulär identifizierten tectalen Antworttypen den anatomisch identifizierten Tectumneuronen entsprechen, die unterschiedliche Verarbeitungsbahnen konstituieren.

Auf theoretischer Seite sollte durch Entwicklung mathematischer Modelle und numerischer Simulationen untersucht werden, welche Verarbeitungsmechanismen in der Retina und im Tectum opticum zur Objektwahrnehmung beitragen. Die Arbeiten sollten die bisherigen Modellierungen der Simulander-Familie fortführen, welche die Leistungen der Objektlokalisierung („Simulander 1 und 2“) sowie der Objektsegmentierung und -selektion („Simulander 3“) erfolgreich bearbeitet hatten. Dabei sollte sowohl die Verarbeitung komplexerer Gestalten als auch komplexerer Bewegungsweisen modelliert werden.

Das Teilprojekt A 10 litt insgesamt unter der Tatsache, dass für das gesamte Projekt, d.h. sowohl für den experimentellen als auch den theoretischen Teil, nur eine Doktorandenstelle bewilligt wurde, die somit auf die beiden Teile zeitlich hälftig zu je 18 Monaten aufgeteilt werden musste. Dadurch wurde eine kontinuierliche Forschung sehr behindert, und es konnte auf experimenteller Seite nur ein Teil der vorgesehenen Experimente durchgeführt werden.

## **2 Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

### **2.1 Experimenteller Teil**

#### **2.1.1 Elektrophysiologische Untersuchungen zu den Antworteigenschaften visueller Neurone im Tectum opticum bei Salamandern und Fröschen.**

Bei diesen Untersuchungen ging es vornehmlich um zwei Fragen, (1) wie Tectum-Neurone auf komplexere Gestalt- und Bewegungsmuster antworten, und (2) ob die Antworten einzelner Neurone auf einfache oder komplexere Reize und Reizkombinationen sich deutlich voneinander unterscheiden. In allen bisherigen Untersuchungen zu Antworteigenschaften tectaler Neurone von Amphibien wurden sehr einfache visuelle Reize (Quadrate, Rechtecke) verwandt, die gleichmäßig durch das Gesichtsfeld der Versuchstiere bewegt wurden. Reize mit einer komplexeren Gestalt oder einer komplexere Bewegungsweise, die den natürlichen Verhältnissen entsprechen, kamen nicht zum Einsatz. Ebenso wurden nur wenige Stimulusgrößen und –geschwindigkeiten verwandt, was eine Diskretheit der Antworten vortäuschen könnte. Die Gründe für die beschränkte Stimuluspräsentation waren technischer Art: Bei den üblichen Präsentationen mithilfe von Stimuli, die auf bewegten Leinwänden aufgebracht waren, war nur eine Darbietung starrer Stimulusgestalten geringer Zahl möglich, insbesondere keine „animierten“ Stimuli und kein schnelles Wechseln der Stimuli.

Ein Ausweg sind computergenerierte Stimuli, die auf einem Bildschirm in einem bestimmten Abstand von den Tieren dargeboten werden. Allerdings erwiesen sich herkömmliche Röhrenbildschirme wegen ihres Gewichtes (die Bildschirme müssen dreidimensional im Gesichtsfeld der Versuchstiere bewegt werden) und ihrer Strahlung für ungeeignet. Dieses Problem wurde mit Dünnschicht-Transistor (TFT)-Bildschirmen gelöst. Hierbei traten jedoch wegen der Pixelgröße der Bildschirme größere Programmierprobleme bei der Darbietung langsam bewegter Reize auf, die erst nach einiger Zeit gelöst werden konnten. Ebenso nahm die Programmierung komplexer bis naturnaher Reize lange Zeit in Anspruch, was in intensiver Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Dr. Dicke gelöst werden konnte (s. Bericht A4).

An den Salamandern *Plethodon jordani* und *Hydromantes italicus* sowie am Frosch *Discoglossus pictus* wurden extrazelluläre Ableitungen durchgeführt. Die Tiere wurden betäubt und immobilisiert. Das Gehirn wurde auf Höhe des Tectum von dorsal freigelegt, die Operationswunde abgedeckt und eine Ruhephase für 24 Stunden eingelegt. Nach Abschluss

der Ruhephase wurden die Tiere erneut immobilisiert und lokal anästhesiert (Xylokain) und die Operationswunde wieder geöffnet. Die Tiere befanden sich während der Ableitungen in einer Perimeter-Apparatur, bei der auf einem TFT-Monitor Stimuli in einem Abstand von 15 cm zwischen Tier und Monitor Stimuli präsentiert wurden. Abgeleitet wurde mit Mikroelektroden, die mit 2M NaCl gefüllt waren und einen Widerstand von 5-15 M-Ohm hatten.

Neurone im optischen Tectum wurden mit computergenerierten Stimuli unterschiedlicher Größe, Geschwindigkeit, Gestalt, Bewegungsrichtung und Bewegungsweise stimuliert. In einer ersten Serie wurden schwarze Quadrate mit Kantenlängen (KL) zwischen 1 und 40 mm ( $0,3 - 13^\circ$ ) und schwarz-weiß-gestreifte Quadrate mit KL zwischen 5 und 25 mm ( $1,6 - 8,4^\circ$ ) verwandt. In einer zweiten Serie wurden sehr kleine, schwarze Quadrate von 1 mm ( $0,34^\circ$ ) und 3 mm ( $1,3^\circ$ ) KL, ein schwarzes Dreieck mit ebenfalls 3 mm ( $1,3^\circ$ ) KL und ein schwarzer Balken mit einer Breite von 3 mm ( $1,3^\circ$ ) und einer Höhe von 190 mm ( $57^\circ$ , entspricht der Höhe des Bildschirms) verwendet. Diese Stimuli wurden mit kontinuierlichen, ruckartigen und unregelmäßigen Bewegungen zwischen 5 und 100 mm/s ( $2 - 30^\circ/s$ ) präsentiert. Schließlich wurde ein expandierendes Rechteck verwandt, das sich mit einer Geschwindigkeit von 10 mm/s vergrößerte, bis es den gesamten Bildschirm ausfüllte. Registriert wurde die Entladungsrate und die Zeitstruktur der neuronalen Antworten (Aktionspotentiale).

In einer neuen, von Dr. Westhoff begonnenen Serie werden Rechtecke mit einer KL von 10 x 20 mm als Ausgangsstimuli benutzt. Diese Rechtecke werden bei den verschiedenen Stimulationsdurchläufen in ihren Eigenschaften *Geschwindigkeit*, *Kontrast* und *Gestalt* variiert. *Geschwindigkeit*: Das Rechteck wird mit konstanter Geschwindigkeit (20 mm/s) oder ruckartig (20 mm/s gemittelt über eine Distanz von 15 cm) horizontal über den Bildschirm geführt. *Kontrast*: Das schwarze Rechteck wird vor einem hellen Hintergrund präsentiert, in 60 Stufen zum Helligkeitswert des Hintergrundes verändert und anschließend wieder zum ursprünglichen Kontrastwert zurück geführt. Ein im Kontrast pulsierendes Rechteck wird auch mit einer Geschwindigkeit von 20 mm/s bewegt. *Gestalt*: Die Gestalt des schwarzen Rechtecks wird mit 2 cm langen Strichen an jeder Ecke ergänzt. Diese Striche bewegen sich hin und her und simulieren sich bewegende Insektenbeine. Gegenüber dem stillstehendem Rechteck mit bewegten Beinen wird dieser Reiz auch mit gleichförmiger Bewegung (20 mm/s) präsentiert.

### **2.1.2 Immunhistochemische Untersuchung cholinерger Afferenzen zum Tectum opticum**

Neben den überwiegend aus der Retina stammenden glutamatergen Afferenzen (Kahl, 1999) spielen im Tectum von Fröschen und Salamandern cholinerge Afferenzen eine wichtige Rolle. Vermutet wurde, dass diese im Wesentlichen vom Nucleus isthmi stammen; einen eindeutigen Beweis hierzu gab es aber nicht. Zu diesem Zweck wurde bei *Plethodon jordani* der Fluoreszenzfarbstoff Tetramethylrhodamin in das Tectum bzw. in die Commissura posterior injiziert, um den Nucleus isthmi anzufärben. Gleichzeitig wurde immunhistochemisch die Acetylcholintransferase-Immunreaktivität über den Fluoreszenzfarbstoff Oregongreen dargestellt.

### **2.1.3 Entwicklung einer Methode zur Untersuchung der retinotectalen und retino-isthmischen Transmission sowie des intratectalen Netzwerks bei Amphibien**

Vom Gehirn des Salamanders *Plethodon jordani* wurde ein in-vitro Präparat hergestellt, welches ausschließlich aus optischem Nerv, Chiasma, optischem Trakt und der kontralateralen Hemisphäre des optischen Tectum besteht. Dieses Präparat ermöglichte elektrophysiologische und pharmakologische Untersuchungen der retinotectalen Transmission und der intratectalen Verarbeitung unter dem Einfluss verschiedener über das Bad applizierter Substanzen. Für die Herstellung des in-vitro-Präparates wurden die Versuchstiere betäubt und dekapitiert, das gesamte Gehirn einschließlich anhängender Nerven wurde entnommen und für einige Stunden in Ringer im Kühlschrank aufbewahrt. Dann wurde mithilfe einer feinen Schere eine Hemisphäre des Tectum, der optische Trakt und der daran anhängende kontralaterale optische Nerv aus dem Gehirn herausgeschnitten, das am optischen Trakt anhängende thalamische und prätectale Grau wurde entfernt. Das Präparat wurde in der Ableitkammer fixiert und mit Ringer 6 ml/ min bei 16-18° C überströmt (Ringer-Zusammensetzung  $\text{Na}^+$  100 mM,  $\text{K}^+$  2 mM,  $\text{Ca}^{2+}$  2 mM,  $\text{Mg}^{2+}$  0.5 mM,  $\text{Cl}^-$  82 mM,  $\text{HCO}_3^-$  25 mM, Glucose 11 mM, gepuffert zu einem pH von 7.3 über kontinuierliche Perfusion von 95%  $\text{O}_2$  + 5%  $\text{CO}_2$ ; Straka and Dieringer, 1993). Der optische Nerv wurde über eine Saugelktrode gereizt. Abgeleitet wurden Summenpotentiale mit NaCl-gefüllten Mikropipetten mit einem Widerstand von ca. 1 M-Ohm, intrazelluläre Ableitungen wurden mit K-Citrat-gefüllten Mikropipetten mit einem Widerstand von ca. 80 M-Ohm vorgenommen.

#### **2.1.4 Elektronenmikroskopische Untersuchungen der ultrastrukturellen Verbindungen zwischen Retina, Tectum und Nucleus isthmi bei *Plethodon jordani* und *Hydromantes genei***

Einzelne Neurone des Nucleus isthmi wurden über intrazelluläre Biocytin-Applikationen angefärbt. Ihre ipsi- und kontralateralen Terminalien im Tectum wurden nach Standardmethoden elektronenmikroskopisch untersucht. Die isthmischen Terminalien wurden mit Hilfe von immunhistochemischen Anfärbungen (ChAT) markiert. Gleichzeitig wurden die retinalen Afferenzen über eine Biocytin-Applikation am optischen Nerven gefärbt. Über die Kopplung von Goldpartikeln unterschiedlichen Durchmessers an die beiden Tracer sollten die retinalen und isthmischen Terminalien bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen unterschieden werden.

## **2.2 Theorie-Teil**

### **2.2.1 Detaillierte Modellierung der Tectumzellklassen**

In einem ersten Entwurf wurde ein zweistufiges Modell entwickelt. Grundlage der retinalen Stufe waren die in den experimentellen Arbeitsgruppen von Gerhard Roth und Ursula Dicke untersuchten Eigenschaften der verschiedenen Retinaganglienzellklassen. Das Retinamodell reproduzierte hierbei getrennt nach Zellklassen abhängig von Größe und Geschwindigkeit des präsentierten Objekts die aus den Messungen bekannten Feuerraten. Diese wurden von einer zweiten Stufe aus modellierten Tectumneuronen weiterverarbeitet. Die Übertragung der retinalen Aktivität wurde der experimentell ermittelten Verknüpfungsstruktur nachempfunden, die Latenzen der verschiedenen Retinazellklassen wurden ebenfalls berücksichtigt. Die Tectumneurone wurden zunächst als Fünf-Compartment-Neurone entsprechend den anatomischen Eigenschaften der Zellklassen modelliert, ihr Verhalten wurde in Computersimulationen untersucht. Später wurden auch Integrate-and-Fire Neuronen verwendet. Deren Eigenschaften wurden durch Anpassung der Parameter den verschiedenen Compartment-Neuronen-Typen angeglichen.

Die Fragestellung lautete hierbei, ob Tectumneuronen, die sich offensichtlich durch ihre Anatomie und die Art ihrer Eingänge stark unterscheiden, auch unterschiedliches Antwortverhalten zeigen. Die Simulation der Integrate-and-Fire Neuronen hingegen diente dazu herauszufinden, wie sehr die Antworten von Tectumneuronen auf Reize, die sich in Größe oder Geschwindigkeit unterscheiden, voneinander abweichen, um daraus Rückschlüsse über die Verarbeitung dieser Reizmerkmale zu ziehen.

### 2.2.2 Retinamodell mit Contrast Gain Control

Da die zunächst zur Verfügung stehenden Messungen an Retinanganglienzellen lediglich Daten über gleichförmig bewegte Objekte enthielten, die irreguläre Bewegung aber im Hinblick auf Objekterkennung und Aufmerksamkeit von besonderem Interesse ist, wurde ein Modell untersucht, das die Berechnung der retinalen Antwort auf beliebige raumzeitliche Reizmuster zuließ. Hierzu wurde zunächst auf lange bekannte Eigenschaften von Retinanganglienzellen zurückgegriffen (Rodieck, 1965; an der Heiden and Roth 1987). Grundlage des Modells bildet die Faltung des Reizmusters mit einem Filterkern, der die raumzeitlichen Eigenschaften rezeptiver Felder von Retinanganglienzellen nachbildet. Speziell handelt es sich hierbei um einen sogenannten Mexican Hat-Filter im Raum, der die Zentrums-Umfeld-Charakteristik retinaler rezeptiver Felder umsetzt. Im Zeitbereich erfolgt die Faltung mit einem Hochpassfilter, der die Modellzellen für wechselnde Intensitäten besonders empfindlich macht. Die so ermittelte Aktivierung der Retina wird anschließend gleichgerichtet, um eine den Feuerraten realer Zellen vergleichbare Ausgangsgröße zu erhalten. Das bis hierher rein lineare Modellszenario wurde zusätzlich mit einem von Berry II et al. (1999) vorgeschlagenen Contrast-Gain-Control-Mechanismus ausgestattet. Ein solcher Mechanismus dämpft nach einer Verzögerung die Ausgangsfeuerrate, wenn sie über längere Zeit zu hoch war. Dies diente Berry II et al. zur Modellierung von Antizipationseffekten in der retinalen Aktivität bei gleichförmig bewegten Reizen.

Als Beispiel für eine charakteristische Bewegungsweise wurde die auch schon in Verhaltensexperimenten verwendete ruckweise Bewegung ausgewählt. Als Testreiz diente ein heller Balken von 1 cm Breite, der sich für einen bestimmten Zeitraum mit einer konstanten Geschwindigkeit von 2 cm/s bewegte, anschließend ebenso lange still stand, um sich danach erneut mit der vorherigen Geschwindigkeit zu bewegen. Die Reaktion des Modells auf einen solchen Testreiz wurde in Computersimulationen ermittelt.

### 2.2.3 Multielektrodenableitungen an isolierten Retinae

Um die Korrektheit des zuvor beschriebenen Modells zu testen und eine Abschätzung unbekannter Parameter zu erhalten, wurden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Josef Ammermüller an der Universität Oldenburg Experimente auch an isolierten Schildkrötenretinae durchgeführt. Hierbei wurde wie schon in den Modellrechnungen ein ruckweise bewegter heller Balken als Reiz verwendet. Dieser wurde mit Hilfe beweglicher Spiegel auf die zu untersuchende Retina projiziert. Mit Hilfe eines Multielektrodenarray

gelang es, gleichzeitig die Aktivitäten von bis zu 200 Retinaganglienzellen aufzuzeichnen. Die Summenaktivität der untersuchten Ganglienzellpopulation wurde anschließend mit den theoretisch ermittelten Resultaten verglichen, zur Auswahl des korrekten Modellszenarios und zum Anpassen der Modellparameter verwendet.

#### **2.2.4 Postretinale Verarbeitung**

Experimente der Arbeitsgruppe von Gerhard Roth hatten ergeben, dass sich das Feuerverhalten tectaler Zellen für verschiedene Bewegungsmuster unterscheidet; im Falle ruckweiser Bewegung werden mehr Aktionspotentiale erzeugt. Um das von der Retina als Antwort auf einen ruckweise bewegten Stimulus gelieferte Feuermuster in eine für eine solche Bewegungsart charakteristische Aktivität in den nachgeschalteten Zellen umzuwandeln, wurden auf theoretischer Ebene zwei Mechanismen untersucht. Beide machen sich die in den Bewegungspausen auftretende Erholung der gereizten Zelle zunutze. Der erste solche Mechanismus ist eine depressive synaptische Übertragung des Retinasignals. Die zweite Möglichkeit lässt sich durch eine adaptive Spikeerzeugung in den nachgeschalteten Neuronen realisieren. Der beschriebene Mechanismus wurde in Computersimulationen mit Integrate-and-Fire Neuronen getestet, deren dynamische Schwellen sich bei anhaltender Stimulation aufsummieren und so eine Adaptation in der Spikeerzeugung zeigen. Als Eingangssignal für die Modellneurone wurde die retinale Populationsaktivität gewählt, um eine räumliche Integration durch den Dendriten nachzubilden. Durch die Wahl der Parameter wurden die Größe des rezeptiven Feldes und die Feuerrate bei Stimulation durch gleichförmig bewegte Reize den Messungen an realen Tectumneuronen angepasst.

#### **2.2.5 Lernen neuronaler Signallaufzeiten**

Es wurden erste Überlegungen angestellt, wie man das in Verhaltensexperimenten untersuchte Lernverhalten von Amphibien bei negativer Konditionierung durch einen Modellmechanismus darstellen kann. Geht man davon aus, dass Objekte anhand ihrer Bewegungsweise identifiziert werden, so bietet sich eine Architektur an, die die zeitliche Abfolge neuronaler Aktivität speichern kann. Eine solche Architektur wurde auf Grundlage einer Lernregel für Signallaufzeiten zwischen Nervenzellen untersucht (Eurich et al., 1999). Es handelte sich dabei um ein zweischichtiges Netzwerk aus pulskodierenden Neuronen, die durch verzögerte Verbindungen miteinander verbunden sind. In einer Testsimulation wurden die Zellen der ersten Schicht in bestimmten Sequenzen aktiviert und ihre Aktionspotentiale dann über verzögerte Verbindungen an die zweite Schicht weitergeleitet. Die Laufzeiten

dieser Verbindungen werden mittels einer Lernregel so verändert, dass nach Abschluss des Lernvorgangs alle Spikes aus der ersten Schicht gleichzeitig bei den jeweiligen Neuronen der zweiten Schicht eintreffen, wenn diese in einer bestimmten zeitliche Abfolge erzeugt wurden.

### **3 Ergebnisse und ihre Bedeutung**

#### **3.1 Experimenteller Teil**

##### **3.1.1 Elektrophysiologische Untersuchungen zu den Antworteigenschaften visueller Neurone im Tectum opticum bei Salamandern und Fröschen (B. Lienstädt).**

Für diese Untersuchungen standen im Teilprojekt A10 1,5 Jahre zur Verfügung. Die Auswertung der durchgeführten Experimente ist noch nicht ganz abgeschlossen. Es wurden von B. Lienstädt an 14 Fröschen der Art *Discoglossus pictus*, 11 Salamandern der Art *Hydromantes genei* und 14 Salamandern der Art *Plethodon jordani* insgesamt 94 tectale Neuronen abgeleitet.

*Rezeptive Feldgrößen:* Bei *Discoglossus pictus* zeigten 75% der Neurone RF-Größen zwischen 5 und 18° in horizontaler und zwischen 3 und 13° in vertikaler Ausdehnung. Bei *Hydromantes italicus* ergab sich bei den meisten Neuronen eine horizontale Ausdehnung von 3 – 30° und eine vertikale Ausdehnung von 3 – 33°, bei *Plethodon jordani* eine horizontale Ausdehnung von 2 – 55° Grad und eine vertikale Ausdehnung von 1,5 – 47°. Damit ergaben sich bei allen drei Spezies zum Teil sehr viel kleinere rezeptive Felder als früher gemessen (vgl. Roth et al., 1998). Dies stimmt besser mit der im Verhalten beobachtbaren hohen räumlichen Auflösung aller drei Spezies überein, die zuvor nicht neuronal erklärt werden konnte. Bei *Plethodon* ergibt sich gegenüber den anderen zwei Spezies eine bessere Abdeckung an rezeptiven Feldgrößen als auch eine bessere Abdeckung des Sehraumes durch die rezeptiven Felder.

*Stimulus-Geschwindigkeit:* Innerhalb des gemessenen Intervalls von 2 – 30°/s stieg bei ca. 90% der Neurone die Antwortrate (Impulse pro Sekunde; I/s) deutlich an. Bei *Discoglossus pictus* stieg die durchschnittliche Spikefrequenz von 0,77 I/s bei einer Geschwindigkeit von 2°/s bis zu 9,4 I/s bei 30°/s an; bei *Hydromantes genei* zwischen 2,2 I/s bei 2°/s und 9,6 I/s bei 30°/s, bei *Plethodon jordani* zwischen 3,8 und 16,2 I/s. Allerdings rief bei ca. 10% von Neuronen die langsame Geschwindigkeit eine höhere Antwortrate hervor. Ein typisches Beispiel hierfür ist ein bei *Discoglossus pictus* abgeleitetes Neuron. Hier wurde bei



gleichbleibendem Stimulus (schwarzes Quadrat,  $0,3^\circ$  KL) eine Abnahme der Frequenz mit zunehmender Geschwindigkeit beobachtet. Bei einer Geschwindigkeit von 5 mm/s ( $2^\circ$ /s) zeigte das Neuron eine Frequenz von 9,1 I/s, bei der maximalen hier gemessenen Geschwindigkeit von 80mm/s ( $24^\circ$ /s) eine Frequenz von 3 I/s.

*Stimulus-Größe:* Generell riefen Stimuli mit mittleren KLn bei *Discoglossus pictus* und *Hydromantes genei* die höchsten Antwortraten hervor. Bei *Discoglossus pictus* lag die optimale KL zwischen 10 und 20 mm ( $3,5$  und  $7^\circ$ ). Die mittleren Frequenzen lagen zwischen 4,7 I/s bei 10 mm und 4,3 I/s bei 20 mm KL. Die Antwortraten der größeren und kleineren Stimuli waren ungefähr halb so groß, bei 5 mm KL 2,4 I/s und bei 40 mm KL 2,1 I/s. Bei *Hydromantes genei* lag die optimale KL zwischen 5 und 20 mm ( $1,2$  und  $7^\circ$ ). Bei 5 mm KL ergaben sich 5,4 I/s und bei 20 mm 5 I/s. Bei Ableitungen mit einem Stimulus von 3 mm KL war die mittlere Frequenz 3,2 I/s, bei Quadraten mit 25 mm KL 4,6 I/s. Bei *Plethodon jordani* ergab sich ein uneinheitliches Bild. Bei einer KL von 10 mm lag die mittlere Frequenz bei 6,3 I/s, bei 15 mm stieg sie auf 8,5 I/s, bei 20 mm sank sie wieder auf 7 I/s ab. Bei einer KL von 25 mm lag die mittlere Frequenz wieder bei 13 I/s, und bei 40 mm wurden 12,6 I/s gemessen.

*Stimulus-Gestalt:* Generell antworteten die Neurone bevorzugt auf kleine, kompakte Objekte, d. h. auch auf schwarze Quadrate von 5 - 25 mm KL. Wenn Neurone auf gestreifte Objekte antworteten, dann mit einer Antwortrate, die sehr deutlich unter der Frequenz der optimalen Stimuli lag. Im Schnitt lösten die gestreiften Objekte nur ein Drittel oder ein Viertel der Antwort eines optimalen Stimulus aus.

*Bewegungsweise:* Die Antworten auf ruckartig oder unregelmäßig bewegte Stimuli sind noch nicht vollständig ausgewertet. Eine blinkende horizontale Bewegung eines Stimulus löste in den Neuronen keine signifikant erhöhten Antworten im Vergleich zur kontinuierlichen, horizontalen Bewegung auf. Ruckartig in diagonaler oder vertikaler Richtung bewegte Stimuli führen hingegen zu deutlich erhöhten Antworten, ebenso längere unregelmäßig bewegte Stimuli.

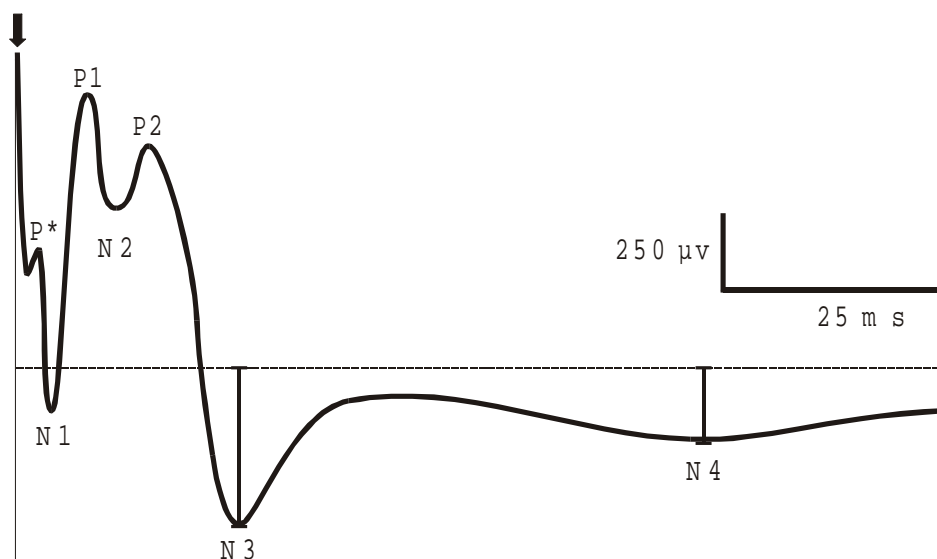
Diese Untersuchungen werden zur Zeit von Dr. Westhoff weitergeführt.

### 3.1.2 Immunhistochemische Untersuchungen cholinergischer Afferenzen zum Tectum

Der Nucleus isthmi konnte bei den untersuchten Salamandern als eindeutig cholinerg identifiziert werden. Die Acetylcholintransferase-Immunreaktivität in der Faserschicht des Tectum entspricht präzise der Verteilung isthmischer Terminalien, wie diese in früheren Untersuchungen dargestellt wurden. Wie auch bei Anuren stellt der Nucleus isthmi bei Salamandern die hauptsächliche Quelle der Acetylcholintransferase-Immunreaktivität im Tectum dar.

### 3.1.3 Entwicklung einer Methode zur Untersuchung der retinotectalen und retino-isthmischen Transmission sowie des intratectalen Netzwerks bei Amphibien und pharmakologische Untersuchungen

Die durch elektrische Reizung des Opticus-Nerven im Opticus-Tectum-Präparat evozierten Oberflächenpotentiale waren über Stunden stabil und bestanden aus einer initialen positiven Auslenkung P\*, welche wahrscheinlich auf präsynaptische axonale Prozesse zurückzuführen ist, sowie aus 6 postsynaptischen Ereignissen N1, P1, N2, P2, N3 und N4 (vgl. Abbildung 1).



**Abb. 1:** Im Tectum opticum von *Plethodon jordani* abgeleitete Oberflächenpotentiale, welche durch elektrische Reizung des contralateralen Nervus opticus evoziert wurden. Der Pfeil markiert das Reizartefakt.

Die mittlere Leitungsgeschwindigkeit des optischen Nerven wurde zum erstenmal bei Salamandern exakt bestimmt, und zwar mit 0,17 m/s.

Der Einfluß neuropharmakologischer Substanzen auf die Amplituden der postsynaptischen Komponenten wurde untersucht. Die retinotectale Transmission erwies sich als überwiegend

glutamaterg, und zwar vermittelt über non-NMDA-Rezeptoren, d. h. AMPA- und/oder Kainat-Rezeptoren.

Über das Bad appliziertes Acetylcholin veränderte weder Amplitude noch Form des evozierten Potentials. Synchrone Applikation des ACh-Esterase-Blockers (-)-Physostigmin führte zu stärkerer Ausprägung der späten Komponenten des Oberflächenpotentials. Der nonselektive cholinerge Antagonist Carbachol führte zu einem ähnlichen Effekt, der durch den nikotinischen Antagonisten D-Tubocurarin (d-TC) und den muskarinischen Antagonisten Atropinsulfat gemindert werden konnte. Die Applikation des nonselektiven muskarinischen Agonisten (+)-Pilocarpinhydrochlorid führte zu einem Anstieg der späten oligo- und polysynaptischen Ereignisse. Dieser Effekt wurde durch den M1-Antagonisten Pirenzepindihydrochlorid reduziert.

Die Untersuchungen zeigen, dass muskarinische cholinerge Rezeptoren eine weitaus wichtigere Rolle in der tectalen Verarbeitung spielen, als frühere Untersuchungen vermuten ließen. Diese hoben besonders die Rolle der nicotinischen Rezeptoren hervor. Für eine ausführliche Darstellung der neuropharmakologischen Ergebnisse s. die beiliegende Dissertation von Dr. H. Kahl (1999).

### **3.1.4 Elektronenmikroskopische Untersuchungen der ultrastrukturellen Verbindungen zwischen Retina, Tectum und Nucleus isthmi bei *Plethodon jordani* und *Hydromantes genei***

Einzelne kontralaterale isthmische Terminalien liegen direkt an der Tectumoberfläche, ihre größte Dichte erreichen sie allerdings etwas tiefer im Zentrum der Schicht 1. Typisch für isthmische Terminalien sind dicht aneinanderliegende ‚Cluster‘ von ipsi- und kontralateralen Terminalien der gegenüberliegenden isthmischen Nuclei. Axo-axonale Synapsen zwischen den Strukturen sind sehr wahrscheinlich. In vielen Fällen wachsen die isthmischen Terminalien um unmarkierte Spines herum. Da tectale Neurone kaum Spines besitzen, sind dieses möglicherweise Fasern von prätectalen Neuronen. Allen isthmischen Terminalien ist eine extrem hohe Dichte von Mitochondrien gemeinsam.

## **3.2 Theoretischer Teil**

### **3.2.1 Detaillierte Modellierung der Tectumzellklassen**

Simulationen des Antwortverhaltens von Tectumzellen auf Objekte verschiedener Größe und Geschwindigkeit mit Hilfe von Integrate-and-Fire Neuronen erbrachten die folgenden Ergebnisse: Aufgrund des starken Überlappungsgrades der Dendritenbäume von Tectumneuronen ist es kaum möglich, Reize verschiedener Größe anhand der Feuerrate einer einzelnen Tectumzelle zu diskriminieren, da es lediglich zu einer diffusen Aktivierung kommt. Geschwindigkeitsunterschiede schlagen sich zwar in unterschiedlich langer Feuerdauer nieder, jedoch kaum in unterschiedlicher Feuerrate. Die Unterscheidung von Reizen verschiedener Größen und Geschwindigkeiten ist also auf Einzelzellebene lediglich anhand der Feuerraten nur begrenzt möglich.

### **3.2.2 Retinamodell mit Contrast Gain Control**

Das oben unter 2.2 beschriebene Retinamodell lässt die flexiblere Berechnung der Retinaantworten auf beliebige raumzeitliche Stimulismuster zu. Die Beschränkung auf kontinuierlich bewegte Rechteckreize fällt also fort. Insbesondere konnte die Reaktion der Modellretina auf einen ruckweise bewegten Balken ermittelt werden.

Durch die Hochpasscharakteristik des Retinamodells ergab sich bei statischen Stimuli eine geringe Aktivität. Diese stieg jedoch an, sobald sich der Stimulus zeitlich ändert, d.h. sobald der Balken sich zu bewegen begann. Die Zeit, die für den Anstieg der retinalen Aktivität und damit für die Detektion des Bewegungsbeginns benötigt wird, wird im linearen Modellszenario durch die Hochpasszeitkonstante bestimmt. Wie aus diversen Untersuchungen bekannt ist, liegt diese im Bereich von 200 ms bis 500 ms (Smirnakis et al., 1997; Jacobs and Werblin, 1998), was zu einer Anstiegszeit von ca. 400 ms führt. Ein rein lineares Modell lieferte somit einen vergleichsweise langsamen Anstieg, während die Hinzunahme des Contrast Gain Control die Reaktionszeit um den Faktor 4 verkürzte. Da der Gain Control Mechanismus erst nach einiger Zeit seine hemmende Wirkung ausübt, ist kurz nach Bewegungsbeginn der Anstieg im Vergleich zur linearen Modellversion steiler. Der Contrast Gain Control Mechanismus wirkt sich also nicht nur, wie von Berry II et al. gezeigt, auf das räumliche Aktivitätsprofil bei kontinuierlich bewegten Stimuli aus, sondern ebenfalls auf den Aktivitätsanstieg nach Bewegungsbeginn.

### 3.2.3 Multielektrodenableitungen an isolierten Retinae

Benutzt man das an Schildkrötenretinae gemessene Verhalten, um zu entscheiden, ob das Retinamodell mit oder ohne Contrast Gain Control realistischer ist, so findet man, dass die Beschreibung der Populationsaktivität am besten mit dem Modellszenario gelingt, das den Gain Control Mechanismus enthält. Die gemessene Anstiegsdauer von rund 100 ms kann entweder durch eine extrem kurze Zeitkonstante des Hochpassfilters von rund 40 ms oder durch Hinzunahme einer nichtlinearen Rückkopplung beschrieben werden. Die Hochpasszeitkonstante wird aber in der Literatur als deutlich höher angegeben (Smirnakis et al., 1997; Jacobs and Werblin, 1998). Außerdem wurde sie bei der Kontrolle im Rahmen des beschriebenen Experiments mit ca. 400 ms bestimmt. Des weiteren gelingt die Beschreibung der abfallenden Flanke des Retinasignals nach Bewegungsstop im schnellen linearen Szenario nicht. Daraus folgt, dass eine verzögerte hemmende Rückkopplung, wie sie der Gain Control Mechanismus darstellt, zur Beschreibung des Zeitverlaufs der retinalen Populationsaktivität unverzichtbar ist. Nichtlineare, zeitabhängige Prozesse in der Retina spielen also bei der Bewegungsdetektion eine entscheidende Rolle, da sie die Anstiegszeit der Populationsaktivität nach Bewegungsbeginn und damit die Reaktionszeit beeinflussen.

### 3.2.4 Postretinale Verarbeitung

Wie sich aus den Untersuchungen der Schildkrötenretina zeigt, erzeugt eine Population von Retinaganlienzellen ein Signal, das aufgrund seiner Zeitstruktur, nicht jedoch aufgrund seiner Amplitude, die Diskrimination zwischen gleichförmiger und ruckweiser Bewegung zulässt. Damit sich diese Unterscheidung in einer unterschiedlichen Spikeerzeugung in den tectalen Zellen widerspiegelt, wie dies von Wiggers 1991 gefunden wurde, sind Mechanismen erforderlich, die die ansteigenden Flanken des retinalen Signals detektieren, d. h. das retinale Signal mathematisch differenzieren. In Modellsimulationen konnte gezeigt werden, dass beide untersuchten Mechanismen diese Differentiation leisten können. Im Falle depressiver synaptischer Kopplung zwischen Retina und nachgeschalteten Zellen bewirkt die kontinuierlich hohe Aktivität in den Bewegungsphasen eine Abnahme des zur Übertragung zur Verfügung stehenden Transmitterstoffes, was zu einer zunehmenden Abschwächung des übertragenen Signals führt. Die Bewegungspausen dagegen ermöglichen eine Regenerierung des Transmittervorrats, so dass unmittelbar nach Bewegungsbeginn das retinale Signal stärker auf die tectalen Zellen einwirken kann und deren Aktivität deutlich höher ausfällt. Analog funktioniert die Differentiation im Falle adaptiver dynamischer Schwellen in den tectalen Neuronen. Hier erholt sich in den Bewegungspausen allerdings der Mechanismus zur

Generierung von Aktionspotentialen im Neuron selbst, während es in Bewegungsphasen durch Schwellensummation adaptiert, d. h. immer schwerer erregbar ist.

Ein interessantes Ergebnis ist in diesem Zusammenhang, dass ein tectales Neuron, welches einen solchen Erholungseffekt zeigt, durch ruckweise bewegte Testreize auch dann erregbar bleibt, wenn diese am äußeren Rand seines rezeptiven Feldes gezeigt werden. Sein rezeptives Feld erscheint dann größer, als wenn es mit einem kontinuierlich bewegten Testreiz ermittelt worden wäre.

### **3.2.5 Lernen neuronaler Signallaufzeiten**

Eine Simulation der oben beschriebenen Lernregel führt zur Bildung von Detektorzellen in der zweiten Netzwerkschicht, die genau dann feuern, wenn eine bestimmte Sequenz von Eingangsspiques vorliegt. Die zuvor gelernten Laufzeitunterschiede sorgen dann dafür, dass die von den Zellen der ersten Schicht ausgesendeten Spikes nur dann synchron eintreffen, sich ausreichend summieren und so das Detektorneuron überschwellig machen, wenn sie in der zuvor gelernten Reihenfolge erzeugt wurden. Der Lernprozess kann unüberwacht stattfinden. Stehen in der Rezeptorschicht genügend Zellen zur Verfügung, so können prinzipiell beliebig viele Muster gespeichert werden oder es bilden sich mehrere Zellen, die auf dasselbe Muster antworten. Die beschriebene Architektur wurde allerdings nicht mit tatsächlichen Bewegungsmustern trainiert. Es ging zunächst vielmehr darum, die prinzipielle Möglichkeit zu zeigen, mit Hilfe einer Lernregel für Signallaufzeiten unüberwacht mehrere Detektoren für verschiedene Zeitsequenzen zu lernen. Physiologisch ist es eher unwahrscheinlich, dass ein solcher Mechanismus zum Einsatz kommt. Wie die Verhaltensversuche zeigen, ist ein Lernverhalten teilweise schon bei einer einzigen negativen Erfahrung erkennbar. Die Veränderung von Laufzeiten in neuronalen Verbindungen ist dagegen ein langsamer Prozess, der die vielfache Wiederholung des zu lernenden Musters erfordert. Dieses Problem lässt sich evtl. durch einen Kurzzeitspeicher lösen, der dann das Bewegungsmuster, das mit der negativen Erfahrung verknüpft werden soll, mehrfach wiederholt, bis eine entsprechende neuronale Speicherung erfolgt ist. Hierzu wurden aber bisher keine Modelle entwickelt.

## 4 Diskussion

### Experimentelle Untersuchungen

Die bisher ausgewerteten extrazellulären Ableitungen an Tectumneuronen unterstreichen unsere bereits mehrfach geäußerte Annahme (Roth et al., 1998, 1999), dass die Antworteigenschaften tectaler Neurone sowohl bei Fröschen als auch bei Salamandern in erheblichem Maße überlappen. Dies widerlegt die Annahme einer diskreten Merkmalsverarbeitung durch tectale Neurone („Detektorkonzept“). Jedoch scheint es hierbei Unterschiede zwischen Fröschen und Salamandern zu geben. Insgesamt zeigen in den bisherigen Untersuchungen bei *Discoglossus* die tectalen Neurone mehrheitlich (62%) deutlichere Unterschiede in ihren Antworten auf Größe, Gestalt, Geschwindigkeit und Bewegungsrichtung, d.h. die Diskriminationsleistung tectaler Neurone ist hier höher. Ein Wechsel einzelner Merkmale (Gestalt, Bewegungsrichtung, Geschwindigkeit) führt zu einer stärkeren Veränderung des Antwortverhaltens einzelner Neurone. Bei *Hydromantes* war dies nur bei 38% und bei *Plethodon* nur bei 33% der Neurone der Fall. Hieraus könnte geschlossen werden, dass die Populationscodierung im Tectum der beiden Salamanderarten noch höher ausgeprägt ist als beim Frosch *Discoglossus pictus*. Zu berücksichtigen ist, dass Frösche durchschnittlich fünf- bis zehnmal mehr tectale Neurone besitzen als Salamander, was bei letzteren zweifellos zu einer Erhöhung von Populationscodierung führen muss. In den visuell gesteuerten Verhaltensleistungen gibt es zwischen den von uns untersuchten Frosch- und Salamanderarten keine Unterschiede (Roth et al., 1999), was die Effektivität einer Populationscodierung bei Salamandern unterstreicht. In keinem Fall aber ergab sich bei den untersuchten Amphibienarten ein Hinweis darauf, dass es Neurone gibt, die ausschließlich oder auch nur dominant auf ein einziges Merkmal reagieren; immer war es eine bestimmte *Kombination* von Merkmalen, die besonders wirksam war.

Mithilfe des Opticus-Tectum-Präparates konnten zum erstenmal für Salamander die retinotectalen Laufzeiten und die tectalen Oberflächenpotentiale bei Reizung des Sehnerven exakt bestimmt werden. Ebenso konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass die retinotectale Transmission überwiegend (wenn nicht gar ausschließlich) glutamaterg ist. Späte Potentiale werden jedoch eindeutig cholinerg und serotonerg moduliert. Gleichzeitig konnte nachgewiesen werden, dass die Afferenzen vom Nucleus isthmi zum Tectum cholinerg sind und somit zur cholinergen Modulation beitragen. Fortschritte gab es auch bei der Aufklärung der ultrastrukturellen Organisation der retinalen und isthimischen Afferenzen.

## Theorie

In den im Teilprojekt A 10 durchgeführten theoretischen Arbeiten wurden die dynamischen Eigenschaften einfacher Modelle der frühen visuellen Verarbeitung untersucht. Insbesondere konnte gezeigt werden, dass

- Feuerraten von einzelnen tectalen Neuronen nicht zur Diskriminierung der Stimuluseigenschaften Größe und gleichförmige Geschwindigkeit geeignet sind.
- die Anstiegszeit retinaler Aktivität durch verzögertes negatives Feedback deutlich verkürzt werden kann.
- die Antwort von Retinaganglienzellen auf ruckweise bewegte Reize nur unter Annahme von nichtlinearen dynamischen Rückkopplungsprozessen beschrieben werden kann.
- adaptive Mechanismen die verstärkte Spikegenerierung in Tectumzellen bei ruckweiser Stimulation erklären können.
- die Speicherung zeitlicher Reizabfolgen von einem Netzwerk geleistet werden kann, dessen Signallaufzeiten mit Hilfe einer Lernregel selbstorganisiert adaptiert werden.

## 5 Zusammenfassung und Ausblick

### **Experimenteller Teil:**

Die von B. Lienstädt begonnenen (und noch nicht vollständig ausgewerteten) extrazellulären Ableitungen von Neuronen im optischen Tectum des Salamanders *Plethodon jordani* werden zur Zeit von Dr. Guido Westhoff mit den unter 2.1.1 genannten computergenerierten Stimuli weitergeführt. Die morphologische Identifikation extrazellulär abgeleiteter Neurone mithilfe so genannter juxtazellulärer Ableitungen durch Biocytin-gefüllter Mikropipetten hatte lange Zeit zu keinen befriedigenden Erfolgen geführt. Hier hat es in Zusammenarbeit mit dem TP A4 (Dr. Dicke) kürzlich erste positive Ergebnisse gegeben.

### Theorie:

Um die Eigenschaften der retinalen Übertragung irregulär bewegter Objekte weiter zu untersuchen, sind zusätzliche Ableitungsexperimente an isolierten Retinae in Verbindung mit schätztheoretischen Auswertemethoden, insbesondere der der Stimulusrekonstruktion mit Hilfe der Bayesschen Formel geplant. Die Ableitung retinaler Antworten bei Reizung mit einem Balken, der zufällig seine Geschwindigkeit ändert, stellt eine Verallgemeinerung des bisherigen experimentellen Paradigmas dar. Die Auswertemethoden sollen zeigen, anhand welcher experimentellen Größe eine Rekonstruktion der Stimulusgeschwindigkeit möglich ist.



Ist evtl. die Betrachtung der momentanen Populationsrate ausreichend, oder spielen die Zeitpunkte der Aktionspotentiale einzelner Zellen eine entscheidende Rolle?

Die in solchen weiteren Experimenten verwendeten Methoden sollen ebenfalls auf das entwickelte Retinamodell angewendet werden, um dessen Gültigkeitsbereich zu überprüfen. Der Vergleich zwischen verschiedenen Modellvarianten kann eventuell die These untermauern, dass dynamische nichtlineare Mechanismen für die korrekte Beschreibung des retinalen Antwortverhaltens notwendig sind.

Denkbar ist ebenso eine Weiterentwicklung der Mechanismen zum Lernen verzögerter Verbindungen. Hier ist insbesondere ein detaillierterer Abgleich zwischen Experiment und Modell wünschenswert. Zumindest muss das Netzwerkmodell wie sein biologisches Vorbild zum "One Shot Learning", d. h. zum Wiedererkennen des negativen Stimulus nach nur einer einzigen Präsentation fähig sein. Weitere offene Fragen sind danach die Suche nach neuronalen Korrelaten des Speichers für Bewegungsmuster auf kurzen wie auch auf langen Zeitskalen und die Suche nach neuronalen Korrelaten des Bewertungsmechanismus.

Die genannten Untersuchungen werden nicht mehr im Rahmen des SFB weitergeführt.

## **6 Literaturverzeichnis**

### **Zitierte Arbeiten**

An der Heiden, U., and Roth, G. (1987): Mathematical model and simulation of retina and tectum opticum of lower vertebrates. *Acta Biotheoretica* 36: 179-212.

Berry II, M.J., Brivanlou, I.H., Jordan, T.A., and Meister, M. (1999): Anticipation of moving stimuli by the retina. *Nature* 398: 334-338.

Eurich, C.W., Pawelzik, U., Ernst, U., Cowan, J.D., and Milton, J.G. (1999): Dynamics of self-organized delay adaptation. *Phys. Rev. Letters* 82: 1594-1597.

Jacobs, A.L., and Werblin, F.S. (1998): Spatiotemporal patterns of the retinal output. *J. Neurophysiol.* 80: 447-451.

Rodieck, R.W. (1965): Quantitative analysis of cat retinal ganglion cell response to visual stimuli. *Vision Research*, 5: 583-601.

Roth, G., Dicke, U. und Wiggers, W. (1999): Wie das Gehirn eine Fliege erkennt. *Spektrum der Wissenschaft* November 1999, 56-64.

Smirnakis, S.M., Berry, M.J., Warland, D.K., Bialek, W., and Meister, M. (1997): Adaptation of retinal processing to image contrast and spatial scale. *Nature* 386: 69-73.

Wiggers, W. (1991): Elektrophysiologische, neuroanatomische und verhaltensphysiologische Untersuchungen zur visuellen Verhaltenssteuerung bei lungenlosen Salamandern. Dissertation Universität Bremen.

### **Eigene Arbeiten**

Kahl, H. (1999): Pharmakologische und elektrophysiologische Untersuchungen zur retino-tectalen Transmission, intra-tectalen Verarbeitung sowie zur praetecto-tectalen Beeinflussung bei *Plethodon jordani* (Ordnung: Caudata). Dissertation Universität Bremen, Shaker-Verlag, Aachen.

Kahl, H. and Wiggers, W. (2000): Influence of muscarinic ligands on the amplitudes of the evoked surface potential's late components in the optic tectum of the urodele *Plethodon jordani*. *Neuroscience Letters* 285: 17-20.

Roth, G. (1999): Bewusste und unbewusste Handlungssteuerung aus neurobiologischer Sicht. In: F. Meyer-Krahmer und S. Lange (Hrsg.): *Geisteswissenschaften und Innovation*. Physica-Verlag/Springer-Verlag Heidelberg, S. 77 – 111.

Roth, G. (1999): Entstehen und Funktion von Bewußtsein. *Deutsches Ärzteblatt* 96: 3-7.

Roth, G. (1999): Kleine Gehirne – große Gehirne. Evolutionäre Aspekte und funktionelle Konsequenzen. *Naturwiss. Rundschau* 52: 213-219.

Roth, G. (1999): The neurobiological basis of consciousness in man and animals. *Evolution and Cognition* 5: 137-148.

Roth, G. (2000): Die Evolution von Geist und Bewußtsein. In: N. Elsner und G. Lüer (Hrsg.), *Das Gehirn und sein Geist*. Wallstein-Verlag, Göttingen, S. 167-188.

Roth, G. (2000): Geist ohne Gehirn? Hirnforschung und das Selbstverständnis des Menschen. *Forschung & Lehre* 5: 249-251.

Roth, G. (2000): Hirnforschung als Geisteswissenschaft. In: M. Huber und G. Lauer (Hrsg.): *Nach der Sozialgeschichte. Konzepte für eine Literaturwissenschaft zwischen Historischer Anthropologie, Kulturgeschichte und Medientheorie*. Max-Niemeyer-Verlag, Tübingen, S. 29-46.

Roth, G. (2000): The evolution and ontogeny of consciousness. In: *Neural Correlates of Consciousness*, T. Metzinger (ed.). Bradford Book – MIT Press, 77-97.

Roth, G. (2000): The evolution of consciousness. In: *Brain Evolution and Cognition*. G. Roth and M.F. Wullimann (Hrsg.). Wiley-Spektrum, New York – Heidelberg, S. 555-582.

Roth, G. (2001): Die neurobiologischen Grundlagen von Geist und Bewusstsein. In: *Neurowissenschaften und Philosophie*, M. Pauen und G. Roth (Hrsg.). UTB-W. Fink, München, S. 155- 209.

Roth, G. and Wake, D.B. (2000): Evolution and devolution: The case of bolitoglossine salamanders. In: Brain Evolution and Cognition. G. Roth and M.F. Wullimann (Hrsg.). Wiley-Spektrum, New York – Heidelberg, S. 237-263.

Thiel, A., Wilke, S.D., and Eurich, C.W., Greschner, M., Bongard, M., Ammermüller, J., and Schwegler, H. (2001): Temporally faithful representation of salient stimulus movement patterns in the early visual system. In: Cantoni, V., Petrosino, A., and Marinaro, M.(eds.), Visual Attention Mechanisms, Proceedings of the 5<sup>th</sup> Int.School on Neural Nets, Plenum press, New York.

Thiel, A., Wilke, S.D., Eurich, C.W., Greschner, M., Bongard, M., Ammermüller, J., and Schwegler, H. (2001): Temporally faithful representation of salient stimulus movement patterns in the early visual system. In Proceedings of the 5<sup>th</sup> Int. School on Neural Nets, in press.

Wiggers, W. (1999): Projections of single retinal ganglion cells to the visual centers. An intracellular staining study in a plethodontid salamander. Visual Neuroscience 16: 435-447.

Wilke, S.D., Thiel, A., and Eurich, C.W. (2000): Processing of movement information in the early stages of the visual system. In: Amari, S.-I., Giles, C.L., Gori, M., and Piuri, V. (Eds.) Proceedings of the IEEE-INNS-ENNS Int. Joint Conf. on Neural Networks (IJCNN 2000), p.425-430, IEEE Computer Society, Los Alamitos.

Wilke, S.D., Thiel, A., and Eurich, C.W., Greschner, M., Bongard, M., Ammermüller, J., and Schwegler, H. (2001): Extracting motion information using a biologically realistic model retina. In: Verleysen, M. (ed.), Proceedings of the 9<sup>th</sup> European Symposium on Artificial Neural Networks (ESANN 2001), p. 323-328, D facto, Brussels.

## 7 Dokumentation der sonstigen Aktivitäten

Teilnahme an:

- **Mitarbeiter-Berichts-Kolloquium am 26. 11. 1999 im HWK**
- **Workshop 1999 (10./11. Dez. 1999)**  
 „Bedeutungsentstehung im Gehirn Teil I“ im HWK  
 Themen:
  1. Imaging-Daten, Einzelzell- und Multizellableitungen versus Verhaltensdaten
  2. Der Begriff der Aufmerksamkeit in der Kognitionspsychologie und Neurobiologie
  3. Bewertende und Bedeutungsgenerierende Strukturen im Gehirn
  4. Nutzen und Grenzen von Theorie in den Neurowissenschaften
- **Workshop 2000 (12./13. Mai 2000)**  
 „Bedeutungsentstehung im Gehirn Teil II“ auf der Nordseeinsel Borkum  
 Themen:
  1. Zeitliche Aspekte der Wahrnehmung und ihre Repräsentation in visuellen und auditorischen Systemen
  2. Sensorische Integration und sensorisches Gedächtnis
  3. Der Begriff der Aufmerksamkeit in der Kognitionspsychologie und Neurobiologie

- **Workshop „Theoretische Neurophysik“ vom 03. – 05.11.2000**  
auf der Nordseeinsel Langeoog
- Teilnahme von Andreas Thiel an der International Joint Conf. on Neural Networks (IJCNN 2000) in Como mit einem eigenen Beitrag.
- Teilnahme von Andreas Thiel an der 5<sup>th</sup> Int. Summer School on Neural Nets (2000) in Salerno mit einem eigenen Beitrag.

## **8 Förderung des Teilprojektes im Rahmen des Sonderforschungsbereich**

(aufgeteilt nach Haushaltsjahren in TDM)

<b>1999</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>Gesamt</b>
34,3	58,0	58,0	150,3

**Teilprojekt A 11**

**Effekte neonataler Entwicklungsstörungen des präfrontalen und entorhinalen Cortex auf kognitive, emotionale und perzeptuelle Leistungen adulter Ratten.  
Neurobiologische Untersuchungen des "*Two - Hit Model*" der Schizophrenie**

**Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.2001 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Michael Koch

Institut für Hirnforschung  
Universität Bremen, FB 2  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

## **1. Einleitung**

Ziel des Teilprojekts ist die Aufklärung der Wirkung neonataler Eingriffe (Läsion, spezifische Entwicklungsblockade durch *Reelin*-Translationsblockade) auf die Entwicklung des medialen präfrontalen (PFC) und des entorhinalen Cortex (ENT) und auf perzeptuelle, emotionale und kognitive Verhaltensleistungen der erwachsenen Ratte. Diese Leistungen sollen in einer Reihe von Verhaltensparadigmen (räumliches Lernen, Sozialverhalten, Arbeitsgedächtnis, Belohnungsdressur, Furchtkonditionierung, Präpulsinhibition der Schreckreaktion) erfasst werden. Die strukturellen und physiologischen Veränderungen im Gehirn behandelter Ratten werden durch histologische und elektrophysiologische Verfahren quantifiziert und mit den Verhaltensveränderungen korreliert.

Die geplanten Untersuchungen sind als Tiermodell für neuere Hypothesen zur Entstehung der Schizophrenie zu sehen. Man geht davon aus, dass der Schizophrenie eine entwicklungsneurobiologische Fehlsteuerung zugrunde liegt. Das *Two-Hit* Modell der Schizophrenie postuliert, dass eine Störung der Hirnentwicklung (*First-Hit*) zu einer erhöhten Anfälligkeit gegen Stress (*Second-Hit*) des jung-adulten Gehirns führt (Keshavan, 1999), die zu neurodegenerativen oder apoptotischen Prozesse führt (Mitchell et al., 1998) und die Reifung des Gehirns stört (Vulnerabilitäts-Stress-Hypothese). Neuerdings wird auch vermutet, dass Drogen (wie z.B. Cannabis) in einem vulnerablen jugendlichen Gehirn zu schizophrenen Funktionsstörungen führen können (Hambrecht & Häfner, 2000). Diese neurodegenerativen Prozesse im adulten Organismus gehen auf eine Interaktion verschiedener Transmittersysteme (vor allem Glutamat und Dopamin) mit Stresshormonen zurück (Griffiths et al., 2000; Pani et al., 2000).

Aufgrund der Interaktionen zwischen den betroffenen Hirngebieten geht man davon aus, dass es im Verlauf der Schizophrenie nicht lediglich zu fokalen Funktionsstörungen im Gehirn kommt, sondern dass die neuronale Kommunikation vor allem zwischen cortico-limbisch-striatalen Systemen gestört ist (O'Donnell & Grace, 1998; Brake et al., 2000; Grace, 2000).

Unsere Untersuchungen sollen zum Verständnis des PFC und ENT bei kognitiven Leistungen beitragen und ein Tiermodell für die Ätiologie und den Verlauf der Schizophrenie etablieren.

### Literatur:

Brake WG, Flores G, Francis D, Meaney MJ, Srivastava LK, and Gratton A (2000) Enhanced nucleus accumbens dopamine and plasma corticosterone stress responses in adult rats with neonatal excitotoxic lesions to the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* 96: 687-695

- Grace AA (2000) Gating of information flow within the limbic system and the pathophysiology of schizophrenia. *Brain Res. Rev.* 31: 330-341
- Griffiths MR, Cooper AJ, Barber DJ, and Mitchell IJ (2000) Pharmacological mechanisms mediating phencyclidine-induced apoptosis of striatopallidal neurons: the roles of glutamate, dopamine, acetylcholine and corticosteroids. *Brain Res.* 855: 1-10
- Hambrecht M, and Häfner H (2000) Cannabis, vulnerability, and the onset of schizophrenia: an epidemiological perspective. *Aust. NZJ Psychiatry* 34: 468-475
- Keshavan MS (1999) Development, disease and degeneration in schizophrenia: a unitary pathophysiological model. *J. Psychiat. Res.* 33: 513-521
- Mitchell IJ, Cooper AJ, Griffiths MR, and Barber DJ (1998) Phencyclidine and corticosteroids induce apoptosis of a subpopulation of striatal neurons: a neural substrate for psychosis? *Neuroscience* 84: 489-501
- O'Donnell P, and Grace AA (1998) Dysfunctions in multiple interrelated systems as the neurobiological bases of schizophrenic symptom clusters. *Schiz. Bull.* 24: 267-283
- Pani L, Porcella A, and Gessa GL (2000) The role of stress in the pathophysiology of the dopaminergic system. *Mol. Psychiatry* 5: 14-21

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

Wir setzen Verhaltensexperimente, elektrophysiologische Ableitungen und eine Reihe von neuroanatomischen und immunhistochemischen Techniken ein.

Seit Arbeitsbeginn am 1. Januar 2001 bis zum Verfassen des Arbeitsbericht im Mai 2001 haben wir vor allem Vorarbeiten durchgeführt. Die wissenschaftliche Angestellten und drei Diplomanden haben sich in die relevante Literatur eingelesen und die Labore wurden eingerichtet.

Zunächst wurde die stereotaktische Operation und Ibotenatläsionen an neonatalen Ratten (postnatal Tag 7) optimiert und von allen Mitarbeitern gelernt. Die stereotaktischen Koordinaten adulter Ratten können auf das neonatale Gehirn selbstverständlich nicht angewandt werden und der stereotaktische Atlas für neonatale Ratten ist nicht für 7 Tage-alte Tiere optimiert (Sherwood & Timiras. *A Stereotaxic Atlas of the Developing Rat Brain*, University of California Press, 1970). Auch die in der Literatur angegebene Dosis von 3 µg Ibotenat/Injektionsseite wurde überprüft. Es zeigte sich, dass diese Dosierung relativ große Läsionen verursacht. Wir ermitteln derzeit noch eine niedrigere Dosierung, die verlässlich kleinere Läsionen bewirkt.

Auch die geplanten anterograden Tracing-Experimente (Schwabe et al., 2001) verschiedener Afferenzen zu den o.a. Cortexarealen werden derzeit für die neonatalen Ratten getestet und optimiert (Dosierung, bzw. Iontophoreseströme und Überlebenszeit der Tiere).

Die bewilligten Geräte für die Durchführung der Verhaltensexperimente (8-Arm-Labyrinth und Aktivitätsboxen) sind geliefert und von der Firma TSE installiert. Wir arbeiten uns jetzt in die Bedienung der Apparaturen und in die Programmierung der Verhaltensprogramme ein.

Die optimale Sequenz der Antisense-Oligonukleotide wurde aus der Literatur ermittelt und mit Molekularbiologen der Firma Biognostics in Göttingen besprochen. Die Antisense-Oligonukleotide werden in den nächsten Wochen synthetisiert und werden dann zunächst in einer Kooperation mit Prof. Beyersmann (Uni. Bremen) in Zellkulturen von neuronalen Gliomazellen (C6-Zelllinie) getestet. Hierbei soll die Aufnahme der Antisense-DNA, ihre Spezifität, sowie ihre mögliche Zytotoxizität geprüft werden. Auf Anfrage wurde uns von Professor Goffinet (Belgien) ein Antikörper gegen *Reelin* zur Verfügung gestellt, mit dem wir den Erfolg der Antisense-Behandlung (Translationsblockade) überprüfen wollen. Die Anwendung dieses Antikörpers in der Immunhistochemie (optimale Konzentration, Inkubationszeiten, Art der Gewebefixierung, etc.) wird derzeit optimiert.

Die Geräte für den Aufbau des elektrophysiologischen Meßplatzes wurden bestellt und sind größtenteils bereits geliefert, sodass Herr Bennay mit dem Aufbau beginnen kann. Herr Bennay setzt derzeit die Geräte zur Blutdruckmessung und Beatmung der Versuchstiere während der elektrophysiologischen Ableitungen in Gang (vgl. Bennay et al., 2001).

Frau Schneider hat im Rahmen ihrer Diplomarbeit die Wirkung des Cannabinoid-Agonisten WIN 55, 212-2 untersucht (Schneider & Koch, 2001). Diese Substanz soll in einem Teilprojekt eingesetzt werden (siehe Antrag).

Ein Forschungsmikroskop der Firma Zeiss (Axioskop) und eine digitale Kamera mit Bildanalysesystem (Firma Visitron) sind bestellt und werden wahrscheinlich Anfang September geliefert.

### **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

Zum Zeitpunkt des Verfassens dieses Berichtes hat die Arbeitsgruppe Aufbauarbeit geleistet und kann daher noch keine inhaltlichen Ergebnisse vorlegen.



#### **4. Diskussion**

entfällt

#### **5. Zusammenfassung und Ausblick**

Die Aufbau- und Vorarbeiten werden in den nächsten Wochen (Optimierung der Ibotenat-Läsionen) und Monaten (Tests der Tracer- und Antisense-Technik) abgeschlossen sein, sodass wir dann mit den im Antrag beschriebenen Vorhaben beginnen können.

#### **6. Literaturverzeichnis**

Bennay M, Gernert M, and Richter A (2001) Spontaneous remission of paroxysmal dystonia coincides with normalisation of entopeduncular activity in *dt<sup>sz</sup>* mutants. *J. Neurosci.* 21: RC153 1-4

Diekamp B, Kalt T, Ruhm A, Koch M, and Güntürkün O (2000) Impairment in a discrimination reversal task after D1-receptor blockade in the pigeon "prefrontal cortex". *Behav Neurosci.* 114: 1145-1155

Fendt M, and Koch M (1999) Cholinergic modulation of the acoustic startle response in the caudal pontine reticular nucleus of the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 370: 101-107

Fendt M, Koch M, and Schnitzler H-U (1996a) Lesions of the central gray block conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. *Behav. Brain Res.* 74: 127-134

Fendt M, Koch M, and Schnitzler H-U (1996b) NMDA receptors in the pontine brainstem are necessary for fear potentiation of the startle response. *Eur. J. Pharmacol.* 318: 1-6

Fendt M, Koch M, and Schnitzler H-U (1996c) Somatostatin in the pontine reticular formation modulates fear-potentiation of the acoustic startle response: An anatomical, electrophysiological and behavioral study. *J. Neurosci.* 16: 3097-3103

Fendt M, Koch M, and Schnitzler H-U (1997) Corticotropin-releasing factor in the caudal pontine reticular nucleus mediates the expression of fear-potentiated startle in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 9: 299-305

Fendt M, Schwienbacher I, and Koch M (2000) Amygdaloid N-methyl-D-aspartate and g-aminobutyric acid<sub>A</sub> receptors regulate sensorimotor gating in a dopamine-dependent way in rats. *Neuroscience* 98: 55-60

Hauber W, and Koch M (1997) Adenosine A<sub>2a</sub> receptors in the nucleus accumbens modulate prepulse inhibition of the startle response. *NeuroReport* 8: 1515-1518

Japha K, and Koch M (1999) Picrotoxin in the medial prefrontal cortex impairs sensorimotor gating in rats: reversal by haloperidol. *Psychopharmacology* 144: 347-354

Klarner A, Koch M, and Schnitzler H-U (1998) Induction of Fos-protein in the forebrain and disruption of sensorimotor gating following N-methyl-D-aspartate infusion into the ventral hippocampus of the rat. *Neuroscience* 84: 443-452

- Koch M (1996) The septohippocampal system is involved in prepulse inhibition of the acoustic startle response in rats. *Behav. Neurosci.* 110: 468-477
- Koch M (1998a) How can adaptive behavioural plasticity be implemented in the mammalian brain? *Z. Naturforsch.* 53c: 593-598
- Koch M (1998b) Sensorimotor gating changes across the estrous cycle in female rats. *Physiol. Behav.* 64: 625-628
- Koch M (1999) The neurobiology of startle. *Prog. Neurobiol.* 59: 107-128
- Koch M (2000) Can animal models help to understand human diseases? Commentary on Swerdlow *et al.*, 'Animal models of deficient sensorimotor gating: what we know, what we think we know, and what we hope to know soon'. *Behav Pharmacol* 11: 205-207
- Koch M, and Bubser M (1994) Deficient sensorimotor gating after 6-hydroxydopamine lesion of the rat medial prefrontal cortex is reversed by haloperidol. *Eur. J. Neurosci.* 6: 1837-1845
- Koch M, and Ebert U (1993) Enhancement of the acoustic startle response by stimulation of an excitatory pathway from the central amygdala/basal nucleus of Meynert to the pontine reticular formation. *Exp. Brain Res.* 93: 231-241
- Koch M, and Ebert U (1998) Reduced sensorimotor gating following seizures in amygdala-kindled rats. *Biol. Psychiatry* 44: 290-297
- Koch M, and Hauber W (1998) Regulation of sensorimotor gating by interactions of dopamine and adenosine in the rat. *Behav. Pharmacol.* 9: 23-29
- Koch M, Klarner A, and Schnitzler H-U (1999) Lesions of the piriform cortex prevent long-lasting prepulse inhibition deficits induced by stimulation of the ventral hippocampus. *Neurosci. Lett.* 275: 195-198
- Koch M, Kungel M, and Herbert H (1993) Cholinergic neurons in the pedunclopontine tegmental nucleus are involved in the mediation of prepulse inhibition of the acoustic startle response in the rat. *Exp. Brain Res.* 97: 71-82
- Koch M, Schmid A, and Schnitzler H-U (2000) Role of the nucleus accumbens dopamine D1 and D2 receptors in instrumental and Pavlovian paradigms of conditioned reward. *Psychopharmacology* 152: 67-73
- Koch M, Fendt M, and Kretschmer BD (2000) Role of the substantia nigra pars reticulata in sensorimotor gating, measured by prepulse inhibition of startle in rats. *Behav Brain Res* 117: 153-162
- Koch M, and Robbins TW (2001) Special issue on the psychopharmacology of prepulse inhibition: basic and clinical studies. *Psychopharmacology* 157, in press.
- Kretschmer BD, and Koch M (1997) Role of the strychnine-insensitive glycine binding site in the nucleus accumbens and anterodorsal striatum in sensorimotor gating: a behavioral and microdialysis study. *Psychopharmacology* 130: 131-138

Kretschmer BD, and Koch M (1998) The ventral pallidum mediates disruption of prepulse inhibition of the acoustic startle response induced by dopamine agonists, but not by NMDA antagonists. *Brain Res.* 798: 204-210

Schanbacher A, Koch M, Pilz PKD, and Schnitzler H-U (1996) Lesions of the amygdala do not affect the enhancement of the acoustic startle response by background noise. *Physiol. Behav.* 60: 1341-1346

Schauz C, and Koch M (1998) Latent inhibition of fear potentiated startle in rats. *Behav. Pharmacol.* 9: 175-178

Schauz C, and Koch M (1999) Lesions of the nucleus basalis magnocellularis do not impair prepulse inhibition and latent inhibition of fear-potentiated startle in the rat. *Brain Res.* 815: 98-105

Schauz C, and Koch M (2000) Blockade of NMDA receptors in the amygdala prevents latent inhibition of fear-conditioning. *Learn Mem* 7: 393-399

Schneider M, and Koch M (2001) Role of the synthetic cannabinoid WIN 55,212-2 in learning, memory and attention. Abstract, 28<sup>th</sup> Göttingen Neurobiology Conference.

Schulz B, Fendt M, Pedersen V, and Koch M (2001a) Sensitization of prepulse inhibition deficits by repeated administration of dizocilpine. *Psychopharmacology*, in press

Schulz B, Fendt M, Gasparini F, Lingenhöhl K, Kuhn R, and Koch M (2001b) The metabotropic glutamate receptor antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP) blocks fear conditioning in rats. *Neuropharmacology*, 41, 1-7

Schwabe K, Löscher W, and Ebert U (2001): Anatomical characterization of a seizure sensitive region in the piriform cortex of the rat. Abstract, 28<sup>th</sup> Göttingen Neurobiology Conference.

Schwienbacher I, Fendt M, Hauber W, and Koch M: Dopamine D1 receptors and adenosineA1 receptors in the rat nucleus accumbens regulate motor activity but not prepulse inhibition. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, submitted

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

Die Mitarbeiter des Teilprojekts nahmen an allen Veranstaltungen und Kolloquien des SFB teil. Ebenso wurde die 28. Göttinger Neurobiologentagung im Juni 2001 besucht. Der TP-Leiter nahm an der Int. Conference on Emotion and the Brain (27.5. – 3.6.01) mit Vortrag teil und wird am Neuroscience-Meeting in San Diego (10.-15.11.01) teilnehmen.

Vorträge:

16.1.01: Psychologisches Institut Univ. Marburg

30.5.01: Conference on Emotion and the Brain (Palma, Mallorca)

31.7.01: Evang. Akademie (Bad Boll)

21.8.01: Psychiatrische Klinik Univ. Bonn

## **Teilprojekt B 1**

### **Repräsentation und Kodierung sensorischer Informationen in Spike - Trains**

#### **Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.1999

Projektleiter: apl. Prof. Dr. Pal Rujan

Universität Oldenburg, FB 8,  
Institut für Chemie und Biologie des Meeres  
Postfach 25 03  
26111 Oldenburg

aktuelle Adresse: SER Technology GmbH  
Sandweg 236  
26135 Oldenburg

## **1. Einleitung**

This is the final report on our research activities within SFB 517 on how the retina codes visual information in spike trains. Dr. Harry Urbschat left my group in Mai 1999 and I left myself the Carl von Ossietzky University in August 1999. This introduction takes the opportunity to compactly describe the motivation for pursuing this project, the obtained results – especially the ones obtained in 1999 – and present a short list of the remaining open scientific problems.

Although by education theoretical physicists, we (HU and PR) came early to the conclusion that in neuroscience real progress can be achieved only if appropriate experiments are performed under well controlled conditions. “Well controlled” means here that all manual tasks which could be automatized must be handled by hardware and/or software. Furthermore, all laboratory conditions should be under control. Together with Dr. J. Ammermüller and M. Bongard, we envisaged a massively parallel electrode array experiment, using on-chip electrodes manufactured at the Utah University. This had 100 electrodes and was originally designed for cortical recordings. The reason for this setup is our belief, that the neural code is distributed: specific informations are coded into (and thus can be decoded from) a neighbouring population of cells. This is one of our basic assumptions: our work can only indirectly support it.

At the time only 16 channel DSP (digital signal processor) cards were commercially available for acoustics recordings: instead of waiting, we decided to build our own hardware. After three generations of implemented and tested designs we had in the middle of 1998 a well functioning DSP PCI card with 128 channels, which could sample and sort out spikes on the fly at a 20 KHz rate per channel. This involved a lot of work, from planning, building the card, programming in assembler the drivers, testing the hardware, and writing software for data both acquisition and data analysis. As the project progressed, we developed first a special language and interpreter for generating the visual stimuli from a color monitor. That allowed us to use a wide range of stimuli.

As more experiments were performed, however, we realized that the retinal cells in *Pseudemys scripta elegans* could actually ‘see’ the scanning motion of the monitor’s electronic gun! In other words, the direction sensitive complex cells have response timea below 10 msec. Hence, for test reasons and more accurate measurements we bought and put

in operation in 1999 two microscanners (one for horizontal, one for vertical control). They were programmed and synchronized with the recording apparatus to move very fast and accurately a focused light beam on a huge (4048 x 2048) virtual screen. Hence, the desired the experimental setup was achieved in three and half years of very difficult work with a minimal man power. Dr. Harry Urbschat did all the hardware work practically by himself, achieving alone results obtained elsewhere by whole groups of professionals. Not only did he setup a six layer card in his ‘garage’, write assambler code for the drivers, change the Linux operating system kernel for uninterrupted dataflow handling, but at the same time developed a high level visual stimulation language (interpreter) . As an example of our approach, let me just note the callibration program which automatically measures the signal noise in each channel and sets the correct threshold automaticaly to the correct individual value. This work was previously made by adjusting 100 potentiometers per hand and took 30 minutes from the measurement time. It takes now 5 seconds and you can literally hear how the noise disappears (since the spikes detector is connected to the computers speakers).

I am describing here the “practical” aspects of our work for two reasons: **a)** to make clear that this part of our work required a major effort, which in my view was not really appreciated by our Referees and **b)** to demonstrate that in order to understand the basic principle of the retinal code one has to go a long way.

In January 1999 Josef Ammermüller’s parallel SFB project was somewhat surprisingly canceled by the DFG Gutachters. It also become clear that due to the expiration of his 5 contract years, the work of Dr. H. Urbschat could not be continued beyond August 1999. Although my project was accepted, the Gutachters expressedly wished it had a more ‘theoretical’ touch than before – and certainly that we publish more. Since middle 1999 my group works (successfully) for a software company. In meantime, many of our common projects were finalized by Josef Ammermüller and colleagues (see publication list).

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

As already mentioned, our group (all physicists) contributed to many aspects of the multielectrode setup realized in Prof. R. Weiler’s Neuroethology Lab. Our main interests were nevertheless related to the theoretical understanding of information processing in retina. Since biological systems are rather complex, the main tools theoreticians can use are basically **computer simulations**, which leads us to the field now known under the name

neurocomputation. However, although computer simulations are numerical experiments made within a well defined abstract (and hence necessarily simplified) models, they cannot in themselves deliver an ‘understanding’ of the functional principles. Hence, some of our (better) works used extensively **analytic mathematical tools** (see the papers with J. Benda and J. Hausmann). Such tools can be used safely on well identified and isolated problems. A “general” neurobiological analytic theory is not in sight.

The questions relevant to our investigation were the following:

- 1) Let us assume that we could measure simultaneously all the electric activity along the optic nerve but had no external information about the visual stimulus. How and in how much detail can one extract the physical visual input from the (virtually) recorded spike-trains?
  
- 2) One could say that the retina is both a biological, adaptive sensor and an analog-digital encoder. What are exactly its adaptive functions and how are they realized? Does a kind of ‘symbolic’ spike-code exist, which is ‘universal’ in the sense that similar ‘language’ is used in other parts of the brain as well (how are several sensory inputs ‘fused’)? How redundant is this code? How to design experiments in order to test hypotheses about the spike code?
  
- 3) How does the structural form of retina depend on ‘natural’ image input? How much ‘statistical information’ about natural images is coded directly into the structural interactions between different cell populations? How much of the statistical fluctuations can be dealt with dynamically, through structure and/or adaptation processes?
  
- 4) How can the retina contribute to the creation of mental ‘objects’? How does it code for different features defining an object and what are those features? In what concrete form does the retina provide this information to the next layer of processing? How does the retina ‘focus’ on important signals and deal with moving objects and the vestibulo-ocular system?
  
- 5) Finally, what are the methods and the approaches originating in theoretical physics which most likely will be appropriate for describing sensory systems?

Each of these questions triggers a number of further interesting inquiries (and perhaps experiments).

### **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

We are going now to review some of the answers our work delivered when considering the above questions. These will reflect our actual understanding and represent the whole activity during our presence in the SFB.

- 1) With the perspective of understanding the multipath structure of receptor pedicle's synapses we did some exploratory work on the dynamics and adaptation of synapses (with Regina Usbeck, 1995). This work was based on a numerical simulation of a simple geometry synapse (we have chosen the AchR receptors because the synaptic cleft had a simple geometry and the ample number of experimental results available). We simulated both the diffusion of Ach through the synaptic cleft, including uptake processes and binding on the AchR receptors. The chemistry of receptors has been also slightly simplified, leading to a 5-step cycle. Assuming a predefined distribution of receptors on the postsynaptic side and using the correct scaled version of experimental data, we could reproduce the dynamics of microactivation peaks corresponding to the release of a single transmitter vesicle without fitting any parameters. The same applied for showing how a periodic signal leads to insensitivation. Emboldened by this unexpected result, we assumed next that the AchR receptors themselves might diffuse across the postsynaptic membrane. Since the AchR changes its configuration on the different stages of the binding cycle, we assumed that they diffuse considerably only in the ground state. With this simple extension the synapse could not only adapt itself to a periodic excitation (strong input signal) but also would exhibit an effect similar to the post-tetanic excitation. The explanation of these effects is related to the availability of free receptors in their rest state together with a stronger concentration of such receptors just below the release site (as it is known, the release of transmitter tends to be also strongly localized on the presynaptic side).
- 2) Another important question is how the retinal structure adapts to strong variations in luminosity. One finds in the vertebrate retina more than 20 different neurotransmitters. Some of these, in particular dopamine, is released into the extracellular space in the IPL (amacrine cells) and diffuse back across the retina, making an impact on the electric junctions between horizontal cells and even further, beyond the pigment layer. It is believed that dopamine-signals generate changes of the eye form in early days of chick development. Using similar numerical simulation techniques as described above, we considered the role and extent of dopamine diffusion on the extracellular space of the retina (with Bernd Wichern, 1995). Our results could well reproduce the measured



dopamine concentration profile across the retina and have shown that the typical dopamine signal propagation times were between 10 and 60 seconds across the retina. We also predicted a few new effects, which have been not yet measured. In 1997 Stefan Migowsky generalized this numerical simulation tools to allow for complex geometries and up to 16 different chemically active components.

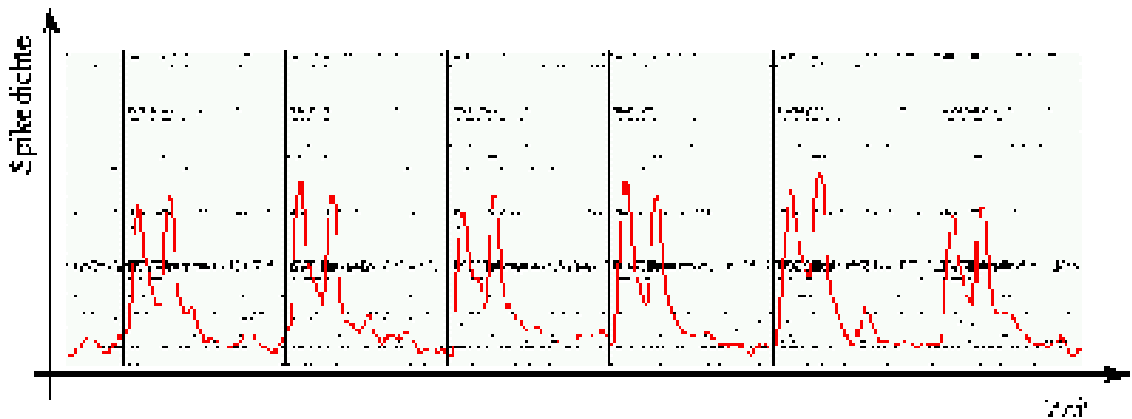
- 3) Interesting enough, before Cajal the biologists discussed at length whether the horizontal cell layer in retina is a single ‘syncytium’ or is formed by individual cells. An analytic model of such a syncytyum was one of the first application of cable theory in neurobiology. However, the classical assumption was that the typical resistance of the horizontal cell layer is the same in light or dark, an assumption which is certainly questionable due to the adaptation process of gap junctions and the feedback effects discussed above. With Jan Benda we generalized the analytic mathematical description of the horizontal syncytium layer in the spread of retinal activation in 1997, including its dynamics. We also found several questionable assumptions used (routinely) when interpreting the experimental data. One important observation is that while theoretical results have been mostly computed for a stationary state, the experiments were using strongly transient parts of the data. A rather careful preprocessing and fir of the data was performed, showing that our extension was necessary (but not sufficient) in order to explain the experimental facts.
- 4) At a more abstract level, we considered several information theoretical aspects related to image reconstruction in low level vision (with Thorsten Wanschura, 1997). One of our results concerns the possibility to reconstruct an image field through a Bayesian integration of independent channels. If the retina is a parallel processor, then it makes sense to split the transmited image in rather independent parts, each being procesed (coded) at the same time and each subject to some transmission and synaptic noise. For simplicity assume that an image is (redundantly!) split in a set of independent rows and columns. Through their (linear) interactions, each element of the rows (columns) has information about its neighbours. If a two dimensional reconstruction is needed, a simple integrating neuron takes input from the two intersecting (row and column) pathways: the result is not optimal but of rather good quality. Such a principle seems prevalent in the V1 organization: locally we could ‘tap’ on several independent ‘information’ channels regarding not only the light intensity but also on its color, its motion, etc. At a minimal quality cost, such an ‘ad hoc reconstruction’ from independent channels might be the

underlying principle of how massively parallel sensory organs feed information on the higher cortical regions.

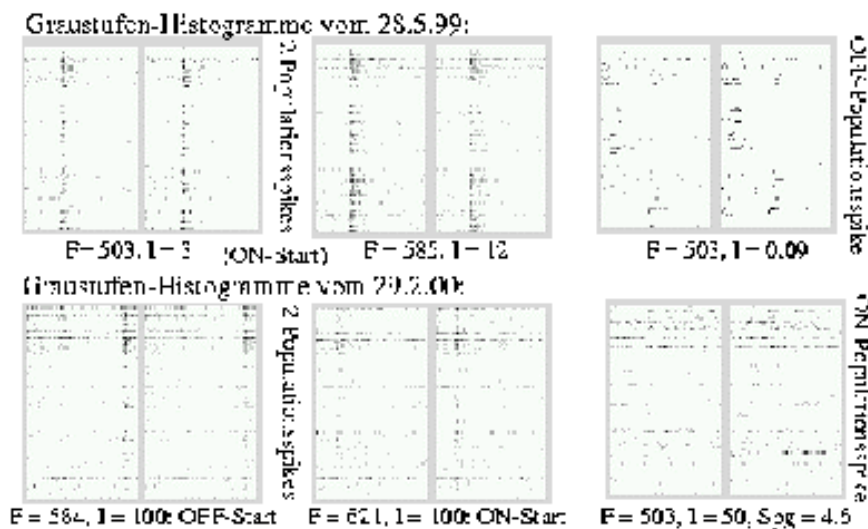
- 5) Motivated by the spectacular work of Grinvald (Malonek D. and A. Grinvald. Interactions between electrical activity and cortical microcirculation revealed by imaging spectroscopy; implications for functional brain imaging. *Science*, 272, 551-554, 1996) and the imaging group at the Weizmann Institute, we asked how does random sensory noise influence a population of strongly interacting neurons on V1 (the experiments were performed on the cat's V1). During a talk by Grinvald at a Conference in Bad Honnef, he showed a movie of the on-going activity of millions of V1 neurons. Interesting enough, the actual visual input was almost lost on a background of slow, oscillatory background. Since each retinal receptor is strongly coupled with a population of 1000-10000 neurons in V1, seeing the same input, we were intrigued to know how random noise at the receptor level would be "seen" in the V1 cell population. This problem initiated the work in a strongly simplified physical model, the randomly driven Ising model, where a system of binary variables (modelling the V1 cells) is ferromagnetically coupled and subject to a global but randomly changing field (the receptor's input). This simplified model was solved analytically in 1 and infinite dimensions (mean field) and with Monte Carlo simulations in 2-dimensions. It has lot of intriguing properties, which were described in a series of publications with J. Hausmann. Among them is the ability of such a cell population to store a whole set of well separated distinct states and a cluster dynamics somewhat similar to Grinvald's movie. The predictions of this model could be also measured with our array technique if a spot is flashed at random intervals on the retina. Unfortunately, we did not have enough time to perform a statistically relevant number of careful experiments. Preliminary results did follow our predictions.
- 6) A very interesting work has been finally done by Nicole Voges, whose Diplomarbeit (2000) is attached and summarizes well together what has been done so far on the experimental and theoretical side of our SFB project. Through a careful analysis of the data, we could show that a good classifier can undoubtedly learn accurately to distinguish between basic properties of the stimulus, like intensity, spot form, and color. Of course, such 'global' signals are very redundant and do not really test the spatial capacity of the retina. However, the results indirectly support our assumption, that important light signals are coded through the details of 'population spikes'. A population spike is the result of the synchron activity of a whole population of neurons (in our case electrode-channels).

We use to think of this process as to the “media-model”, how the media reacts to a political scandal. First, all newspapers write extensively about this topic (our population spike). Second, if you are interested in the political protagonists, you will find a lot of well researched information about them in the corresponding articles. This means that the small firing time difference within the population spike contain the details about the triggering stimulus. Third, in one week or so, the media gets tired to write about the same topic, even is the scandal is not becoming less scandalous. In neurobiological terms, even if the stimulus persists, the information flux about it will diminish (desensitivation, adaptation, etc.).

This model defines a certain way of interpreting the data: first, compute a time dependent signal summing up the activity on all channels, like in the picture below (for on-off stimulus)

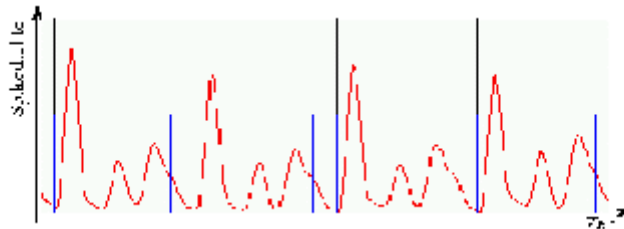


Second, look for maxima in this signal (in the same way as we look for single spikes in each channel). Third, once a maximum is identified, take a detailed ‘snapshot’ of all channel activities around the maximum, as shown below.

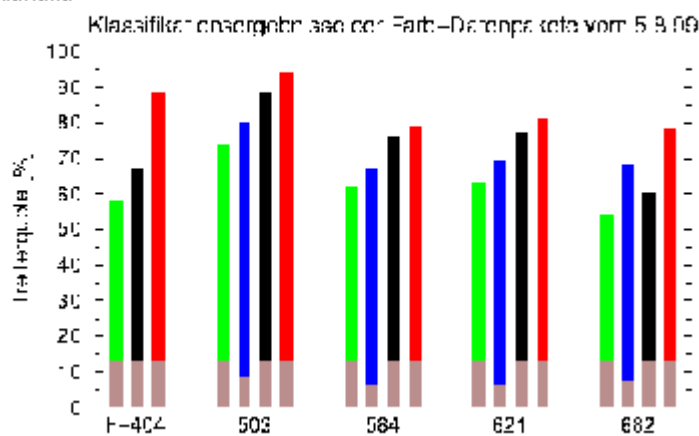
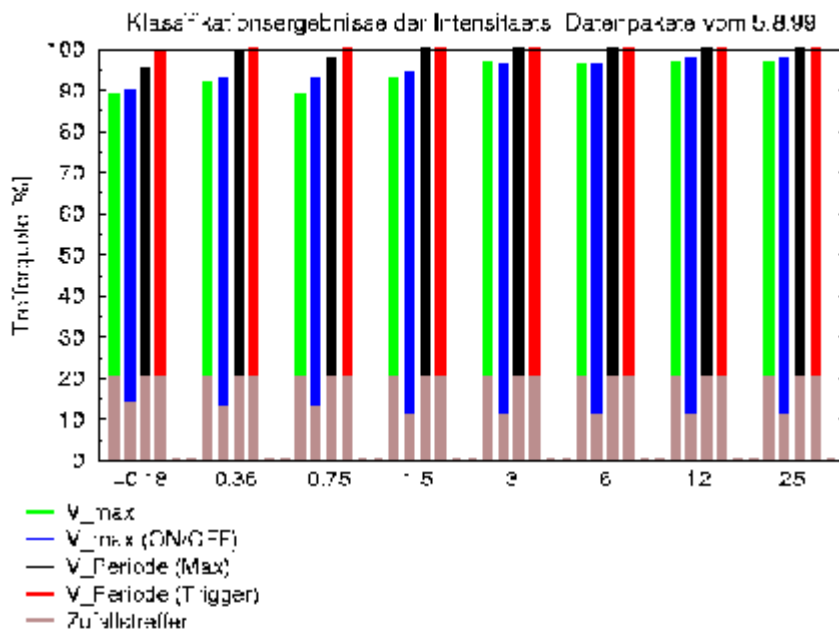


Fourth, consider these snapshots as the relevant input to any further classifier, etc. Note

that such snapshots correspond to objects in quite high dimensions but with very few nonzero elements (sparse vectors). Since the brain does not have the trigger information the experimenter has, our approach has been to identify the maxima of the population spikes from the data, like in the following picture



Some of our classification results are shown below for intensity classification under different methods for computing the maxima (the lower part of the histograms marks what level a random classification would achieve)



- 7) Last but not least, we implemented a simple but very interesting global retinal ‘simulator’ with Marc-Peter Schambach in 1998. This was the starting point of my SFB

project starting in 1999 and which, due to time constraints, was not further analyzed. The main idea behind this retinal simulator was to design the simplest possible tool for analyzing our expectations when planning further experiments. Hence, this model had one layer of receptors, one layer of horizontal cells (instead of three), vertical channels consisting of on- and off- luminosity bipolar cells (but no color channels), connected directly to on- and off-ganglion cells (but not amacrine cell layer). The retina consisted of about 600-900 cells receptors organized on a hexagonal lattice. Even in this simple model, it became evident that the horizontal cell layer plays a very important spatial and dynamical role: once an image was ‘projected’ on the receptor layer, a ‘diffusion spot’ would form, following the activity on the receptors – but also anticipating it (at low activity level). In this way, by adjusting the firing thresholds of the ganglion cells, a moving bar, for instance, could trigger a spike before the bar reaches that part of the retina. The decoding (better: the interpretation) of the retinal output is performed in V1: in our model we tried to interpret it in ‘human format’, meaning that we tried to transform the spike trains back into the original image format. Again, this is just for the science’s sake, not what the brain does! This reconstruction happened by using local populations of nearest neighbor channels (3 on, 3 off channels) and inverse stimulus triggering. This means that in the beginning of a new signal (population spike detected), the retina took samples of different configurations in small regions (3x3 receptor group inputs) and associated it to a space-time binned spike-train output. After enough samples have been collected (this happened rather fast, since we could integrate also over the whole retina), the reconstruction inverted the association (given a local spike-train bin-vector addressed and displayed the average receptor input associated with it). The reconstruction was – taking our very simplistic model into account) surprisingly good. Again: this is not how the brain uses the spike-train information but shows that the time dependent signal of a spatial neighbourhood of cells contains almost all relevant information about the original image projected on its receptive field. The analysis of these dynamic receptive fields is also quite interesting and shows that perhaps such interactions might contribute to the creation of the structural receptive fields during development. During these numerical experiments we saw that – as perhaps expected - a much better contrast is obtained if our input is slightly and randomly moved laterally, simulating microsaccades. That, of course, posed the question why not try this in real experiments? This new idea was then tested with success by J. Ammermüller and collaborators.

We would like now to go back to our original questions and comment on their status:

- 8) We are not able to measure directly all axonal activities in the optical nerve. We can simultaneously measure in extracellular mode from about 20-60 spiking ganglion cells close to the electrodes. (The electrodes are simply pushed into the ganglion cell layer with the help of a micromanipulator.) Since the retina is folded and the electrodes are stiff and organized in a planar way, there is no chance to use effectively all channels. In the future one should think about alternative methods, perhaps controlling each microelectrode separately. As a result of this situation, one is forced to solve a lot of difficult problems through complex algorithms like: separating different spike sources seen in the same electrode output, sampling at the correct rate but storing only real spikes, trying to correlate the activity between different electrodes. Since currently the distance between electrodes is several times larger than the mean distance between cells, we cannot hope to see directly inter-cellular correlations. However, we were able to show, at least for simple global signals, that a good classifier can reconstruct solely from the so-called population spike trains the type of visual stimulus (which involved spot size, spot intensity, and color). Our numerical and real experiments show that the retina (at least in turtle) does use population codes and that it seems advantageous to keep information channels well separated (like for color coding or on- off-channels for motion and time dimension).
- 9) In order to test the redundancy of the retina one needs to use 'real' life inputs, which fill the full retinal capacity. Our signals were all global and very redundant. Using spatially more varied stimuli means, of course, that one needs a much higher spatial sampling of the ganglion cells, which is at the moment a technological problem. We have no compelling results concerning the existence of population spikes for a spatially varied input. Furthermore, it is not clear if a kind of 'symbolic' alphabet of typical spike-train vectors (as used in our decoding formalism) exist. We planned but did not succeed in getting similar experimental results for the cochlea, so no statement can be made about the 'universality' of such a symbolic code.
- 10) There is ample evidence that the structural form of retina does imbed many of the statistical relevant properties of natural images. Perhaps the most important part here is the role played by the horizontal layers, both in the spreading, the dynamics of signals, and acting as a kind of short-term memory on the 100ms-1s scale. On the other hand, chemical processes coupled with diffusion are responsible for the adaptation processes on

a somewhat longer scale (minutes). The existence of well separated channels (on-, off-, etc.) shows that probably the higher level neurons integrate ad-hoc different aspects of the original image.

- 11) If the population-spike model is correct (at least in some animals), then the local increase in neuronal activity on the receiver side might effectively lower the activation thresholds there, thus increasing sensitivity. Hence, a receiving population of neurons would exactly take a snapshot of the ongoing activity as we do in our data analysis. The same population would remain rather inactive if the overall level of input over the population is low. New results at Prof. R. Weiler's lab show that such a triggering through extracellular potential is possible and probably used.
- 12) From a theoretical point of view it seems to me that the basic unifying mathematical description of all processes above can be done through diffusion-reaction equations. Such non-linear partial differential equations are quite hard to solve analytically, with some exceptions (well identified special problems). With the incredible increase in computer power, however, I believe that a 'molecule' based Monte Carlo simulation approach would be soon feasible even in describing whole cells. Simplified models of tissues (like the whole retina) will follow. Even without the full understanding of the underlying processes, there will be technological realizations of such objects. Eventually, at some point in history, more abstract general theories will emerge. This, however, will not happen in our lifetime.

#### **4. Diskussion**

We had many positive reactions to our work. A copy of our experimental setup works at the University of Alicante (where M. Bongard works now). A team at CalTech also requested it, however, due to financial and human capacity problems we could not satisfy that request. Similar work has been done (previous to us) by Marcus Meister at Harvard University, who collaborated with the group of W. Bialek (Berkeley, now at NEC Research Princeton) on the interpretation of those results. As far as I am informed, M. Meister is now tenured at Harvard and leads a Center for Multielectrode Measurements (10 mill \$). The accuracy of results obtained by M. Meister have not been reproduced by any other experimental group yet (including us). Although we had a lot of interesting ideas and results, we failed to publish enough papers on our work and to aggressively market them. This is partly due to the difference in standards and content required in physics and biology, perhaps also to our reluctance to present rather speculative ideas.

However, some of the experimental results and ideas published recently might on the long run show their effect. It was extremely motivating and great fun to work a bit in neurobiology. If I could start again, however, I would build first my own laboratory. This is not a critique on my colleagues: it simply states the fact that mainstream neurobiology is not yet ready for a theoretical approach.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

During some friendly discussion with a well known biologist, who did a remarkable technical job at recording from many motoric neurons in mouse and in reconstructing from it its environment (!), he complained that biologists do not seem to have the talent of physicists for getting large financial support for special projects. I replied that in my view, if all retina research labs in the world would agree and define together a big ‘understanding the retina’ project, then this will be founded and the problem solved (more or less) in five years. “And what will they do after that?” he asked.

## **6. Literaturverzeichnis**

- Greschner M, Bongard M, Rujan P & Ammermüller J (2001) Retinal ganglion cell synchronization by fixational eye movements is sufficient to provide a reference signal for stimulus feature estimation. *Nature Neurosci* (under review).
- Benda J, Bock R, Rujan P & Ammermüller J (2001) Asymmetrical dynamics of voltage spread in turtle retinal horizontal cell networks. *Visual Neurosci* (accepted)
- Ammermüller J, Greschner M, Voges N, Bongard M (2000) Stimulus feature extraction from the ensemble activity of retinal ganglion cells: Experiments using periodic stimuli with and without external information, and stimuli simulating microscopic eye movements. in Baratoff G, Neumann H (eds) *Dynamische Perception. Proceedings in artificial intelligence*, vol.= 9 (Freska C ed). Akad Verlagsges, Berlin, pp 159-162.
- P. Rujan, M. Marchand (2000) Computing the Bayes kernel classifier, In *Advances in Large Margin Classifiers*, p. 329-348, MIT Press
- J. Hausmann and P. Rujan (1999) The randomly driven Ising model I: General formalism and mean field theory, *J. Phys. A* 32 pp 61-74
- J. Hausmann and P. Rujan (1999) The randomly driven Ising model II: One and two-dimensions, *J. Phys. A* 32 pp. 75-92
- P. Rujan (1998) The Minesweeper’s Bayesian survival guide *Philosophical Magazine* 77 pp.1539-1548



J. Hausmann and P. Rujan (1997) Stationary properties of randomly driven Ising ferromagnet, *Phys. Rev. Lett.* 3339-33342

P. Rujan (1997) Playing billiard in version space, *Neural Computation* 9 99-122

Abstracts:

R. Usbeck and P. Rujan (1995) Numerical simulations of the ACh-Driven synapse at the neuromuscular junction, In *Supercomputing in Brain Research*, Herrmann, Wolf and Pöppel (Eds), World Scientific, 1995

B. Wichern and P. Rujan (1995) Analysis of dopamine and H<sup>+</sup> diffusion in the extracellular space of retina In *Supercomputing in Brain Research*, Herrmann, Wolf and Pöppel (Eds), World Scientific, 1995

Ammermüller J, Benda J, Bock R, Rujan P (1998) The length constants of retinal horizontal cell layers revisited. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39/4: S209.

Bongard M, Ammermüller J, Urbschat H, Rujan P (1998) Massive parallel multielectrode recordings from retinal ganglion cells: experimental design and analysis. *Europ J Neurosci (Suppl)* 10/10:356.

M-P. Schambach and P. Rujan (1998) A simple retinal simulator: structure and results. *Eur. J. Neurosci.* Vol. 10 suppl 10, 404

Bongard M, Urbschat H, Rujan P, Ammermüller J (1999) Stimulus driven spike synchronization in retinal ganglion cell populations may serve as a triggering signal for the decoding of visual stimulus features. in: Elsner N, Eysel U (eds). *Proceedings of the 27. Göttingen Neurobiology Conference*. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York. p 452.

Ammermüller J, Bongard M, Rujan P, Voges N (2000) Decoding of visual stimulus features from the intrinsic activity of retinal ganglion cell populations. *Perception* 29 (suppl): 11.

Recent Diplomarbeiten

Nicole Voges (2000)  
Klassifikation von spike trains retinaler Ganglienzellen (included)

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

As long as employed at the University Oldenburg I took regularly place at the weekly SFB meetings. Our AG had also weekly (internal) meetings, where we also invited other members of SFB. I also contributed and I am an external member of the european Graduate College Groningen-Oldenburg.

In 1999 I participated on the Neural Information Processing Systems (NIPS) Conference, at the special workshop on kernel classifiers. That talk was published in *Advances in Large Margin Classifiers*, p. 329-348, MIT Press 2000.

**8. Förderung des Teilprojektes im Rahmen des Sonderforschungsbereich**

(aufgeteilt nach Haushaltsjahren in TDM)

<b>bis 1998</b>	<b>1999</b>	<b>Gesamt</b>
332,0	104,2	406,2

### **Teilprojekt B 3**

## **Neuronale Modelle von Aufmerksamkeitsprozessen bei Amphibien**

### **Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Helmut Schwegler

Institut für Theoretische Physik  
und Institut für Theoretische Neurophysik  
Universität Bremen, FB 1  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

Dr. Christian Eurich

Institut für Theoretische Physik  
und Institut für Theoretische Neurophysik  
Universität Bremen, FB 1  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

## 1. Einleitung

Im Teilprojekt B3 sollten neuronale Mechanismen visueller Aufmerksamkeit anhand theoretischer Modelle untersucht werden. Insbesondere sollten die Ergebnisse im Rahmen des Simulander-Projektes zu einem weiteren Verständnis des visuellen Systems von Schleuderzungensalamandern beitragen.

Das Überleben in einer komplexen Umwelt erfordert eine ständige Selektion relevanter Reize und eine effektive Unterdrückung irrelevanter Reize. In neuronalen Systemen ist diese Selektion aus zwei Gründen notwendig: Einerseits, da nicht alle äußeren Reize gleichzeitig Verhalten auslösen können und dürfen, und andererseits um die vorhandenen Verarbeitungsressourcen sinnvoll einzusetzen. In sensorischen Systemen wird der Auswahlprozeß als selektive Aufmerksamkeit bezeichnet. Er kann bei höheren Tieren und Menschen vollkommen unbewußt (*bottom-up*, z. B. bei plötzlich auftauchenden Objekten) oder hochkognitiv (*top-down*, z. B. bei komplexen Suchaufgaben) gesteuert sein. Bei der Untersuchung der neuronalen Korrelate dieser Selektions- und Ressourcenallokationsmechanismen bietet sich die visuelle selektive Aufmerksamkeit als Forschungsgegenstand besonders an, da das visuelle System bei vielen Organismen gut untersucht ist und visuelle Aufgaben (z. B. Such- oder Diskriminationsaufgaben) einen direkten Zugang zu Aufmerksamkeitseffekten ermöglichen.

Eine Untersuchung des visuellen Systems von Amphibien, insbesondere von Schleuderzungensalamandern, erwies sich in diesem Zusammenhang als vielversprechend, da diese Tiere einerseits stark visuell orientiert sind und beim Beutefang eine erstaunliche Präzision erreichen, andererseits aber relativ wenige Neurone besitzen (Roth, 1987). Bereits abgeschlossene Untersuchungen in der Arbeitsgruppe von Prof. Roth hatten die retinale und tectale Anatomie, Neurophysiologie und Neuropharmakologie zum Gegenstand, so daß als Grundlage für die Modellierung bereits wesentliche Erkenntnisse über die Antwortigenschaften retinaler und tectaler Neurone auf visuelle Stimuli vorlagen (Mandon 1997, Dicke et al. 1997, Roth et al. 1999, Dicke 1999). Diese Vorarbeiten werden ergänzt durch Verhaltensversuche zu den Beutepreferenzen dieser Tiere (Roth 1987, siehe auch Teilprojekt A4). Bei letzteren zeigte sich wiederholt, daß Schleuderzungensalamander auf ruckweise bewegte Beuteobjekte deutlich besser reagieren als auf gleichmäßig bewegte.

Auf der theoretischen Seite gründen sich die Arbeiten des Teilprojektes auf das Simulander-Projekt, in dessen Rahmen ein weitgehendes Verständnis der Beutelokalisation und der

Zungenprotraktion erzielt werden konnte (Eurich et al. 1995, Eurich & Schwegler 1997, Eurich et al. 1997). In diesem Zusammenhang ist vor allem das Prinzip des *Coarse Coding* zu erwähnen, von dem die Simulander-Modelle Gebrauch machen. Dabei wird ein Stimulus parallel von vielen binären Neuronen mit stark überlappenden rezeptiven Feldern codiert. Eine theoretische Analyse des so erreichbaren Auflösungsvermögens zeigte, daß große rezeptive Felder bezüglich des erreichbaren Auflösungsvermögens und der Fehleranfälligkeit des Systems vorteilhaft sind.

Als weitere Grundlage existieren bereits Konzepte zur Modellierung von dynamisch gesteuerten neuronalen Selektionsprozessen (Koch & Ullman 1985, Olshausen et al. 1993, Niebur et al. 1993, Goebel 1995). Die Grundstruktur dieser Modelle folgt der Zwei-Stufen-Konzeption von Neisser (1967): In einer ersten, präattentiven Stufe werden elementare Merkmale parallel im gesamten visuellen Feld verarbeitet, bevor nach einem Auswahlprozeß komplexere Funktionen in einer seriellen Stufe jeweils nur an einer Stelle des Gesichtsfeldes wirken. Die Modelle gehen davon aus, daß in der ersten, parallelen Verarbeitungsstufe lokal ein Kontrast für jedes einzelne elementare Merkmal berechnet wird. Mit Hilfe dieser Merkmalskontraste, die in einer Salienzkarte für jede Position des visuellen Feldes aufsummiert werden, wird dann für jede Position eine Auffälligkeit ermittelt. Ein auf dieser Karte operierender *Winner-Take-All-Mechanismus* bestimmt dann die in diesem Sinne auffälligste und somit potentiell relevanteste Position und wählt sie für die folgende serielle Verarbeitung aus.

Bei der Anwendung dieser Modellarchitektur auf die Aufmerksamkeitssteuerung durch bewegte Reize zeigt sich allerdings sofort eine wesentliche Schwäche der herkömmlichen Modelle. Sie arbeiten in ihrer bisherigen Form nämlich ausschließlich mit räumlichen Merkmalskarten. Die Ergebnisse aus den Verhaltensexperimenten bei Salamandern deuten dagegen an, daß die zeitliche Struktur des visuellen Inputs, also insbesondere das Bewegungsmuster eines Stimulus, eine wichtige Rolle bei der Aufmerksamkeitssteuerung spielt.

Eine weitere Stoßrichtung des Teilprojektes ergibt sich aus dem manchmal übersehenen Aspekt, daß Aufmerksamkeit nicht nur eine Selektion leistet, sondern auch die sensorische Auflösung verbessert. Daher darf vermutet werden, daß sie auch den neuronalen Code, also die Repräsentation modifiziert. Dadurch ergibt sich ein direkter Zusammenhang zu Codierungsstrategien wie dem *Coarse Coding*: Neuronale Modelle, für die ein sensorisches

Auflösungsvermögen berechnet werden kann, ermöglichen eine Quantifizierung solcher Effekte und sind damit bei der Interpretation der neurophysiologischen Auswirkungen von Aufmerksamkeit unverzichtbar. Allerdings erscheint das in den bisherigen Simulander-Modellen verwendete Codierungsschema für derartige Anwendungen zu unflexibel, da mit dem Durchmesser der rezeptiven Felder der Neurone nur ein freier Parameter variiert werden kann.

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

Den Ausführungen in der Einleitung folgend, erfolgte die Arbeit im Teilprojekt B3 in zwei Richtungen.

Zum einen sollte eine differenzierte, über das Modell des *Coarse Coding* hinausgehende Untersuchung den Zusammenhang zwischen sensorischer Auflösung und neuronalen Eigenschaften klären. Dazu wurde die Genauigkeit, mit der ein Stimulus aus der Aktivität einer Population von Modellneuronen rekonstruiert werden kann, in Abhängigkeit von den Parametern der Population (Neuronenzahl, Tuningbreiten, Korrelationen, etc.) untersucht. Dabei kamen Methoden der klassischen Schätztheorie zum Einsatz, insbesondere die Fisher-Information, die unter bestimmten mathematischen Voraussetzungen eine von der Rekonstruktionsmethode unabhängige obere Schranke für die erreichbare Rekonstruktionsgenauigkeit liefert. Für die Neurone der Population wurde angenommen, daß sie mit ihren (einer Gauß- oder Poisson-Statistik folgenden) Spike-Zahlen einen festen Stimulus codieren und daß die mittleren Spike-Zahlen durch differenzierbare Tuningkurven charakterisiert sind. Als Parameter dieser Tuningkurven wurden Breite, Höhe und der Anteil spontaner Aktivität betrachtet. Weiterhin wurden bei der Gaußschen Spike-Zahl-Statistik verschiedene Abhängigkeiten zwischen Varianz und Mittelwert sowie unterschiedliche Korrelationsstrukturen analysiert.

Zum anderen war ein Ziel, Aufmerksamkeitsmodelle des frühen visuellen Systems so zu erweitern, daß adäquate Behandlung von ruckweise bewegten (d.h. salienten) Reizen möglich wird. Dazu war es nötig, die Verarbeitung von Bewegungsmustern im frühen visuellen System detailliert zu modellieren und diesen Verarbeitungspfad in die bestehenden Konzepte zur Modellierung visueller Aufmerksamkeit zu integrieren. Dazu wurden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Ammermüller (Universität Oldenburg) extrazelluläre Ableitungen an isolierten Retinae unter visueller Stimulation mit entsprechenden Reizen

vorgenommen. Diese Daten wurden im Rahmen eines in Zusammenarbeit mit dem Teilprojekt A10 erstellten Modells für die ersten beiden Stufen des visuellen Systems (hier: Retina und Tectum) interpretiert. Der retinale Teil des Modells bestand in einer Reihe von mathematischen Operationen, mit denen aus dem Stimulus-Kontrastmuster die mittleren Feuerraten der retinalen Ganglienzellen berechnet wurden. Eine zweite Modellstufe behandelte die Weiterverarbeitung dieser Aktivität durch die Transmission über retinotectale synaptische Verbindungen und im Tectum selber. Dabei wurden die Synapsen als depressive Synapsen (Tsodyks et al., 1997) modelliert und für die tectalen Neurone ein adaptives *Integrate-and-Fire*-Modell verwendet.

### **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

Bei der Analyse der Codierungsleistung einer Population von stochastisch feuernenden Neuronen mit Hilfe der Fisher-Information stellte sich heraus, daß die Art des neuronalen Rauschens, das hier durch die Beziehung zwischen Varianz und mittlerer Antwort bzw. durch den Fano-Faktor charakterisiert wurde, einen starken Einfluß auf die qualitativen Eigenschaften der Fisher-Information der Population hat. Einerseits entscheidet diese Beziehung darüber, ob und wie stark eine Erhöhung der maximalen Feuerrate die Codierungsleistung verbessert, und andererseits wirkt sie sich auf die Empfindlichkeit des Codes gegenüber Hintergrundaktivität aus. So ist additives Rauschen mit fester Varianz relativ robust, während die Codierung bei Poissonschem Rauschen, dessen Varianz proportional zum Mittelwert ist, vor allem bei der Berücksichtigung mehrerer Reizmerkmale sehr sensitiv auf Hintergrundaktivität reagiert.

Auch die Auswirkungen von Rauschkorrelationen, d. h. Korrelationen der Abweichungen von den mittleren Spike-Zahlen, hängen von der Form des neuronalen Rauschens ab. Für additives Rauschen begrenzen abstandsabhängige Korrelationen die Codierungsgenauigkeit als Funktion der Populationsgröße, so daß auch größere Populationen keine beliebig gute Repräsentation zulassen (vgl. Yoon & Somolinsky, 1998). Dieses Ergebnis ist allerdings nicht gültig, wenn die Varianz vom Mittelwert abhängt, was bei empirischen Daten generell der Fall ist.

Weiterhin wurde der Einfluß einer Variabilität der Rauschkorrelationen zwischen den Neuronen untersucht; eine solche Variabilität wird in der Regel empirisch gefunden (z. B. Zohary et al. 1994). Dabei zeigte sich, daß einheitliche Korrelationen eine vergleichsweise

schlechte Codierungsleistung liefern, da zufällig gewählte Korrelationskoeffizienten mit gleichem Mittelwert einen höheren Erwartungswert für die Fisher-Information ergeben.

Schließlich wurde untersucht, welchen Einfluß die Wahl der Tuningbreiten auf die Codierungsgenauigkeit hat. Der Fall radialsymmetrischer rezeptiver Felder, der in der Literatur bisher zumeist betrachtet wurde, stellte sich dabei als besonders nachteilig heraus: Sowohl zufällige Variationen der Tuningbreiten von Neuron zu Neuron als auch eine systematische Aufteilung der Population in Teilpopulationen mit jeweils unterschiedlichen Tuningeigenschaften verbessern die erreichbare Codierungsleistung. Letzteres könnte einen Grund dafür darstellen, daß in neuronalen Systemen oft auf bestimmte sensorische Merkmale spezialisierte Teilpopulationen gefunden werden (z. B. Livingstone & Hubel 1988).

Die Ergebnisse der Multizellableitungen an isolierten Retinae sowie die entsprechenden Modelle sind ausführlich im Bericht des Teilprojektes A10 beschrieben und werden an dieser Stelle daher nur kurz zusammengefaßt. Bei der Analyse der Antworten auf den plötzlichen Beginn einer Bewegung zeigte sich ein extrem steiler Anstieg der Populationsrate, der im Rahmen eines Modells mit lediglich statischer Nichtlinearität nicht erklärbar war und so auf die dynamische Contrast-Gain-Control-Rückkopplung zurückgeführt werden konnte.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß diese Nichtlinearität eine genaue Repräsentation von Bewegungsmustern in der Populationsrate ermöglicht. In der gemessenen retinalen Aktivität fanden sich (im Einklang mit unserem Modell) keine besonders hohen Feuerraten, die den Beginn der Stimulusbewegung signalisierten. Das Fehlen solcher Signale ist bemerkenswert, da im Tectum entsprechende Antworten gefunden wurden (Wiggers, 1991). Zur Generierung derartiger Onset-Signale wurde daher in der zweiten Modellstufe ein adaptiver Mechanismus postuliert, der die beim plötzlichen Beginn der Stimulusbewegung auftretenden steilen Flanken in der retinalen Populationsantwort in eine entsprechend überhöhte Aktivität auf der nächsten Verarbeitungsstufe übersetzt.

Die vorliegenden Ergebnisse deuten damit an, wie die zeitliche Struktur des visuellen Inputs mit dem üblicherweise postulierten Zwei-Stufen-Konzept verbunden werden könnte. Der selektierende *Winner-Take-All*-Mechanismus verarbeitet Feuerraten, die Auffälligkeit bezüglich bestimmter elementarer Merkmale kodiert: je höher die Feuerrate auf der Salienzkarte, desto höher der Merkmalskontrast an der entsprechenden Stelle im visuellen Feld. Ein Merkmalskontrast für plötzliche Bewegungen sollte also in einer hohen Feuerrate bestehen, wenn eine plötzliche Bewegung aufgetreten ist. Eine solche Charakteristik läßt sich



aber mit den oben beschriebenen adaptiven Mechanismen direkt aus der Aktivität der retinalen Ganglienzellen gewinnen.

Mit der beschriebenen retinalen Vorverarbeitung lassen sich also die herkömmlichen Modelle zur visuellen Aufmerksamkeitssteuerung ohne größere Änderungen so modifizieren, daß plötzliche Bewegung als elementares Merkmal einen *Pop-Out Effect* auslöst, also zu einer von der Zahl der Distraktoren unabhängigen Reaktionszeit führt. Die Modifikation der Modelle besteht lediglich im Hinzufügen der differenzierten retinalen Aktivität im Rahmen einer weiteren Merkmalskarte, die dann für das neue Merkmal Bewegung zuständig ist. Dabei paßt die schnelle Antwort des Modells auf plötzliche Bewegungen gut zu den experimentell beobachteten Reaktionszeiten von unter 200 ms auf derartige Reize (Dzhafarov et al., 1993).

#### **4. Diskussion**

Die Ergebnisse der schätztheoretischen Analyse neuronaler Codierungsstrategien wurden auf zahlreichen nationalen und internationalen Konferenzen präsentiert (Eurich & Wilke 1999, Wilke & Eurich 1999a, 1999b, Eurich et al. 2000, Thiel et al. 2000, Freiwald et al. 2001, Thiel et al. 2001, Wilke 2001, Wilke & Eurich 2001a, 2001b, 2001c) und sind in zwei Zeitschriftenartikeln publiziert (Eurich & Wilke, 2000; Wilke & Eurich 2001d). Sie setzen die im Rahmen des Simulander-Projektes begonnenen Untersuchungen zum sensorischen Auflösungsvermögen neuronaler Populationen fort; die Verwendung schätztheoretischer Maße ermöglicht aber die Betrachtung wesentlich komplexerer und realistischerer Modellpopulationen. Ähnliche Ansätze verfolgen die Arbeiten von Zhang & Sejnowski (1999), Abbott & Dayan (1999) und Yoon & Sompolinsky (1998). Deren Resultate konnten vereinheitlicht und wesentlich erweitert werden. Hervorzuheben ist hier insbesondere die erstmalige Untersuchung der Rolle verschiedener Varianz-Mittelwert-Relationen, die Betrachtung zufälliger Rauschkorrelationen und die differenzierte Untersuchung von Strategien zur Wahl der Tuningbreiten. Weiterhin lieferten unsere Arbeiten mit der Aussage, daß kurzreichweitige Korrelationen nur bei additivem Rauschen die Kodierungsgenauigkeit beschränken, einen wichtigen Beitrag zu der aktuellen Debatte um die Vor- und Nachteile korrelierter Aktivität bei der Stimulusrepräsentation (Zohary et al. 1994, Yoon & Sompolinsky 1999, Shadlen & Newsome 1998).

Die Untersuchungen zur Bewegungscodierung im frühen visuellen System wurden ebenfalls auf nationalen und internationalen Konferenzen vorgestellt (Thiel et al. 2000, Wilke et al.

2000, Thiel et al. 2001, Wilke et al. 2001a); eine größere Veröffentlichung ist eingereicht (Wilke et al. 2001b). Hier ist allerdings ein Vergleich mit externen Arbeiten nur schwer möglich, da ruckweise bewegte Stimuli trotz ihrer großen Bedeutung für die Aufmerksamkeitssteuerung bisher kaum untersucht wurden. Unsere Modellierung der retinalen Antworten für gleichmäßig bewegte Stimuli basiert auf Arbeiten von Rodieck (1965) und Berry et al. (1999), so daß dieser Fall als Referenz bei der Untersuchung komplexerer Bewegungsmuster verwendet werden konnte.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

Zusammenfassend ergeben sich vier Hauptfolgerungen aus unseren Ergebnissen. Erstens kann die neuronale Variabilität die Codierungsleistung einer neuronalen Population qualitativ beeinflussen. Empirische Untersuchungen ergeben, daß die Varianz der Spike-Zahl meist über ein Potenzgesetz mit dem entsprechenden Mittelwert zusammenhängt. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß die von der Population erreichbare Repräsentationsgenauigkeit wesentlich vom Exponenten in diesem Potenzgesetz abhängt. Daraus folgt, daß einerseits die Wahl eines realistischen Modells für die neuronale Antwortvariabilität bei theoretischen Analysen entscheidend sein kann und andererseits neuronale Systeme durch Modifikation ihrer Antwortvariabilität zumindest theoretisch die Möglichkeit haben, ihre Codierungseigenschaften zu beeinflussen. Zweitens führen die Untersuchungen zur Parameter-Variabilität zu der Hypothese, daß die in biologischen Systemen häufig gefundene große Spannweite neuronaler Eigenschaften nicht einfach ein Nebenprodukt der Evolution ist, sondern zur Verbesserung der Codierungsleistung genutzt werden kann. Drittens wurde gezeigt, daß eine neuronale Population aus einer Vielzahl von Strategien zur Optimierung von Tuningbreiten wählen kann. Die Frage nach den optimalen Tuningseigenschaften läßt sich also nicht auf die einfache Frage "breit oder schmal" reduzieren, wie es bislang in der Literatur diskutiert worden war. Schließlich deutet unsere Modellierung des frühen visuellen Systems an, daß die Codierung von Bewegungsinformation auf der Retina wesentlich durch die Contrast-Gain-Control-Nichtlinearität beeinflußt wird. Auf der nächsten Verarbeitungsstufe lassen sich dann durch adaptive Mechanismen Bewegungs-Onset-Signale erzeugen, die direkt zur Aufmerksamkeitssteuerung verwendet werden können.

An die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen schließen sich mehrere interessante neue Fragen an. Zum einen wäre zu prüfen, ob schätztheoretische Methoden auch bei der

Analyse der Codierung zeitveränderlicher Stimuli mit Erfolg anwendbar sind. Erste Ergebnisse in dieser Richtung sind erfolgversprechend (Wilke 2001). Weiterhin ist mit den mittlerweile vorliegenden genauen Daten über das Präferenzverhalten der Schleuderzungenalamandern (Teilprojekt A4) eine quantitative Modellierung der Verarbeitung von Bewegungsmustern im Rahmen eines globalen Modells, das Retina, Tectum und eine Form selektiver Aufmerksamkeit umfaßt, in greifbare Nähe gerückt.

Die in diesem Teilprojekt erarbeiteten Auswirkungen neuronaler Antworteigenschaften auf die Codierung sensorischer Reize schließlich bilden die Grundlage für eine eingehende theoretische Untersuchung neurophysiologischer Korrelate von Aufmerksamkeit und deren Konsequenzen für das sensorische Auflösungsvermögen und die Diskriminierbarkeit simultan präsentierter Reize. Dies soll im neu beantragten Teilprojekt B7 geschehen.

## **6. Literaturverzeichnis**

### Veröffentlichungen des Teilprojektes B3:

C. W. Eurich & S. D. Wilke (1999). Neuronal strategy for encoding multi-dimensional stimuli. In Aspects of Neural Coding (workshop proceedings).

C. W. Eurich & S. D. Wilke (2000). Multi-dimensional encoding strategy of spiking neurons. *Neural Computation*, 12(7):1519-1529.

C. W. Eurich, S. D. Wilke & H. Schwegler (2000). Neural representation of multi-dimensional stimuli. In S. A. Solla, T. K. Leen & K.-R. Müller (Hrsg.), *Advances in Neural Information Processing Systems 12*, Seiten 115-121, Cambridge, MA. MIT Press.

W. Freiwald, H. Stemmann, A. Wannig, A. K. Kreiter, U. G. Hofmann, M. D. Hills, G. T. A. Kovacs, D. T. Kewley, J. M. Bower, C. W. Eurich & S. D. Wilke (2001). Stimulus representation in rat primary visual cortex: Multi-electrode recordings and estimation theory. *CNS\*2001*, eingereicht.

A. Thiel, S. D. Wilke, C. W. Eurich, M. Greschner, M. Bongard, J. Ammermüller & H. Schwegler (2000). Temporally faithful representation of salient stimulus movement patterns in the early visual system. In *Proceedings of the 5th International School on Neural Nets: Visual Attention Mechanisms, 2000*. Im Druck.

A. Thiel, S. D. Wilke, M. Greschner, M. Bongard, J. Ammermüller & C. W. Eurich (2001). The time course of retinal population activity faithfully represents rapid changes in stimulus velocity. Submitted to 28th Göttingen Neurobiology Conference 2001.

S. D. Wilke (2001). Neural coding of dynamic stimuli. *ICANN 2001*, im Druck.

S. D. Wilke & C. W. Eurich (1999a). Optimal coding of multiple stimulus features. In *Conference on Cognitive Neuroscience (workshop proceedings)*.

S. D. Wilke & C. W. Eurich (1999b). What does a neuron talk about? In M. Verleysen (Hrsg.), Proceedings of the European Symposium on Artificial Neural Networks 1999, Seiten 435-440. D Facto, Bruxelles.

S. D. Wilke & C. W. Eurich (2000). Correlated neuronal activity and its implications for coding accuracy. In Aspects of Neuronal Dynamics (workshop proceedings).

S. D. Wilke & C. W. Eurich (2001a). Diversity in neural populations improves encoding accuracy. Submitted to 28th Göttingen Neurobiology Conference 2001.

S. D. Wilke & C. W. Eurich (2001b). Neural spike statistics modify the impact of background noise. *Neurocomputing*, 38-40:445-450.

S. D. Wilke & C. W. Eurich (2001c). On the functional role of noise correlations in the nervous system. *CNS\*2001*, im Druck.

S. D. Wilke & C. W. Eurich (2001d). Representational accuracy of stochastic neural populations. *Neural Computation*, im Druck.

S. D. Wilke, A. Thiel & C. W. Eurich (2000). Processing of movement information in the early stages of the visual system. In Proceedings of the International Joint Conference on Neural Networks 2000, Los Alamitos, CA. IEEE Computer Society.

S. D. Wilke, A. Thiel, C. W. Eurich, M. Greschner, M. Bongard, J. Ammermüller & H. Schwegler (2001a). Extracting motion information using a biologically realistic model retina. *ESANN 2001*, im Druck.

S. D. Wilke, A. Thiel, C. W. Eurich, M. Greschner, M. Bongard, J. Ammermüller & H. Schwegler (2001b). Population coding of motion patterns in the early visual system. In Vorbereitung.

#### Andere Veröffentlichungen:

L. F. Abbott & P. Dayan (1999). The Effect of Correlated Variability on the Accuracy of a Population Code. *Neural Computation* 11:91-101.

M. J. Berry II, I. H. Brivanlou, T. A. Jordan & M. Meister (1999). Anticipation of moving stimuli by the retina. *Nature* 398:334-338.

U. Dicke (1999). Morphology, Axonal Projection Patterns, and Response Types of Tectal Neurons in Plethodontid Salamanders. I: Tracer study of Projection Neurons and Their Pathways. *Journal of Comparative Neurology* 404:473-488.

U. Dicke, M. Wallenstein & G. Roth (1997). 5-HT-like immunoreactivity in the brains of plethodontid and salamandrid salamanders (*Hydromantes italicus*, *Hydromantes genei*, *Plethodon jordani*, *Desmognathus ochrophaeus*, *Pleurodeles waltl*): an immunohistochemical and biocytin double-labelling study. *Cell Tissue Research* 287:513-523.

E. N. Dzhafarov, R. Sekuler & J. Allik (1993). Detection of changes in speed and direction of motion: Reaction time analysis. *Perception and Psychophysics* 54(6):733-750.

- C. W. Eurich, G. Roth, H. Schwegler & W. Wiggers (1995). Simulander: a neural network model for the orientation movement of salamanders. *Journal of Comparative Physiology A* 176:379-389.
- C. W. Eurich & H. Schwegler (1997). Coarse coding: calculation of the resolution achieved by a population of large receptive field neurons. *Biological Cybernetics* 76:357-363.
- C. W. Eurich, H. Schwegler & R. Woesler (1997). Coarse coding: applications to the visual system of salamanders. *Biological Cybernetics* 77:41-47.
- R. Goebel (1995). Visuelle Aufmerksamkeit, perzeptive Organisation und invariante Objekterkennung: Eine Integration neurobiologischer und psychologischer Befunde in einem neuronalen Netzwerk-Modell. Dissertation, TU Braunschweig.
- C. Koch & S. Ullman (1985). Shifts in Selective Visual Attention: Towards the Underlying Neural Circuitry. *Human Neurobiology* 4:219-227.
- M. S. Livingstone & D. H. Hubel (1988). Segregation of form, color, movement, and depth: Anatomy, physiology, and perception. *Science* 240:740-749.
- S. Mandon (1997). Funktionelle Klassifizierung retinaler Afferenzen im Tectum opticum von lungenlosen Salamandern (Fam. Plethodontidae). Dissertation, Universität Bremen.
- U. Neisser (1967). *Cognitive Psychology*. Appleton-Century-Crofts, New York.
- E. Niebur, C. Koch & C. Rosin (1993). An Oscillation-based Model for the Neuronal Basis of Attention. *Vision Research* 33(18):2789-2802.
- B. A. Olshausen, C. H. Anderson & D. C. van Essen (1993). A neurobiological model of visual attention and invariant pattern recognition based on dynamic routing of information flow. *Journal of Neuroscience* 13:4700-4719.
- R. W. Rodieck (1965). Quantitative analysis of cat retinal ganglion cell response to visual stimuli. *Vision Research* 5:583-601.
- G. Roth (1987). *Visual Behavior in Salamanders*. Springer, Heidelberg.
- G. Roth, U. Dicke & W. Grunwald (1999). Morphology, axonal projection pattern and response types of tectal neurons in plethodontid salamanders. II. Intracellular recordings and labeling experiments. *Journal of Comparative Neurology* 404:489-504.
- M. N. Shadlen & W. T. Newsome (1998). The Variable Discharge of Cortical Neurons: Implications for Connectivity, Computation, and Information Coding. *Journal of Neuroscience* 18(10):3870-3896.
- M. V. Tsodyks, K. Pawelzik & H. Markram (1997). Neural Networks with Dynamic Synapses *Neural Computation* 10:821-835.
- W. Wiggers (1991). Elektrophysiologische, neuroanatomische und verhaltensphysiologische Untersuchungen zur visuellen Verhaltenssteuerung bei lungenlosen Salamandern. Dissertation, Universität Bremen.

H. Yoon & H. Sompolinsky (1999). The Effect of Correlations on the Fisher Information of Population Codes. In M. S. Kearns, S. A. Solla & D. A. Cohn (Hrsg.), *Advances in Neural Information Processing Systems 11*. MIT Press, Cambridge, MA.

K. Zhang & T. J. Sejnowski (1999). Neuronal Tuning: To Sharpen or Broaden? *Neural Computation* 11:75-84.

E. Zohary, M. N. Shadlen & W. T. Newsome (1994). Correlated neuronal discharge rate and its implications for psychophysical performance. *Nature* 370:140-143.

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

Die Mitglieder des Teilprojekts B3 nahmen an allen Aktivitäten des SFB teil, so am Berichtskolloquium in Delmenhorst (26.11.1999), am SFB-Workshop auf Borkum (12./13.05.2000) und am SFB-Workshop in Delmenhorst (10./11.12.2000).

Eingeladene Vorträge

<b>Vortragende/r (Titel, Vor- Nachname)</b>	<b>Ort/ Veranstaltung</b>	<b>Zeitpunkt/ Dauer</b>	<i>Thema</i>
Dr. C. Eurich	Institut für Theoretische Physik der Universität GH Essen	10.6.99	<i>Die Adaptation von Zeitverzögerungen im Gehirn</i>
Dr. C. Eurich S. Wilke	Institut für Physiologie der Ruhr-Universität Bochum	25.6.99	<i>Optimale Kodierung mit spikenden Neuronen</i>
Dr. C. Eurich	Max-Planck-Institut für Strömungsforschung, Göttingen	12.10.99	<i>Informationstheoretische Analyse optimaler neuronaler Kodierung</i>
Dr. C. Eurich	DYNN 00 - International Workshop on Dynamical Neural Networks and Applications, Bielefeld	20.-24.11.00	<i>Avalanches of activity in neural networks: finite size effects</i>
Dr. C. Eurich	Max-Planck-Institut für Mathematik in den Naturwissenschaften, Leipzig	17.1.01	<i>Time delays in the nervous system and their putative adaptability</i>
Dr. C. Eurich	Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft (Didaktik der Physik), Bremen	21.-23.3.01	Plenarvortrag <i>Die Ratte im Labyrinth - Lernen und Repräsentation aus neurowissenschaftlicher Sicht</i>

## Teilnahme an Konferenzen und Workshops in Europa inkl. Deutschland

<b>Reisende/r (Titel, Vor- Nachname)</b>	<b>Kongress-/ Vortrag-/ Kontaktreise (Ort und Thema)</b>	<b>Zeitpunkt/ Dauer</b>	<b>Beschreibung der aktiven Teilnahme (z. B. Thema des Vortrages/ Posters etc.)</b>
Dr. C. Eurich S. Wilke	Workshop <i>Aspects of Neural Coding</i> , Hanse-Wissenschaftskolleg, Delmenhorst	25.-28.3.99	Posterpräsentation <i>Neuronal strategy for encoding multi-dimensional stimuli</i>
Dr. C. Eurich S. Wilke	Göttinger Neurobiologentagung 1999, Göttingen	27.-30.5.99	Posterpräsentation <i>Modeling the physiology of tectum neurons from retinal input in plethodontid salamanders</i>
Dr. C. Eurich S. Wilke	ESANN 99 (European Symposium on Artificial Neural Networks), Brügge, Belgien	21.-23.4.99	Vortrag <i>What does a neuron talk about?</i>
Dr. C. Eurich S. Wilke	Cognitive Neuroscience Conference, Hanse-Wissenschaftskolleg, Delmenhorst	31.10.- 3.11.99	2 Posterpräsentationen <i>Optimal coding of multiple stimulus features;</i> <i>How to tell flies from worms - visual prey discrimination in salamanders by analyzing movement patterns</i>
Dr. C. Eurich S. Wilke	Workshop <i>Aspects of Neural Dynamics</i> , Hanse-Wissenschaftskolleg, Delmenhorst	5.-9.4.00	2 Posterpräsentationen <i>Correlated neuronal activity and its implications for coding accuracy;</i> <i>Dynamics of retinal responses to salient stimulus movement patterns</i>
S. Wilke	CNS 00 (Computational Neuroscience), Brügge, Belgien	16.-20.7.00	Posterpräsentation <i>Neural spike statistics modify the impact of background noise</i>
S. Wilke A. Thiel	IJCNN 00 (International Joint Conference on Artificial Neural Networks), Como, Italien	24.-27.7.00	Posterpräsentation <i>Processing of movement information in the early visual system</i>
Dr. C. Eurich S. Wilke	Göttinger Neurobiologentagung 2001, Göttingen	7.-10.6.01	2 Posterpräsentationen <i>Diversity in neural populations improves encoding accuracy;</i> <i>The time course of retinal population activity faithfully represents rapid changes in stimulus velocity</i>

S. Wilke	CNS 01 (Computational Neuroscience)	30.6.-5.7.01	Vortrag <i>On the functional role of noise correlations in the nervous system</i> Posterpräsentation <i>Stimulus representation in rat primary visual cortex: multi-electrode recordings and estimation theory</i>
S. Wilke	ICANN 2001 (International Conference on Artificial Neural Networks), Wien, Österreich	21.-25.8.01	Vortrag <i>Neural coding of dynamic stimuli</i>

Prof. Dr. H. Schwegler und Dr. C. Eurich betreuten einen Kurs zum Thema *Neuronale Netzwerke und ihre Anwendungen in Biologie und Technik* auf der Sommerakademie der Studienstiftung des deutschen Volkes in Olang, Südtirol (5.-18.9.99).

Dr. C. Eurich und Prof. K. Pawelzik leiteten zwei Kurse zu den Themen *Neuronale Dynamik* und *Neuronale Kodierung* auf dem Interdisziplinären Kolleg (IK'00) in Günne/Möhnesee (25.3.-1.4.20). Beim Interdisziplinären Kolleg (IK'01) leitete Dr. C. Eurich gemeinsam mit Prof. H. Mallot (Universität Tübingen) einen Kurs zum Thema *Mathematik in den Neuro- und Kognitionswissenschaften* (2.-9.3.01).

Dr. Eurich leitete ein Projekt zur Erstellung eines Exponats *Simulander* für das UNIVERSUM Science Center Bremen, ein im Jahr 2000 neu eröffnetes Wissenschaftsmuseum; Projektmitglieder waren S. Wilke aus dem Teilprojekt B3 sowie Dr. U. Ernst und Dr. W. Wiggers.

Die Mitglieder des Teilprojekts B3 nahmen am Arbeitsgruppentreffen der Arbeitsgruppen von Prof. Dr. H. Schwegler und Prof. Dr. K. Pawelzik auf Langeoog teil (3.-5.11.00).

Prof. Dr. H. Schwegler und Dr. C. Eurich veranstalteten gemeinsam mit Prof. Dr. K. Pawelzik, Dr. U. Ernst und Dr. R. Henkel den NeuroNord-Kurs *Neural Modeling* in Bremen (19.-23.3.2001).



**8. Förderung des Teilprojektes im Rahmen des Sonderforschungsbereich**

(aufgeteilt nach Haushaltsjahren in TDM)

<b>bis 1998</b>	<b>1999</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>Gesamt</b>
144,0	48,8	50,0	50,0	292,8

**Teilprojekt B 5**

**Schnelle Gestaltwahrnehmung in einem Modell des visuellen Kortex  
mit dynamischen Synapsen**

**Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Klaus Pawelzik

Institut für Theoretische Neurophysik  
Universität Bremen, FB 1  
Postfach 33 04 40  
28334 Bremen

## **1. Einleitung**

Ziel dieses Teilprojektes war es, in neurobiologisch plausiblen Modellen Dynamik und Informationsübertragung in Hinblick auf eine schnelle Gestaltwahrnehmung zu untersuchen. Eine besondere Herausforderung stellte hierbei die Geschwindigkeit der Reizverarbeitung dar, da beispielsweise einige wenige Aktionspotentiale genügen müssen, um eine Klassifizierung von Bildern zu ermöglichen (Thorpe et al. 1996). Weiterhin ist für die Gestaltwahrnehmung notwendig, die dynamischen Vorgänge im primären visuellen Kortex zu verstehen, insbesondere wie nichtlokale Stimulusmerkmale Antworten auf lokalisierte Reize modulieren, und wie diese Modulationen zur nichtlokalen Gestalterkennung beitragen können.

Zum Zeitpunkt der Antragstellung waren erst seit kurzem die dynamischen Eigenschaften kortikaler Synapsen (wieder)entdeckt und beschrieben worden (Markram & Tsodyks 1996). Da Synapsen die wichtigsten Bindeglieder neuronaler Zellverbände sind, sollte die schnelle Dynamik kortikaler Synapsen berücksichtigt werden. Die synaptische Dynamik stellt insofern einen wichtigen Baustein im Verständnis der Wahrnehmungsprozesse dar, weil durch sie nur bestimmte Signalanteile übertragen werden können, wohingegen andere nur geringe oder gar keine Wirkung auf postsynaptischer Seite hervorrufen. Diese Filtereigenschaften können nicht nur für neuronale Berechnungen relevant sein, sondern auch den Raum möglicher Kodierungsstrategien einschränken.

Zur Frage nach möglichen Kodierungsstrategien, die für schnelle Wahrnehmungsprozesse geeignet sind, gab es zum Zeitpunkt der Antragstellung eine Arbeit (Panzeri et al. 1996), in der gezeigt wurde, daß für kurze Dekodierungszeitfenster die Feuerrate sämtliche Information trägt. Mit zunehmender Dekodierungszeit wächst die Anzahl an Spikes und die Möglichkeit, daß zeitliche Relationen zwischen den Zeitpunkten verschiedener Spikes zur Kodierung genutzt werden können. Insbesondere ist vorgeschlagen worden, daß die Reihenfolge der ersten Spikes von verschiedenen Neuronen gut für eine schnelle Informationsverarbeitung geeignet ist (Thorpe et al. 1996).

Auf der einen Seite ist die Analyse der Grundlagen neuronaler Kodierung ein wichtiger Schritt zum Verstehen der Mechanismen schneller Gestaltwahrnehmung. Auf der anderen Seite bleibt solch eine Analyse ohne ein Wissen um die dynamischen Vorgänge im primären visuellen Kortex zwangsläufig unvollständig. Dadurch ergab sich als weiteres Ziel die Entwicklung eines biologisch realistischen Modells der Sehhirnrinde. Verschiedene

Einzelbeobachtungen von Kontexteffekten sollten in Bezug zueinander gesetzt bzw. Eigenschaften der kortikalen Struktur und deren Entstehung mit der neuronalen Antwort in Verbindung gebracht werden. Unsere Hypothese dabei war, daß der Großteil der experimentellen Befunde allein durch die Dynamik, die von den lateralen intrakortikalen Verbindungen vermittelt wird, erklärt werden kann. Die Modellierung sollte sich zum einen eng an anatomische und physiologische Befunde anlehnen, zum anderen strebten wir an, die Modellierung soweit zu vereinfachen (Wilson und Cowan 1973), daß eine mathematische Analyse der Dynamik dieses stark rückgekoppelten Systems möglich wird.

Außerdem sollten theoretische Analysen zur Synchronisation, zur Stabilität der Dynamik und zu Fragen der Kodierung jede Phase dieses Projektes begleiten. Dabei sollten auch konzeptuelle Fragen aus dem Bereich der Mustererkennung berücksichtigt werden. Wichtig war hierbei vor allen Dingen, nie den Aspekt der Schnelligkeit bei der Wahrnehmung aus den Augen zu verlieren:

Frühere Arbeiten (van Vreeswijk & Sompolinsky 1996) legten z.B. nahe, daß Rauschen eine neuronale Populationsantwort schneller machen kann. Außerdem war schon lange bekannt, daß sich eine nahezu poissonische Statistik des Feuerverhaltens dadurch realisieren läßt, daß die Neurone Exzitation und Inhibition mit gleicher Stärke erhalten (Gerstein und Mandelbrot 1964). Weiterhin zeigten jüngere Arbeiten (Tsodyks & Sejnowski 1995, van Vreeswijk & Sompolinsky 1996), daß sich diese Balance in neuronalen Netzen selbstorganisiert stabil einstellen kann und daß dadurch die Population einem Input schneller folgen kann.

### Literatur

Gerstein, G.L. und Mandelbrot, B. (1964). *Biophysical Journal* **4**: 41 .

Markram, H. and Tsodyks, M. (1996). Redistribution of synaptic efficacy between neocortical pyramidal neurons. *Nature* **382**: 807-810.

Panzeri, S., Biella, G., Rolls, E.T., Skaggs, W.E. und Treves, A. (1996). Speed, noise, information and the graded nature of neuronal responses. *Network: Comp. in Neural Syst.* **7**: 365-370.

Thorpe, S., Fize, D., & Marlot, C. (1996). Speed of processing in the human visual system. *Nature* **381**: 520-522.

Tsodyks, M. und Sejnowski, T. (1995). Rapid state switching in balanced cortical network models. *Network* **6**: 111-124.

van Vreeswijk, C. und Sompolinsky, H. (1996). Chaos in neuronal networks with balanced excitatory and inhibitory activity. *Science* **274**: 1724-1726 .

Wilson, H.R. und Cowan., J. (1973). A mathematical theory of the functional dynamics of cortical and thalamic nervous tissue. *Biol. Cyb.* **13**: 55-80.

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

Modelle des primären visuellen Cortex sind allein aufgrund der Anzahl simulierter Neuronengruppen und deren Kopplungen numerisch anspruchsvoll und nur in Einzelfällen erschöpfend mit den Methoden der nichtlinearen Dynamik analytisch zu behandeln. Wir haben uns deswegen zunächst dazu entschlossen, eine Mean-Field Beschreibung der Populationsdynamik von neuronalen Kolumnen zu verwenden, wie sie ursprünglich von Wilson und Cowan 1973 eingeführt wurde. Dadurch wurde es möglich, Simulationen für große Modellsysteme mit bis zu  $10^8$  Kopplungen durchzuführen und gleichzeitig noch den Raum der Modellparameter systematisch zu erfassen. Des Weiteren konnten wir die Stabilität der räumlich homogenen Zustände im Modell analytisch bestimmen und daraus Bedingungen an die Längenskalen und relativen Stärken der erregenden und hemmenden Kopplungen ableiten.

Eine weitere Herausforderung war die Untersuchung der Auswirkungen der im Cortex vorgefundenen Strukturen (Inhomogenitäten der Kopplungen, Struktur der langreichweitigen Verbindungen u.ä.) auf die neuronale Antwort zu einem vorgegeben Stimulus ohne und mit räumlichem Kontext (nichtklassische rezeptive Feldeigenschaften). Dazu war es nötig, verschiedene Stimuluskombinationen an möglichst vielen unterschiedlichen Positionen im Cortex zu simulieren, um die Wechselwirkung von Struktur und Dynamik orts aufgelöst zu bestimmen und entsprechende Voraussagen für Experimente machen zu können (Abb. 1). Hier wurde ebenfalls ein hoher Aufwand in die Programmentwicklung investiert, um Rechenzeit und verfügbaren Hauptspeicher optimal nutzen zu können. Durch systematische Vereinfachung der Differentialgleichungen und verschiedene Näherungen konnte eine Vielzahl experimenteller Beobachtungen in einem einfachen Phasendiagramm dargestellt und erklärt werden (Ernst 2000).

Bei großangelegten Simulationen des visuellen Cortex ist die einfache Mean-field-Beschreibung neuronaler Gruppen sicher vorteilhaft, besonders wenn man sich nur für die Fixpunkte eines solchen dynamischen Systems bei Präsentation statischer Stimuli interessiert. Zentraler Aspekt der schnellen Reizverarbeitung sind aber gerade die transienten Vorgänge bzw. neuronale Antworten auf einer schnellen Zeitskala, und die Auswirkungen von Rauschen auf die Zuverlässigkeit neuronaler Informationsverarbeitung.

Aus diesem Grund haben wir parallel zur Modellierung des Kortex die Dynamik von Gruppen spikender Neuronen auf kurzer Zeitskala (1ms) untersucht. Im Vordergrund stand dabei die Frage, ob und wie in einem Ensemble von Neuronen graduelle Signale unverzerrt übertragen werden können. Um die Eingangssignale für alle Neurone des Ensembles zu spezifizieren, haben wir angenommen, daß die Größe der Eingangsströme der einzelnen Neurone des Ensembles normalverteilt sind, so daß der mittlere Eingangsstrom und die Streuung der einzelnen Eingangsströme um diesen Mittelwert die einzigen unabhängig wählbaren Größen sind. Die Ensembleantwort von Integrate-and-Fire Neuronen, sowohl auf zeitliche Änderungen im Mittelwert als auch auf zeitliche Änderungen in der Streuung lässt sich dann mit Hilfe des Fokker-Planck-Formalismus analysieren. Die Signalstärke der beiden verschiedenen Typen von Änderungen spiegelt dabei im wesentlichen das Verhältnis von exzitatorischen zu inhibitorischen Eingängen wieder. Als bemerkenswertes Ergebnis haben wir gefunden, daß schnelle synchrone Stromänderungen, die durch die Variationen im Mittelwert dargestellt sind, nicht unverzerrt übertragen werden können, wohingegen die Antwort auf Änderungen in der Streuung keinerlei Begrenzung für beliebig kleine Zeitskalen durch die neuronale Dynamik erfährt. Zur experimentellen Überprüfung dieser spezifischen Vorhersage konnten wir eine Gruppe am Weizmann-Institut in Rehovot, Israel, gewinnen, die mit Patch-Clamp Experimenten unsere Voraussagen exakt bestätigte.

Neben den Filtereigenschaften von Neuronen(gruppen) sind die Übertragungseigenschaften von Synapsen ein ebenso wichtiges Glied in der Signalverarbeitungskette. Sowohl die kurzfristige ausschüttungsabhängige synaptische Depression als auch die synaptische Bahnung (engl.: facilitation) lassen sich in einem gemeinsamen phänomenologischen Modell von drei gekoppelten Differentialgleichungen mit wenigen Parametern beschreiben (Tsodyks et al. 1998). Dieser Ansatz machte es uns möglich, generelle Filtereigenschaften von synaptischen Populationen zu bestimmen und mögliche Konsequenzen für die neuronale Signalverarbeitung aufzuzeigen.

Insbesondere hat die stets vorhandene synaptische Depression sehr ähnliche Hochpass-Filtereigenschaften wie die Spike-Frequenz-Adaptation, welche wir in Zusammenarbeit mit Wissenschaftlern vom Institut für Theoretische Biologie in Berlin untersucht haben. Das Auftreten ähnlicher Filtereigenschaften an verschiedenen Stellen in neuronalen Schaltkreisen ist insofern bemerkenswert, da eine korrekte Bewertung der Relevanz von verschiedenen Filtereigenschaften wesentlich für die Modellierung und das Verständnis neuronaler Signalverarbeitung ist.

Wichtig für die Geschwindigkeit neuronaler Verarbeitung ist allerdings nicht nur, welche Anteile eines Signals übertragen werden, sondern auch, wie zuverlässig diese Übertragung erfolgen kann, was die Frage nach effizienten Kodierungsstrategien aufwirft. Zunächst haben wir gezeigt, daß die zur Bestimmung des minimalen mittleren quadratischen Signalrekonstruktionsfehlers häufig verwendete Fisher-Information zwar für einige Kodierungstypen asymptotisch im Grenzfall kleinen Rauschens eine korrekte Näherung für diesen Fehler liefert, allerdings für viele wichtige Fälle nicht verwendet werden kann. Da die Schätzung von Ratensignalen auf kurzen Zeitskalen typischerweise stark verrauscht ist, haben wir die Frage nach optimalen Populationskodierungsstrategien mit Hilfe von Methoden untersucht, die auch im Fall großen Rauschens und für beliebige Kodierungstypen angewendet werden können. Dabei haben wir neben der zeitlichen Beschränkung bei der schnellen Gestaltwahrnehmung insbesondere die Auswirkungen unterschiedlicher Annahmen über die natürlichen Beschränkungen der Ressourcen neuronaler Systeme (wie z.B. Neuronenanzahl, dynamischer Bereich neuronaler Antworten, Energieverbrauch) untersucht. Ein wesentliches Ergebnis dieser Untersuchung ist, daß für Populationscodes vor allem die Platzkodierung entscheidend ist, während der Einfluß der Intensitätskodierung kaum Bedeutung hat.

### Literatur

Ernst, U. (1999). *Struktur und Dynamik lateraler Wechselwirkungen im primären visuellen Kortex*. ISSN: 0436-1199.

Tsodyks, M., Pawelzik, K. und Markram, H. (1998). Neural networks with dynamic synapses. *Neural Comput.* **10**: 821-835.

### **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

Für die Gestaltwahrnehmung spielen die horizontalen Verbindungen im visuellen Kortex eine zentrale Rolle, da sie in erster Instanz ermöglichen, nichtlokale Merkmale eines Reizes in die neuronale Verarbeitung zu integrieren. Indiz für diese Integration sind die nichtklassischen rezeptiven Feldeigenschaften, die zu einem weiten Spektrum an experimentellen Beobachtungen führen, und oft auf vermeintlich unterschiedliche Ursachen rückgeführt werden.

Unsere systematische Analyse der Dynamik neuronaler Populationen unter langreichweitigen lateralen Wechselwirkungen führt demgegenüber zum Ergebnis, daß sich sehr viele experimentellen Resultate in einem Modell vereinheitlichen lassen. Das Zusammenspiel von erregenden und hemmenden Neuronengruppen mit unterschiedlichen Schwellen und Übertragungscharakteristiken bestimmt Vorzeichen und Stärke der lateralen Wechselwirkung, die somit zu einer Unterdrückung („suppression“) oder Erhöhung („facilitation“, „enhancement“) der Aktivitäten führen kann - und das jeweils in Abhängigkeit der gewählten Stimuluskombination (Ernst et al. 1999b).

**Abb. 1: Die Stärke der Kontextmodulation von Reizen außerhalb der klassischen rezeptiven Felder der Neurone (graustufenkodiert, (b)-(d)) ist stark korreliert zur Struktur bzw. der Homogenität der Orientierungspräferenzkarte (a). Diese Modellvorhersage kann im Experiment durch die Kombination von Optical Imaging mit Elektrophysiologie überprüft werden.**

Eine weitere Konsequenz lateraler Wechselwirkungen ist die Abhängigkeit der Neuronenantworten nicht nur vom räumlichen Kontext des Stimulus, sondern auch vom räumlichen Kontext der langreichweitigen (bzw. lokalen, Abb. 1) Verbindungen. Diese verbinden bevorzugt Zellen ähnlicher Orientierungspräferenzen und weisen damit eine Struktur auf, die derjenigen der Orientierungskarte gleicht. Wir konnten demonstrieren, daß die Position und die Größe der rezeptiven Felder systematisch in Abhängigkeit von der Orientierungskarte variieren muß. Im Einzelnen zeigt es sich, daß die rezeptiven Felder benachbarter Zellen in homogenen Bereichen einer Orientierungskarte sehr stark überlappen,



während rezeptive Felder von Zellen in der Nähe von Diskontinuitäten wie den sogenannten Pinwheels sehr weit auseinander liegen bzw. disjunkt sein müssen (Abb. 2, Ernst et al. 1999a). Kurz, der Abstand der rezeptiven Felder ist nicht proportional zum Abstand der Zellen auf der Kortexoberfläche, wie es eine strikt retinotopie Abbildung suggerieren würde, sondern proportional zur Differenz in der präferierten Orientierung der betreffenden Neurone. Dieser Effekt wurde eindrucksvoll im Experiment nachgewiesen (Das & Gilbert 1997).

**Abb. 2: Relation zwischen der Retinotopie und der Struktur der Orientierungskarte. Die Distanz zweier rezeptiver Felder (b) hängt weniger von der Distanz der betreffenden Neurone im Kortex (a), als vielmehr von der Differenz ihrer präferierten Orientierungen (graustufenkodiert, siehe auch den Sprung der rezeptiven Felder an der Orientierungsdiskontinuität zwischen Position 12 und 13).**

Die in diesem Modell beobachtete starke Abhängigkeit der neuronalen Antworten von der Struktur der lateralen Verbindungen legte es nahe, ein Modell zu untersuchen, in dem die lateralen Verbindungen eine zufällige Inhomogenität haben. Wir fanden dabei, daß bereits diese Inhomogenitäten ausreichen würden, eine Fülle von Eigenschaften der neuronalen Antworten im visuellen Kortex zu erklären. Insbesondere kann die Struktur der Orientierungspräferenzkarte allein aus der Wechselwirkung der Dynamik mit den

Inhomogenitäten erklärt werden. Konsistent findet sich dann auch dieselbe Verzerrung der Retinotopie wie mit spezifischen Inhomogenitäten. Der besondere Vorteil unseres Ansatzes liegt in der Vielfalt der erklärten Phänomene bei gleichzeitiger Minimalität des Modells: Neben Orientierungspräferenz wird die Richtungsabhängigkeit der neuronalen Antwort, und die richtigen Relationen zwischen verschiedenen neuronalen Karten reproduziert: Die Inhomogenitäten auf der ansonsten rotations- und translationsinvarianten Verschaltung führen zu einer Symmetriebrechung der neuronalen Antwort. Hierdurch entsteht für jeden präsentierten Reiz im Modellcortex ein anderes Muster an Aktivitätsclustern, wobei durch die räumliche Stetigkeit der Kopplungen ähnliche Reizorientierungen auf ähnliche Muster abgebildet werden - somit definiert die Orientierung, für die eine Kolumne am stärksten erregt wird, deren Orientierungspräferenz. Im Vergleich zu anderen Ansätzen, die die Kartenbildung erklären wollen, entsteht hier eine spezifische Antwort innerhalb weniger Millisekunden. Es ist somit kein Problem mehr, die spontane Entstehung von Karten im jungen Tier zu erklären, die ohne visuelle Erfahrung auftritt (Abb. 3, Ernst et al. 2001a, 2001b und 2001c). Noch dazu wird man in unserer Modellvorstellung erwarten, daß eine Stimulation des Cortex' entweder über das eine oder das andere Auge eines Tieres zur gleichen neuronalen Antwort führt, da die Inhomogenitäten, die zu einer spezifischen Aktivität führen, in beiden Fällen ein- und dieselben sind. Dies ist in der Tat der Fall, wie bei Messungen im Cortex von Katzen festgestellt wurde (Crair et al 1998).

Bei bewegten Reizen stellt man im Modell fest, daß die Aktivitäten dynamischen Veränderungen ausgesetzt sind, die am ehesten mit Oszillationen und Deformation der Cluster um ihre durch die Kopplungsinhomogenitäten vorgezeichneten Ruhelagen beschrieben werden können. Eine solche Dynamik bedeutet für eine bestimmte Kolumne, daß sie bei der Bewegung des Reizes in eine Richtung stärker aktiviert wird, als wenn sich der Reiz in die entgegengesetzte Richtung bewegt - die Antwort wird richtungsselektiv.

Auch wenn - wie oben beschrieben - der Ansatz einer Populationsdynamik ein geeignetes Hilfsmittel ist, verschiedene Aspekte kortikaler Dynamik auf großflächiger Skala in größtmöglicher Einfachheit integrierend zu erklären, stellt er doch eine starke Simplifizierung der Realität dar. Transiente Ereignisse werden von der auf einer bestimmten Zeitskala ablaufenden Populationsdynamik 'wegintegriert', die exakt eigentlich nur für quasistationäre Reize und im Limes langer Präsentationszeiten die richtige Aktivitätsverteilung erzeugt. Dies mag zunächst sinnvoll erscheinen, da ja auch reale Neurone über ihren Input integrieren. Allerdings scheinen sich zwei Konsequenzen zu ergeben, die im Widerspruch zur Realität

stehen. Zum einen führt die Integration eines positiven Inputs zu regelmäßigen Spikes, während kortikale Neurone hochgradig irregulär feuern. Zum anderen feuern Neurone typischerweise erst, wenn sie eine große Anzahl von Aktionspotentialen erhalten haben, d.h. ein integrierendes Neuron wirkt wie ein Tiefpaßfilter, was sich schwer mit der hohen Geschwindigkeit neuronaler Verarbeitung, etwa bei der visuellen Verarbeitung von komplexen Szenen (Thorpe et al. 1996), vereinbaren läßt.

**Abb. 3: Eine Symmetriebrechung der neuronalen Dynamik, hervorgerufen durch Inhomogenitäten in der intrakortikalen (horizontalen) Verschaltungsstruktur, erzeugt sowohl orientierungsspezifische als auch richtungsspezifische Aktivitäten (c), die in ihrem räumlichen Kontext zur Entstehung von kortikalen Karten führen (b). Das Hin- und Herdriften des Stimulus' erzeugt oszillierende neuronale Antworten (a), die für die Richtungsabhängigkeit der Aktivitäten verantwortlich sind.**

Interessanterweise hängen die beiden erwähnten Probleme, also die Irregularität und die Geschwindigkeit, eng miteinander zusammen. Dies läßt sich durch eine Untersuchung der Populationsdynamik von Integrate-and-Fire-Neuronen in Simulationen und im Rahmen des Formalismus der Fokker-Planck Gleichung zeigen (Bethge et al. 2001e). Diese Methode ist besonders gut geeignet, das unterschiedliche Antwortverhalten auf Änderungen im Mittelwert bzw. in der Varianz zu analysieren. Dabei fanden wir, daß schnelle graduelle Variationen des mittleren Eingangsstromes aufgrund der Tiefpaßeigenschaften der neuronalen Dynamik nicht

übertragen werden. Überraschenderweise gilt dies jedoch nicht für die Varianz der Eingangsströme, also der Abweichung der Ströme in die einzelnen Zellen vom Mittelwert. Für die Varianz als Signal stellt die neuronale Population sogar einen Hochpaß dar, bei dem die neuronale Dynamik keinerlei Beschränkungen für hohe Frequenzanteile einführt. In enger Zusammenarbeit mit einer experimentellen Gruppe am Weizmann Institut haben wir diese neuartige Möglichkeit neuronaler Kodierung experimentell überprüft und bestätigt (Silberberg et al. 2001): Die durchgeführten Patch-Clamp Experimente im Slice zeigen, daß eine schnelle zeitliche Modulation der Varianz von Populationen realer (exzitatorischer und inhibitorischer) kortikaler Neurone wesentlich schneller übertragen werden können als der Mittelwert (Abb. 4).

**Abb. 4: Schnelle Signalübertragung der Varianz der Ströme: Gezeigt wird das Antwortverhalten einer Pyramidalzelle auf angelegte Ströme, in denen zwei zeitlich unabhängige Signale kodiert sind, einmal in den Änderungen des Mittelwertes und**

**einmal in der Variation der Varianz. (A) zeigt die instantanen Antworten (PSTH) als Funktion der instantanen Werte der Eingangsvarianz (Zeitauflösung 1ms). Die Linie zeigt eine lineare Regression. Der Sample Korrelationskoeffizient beträgt  $\rho=0.79$  und das Sample Korrelationsverhältnis ist 0.65, was sehr dicht an  $\rho^2$  liegt und somit den vorhergesagten linearen Zusammenhang bestätigt. Insgesamt wurden 5600 Ströme injiziert. In (B) sind analog zu (A) die instantanen Antworten (PSTH) über den instantanen Werte des mittleren Stroms aufgetragen und der fehlende Trend schlägt sich in einem Korrelationskoeffizienten  $R=0.15$  nieder. In (C) sind schließlich die jeweiligen Kreuzkorrelationsfunktionen zum Vergleich im selben Diagramm aufgezeichnet.**

Generell stellen dynamische Systeme nichtlineare Filter für Eingangssignale dar. Für die Analyse der Signalverarbeitung durch neuronale Systeme ist es deshalb wichtig, die für die Filtereigenschaften wesentlichen Aspekte der Dynamik zu identifizieren. So haben wir in der Vergangenheit die Filtereigenschaften dynamischer Synapsen charakterisiert (Bethge 1998) und außerdem gezeigt, daß synaptische Depression zusammen mit synchroner Inhibition einen Gain-Control Mechanismus realisieren kann (Bethge und Pawelzik 2001b, 2001c und 2000, Bethge et al. 1999). Eine wichtige Filtereigenschaft von Neuronen wird durch die Spike-Frequenz-Adaptation hervorgerufen, die nicht durch das übliche Integrate-and-Fire-Modell beschrieben wird. In Zusammenarbeit mit Wissenschaftlern vom Institut für Theoretische Biologie haben wir auch diese Filtereigenschaften berechnet (Benda et al. 2001).

Neben einer angemessenen Beschreibung der dynamischen Eigenschaften neuronaler Prozesse ist die Frage nach dem Zusammenspiel vieler Neurone bei der Signalrepräsentation von besonderer Bedeutung, vor allem dann, wenn eine schnelle Signalverarbeitung erforderlich ist. Da sich z.B. die Rate eines einzelnen Neurons nur sehr ungenau schätzen läßt, wenn wenig Zeit (und somit auch nur wenig Aktionspotentiale) vorhanden ist, haben wir untersucht, wie sich trotz des großen Rauschens am einzelnen Neuron ein graduelles Signal in der Gesamtheit vieler Neurone möglichst effizient und zuverlässig kodieren läßt (Abb. 5, Bethge et al. 2001a). Als generelles Ergebnis haben wir gefunden, daß optimale Populationskodierung vor allem auf der sogenannten Platzkodierung basiert, die mit im wesentlichen binären Tuningkurven realisiert wird. Andere Formmerkmale optimaler rezeptiver Felder sind jedoch von weiteren Annahmen über zusätzliche Beschränkungen abhängig, wie z.B. Energieverbrauch, Kabellänge, etc.

Während sich die Frage der Kodierung lediglich mit der Signalübertragung (d.h. also mit der Realisierung der identischen Funktion) unter dem Einfluß von Rauschen beschäftigt, haben wir auch damit begonnen, den Einfluß von Rauschen auf neuronale Informationsverarbeitung

zu analysieren (Bethge und Pawelzik 2001d). Im Gegensatz zur Kodierung geht es hier um die Realisierung von beliebigen nichtlinearen Funktionen. Daher haben wir für elementare nichtlineare Operationen wie Multiplikation, Division und die Berechnung des Differenzbetrags den minimalen quadratischen Fehler bei Poissonschem Rauschmodell studiert (Rotermund 2001).

Ein anderer wesentlicher Aspekt der Informationsverarbeitung ist die Frage nach der Funktion von rekurrenten Verschaltungsstrukturen, die auch im Gehirn zahlreich zu finden sind. Eine naheliegende mögliche Funktion ist die Realisierung von (zeitskalenunabhängigem) Gedächtnis, wie es beispielsweise für zustandsabhängige Inferenz (z.B. in Bayesschen Netzwerken) benötigt wird. Ein einfaches Beispiel für diese Art der Informationsverarbeitung sind die sogenannten

**Abb. 5: Die optimale Breite von Gaußschen Tuningkurven ist abhängig von der verfügbaren Dekodierungszeit: In den beiden Bildern wird der minimale quadratische Fehler als Funktion der Tuningbreite im Fall kurzer Dekodierungszeit  $T$  (d.h. im Mittel feuert ein Neuron maximal einen Spike), einmal für  $N=10$  Neuronen (oben) und einmal für  $N=100$  Neuronen (unten) gezeigt. Dabei wurde die durchgezogene Linie jeweils auf direkte Weise numerisch errechnet, während die punktiert-gestrichelte Linie der Vorhersage aus der Fisher Information entspricht. Die gestrichelte Linie entspricht der a priori Varianz, die den minimalen Fehler für  $T=0$  festlegt. Während die optimale Breite gemäß der Fisher information unabhängig von der Dekodierungszeit  $T$  bei sehr kleinen Breiten liegt, ist die tatsächliche optimale Breite bei kurzen Zeiten sehr viel größer.**

Hidden-Markov-Modelle (HMM) und die Partially Observable Markov Decision Processes (POMDP), deren mögliche Bedeutung für das Verständnis der Funktion des Gehirns wir anhand der Selbstlokalisationsaufgabe mit Hilfe eines Roboters demonstriert haben (Herrmann et al. 1999a und 1999b). Außerdem haben wir den möglichen Einfluß von inneren Zuständen bei der Wahrnehmung von bistabilen Perzepten anhand von neurophysiologischen Daten von Tauben untersucht (Otterpohl et al. 2001 und 2000).

#### **4. Diskussion**

Unsere Arbeiten der vergangenen Antragsperiode waren so konzipiert, daß ein Vergleich der Resultate mit experimentellen Ergebnissen möglich war, und darüber hinaus konnten testbare Vorhersagen abgeleitet werden. Bereits zu Beginn unserer Modellierungen der primären visuellen Areale konnte ein vereinheitlichender Mechanismus zu einem Zoo unterschiedlicher Phänomene von Kontexteffekten gefunden werden, die zunächst ein kontroverses und wenig geordnetes Bild der kortikalen Dynamik suggerierten. Außerdem waren wir als erste dazu in der Lage, den Zusammenhang zwischen Kontextmodulation bzw. rezeptiven Feldern, und der geometrischen Struktur des Kortex herzustellen und zu beschreiben. Ein Teil der Vorhersagen hieraus wurden bestätigt (Das & Gilbert 1997), für den anderen Teil stehen entsprechende Experimente noch aus. In einem noch einfacheren Modell des jungen Kortex konnten ebenfalls grundlegende Antworteigenschaften der Sehhirnrinde und der darauf ablaufenden Aktivitätsdynamik konsistent reproduziert und auf gemeinsame Mechanismen reduziert werden (Orientierungs- und Richtungsselektivität, Retinotopie, Kartenbildung, Identität der Kartenbildung für monokulare Stimulation, spontane Bildung der Karten in einer frühen Entwicklungsphase ohne Lernen, und Relationen der verschiedene Karten untereinander). Ein wichtiger Beitrag dieser in Nature Neuroscience publizierten Arbeit zum aktuellen Forschungsstand ist hierbei, daß durch unseren Ansatz eine Brücke zwischen den Vertretern einer selbstorganisierten Entwicklung der Karten auf der einen Seite, und den Vertretern eine genetischen Festlegung der Kartenstruktur (in den afferenten Gewichten) auf der anderen Seite geschlagen wird.

Besonders befruchtend hat sich hier unser enger Kontakt zu Arbeitsgruppen am Weizmann Institut in Rehovot, Israel, ausgewirkt (siehe Publikationsliste). Dieser Kontakt ist durch gegenseitige Forschungsaufenthalte intensiviert worden, und hat uns u.a. den Zugang zum

Experiment ermöglicht. Unsere theoretischen Arbeiten zu den Übertragungseigenschaften neuronaler Populationen haben direkt zu einem Experiment an parasagittalen Schnitten aus dem Gehirn der Ratte geführt, in dem die Vorhersage bestätigt wurde, daß die Varianz eines Signals im Gegensatz zu ihrem Mittelwert instantan übertragen wird.

Unsere Arbeiten wurden auf verschiedenen internationalen Tagungen präsentiert und damit der Öffentlichkeit zur Diskussion gestellt. Die Anregungen aus diesem Austausch von Ideen und Kritiken sind in unsere Publikationen eingegangen und haben zu einem breiten Interesse an den Ergebnissen dieses Projektes geführt.

### Literatur

M.C. Crair und D.C. Gillespie und M.P. Stryker (1998). The Role of Visual Experience in the Development of Columns in Cat Visual Cortex. *Science* **279**: 566-570.

A. Das und C.D. Gilbert (1997). Distortions of visuotopic map match orientation singularities in primary visual cortex. *Nature* **387**: 594-598.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

In der vergangenen Antragsperiode ist es uns gelungen, grundsätzliche Fragen im Zusammenhang mit der schnellen visuellen Wahrnehmung zu beantworten. Die zeitliche Beschränkung, der das Gehirn bei der Verarbeitung dynamischer Stimuli unterworfen ist, zeichnet entweder mögliche effiziente Kodierungsstrategien aus, oder gibt Beschränkungen hinsichtlich der Genauigkeit, mit der Reize wahrgenommen bzw. unterschieden werden können. Nichtlokale Einflüsse bei Antworten auf ausgedehnte Reize selektieren bestimmte Kombinationen von Merkmalen, und führen damit starke Nichtlinearitäten in die kortikale Dynamik ein. Dieses tiefe Verständnis der Dynamik der einzelnen Bauteile der "Maschinerie" visuelles System erlaubt es jetzt, den nächsten logischen Schritt zu gehen und die informationstheoretischen Konzepte und die neurobiologisch plausible Realisierung der schnellen Gestaltwahrnehmung zu analysieren. Als Beispiel seien hier nur einige Fragen aufgeführt, die dringend beantwortet werden müssen:

Kann man die Kriterien der Gestaltwahrnehmung als Erwartung bzw. Vorwissen über die Statistik natürlicher Reizensembles interpretieren? Auf welche Weise werden diese Kriterien mit dem Stimulus "verglichen" - ist eine multiplikative oder additive Verknüpfung informationstheoretisch sinnvoll?



Welche grundsätzlichen Modelle der Gestaltwahrnehmung lassen sich unter Berücksichtigung natürlicher Randbedingungen (Geschwindigkeit, Filtereigenschaften, etc.) überhaupt verwirklichen? Wie lassen sich die Hypothesen sowohl in psychophysikalischen als auch in neurophysiologischen Experimenten testen?

## **6. Literaturverzeichnis**

\* J. Benda, M. Bethge, M. Hennig, K. Pawelzik, und A.V.M. Herz. Spike-frequency adaptation: Phenomenological model and experimental tests. *Neurocomputing* (im Druck), 2001.

+ M. Bethge, D. Rotermund und K. Pawelzik. Fisher information and optimal population coding: intensity or just place? *Neural Computation* (eingereicht), 2001a.

\* M. Bethge und K. R. Pawelzik. A rôle for the ongoing activity: Unbiased selective gain control with synchronous inhibition. In G. T. Buracas, O. Ruksenas, und T. D. Albright, editors, *Modulation of Neuronal Signalling: Implications for Visual Perception*. 2001b.

\* M. Bethge und K. Pawelzik. Synchronous inhibition as a mechanism for unbiased selective gain control. *Neurocomputing* (im Druck), 2001c.

+ M. Bethge und K. Pawelzik. Population coding with unreliable spikes. *CNS'2001*, 2001d.

+ M. Bethge, K. Pawelzik, und R. Rothenstein. Noise as signal for neuronal populations. *PRL* (eingereicht), 2001e.

M. Bethge und K. Pawelzik. A physiological model of gain-control by synchrony. In *Abstract Book FENS Meeting*, 490 (221.12), 2000.

\* M. Bethge, K. Pawelzik, und T. Geisel. Brief pauses as signals for depressing synapses. *Neurocomputing*, 26-27:1-7, 1999.

+ M. Bethge. *Neuronale Kodierung mit dynamischen Synapsen*. Diplomarbeit, 1998.

\* U. A. Ernst, K. R. Pawelzik, C. Sahar-Pikielny, und M. Tsodyks. Intracortical origin of visual maps. *Nature Neuroscience*, 4 (4): 431-436, 2001a.

\* U. Ernst, K. Pawelzik, und M. Tsodyks. Emergence of feature selectivity from lateral interactions in the visual cortex. In *Handbook of Biological Physics, Vol. 4*. Elsevier, Amsterdam, 2001b.

U. Ernst, K. Pawelzik, M. Tsodyks, und C. Sahar-Pikielny. Lateral cortical interactions and random inhomogeneities: A key to spontaneous emergence of cortical maps in v1 without visual experience. In *Abstract Book FENS Meeting*, 126 (060.01), 2000c.

\* U. Ernst, K. Pawelzik, M. Tsodyks, und T. Sejnowski. Relation between retinotopic and orientation maps in visual cortex. *Neural Computation*, 11:375-379, 1999a.

\* U. Ernst, K. Pawelzik, F. Wolf, und T. Geisel. Theory of non-classical receptive field phenomena in the visual cortex. *Neurocomputing*, 26-27:367-374, 1999b.

C. W. Eurich, K. Pawelzik, U. Ernst, A. Thiel, J. D. Cowan, and J. G. Milton. Delay adaptation in the nervous system. *Neurocomputing*, 32-33:741-748, 2000.

\* C. W. Eurich, K. Pawelzik, U. Ernst, J. D. Cowan, und J. G. Milton. Dynamics of self-organized delay adaptation. *Physical Review Letters*, 82, Nr. 7:1594-1597, 1999.

+ R.D. Henkel, U.A. Ernst und K. Pawelzik, Synchronizing assemblies perform magnitude-invariant pattern detection, *CNS'2001*, 2001.

\* J. M. Herrmann, K. Pawelzik, und T. Geisel. Self-localization of autonomous robots by hidden representations. *Autonomous Robots*, 7/1:31-40, 1999a.

J. M. Herrmann, F. Emmert-Streib, und K. Pawelzik. Autonomous robots and neuroethology: Emergence of behavior from a sense of curiosity. In U. Rückert A. Löffler, F. Mondada, editor, *Experiments with the Mini-Robot Khepera, Proceedings of the 1st Int. Khepera Workshop*, pages 89-98, Paderborn, 1999b. HNI-Verlagsschriftenreihe, Bd. 64.

\* J. R. Otterpohl, F. Emmert-Streib, and K. Pawelzik. A constrained HMM-based approach to the estimation of perceptual switching dynamics in pigeons. *Neurocomputing*, 38-40:1495-1501, 2001.

\* J. R. Otterpohl, J. D. Haynes, F. Emmert-Streib, G. Vetter, and K. Pawelzik. Extracting the dynamics of perceptual switching from "noisy" behavior: An application of hidden Markov modeling to pecking data from pigeons. *Journal of Physiology, Paris*, 94:555-567, 2000.

K. Pawelzik und H. Schwegler. Workshop "Theoretische Neurophysik" auf Langeoog, 3.11.-5.11.2000.

D. Rotermund. *Zeitliche Fehlerentwicklung in pulskodierten Mehrschicht-Netzen*. Studienarbeit 2001.

+ G. Silberberg, M. Bethge, H. Markram, M. Tsodyks, und K. Pawelzik. Rapid signaling by variance in ensembles of neocortical neurons. *Nature Neuroscience* (eingereicht), 2001.

F. Wolf, K. Pawelzik, O. Scherf, T. Geisel, and S. Löwel. How can squint change the spacing of ocular dominance columns? *Journal of Physiology, Paris*, 94:525-538, 2000.

(\* ) wesentliche und begutachtete Veröffentlichungen

(+ ) wesentliche Konferenzbeiträge und eingereichte Arbeiten

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

Mit der Arbeitsgruppe von TP A 7 (Prof. Dr. A. Kreiter) wurde ein wöchentliches Seminar ins Leben gerufen, das in den Jahren 1999-2001 stattfand. Themen des Seminars waren theoretische und experimentelle Artikel aus aktuellen Veröffentlichungen, und die Präsentation und Diskussion eigener Arbeiten. In Zusammenarbeit mit TP B 2 sind einige Veröffentlichungen zur Dynamik der Adaptation synaptischer Delays entstanden (Eurich et al. 1999 und 2000). Gemeinschaftlich mit allen Mitgliedern des SFB wurde ein Workshop auf Borkum (Mai 2000) veranstaltet. Ein weiterer Workshop der Arbeitsgruppen Schwegler (TP B 2) und Pawelzik wurde Anfang November auf Langeoog abgehalten; die Skripte dieses Workshops sind in einer Zusammenstellung verfügbar (Pawelzik und Schwegler 2000). Ebenfalls wurden von Prof. Dr. K. Pawelzik zwei Workshops ('Aspects of Neural Dynamics' und 'Aspects of Neural Coding') mit internationaler Beteiligung namhafter Wissenschaftler am Hanse Wissenschaftskolleg in Delmenhorst organisiert. Neben zahlreichen Inlandstagungen wurden unsere Ergebnisse auf verschiedenen internationalen Konferenzen und Workshops präsentiert (CNS Pittsburgh, Brügge und San Francisco; Montreal; FENS Brighton, ICCNS Boston, NIPS Denver).

## **Teilprojekt C 1**

### **Der Zusammenhang zwischen psychoakustischen Modellgrößen und akustisch evozierten Potentialen**

#### **Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Dr. Torsten Dau

AG Medizinische Physik, FB Physik  
Universität Oldenburg  
26111 Oldenburg

Prof. Dr. Volker Mellert

AG Akustik, FB Physik  
Universität Oldenburg  
26111 Oldenburg

Prof. Dr. Dr. Birger Kollmeier

AG Medizinische Physik, FB Physik  
Universität Oldenburg  
26111 Oldenburg

## **1. Einleitung**

Die meisten unserer bisherigen Erkenntnisse über die Wahrnehmung von Schall basieren auf psychoakustischen Experimenten. Die Psychoakustik beschäftigt sich mit der Wahrnehmung und Verarbeitung akustischer Reize, wobei das Hörsystem als black box betrachtet werden kann, die sowohl die Reizverarbeitung als auch den Entscheidungsprozeß bei der Beurteilung des Schalls umfaßt. Durch gezielte experimentelle Paradigmen (z.B. Detektions- und Maskierungsexperimente) können wichtige Erkenntnisse über prinzipielle Verarbeitungs- und Bewertungsstrategien beim Hören gewonnen und in quantitativen Funktionsmodellen zum Ausdruck gebracht werden. Allerdings ist es unmöglich, die zugrundeliegenden neuronalen Mechanismen dieser Wahrnehmungsleistungen auf den verschiedenen Repräsentationsstufen zu lokalisieren bzw. zu spezifizieren.

Um mehr über die internen neuronalen Repräsentationen als Grundlage einfacher und komplexer Wahrnehmungsleistungen beim Menschen zu verstehen, untersucht dieses Projekt den Zusammenhang zwischen akustisch evozierten Potenzialen und den mit den identischen Stimuli hervorgerufenen Empfindungen. Das an der Kopfoberfläche abgeleitete elektrische Feld bietet ebenfalls nur indirekten Einblick in die Funktionen des Gehirns; durch Auswertung der auftretenden Latenzen und durch die Analyse der raumzeitlichen elektrischen Feldverteilung lassen sich aber Rückschlüsse auf die jeweiligen Generierungsorte der im Fernfeld beobachteten Aktivität ziehen.

Bei Anregung mit transienten Reizen können Potenziale je nach ihrer Latenz in frühe, mittlere und späte Potenziale unterteilt werden und ihre Generatoren können unterschiedlichen neuronalen Kerngebieten in Peripherie, Hirnstamm und auditorischem Kortex zugeordnet werden. Bei Erhöhung der Darbietungsrate transientser Stimuli und bei Anregung mit nicht-transienten Reizen ist die Zuordnung der beobachteten Potenzialmuster zu ihren Generatoren durch die zeitliche Überlagerung der Antworten oft komplizierter. Evozierte Potenziale sind Synchronisationspotenziale, d.h. es bedarf stets einer hohen Anzahl synchroner neuronaler Aktivität, um im Fernfeld eine aus der Grundaktivität durch geeignete Mittelungsverfahren identifizierbare Antwort zu erzeugen. Dieses gilt in besonderem Maße für die frühen (Hirnstamm-) Potenziale und weniger streng für die langsameren kortikalen Aktivitäten. Gerade Hirnstammpotenziale spielen aber in der klinischen Diagnostik eine bedeutende Rolle. Sie werden eingesetzt, um Funktionsstörungen objektiv abzubilden. Bekanntestes Beispiel ist der Nachweis der frequenzspezifischen Hörschwelle. Allerdings ist es noch in hohem Maße fraglich, ob Hirnstammpotenziale tatsächlich ein Korrelat auch einfacher Wahrnehmungsleistungen darstellen können.

Die Herangehensweise in unserem Projekt war wie folgt: Bevor elektrophysiologische Korrelate komplexer kognitiver Leistungen untersucht werden, sollten die Zusammenhänge für einfache Bedingungen verstanden sein. Was ist in den Potenzialen zu sehen, wenn mit einfachen Reizen wie z.B. Clicks, Chirps, Tonpulsen, stationären Tönen oder amplitudenmodulierten Signalen stimuliert wird? Entsteht z.B. ein Frequenzfolgepotenzial, das eine deutliche Periodizität wie die des anregenden Tones aufweist, wirklich durch Aktivität in Neuronen-Populationen, die gemäß der tonotopen Abbildung im Gehör besonders sensitiv auf den Ton sind? Welche neuronalen Aktivitäten werden durch das evozierte Potenzial repräsentiert und inwieweit sind dieselben Populationen auch am Wahrnehmungsprozess (z.B. bei der Detektion) beteiligt?

Die bisherige Arbeit kann in drei Schwerpunktbereiche unterteilt werden. Der erste Bereich umfaßt die Entwicklung und experimentelle Validierung optimierter Reize für die Auslösung früher und mittlerer Potenziale. Zentraler Aspekt ist hierbei die Bedeutung der peripheren kochleären Signalverarbeitung für die Ausbildung der Potenziale. Optimierte ist hier gemeint im Sinne einer theoretisch maximal möglichen Synchronisation von Nervenzellen. Der entwickelte Reiz, ein in der Momentanfrequenz ansteigender Chirp, wurde im Vergleich zu klassischen Reizen auch für frequenzspezifische Anwendungen getestet. Zudem wurde der Zusammenhang zwischen transient evozierten Potenzialen und Frequenzfolgepotenzialen (FFP) untersucht, indem Tonpulse und Chirps zu neuen Stimuli kombiniert wurden. In der bisherigen Literatur werden die beiden Potenzialgruppen bisher stets getrennt diskutiert.

Im zweiten Bereich geht es um die Entwicklung eines Modells, das die gewonnenen Daten nachbildet. Motiviert durch die Ergebnisse im ersten Schwerpunktbereich wurde im Modell auf eine realistische Nachbildung der peripheren Signalverarbeitung des Gehörs Wert gelegt. Hierbei wurden insbesondere die Transduktionsprozesse auf der Basilarmembran und die Umsetzung mechanischer Schwingungen in neuronale Aktivität im auditorischen Nerven (AN) beachtet. Wichtig ist hierbei die realistische Nachbildung der in physiologischen und psychophysikalischen Arbeiten gefundenen nichtlinearen, pegelabhängigen Verarbeitung. Das Ziel der Modellierung ist ein tieferes Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen bei der Generierung früher und mittlerer Potenziale.

Der dritte Schwerpunkt behandelt die Verarbeitung von Amplitudenmodulationen im Gehör. Unsere bisherigen Arbeiten zu diesem Themenkomplex stammen aus psychoakustischen Experimenten. Diese motivieren die Zerlegung von Amplitudenmodulationen in unabhängigen Modulationsfrequenzbändern. Durch eine

Modulationsfilterbank als Verarbeitungsstufe im Rahmen eines Perzeptionsmodells lassen sich viele der in den psychoakustischen Experimenten gefundenen Ergebnisse quantitativ sehr erfolgreich nachbilden. Angestrebtes Ziel ist auch in diesem Schwerpunktbereich, den Zusammenhang zwischen den in perzeptiven Experimenten gefundenen Parametern einerseits und den zugehörigen akustisch evozierten Potenzialen andererseits besser zu verstehen. Dieses betrifft zum einen ein grundlegendes Verständnis der Amplitude Modulation Following Response (AMFR) bzw. Envelope Following Response (EFR) im Zusammenhang mit den in Psychoakustik und Physiologie gefundenen Modulationstransferfunktionen (TMTFs). Die bisher in der Literatur beschriebenen Zusammenhänge sind sehr unklar. Zum anderen geht es auch um die kritische Überprüfung von Modellvorstellungen, die durch unsere bisherigen psychoakustischen Arbeiten motiviert sind. Unsere Arbeit ist in diesem Themenkomplex bisher schwerpunktmäßig in der Psychoakustik angesiedelt. Sie bildet die Grundlage für die geplanten Experimente und Modellerweiterungen im Bereich der evozierten Potenziale.

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

### **2.1 Entwicklung und Validierung optimierter Reize für die Generierung von Hirnstammpotenzialen**

#### **2.1.1 Maximale Synchronisation durch Chirpanregung**

Akustisch evozierte Potenziale sind Synchronisationspotenziale, die die reizsynchrone Hirnstromaktivität vieler Neuronen auf verschiedenen Stufen der Hörbahn repräsentieren. Der Clickreiz wird wegen seiner kurzen Dauer üblicherweise als optimaler Schallreiz für die Auslösung der Potenziale betrachtet. Allerdings führen die dispersiven Prozesse bei der kochleären Verarbeitung dazu, dass insbesondere die tieffrequenten Anteile des Clickreizes nicht zum aufgezeichneten Hirnstammpotenzial beitragen können. Daher war es naheliegend, einen Stimulus zu konstruieren, der die Laufzeitunterschiede verschiedener Spektralanteile im Schall ausgleicht. Aufgrund der Eigenschaften der Basilarmembran (BM) ist ein solcher Stimulus notwendigerweise ein in der Momentanfrequenz nichtlinear ansteigender Chirp (Dau *et al.*, 2000). Dieser Chirp wurde auf der Grundlage des BM-Modells von de Boer (1980) entwickelt und ist in Abb. 1 dargestellt. In Dau *et al.* (2000) wurden chirp- und click-evozierte Potenziale als Funktion des Anregungspegels untersucht.

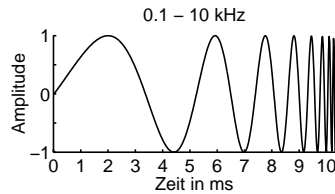


Abb. 1: Zeitverlauf des optimierten Chirps, der den Frequenzbereich von 0.1 bis 10 kHz anregt.

### 2.1.2 Eignung des Chirps für frequenzspezifische Anwendungen

Im Vergleich zum Click tragen bei Anregung mit dem breitbandigen Chirp auch die tieffrequenten Anteile im Signal effektiv zum evozierten Potenzial bei. Dieses macht den Chirp potentiell interessant für die objektive Schätzung des Hörvermögens insbesondere im Tieftonbereichs. In Wegner und Dau (2001) wurden click und chirp-evozierte Potenziale bei gleichzeitiger Darbietung von Rauschmaskierern getestet. Zwei klassische Paradigmen wurden dabei zur Ableitung frequenz-spezifischer Potenziale verwendet. Bei der sogenannten Derived-Response Methode nach Don und Eggermont (1978) wird der breitbandige Teststimulus (z.B. Click oder Breitbandchirp) mit einem zusätzlichen Hochpaßrauschmaskierer dargeboten. Parameter der Messung ist die untere Grenzfrequenz des Maskierers, die sukzessive in (Teil-)Oktavschritten über den gesamten Frequenzbereich verschoben wird. Als Derived Response wird die aus der Differenz zweier Potenzialaufzeichnungen bei unterschiedlicher Grenzfrequenz abgeleitete Antwort bezeichnet. Diese repräsentiert gerade die Aktivität aus dem spektralen Differenzbereich. Hierfür wird angenommen, dass die neuronale Aktivität aus verschiedenen Frequenzbereichen linear verarbeitet wird. Mit dieser Methode läßt sich also indirekt eine frequenzspezifische Aktivität ableiten. Als zweites Paradigma haben wir die Notched-Noise Methode verwendet, bei der der breitbandige Teststimulus mit Bandlückenrauschen maskiert wird, so dass nur bestimmte Frequenzanteile des Stimulus zum evozierten Potenzial beitragen können. Mit dieser Methode läßt sich demnach direkt eine frequenzspezifische Aktivität ableiten.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden anstelle der mit Maskierungsrauschen kombinierten breitbandigen Reize schmalbandige Reize gewählt. Die Antworten auf einen tieffrequenten Chirp wurden mit Tonpuls-evozierten Antworten verglichen. Der Tonpuls wurde dabei so konstruiert, dass Dauer und Amplitudenspektrum denen des tieffrequenten Chirps sehr ähnlich waren, so dass sich die beiden Stimuli nur in ihrer Phasencharakteristik unterschieden. Die Frage war, ob die gehörgerechte Anregung durch den Chirp auch bei schmalbandiger Anregung zu signifikant besseren Antworten führt.



### 2.1.3 Übergang von transienter zu kontinuierlicher Stimulation

Im Rahmen unseres Projektes konnten wir zeigen (s.u.), dass steile Ein- und Ausschaltflanken im Stimulus nicht notwendigerweise auch zu starken Antworten im zugehörigen Potenzial führen. Die entscheidende Größe ist die Stärke der synchronisierten Neuronenaktivität am Ausgang der peripheren Vorverarbeitung. Bisher hatten wir uns auf die von Einzelclicks bzw. Einzelchirps evozierten Potenziale beschränkt. Bei kleinen und mittleren Anregungspegeln wurden die Vorteile des Chirps gegenüber dem Click besonders deutlich. Um unsere Hypothesen über die Rolle der kochleären Signalverarbeitung für die Ausbildung von Hirnstammpotenzialen kritisch zu testen, haben wir in weiteren Experimenten Reize verwendet, in die der Chirp zeitlich und spektral eingebettet wurde. Im ersten Experiment hierzu wurden die Antworten auf eine Serie von up-down Chirps gemessen: ein Upchirp wurde dabei gefolgt von seinem Zeitinversen angeboten und diese Sequenz viermal wiederholt. Die Übergänge zwischen den Einzelsegmenten wurden stetig gehalten, um on- und offset-Effekte zu vermeiden. Im zweiten Experiment wurde ein Stimulus verwendet, der aus einem tieffrequenten Sinuston (270 Hz) gefolgt von einem aufsteigenden Chirp (Frequenzbereich 270-4000 Hz) und einem anschließenden 4-kHz Sinuston bestand. Auch hierbei wurden die jeweiligen Übergänge stetig gehalten. Der Kombinations-Stimulus wurde bei drei Pegeln (40, 55 und 70 dB SL) dargeboten. Die mit diesem Stimulus evozierten Potenziale wurden mit den entsprechenden Antworten auf die Einzelstimuli verglichen. Die durch Töne generierten Potenziale repräsentieren die in der Literatur oft beschriebenen Frequenzfolgepotenziale (FFP). Das zweite Experiment untersucht demnach den Zusammenhang zwischen transient evozierten Potenzialen und Frequenzfolgepotenzialen.

## 2.2 Modellierung von Hirnstammpotenzialen

Wie hängt die elektrische Feldverteilung an der Schädeloberfläche mit den neuronalen Aktivitätsmustern auf bestimmten Stufen der Hörbahn zusammen? Welche neuronalen Aktivitäten sind mit der Methode der evozierten Potenziale überhaupt von außen sichtbar? Die neuronale Verarbeitung entlang der Hörbahn ist komplex und hochgradig nichtlinear. Bereits im Nucleus Cochlearis (CN) gibt es eine Vielzahl unterschiedlicher Neuronentypen mit sehr unterschiedlichem Antwortverhalten. Unserere Strategie war wie folgt: Über die Verarbeitung in der Cochlea, d.h. insbesondere die Umsetzung mechanischer Schwingungen auf der Basilarmembran in Rezeptorpotenziale der Haarzellen und Aktionspotenziale im auditorischen Nerven (AN) wurde vor kurzem ein Modell veröffentlicht (Heinz, 2000; Heinz *et al.*, 2001), das eine Vielzahl von physiologischen Details nachbilden kann. Durch Faltung

des Feuerratenverlaufs im AN mit der für eine feste Elektrodenkonfiguration angenommenen Impulsantwort des entsprechenden Neurons kann die von diesem Neuron hervorgerufene Feldverteilung an den Elektroden berechnet werden. Aus der Summation über die Aktivitäten in allen Frequenzbereichen kann die Gesamtaktivität berechnet und mit gemessenen Potenzialen verglichen werden (Dau, 2001). Die prinzipielle Struktur ist in Abb. 2 gezeigt. Die Teilbereiche des Modells sind im folgenden beschrieben.

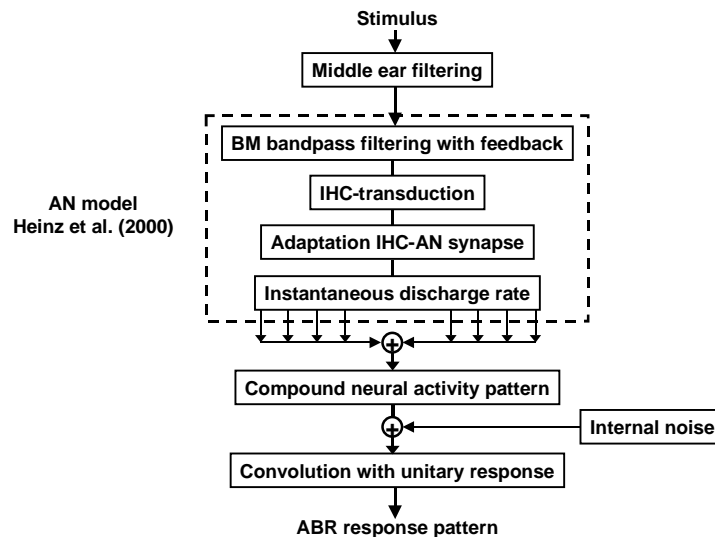


Abb. 2: Schema des Modells zur Simulation von frühen akustisch evozierten Potenzialen.

### 2.2.1 Nachbildung der peripheren Vorverarbeitung

Das von uns verwendete Modell der neuronalen Verarbeitung nach Heinz *et al.* (2001) erfasst viele

wichtige Antworteigenschaften, die in unabhängigen physiologischen Arbeiten ermittelt wurden (Ruggero *et al.*, 1997; Recio *et al.*, 1998; Winter und Palmer, 1991; Sachs und Abbas, 1974; Sachs und Kiang, 1986; Rose *et al.*, 1968; Yates, 1990). Wichtiger Bestandteil sind die nichtlinearen Prozesse in der Koehlea, bei denen die äußeren Haarzellen (als „koeheärer Verstärker“) eine wichtige Rolle spielen. Dies führt bei mittleren Anregungspegeln zu einer kompressiven Übertragungscharakteristik, während die Verarbeitung bei sehr kleinen und großen Pegeln nahezu linear ist. Die Nichtlinearität ist bei Neuronen mit charakteristischen Frequenzen  $CF > 1$  kHz berücksichtigt, während sie bei Neuronen mit kleinerer  $CF$  verringert ist. Das Modell erfasst zudem (durch eine Kopplung an die nichtlinearen Prozesse) Änderungen in der Frequenzselektivität mit dem Pegel, so dass die Filterbandbreiten zu hohen Pegeln hin ansteigen. Zudem bildet das Modell zeitliche Adaptationsprozesse realistisch nach, die bei onsets und offsets zu kurzzeitigen pegelabhängigen Überhöhungen der Feuerrate

(overshoots) bzw. Erniedrigungen der Feuerrate unter die Spontanaktivität führen. Durch eine Poissonstatistik wird die Spontanaktivität nachgebildet. Als Ausgangssignal liefert das Model den Feuerratenverlauf  $r(t)$  für Neuronen im Frequenzbereich zwischen 100 Hz und 20 kHz, wobei die Dichte der Kanäle durch einen Parameter gewählt werden kann.

### 2.2.2 Die „effektive“ Impulsantwort des Systems

In der klassischen Arbeit von Kiang und Goldstein (1958) wurde das Konzept der *unitary response* eingeführt. Die unitary response wurde bestimmt, indem die an der Kopfoberfläche (von Katzen) an den Elektroden gemessene Spannung als getriggerte Antwort auf einzelne Aktionspotenziale eines Neurons im AN aufgezeichnet wurde. Da diese Einzelaktivität natürlich in der EEG-Grundaktivität untergeht, kann nur durch häufige Mittelung der Verlauf der „Quasi“-Impulsantwort ermittelt werden. Die Form dieser Antwort hängt stark von der Wahl der Elektrodenpositionen ab, da die Feldverteilungen ortsabhängig sind. Interessanterweise hängt sie allerdings nicht oder nur marginal von der CF des Neurons ab (Wang, 1980), was die Modellierung einfacher gestalten läßt.

Die Aktivität im AN wird mit Welle I in den Hirnstammpotenzialen in Zusammenhang gebracht (z.B. Jewett und Williston, 1971; Moore, 1987). Es wird angenommen, dass die anderen beiden ausgeprägten Maxima in den Potenzialen, Welle III und Welle V, von Neuronen im anterioren Teil des Nucleus Cochlearis (AVCN) bzw. von Neuronen in der Medialen Oberen Olive (MSO) generiert werden (Fullerton *et al.*, 1987; Moore, 1987). Die starke Negativität im Potenzial, die dem Maximum der Welle V folgt, entsteht durch dendritische Aktivität beim Übergang vom MSO in den Inferior Colliculus (IC). Diese Erkenntnisse wurden vornehmlich aus Läsionsstudien in Tierexperimenten gewonnen (Melcher und Kiang, 1996, Fullington *et al.*, 1987). Die Impulsantworten der Kerne auf den folgenden Stufen hinter dem AN sind bisher nicht gemessen worden. Allerdings sind von Melcher und Kiang (1996) Modellrechnungen durchgeführt worden, die die Impulsantwort im AVCN basierend auf physiologisch-anatomischen Abschätzungen am Tiermodell berechnen. Für den MSO bzw. IC liegen weder Messungen noch Modellrechnungen vor.

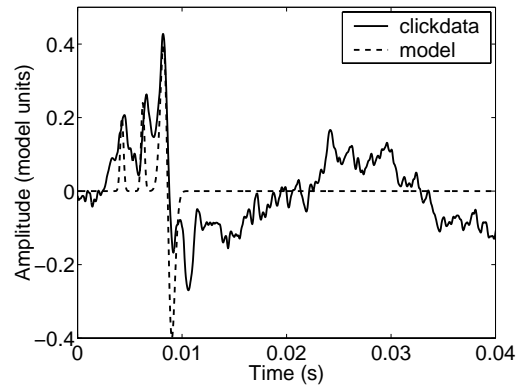


Abb. 3: Typisches click-evoziertes Potenzial und im Modell verwendete effektive Impulsantwort („unitary response“).

Die von uns angenommene effektive Impulsantwort, die in das in Abb. 2 beschriebene Gesamtmodell eingeht, ist in Abb. 3 dargestellt (gestrichelte Kurve). Die ersten beiden Maxima repräsentieren die aus den physiologischen Vorarbeiten abgeleiteten Impulsantworten für AN und AVCN. Das dritte Maximum wurde von uns als Impulsantwort von MSO/IC angenommen. Die zugehörigen Latenzen wurden so gewählt, dass sie den Maxima im gemessenen click-evozierten Potenzial entsprechen. Die durchgezogene Kurve zeigt repräsentativ eine typische click-evozierte Antwort einer Versuchsperson für die klassische Elektrodenkonfiguration Vertex-Mastoid.

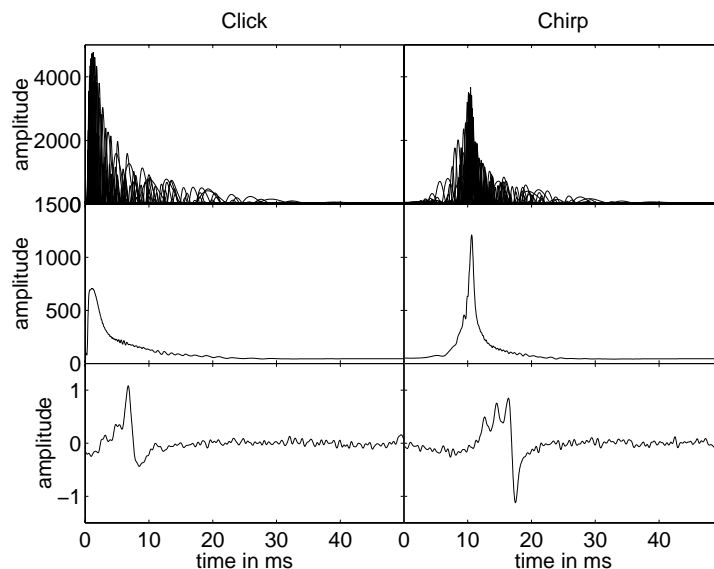


Abb. 4: Modellvorhersagen bei Stimulation mit einem Click (linke Seite) und einem Chirp (rechte Seite). In den oberen Teilbildern sind die Einzelaktivitäten der verschiedenen Frequenzkanäle dargestellt. Die mittleren Teilbilder zeigen die jeweilige Summenaktivität (CAP). In den unteren Teilbildern ist die Gesamtantwort des Modells zu sehen. Die in realen Messungen mit den gleichen Reizen erhaltenen Potenziale sind in Abb. 5 dargestellt.

### 2.2.3 Summationsantwort für klassische Elektrodenkonfiguration

Am Ausgang des Modells wird die Aktivität über alle Frequenzkanäle aufsummiert. Im Falle des AN entspricht diese Summe gerade der Simulation des bekannten compound action potenzials (CAP). Ähnliche CAP-Berechnungen wurden bereits in früheren Arbeiten durchgeführt (z.B. Elberling, 1976; de Boer, 1975; Kiang *et al.*, 1976). Allerdings konnten in diesen Arbeiten viele der wichtigen nichtlinearen Eigenschaften der kochleären Verarbeitung noch nicht realistisch nachgebildet werden. Die berechneten Feuerratenverläufe werden bei Grenzfrequenzen von 40 und 1600 Hz bandpaßgefiltert. Dieses entspricht den in unseren Messungen verwendeten Parametern. Anschließend wird im Modell noch ein (die EEG-Grundaktivität simulierendes) Rauschen addiert, dessen Varianz einmal kalibriert wird und dann für alle Bedingungen konstant gehalten wird.

In Abb. 4 ist beispielhaft die Ausgangsaktivität am Beispiel eines Clicks und eines Chirps gezeigt. Die jeweiligen oberen Teilbilder zeigen die Überlagerung der Einzelaktivitäten in den verschiedenen Frequenzkanälen. Die mittleren Teilbilder zeigen die jeweilige Summenaktivität (CAPs) und in den unteren Teilbildern ist die mit der effektiven Impulsantwort gefaltete Gesamtantwort des Modells dargestellt. Entsprechende Simulationen wurden für alle von uns getesteten experimentellen Situationen und zusätzliche klassische Literaturdaten durchgeführt.

## 2.3 Psychoakustische Arbeiten zur Modulationsverarbeitung

Die bisher im Projekt verwendeten Reize waren entweder Transienten (Clicks, Chirps, Tonpulse) oder Dauerstimuli mit zeitlich konstanter Einhüllender (Töne, Up-down-Chirpserie u.a.). Der nächste logische Schritt ist die Erforschung von Signalen mit zeitlich fluktuierenden Einhüllenden. Dieses ist wichtig, da sämtliche in der Natur vorkommenden Signale, insbesondere Sprache, Fluktuationen der Einhüllende (Amplitudenmodulationen) aufweisen. Einfache modulierte Signale mit klar definierter physikalischer Struktur sind die in vielen grundlegenden physiologischen und psychoakustischen Experimenten gewählten sinusförmig modulierten Töne oder Rauschen, oder auch harmonische Tonkomplexe, deren Zeitstruktur durch die Phasenwahl der Einzelkomponenten definiert ist.

### 2.3.1 Modulationsfilterbank-Konzept

Im Vorfeld dieses Projektes existierten bereits umfangreiche eigene Arbeiten zur Modellierung der effektiven Signalverarbeitung im auditorischen System (Dau *et al.*,

1996a,b), insbesondere im Hinblick auf die Verarbeitung von Amplitudenmodulationen (Dau *et al.*, 1997a,b). Wesentlicher Baustein des Modells ist die postulierte Modulationsfilterbank am Ausgang jedes peripheren Filters.

Allerdings wurden die Parameter an experimentelle Daten angepaßt, die nur indirekte Aussagen über die Modulationsfrequenzselektivität zuließen. In neuen Messungen ging es deshalb um die Übertragung klassischer Meßparadigma, die sich bereits in der Peripherie beim Ausmessen der Frequenzgruppenbreite bewährt hatten, in den Modulationsbereich. Masking Patterns (z.B. Moore *et al.*, 1998), das sogenannte Bandwidening Experiment nach Fletcher (1940) sowie psychoakustische Tuning Curves (z.B. Chistovich, 1957) wurden ausgemessen, um die Übertragungscharakteristik der Modulationsfilter sowie den Existenzbereich der Modulationsfilterbank zu ermitteln. An die gefundenen Daten sollten neue Modellfilter angepasst werden.

### 2.3.2 Modulationstransferfunktionen

Als unmittelbare Grundlage für die geplanten Untersuchungen zu den AMFR war es wichtig, den Verlauf der psychoakustischen TMTFs für Träger unterschiedlicher Mittenfrequenzen zu bestimmen. In den eigenen Vorarbeiten wurden Rauschträger unterschiedlicher Bandbreite verwendet und der Einfluß der intrinsischen Eigenfluktuationen der Träger auf die Wahrnehmbarkeit der zusätzlich aufgeprägten Modulation umfassend erforscht (Dau, 1996; Dau *et al.*, 1997a,b). Dieses galt allerdings nicht für die vermeintlich einfachsten Signalkonfigurationen mit tonalen Trägern. Hierbei ist die Auflösung des Gehörs durch *internes* Rauschen bestimmt, da keine externe Statistik wie im Falle der Rauschträger vorhanden ist. Im Gegensatz zum Breitbandrauschen hängt es bei Sinusträgern zudem entscheidend von den Eigenschaften der *peripheren* Filterung (und demnach von der Trägerfrequenz) ab, ob das modulierte Signal als zeitliches oder spektrales Perzept wahrgenommen wird. Ziel war es, die Form der TMTF systematisch zu untersuchen, insbesondere vor dem Hintergrund, dass die in EEG-Studien abgeleiteten Transferfunktionen offensichtlich nahezu unabhängig von Trägerstatistik und Frequenz sind (Kuwada *et al.*, 1986; Rees *et al.*, 1986; Ross *et al.*, 2000).

### 2.3.3 Frequenzgruppenübergreifende Verarbeitung und auditorische Objekte

In der Literatur sind in einigen Arbeiten Interferenzeffekte bei der Wahrnehmung von Amplitudenmodulationen beschrieben worden (z.B. Yost *et al.*, 1989; Yost und Sheft, 1989). Einhüllendenfluktuationen in einem bestimmten (Träger-) Frequenzbereich erschweren die

Detektierbarkeit gleichzeitiger Modulationen in einem anderen, bis zu mehreren Oktaven entfernten, (Träger-) Frequenzbereich. Diese Interferenz wird als Modulation Detection Interference (MDI) bezeichnet und scheint auch in diesem frequenzgruppenübergreifenden Prozeß selektiv für Modulationsfrequenzen zu sein. Allerdings wurden in den meisten bisherigen MDI-Arbeiten jeweils Träger und Modulation von Signal und Maskierer *gleichzeitig* ein- und ausgeschaltet, so dass nicht klar ist, inwieweit MDI durch die Bildung zusammenhängender akustischer Objekte (grouping) determiniert ist. Um die Rolle der akustischen Objektbildung bei der frequenzgruppenübergreifenden Modulationswahrnehmung zu verstehen, haben wir in der ersten Reihe von Experimenten die Zeitverzögerung zwischen Träger- und Modulator-Onset jeweils für Signal- und Maskiererkomplex variiert. Im zweiten Experiment wurde der Einfluß von Sequential Streaming auf MDI untersucht, in dem vor den Maskierer eine Serie von Pulsen mit gleicher Frequenz geschaltet wurden. Für den Fall, dass Maskierer und Pulse perceptiv zu einem akustischen Objekt zusammengefaßt werden, sollte die auf den Signalton aufgeprägte Modulation leichter detektierbar sein, da sie unabhängig wahrgenommen wird.

#### 2.3.4 Interne Modulation durch Dispersion auf der Basilarmembran

Durch den oben beschriebenen im Rahmen des Projektes entwickelten Chirp werden die Laufzeitunterschiede *entlang* der Kochlea ausgeglichen, um die maximale Erregung in allen angeregten Frequenzbereichen nahezu zeitgleich zu erreichen. Die Parameter für die Berechnung ergaben sich dabei aus den hydromechanischen Eigenschaften des Schwingungssystems in der Kochlea, insbesondere aus der Steifigkeit der Basilarmembran. Der Verlauf der neuronalen Erregung am Ausgang *einzelner* kochleärer Filter ist dabei für die Ausbildung der Potenziale unkritisch, da nur die synchronisierte *Gesamtaktivität* ausschlaggebend ist. Im Gegensatz hierzu können Phaseneffekte innerhalb einzelner Frequenzgruppen in psychoakustischen Detektionsexperimenten erhebliche perzeptive Auswirkungen haben. In Detektionsexperimenten von Tönen in komplexen Maskierern können Schwellenunterschiede von über 30 dB auftreten bei Maskierern, die lediglich durch zeitliche Invertierung auseinander hervorgehen (Smith *et al.*, 1986; Kohlrausch und Sander, 1995). Diese Effekte hängen empfindlich vom Phasengang des auf die Testsignalfrequenz abgestimmten Filters ab, so dass klassische Modelle (z.B. Gammatonefilter) hier versagen, da sie eine falsche Phasencharacteristic aufweisen.

### 3. Ergebnisse und ihre Bedeutung

#### 3.1 Optimierte Reize für die Auslösung von Hirnstammpotenzialen

Unsere Ergebnisse mit dem im Projekt entwickelten Chirp-Stimulus sind in Dau *et al.* (2000) dargestellt. Die wesentlichen Resultate können wie folgt zusammengefaßt werden: Durch den Chirp wird eine hohe Synchronizität der Baillarmembranaktivität über einen großen Frequenzbereich hinweg erreicht. Offensichtlich spiegelt sich diese erhöhte Synchronizität auch auf den folgenden Hörbahnstationen wider, insbesondere im IC, in dem Welle V generiert wird. Die Anregung bewirkt bei kleinen und mittleren Pegeln eine wesentlich größere Potenzialamplitude als dies bei Clickanregung der Fall ist. Alle im Stimulus enthaltenen Spektralanteile tragen zum Potenzial bei. Der zeitlich invertierte (Down-) Chirp ruft die geringste Erregung hervor im Vergleich zum Upchirp und Click. Ein- und Ausschaltflanken haben bei Chirpanregung, zumindest bei kleinen und mittleren Pegeln, nur einen geringen Einfluß. Diese Ergebnisse demonstrieren, dass Hirnstammpotenziale nicht, wie häufig postuliert, als bloße onset- oder offset-Antworten aufgefaßt werden dürfen. Statt dessen kommt es auf die geeignete Phasencharakteristik der im Stimulus enthaltenen Frequenzen an.

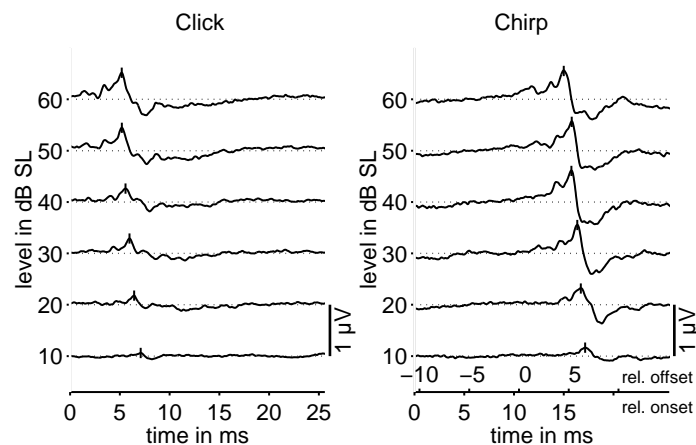


Abb. 5: Vergleich der frühen akustisch evozierten Potenziale bei Stimulation mit einem Click (links) und mit einem optimierten Chirp mit vergleichbarem Spektrum (rechts). Es wurden jeweils Pegel zwischen 10 und 60 dB SL dargeboten.

Die Ergebnisse zu unseren frequenzspezifischen Arbeiten sind in Wegner und Dau (2001) beschrieben. Die wichtigsten Erkenntnisse sind im folgenden zusammengefaßt. Bei Maskierung mit Hochpaßrauschen zeigte sich, dass die Potenzialamplitude bei Chirpanregung kontinuierlich mit steigender unterer Grenzfrequenz des Rauschens ansteigt, während bei



Clickanregung eine Sättigung bei mittleren Frequenzen beobachtet wurde. Dieses Ergebnis bestätigt, dass der Chirp über den gesamten Frequenzbereich hinweg effektiver anregt als der Click. Die Unterschiede in der Potenzialamplitude sind signifikant für alle Grenzfrequenzen des Rauschens (gewählt in Oktavsritten zwischen 0.5 bis 8 kHz). Besonders interessant und klinisch relevant ist der Unterschied bei den sehr tiefen Frequenzen ( $< 0.5$  kHz). Allerdings sind die mit der Derived-Response und der Notched-Noise Methode abgeleiteten aus den oktavbreiten Frequenzbereichen stammenden Antworten auf Chirp- bzw. Clickanregung nicht signifikant verschieden voneinander. Dies bedeutet, dass die Verbesserung der Anregung durch den Chirp nicht innerhalb einer Oktave sichtbar ist; es bedarf eines größeren Frequenzbereiches, der allerdings für die meisten klinischen Anwendungen nicht sehr interessant sein dürfte. Der Vorteil des Chirps bei den tiefen Frequenzen unterhalb 500 Hz kommt deshalb zustande, weil dieser Frequenzbereich eben eine große *relative* Bandbreite (von etwa 2 Oktaven) repräsentiert. Die Ergebnisse zeigen demnach einerseits die Grenzen der Chirpanregung auf, bestätigen andererseits den durch diese Methode erhofften Gewinn bei den tiefen Frequenzen. Dieser Gewinn zeigt sich auch beim Vergleich der evozierten Antworten auf den schmalbandigen Chirp bzw. Tonpuls. Bei kleinen und mittleren Pegeln ist auch hier das chirp-evozierte Potenzial signifikant größer in der Amplitude als beim klassischen Tonpuls.

Die mit den kombinierten Signalen gewonnenen Ergebnisse sind in Junius et al. (1999, 2000) und Junius und Dau (2001) beschrieben. Beispielhaft seien hier einzelne Resultate aufgeführt. Die evozierten Antworten auf den zusammengesetzten Stimulus aus tieffrequentem Ton, Upchirp und hochfrequentem Ton (siehe 2.1.1) entsprechen in Amplitude und (relativer) Latenz denen der Einzelkomponenten. Die Antwort auf den kombinierten Stimulus läßt sich demnach als die lineare Superposition der Antworten auf die Teilkomponenten verstehen. Für den Sinuston bildet sich beim höchsten gewählten Pegel eine *Periodizität* in der Potenzialantwort aus, die der Stimulusfrequenz entspricht. Bei kleinen und mittleren Pegeln hingegen verschwinden diese Antworten in der neuronalen Grundaktivität. Dieses entspricht den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen zu den Frequenzfolgepotenzialen (z.B. Batra *et al.*, 1986; March *et al.*, 1975). Der Chirp hingegen löst bei allen Pegeln eine peakige Antwort aus, deren (relative) Latenz bei etwa 6 ms liegt. Bei sehr hohen Pegeln verschmiert dieser Peak aufgrund des verbreiterten Erregungsmusters auf der Basilarmembran. Auf den hochfrequenten (4 kHz-) Ton bildet sich kein Frequenzfolgepotenzial aus, da die phasensynchrone neuronale Aktivität im auditorischen System oberhalb von 1 kHz zusammenbricht (Johnson, 1980; Rose *et al.*, 1968; Palmer und

Russell, 1986). In Abb. 6 sind die mit dem kombinierten Stimulus evozierten Potenziale beispielhaft für eine Versuchsperson dargestellt.

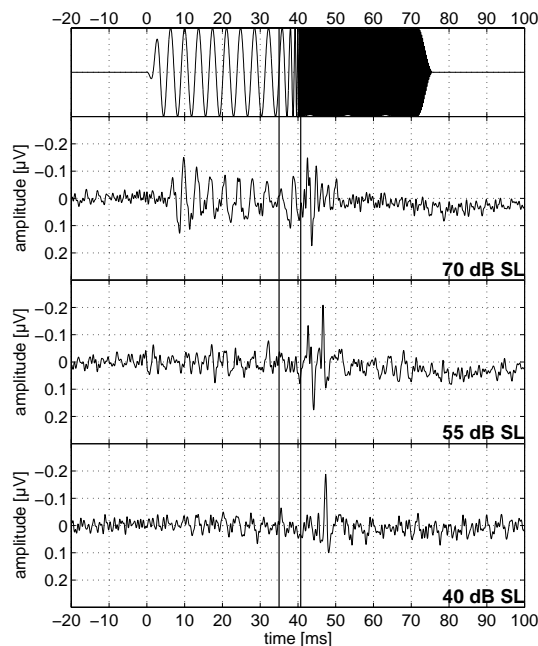


Abb. 6: Typische mit dem Kombinationsstimulus evozierte Potenziale. Im oberen Teil der Abbildung ist der Stimulus dargestellt. Darunter sind die evozierten Potenziale bei Darbietung des Stimulus mit verschiedenen Pegeln (40, 55 und 70 dB SL) zu sehen.

Die Ergebnisse mit der zusammengesetzten Serie aus auf- und absteigenden Chirps sind ähnlich. Auch hier läßt sich die Antwort auf den kombinierten Stimulus als lineare Superposition der Einzelantworten auffassen. Da die Übergänge im Updown-Chirp stetig differenzierbar sind, können keine Ein- und Ausschaltvorgänge auftreten. Entgegen der weitverbreiteten Ansicht stellt also nicht der Ein-/Ausschaltvorgang den Haupteffekt für die FAEP Welle V dar. Der Upchirp bewirkt eine hohe Potenzialamplitude während der Downchirp nur ein sehr schwaches Potenzial hervorruft. Abbildung 7 zeigt die zugehörigen Daten am Beispiel einer Versuchsperson.

Die in diesem Abschnitt beschriebenen Ergebnisse demonstrieren die fundamentale Bedeutung der kochleären Verarbeitung für die Ausbildung der Hirnstammpotenziale. Die entwickelten Stimuli erlauben ein tieferes Verständnis der Entstehungszusammenhänge der frühen akustisch evozierten Potenziale. Für die klinische Diagnostik bedeutet dies insbesondere, dass sowohl der Breitbandchirp im Vergleich zum Click sowie Schmalband-Chirps im Vergleich zu Tonpulsen oder gefilterten Clicks vorteilhaft sind, da sie signifikant größere Potenzialamplituden hervorrufen und eine bessere objektive Schätzung des Hörvermögens ermöglichen. Die Ergebnisse mit den zusammengesetzten Reizen

demonstrieren, dass die Welle V der FAEP und das Frequenzfolgepotenzial von den gleichen Strukturen im Hirnstamm generiert werden.

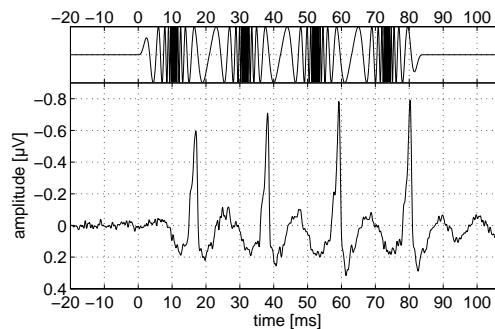


Abb. 7: Mit dem Updown-Chirp gemessene akustisch evozierte Potenziale. Der Stimulus ist in der oberen Achse der Abbildung dargestellt. Darunter sind die evozierten Potenziale bei Darbietung des Stimulus mit einem Pegel von 40 dB SL zu sehen.

### 3.2 Modellierung von Hirnstammpotentialen

Das in Abschnitt 2.2 skizzierte Modell und die hiermit simulierten Potenzialverläufe sind in Dau (2001) beschrieben. Einige der Ergebnisse sind im folgenden zusammengefaßt. Die wesentliche Modellannahme besteht darin, alle pegelabhängigen nichtlinearen Prozesse der Peripherie zuzuschreiben und die anschließende Verarbeitung als *linear* anzunehmen. Mit Peripherie ist hierbei die Verarbeitung bis zum auditorischen Nerven gemeint. Es wird daher angenommen, dass die Aktivitäten in den späteren Stationen (CN, Olivenkomplex, IC) im wesentlichen zeitlich versetzte Reaktionen auf den gleichen Eingangsreiz darstellen und die Fernfeldverteilung die lineare Superposition der Einzelaktivitäten repräsentiert.

Abbildung 8 zeigt die mit dem Modell simulierten Potenzialverläufe für den in Abschnitt 2.1.3 beschriebenen Kombinationsstimulus und den Updown-Chirp. Beim Kombinationsstimulus ist sehr gut zu sehen, wie sich bei hohen Pegeln das Frequenzfolgepotenzial als Antwort auf den tieffrequenten Sinuston ausbildet, während bei mittleren und kleinen Pegeln keine periodische Antwort erkennbar ist. Dieses entspricht exakt den experimentellen Daten. Zudem ist zu sehen, dass der Chirp ein Antwortmaximum erzeugt, das bei allen Pegeln sichtbar und bei kleinen Pegeln besonders ausgeprägt ist. Der 4-kHz Ton erzeugt in Übereinstimmung mit den Daten keine Antwort, da die im Modell enthaltene Haarzellentransformation phasengekoppelte Information nur bis etwa 1 kHz überträgt. Die simulierte Antwort auf den Updown-Chirp zeigt einen deutlichen Peak als Reaktion auf den Upchirp und eine sehr geringe Antwort auf den Downchirp. Wie in den experimentellen Daten sind die Peaks bei kleinen und mittleren Pegeln stark ausgeprägt,

während das Antwortmuster bei hohen Pegeln komplexer wird, da hier durch die nichtlineare Erregungsverteilung auf der Basilarmembran auch basale Bereiche von den tiefrequenten Anteilen im Stimulus angeregt werden.

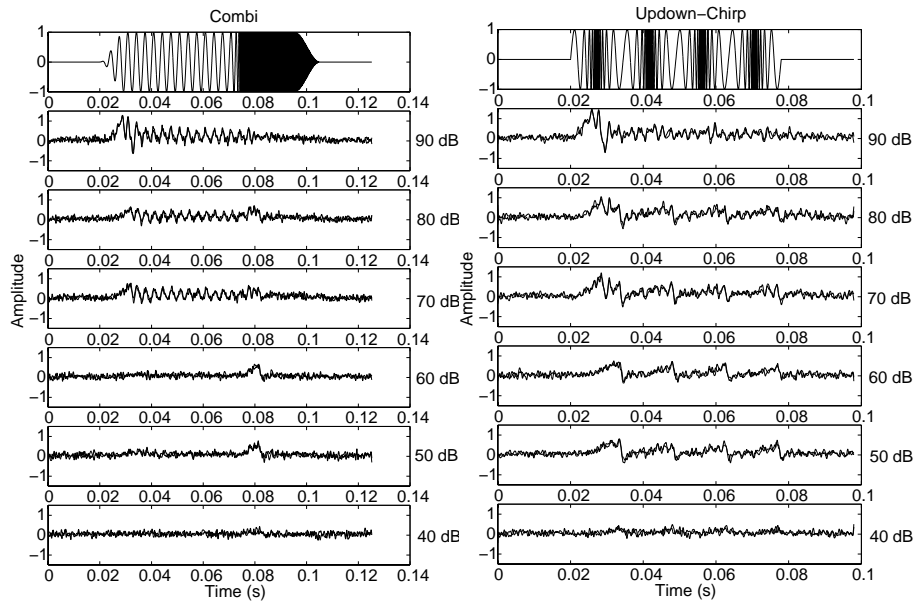


Abb. 8: Mit dem Modell simulierte Potenzialverläufe für den Kombinationsstimulus (links, vgl. Abb. 6) und den Updown-Chirp (rechts, vgl. Abb. 7). Die Stimuli sind jeweils in der obersten Achse dargestellt. Darunter sind die Simulationsergebnisse bei Darbietung der Stimulus mit verschiedenen Pegeln (40, 50, 60, 70 und 80 dB HL) zu sehen.

Das Modell zeigt in allen getesteten Konditionen eine qualitative Übereinstimmung mit den experimentellen Daten. Allerdings ist die Antwort auf den Upchirp weniger kompakt als im Experiment. Dieses mag damit zusammenhängen, dass im Modell eine andere Basilarmembran-Simulation (Filterbankmodell) verwendet wurde als für die Entwicklung des Chirps (de Boer's Transmission-Line Modell). Die beiden Modelle machen leicht unterschiedlich Vorhersagen über die Laufzeitunterschiede auf der Basilarmembran. Eine genaue Analyse dieser Unterschiede steht allerdings noch aus.

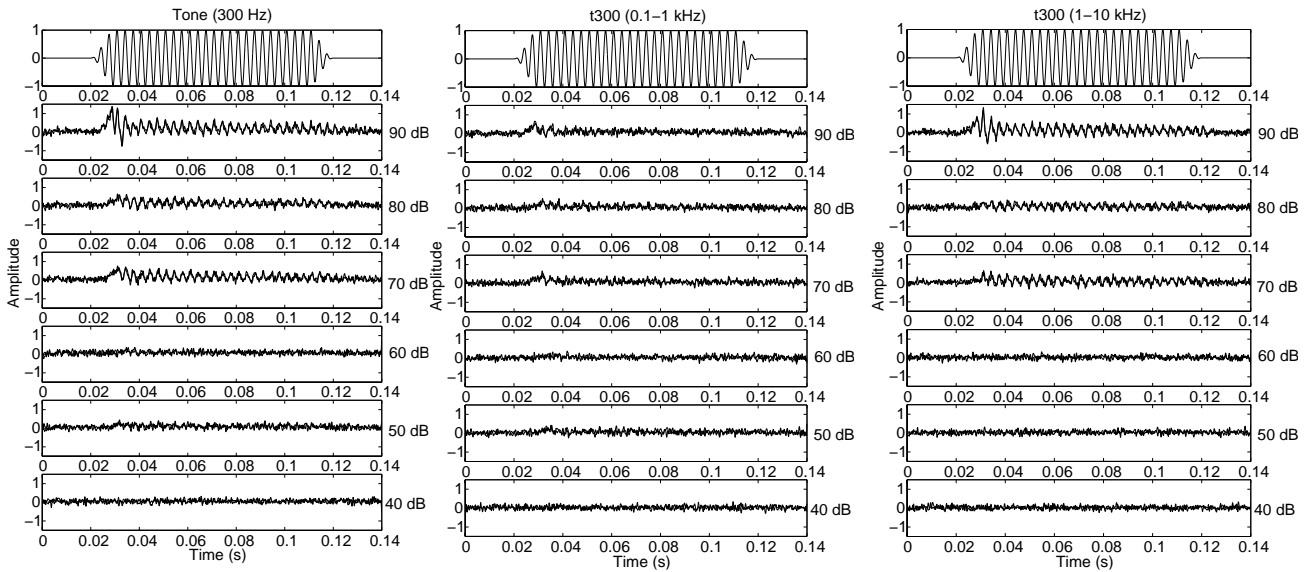


Abb. 9: Modellvorhersagen bei Stimulation mit einem 300-Hz Ton. Im linken Teilbild sind alle Frequenzkanäle im Bereich von 0.1-10 kHz berücksichtigt. Das beiden rechten Teilbilder zeigen Simulationen, bei denen nur die Frequenzen zwischen 0.1-1 kHz (mittleres Teilbild) bzw. 1-10 kHz (rechtes Teilbild) beitragen.

Die Modellierung hat eine entscheidende Schlüsselfunktion beim Verständnis der Mechanismen, die für das Frequenzfolgepotenzial verantwortlich sind. Abbildung 9 zeigt Simulationen für einen 300-Hz Ton. Im linken Teilbild sind alle Frequenzkanäle im Bereich von 0.1-10 kHz berücksichtigt. Das mittlere Teilbild zeigt Simulationen, bei denen nur die Frequenzen zwischen 0.1–1 kHz beitragen, während im rechten Teilbild ausschließlich Frequenzen zwischen 1 und 10 kHz betrachtet wurden. Es ist deutlich zu sehen, dass keine Antworten generiert werden, wenn nur die Kanäle ausgewertet werden, in denen die Stimulusenergie am größten ist, also in der Nähe von 300 Hz. Statt dessen wird durch die Simulation, in der nur hochfrequente off-frequency Kanäle ausgewertet werden, die vollständige Antwort generiert. Folglich kann das Frequenzfolgepotenzial nicht in den Regionen entstehen, die gemäß der tonotopen Abbildung besonders sensitiv sind für diese Frequenzen. Das Ergebnis ist plausibel: im tieffrequenten Bereich sind die neuronalen Feuerratenverläufe durch die Laufzeitunterschiede auf der BM nur schwach synchronisiert, d.h. sie überlagern sich in der Summe destruktiv. Bei hohen Pegeln antworten auch die basalen Neuronen auf den tieffrequenten Reiz und antworten mit der gleichen Periodizität. Dieses Phänomen ist schon vor langem in physiologischen Experimenten untersucht worden (Kiang und Moxon, 1974). Wichtig ist nun, dass sich durch die nur marginalen Laufzeitunterschiede zwischen den hochfrequenten Kanälen die Aktivität konstruktiv überlagert und eine starke

Summenantwort ermöglicht. Entsprechende Hypothesen sind bereits früher aufgestellt worden (Janssen *et al.*, 1990), aber nicht mit realistischen (nichtlinearen) Modellen getestet worden.

Frequenzfolgepotenziale können demnach keine frequenzspezifische Aktivität repräsentieren und sollten auf keinen Fall als objektives Korrelat für das Tiefftonhörvermögen interpretiert werden. Die Modellrechnungen bieten zusätzlich die Chance, den Einfluß von Innenohrschwerhörigkeit (z.B. den Ausfall der kochleären Kompression und die Verringerung der Frequenzselektivität) zu testen (Derleth *et al.*, 2001). Ohne eine realistische Nachbildung der peripheren Prozesse in den frühen Hörbahnstationen ist es kaum möglich, die beobachteten Potenzialverläufe zu verstehen.

### 3.3 Modulationsverarbeitung

Die Arbeiten zur Charakterisierung der Modulationsfrequenzselektivität sind in Ewert und Dau (2000) veröffentlicht. Es konnte mit klassischen Methoden sowohl der Existenzbereich der Modulationsfilter als auch eine gute Schätzung der Filterparameter (Güte, Filterform) experimentell ermittelt werden. Es zeigte sich deutlich, dass sowohl die Methode der Masking Patterns als auch die psychoakustischen Tuning Curves gut geeignet waren, die Selektivität zu bestimmen, während das von Fletcher (1940) vorgeschlagene bandwidening Experiment keine sinnvolle direkte Charakterisierung der Filter zuließ, da die Frequenzselektivität nur sehr gering ist ( $Q=1$ ). Abbildung 10 zeigt beispielhaft die über alle Versuchspersonen gemittelten Masking Patterns für die Modulationsfrequenzen 4, 16, 64, und 256 Hz. Es konnten im Modulationsfrequenzbereich bis etwa 150 Hz Bandpaßfilter 2. Ordnung an die Daten angepaßt werden. Für höhere Modulationsfrequenzen konnte in den Messungen keine Selektivität nachgewiesen werden. Das in Ewert und Dau (2000) vorgeschlagene „Envelope power spectrum model“ erfaßt die experimentellen Daten sehr gut, während die in der Literatur beschriebenen klassischen Ansätze ohne Modulationszerlegung (z.B. Viemeister, 1979; Strickland und Viemeister, 1996) scheitern. Mit dem Modell konnte zudem erstmals gezeigt werden, dass der prinzipielle Verlauf der TMTF für Rauschträger auch unter der Annahme einer instantanen (kochleären) Kompression erklärt werden kann.

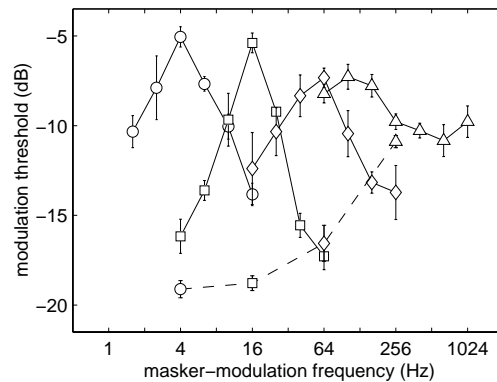


Abb. 10: Über alle Versuchspersonen gemittelte Masking Patterns für die Modulationsfrequenzen 4, 16, 64 und 256 Hz. Als Maskierer wurde jeweils  $\frac{1}{2}$ -oktavbreites Rauschen gewählt, das um die Signalfrequenz herum verschoben wurde. Der Träger war Breitbandrauschen.

Die Ergebnisse zu den Modulationstransferfunktionen (TMTFs) mit Sinusträgern sind in Kohlrausch *et al.* (2000) veröffentlicht. Ziel der Arbeiten war es, den Verlauf der TMTFs systematisch als Funktion von Trägerfrequenz und Pegel zu untersuchen und die Ergebnisse in die bisher entwickelten Modellierungskonzepte einzubeziehen, um ein verallgemeinertes Modell für die gehörgerechte Verarbeitung nicht-stationärer Schalle zu entwickeln. Die wesentlichen Ergebnisse sind wie folgt (s. Abb. 11): Für Modulationsfrequenzen bis etwa 100 Hz ist die Detektionsschwelle und damit die Sensitivität des Gehörs nahezu konstant (Modulationsgrad  $m = -30$  dB bei mittleren Pegeln), es sei denn, die Seitenlinien werden (bei tiefen Trägerfrequenzen) bereits vom Gehör spektral aufgelöst, was die Detektierbarkeit erleichtert. Für Modulationsfrequenzen ab 150 Hz nimmt die Sensitivität etwa mit der Charakteristik eines Tiefpaßfilters erster Ordnung ab. Dieses zeigt sich sehr deutlich bei hohen Trägerfrequenzen (z.B. 5 kHz): die Schwellen steigen an, obwohl die Übertragungsfunktion der peripheren Filter die Seitenlinien in diesem Bereich noch nicht abschwächt. Erst wenn auch hier die Seitenlinien spektral aufgelöst werden (bei mehreren Hundert Hz), sinkt die Schwelle ab. Die beobachtete Trägheit der Verarbeitung von Frequenzen  $> 150$  Hz kann deshalb auf keinen Fall durch periphere Prozesse erklärt werden, sondern entsteht auf zentraleren Stufen der Verarbeitung. In unserer aktuellen Modellierung ist, basierend auf den Ergebnissen in Ewert und Dau (2000) und Kohlrausch *et al.* (2000), zusätzlich zur Modulationsfilterbank-Zerlegung ein Tiefpaß 1. Ordnung mit einer Grenzfrequenz von 150 Hz vorgesehen.

Die Ergebnisse demonstrieren die Bedeutung der statistischen Eigenschaften der Signale (z.B. bei Rauschträgern) und die Rolle der peripheren und zentralen Verarbeitung bei der Bewertung zeitlicher Fluktuationen. Die Daten stellen eine umfangreiche Basis für die geplanten Experimente zu den AMFR dar, die mit den identischen Stimuli durchgeführt werden sollen. Wie bilden sich die Signale beim Übergang von zeitlichen zu spektralen Wahrnehmungsmerkmalen im Potenzial ab? Gibt es einen elektrophysiologischen Nachweis der postulierten Modulationsfilter?

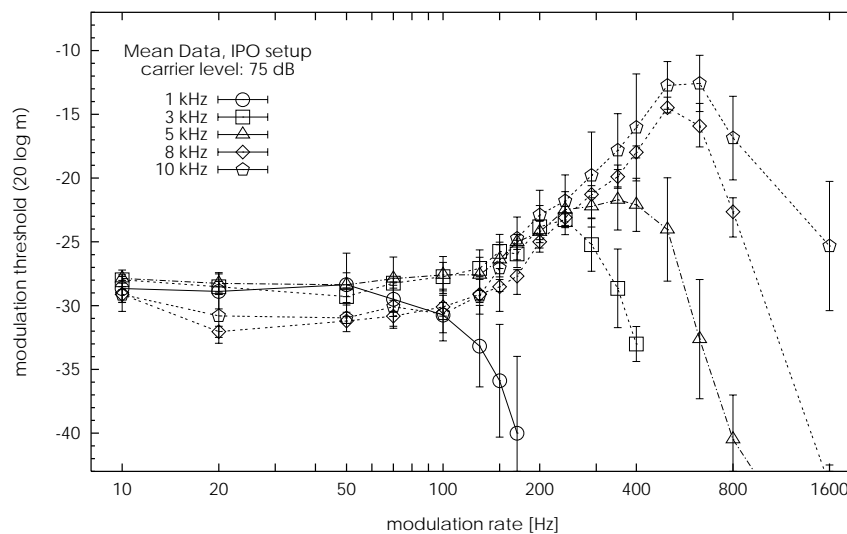


Abb. 11: Über viele Versuchspersonen gemittelte Modulationstransferfunktionen für verschiedene Trägerfrequenzen zwischen 1 und 10 kHz. Der Gesamtpegel betrug 75 dB SPL.

Unsere Ergebnisse zur frequenzgruppenübergreifenden Modulationsverarbeitung sind in Oxenham und Dau (2001a) veröffentlicht. Modulationsfrequenzselektive Maskierung ist nicht nur auf Situationen beschränkt, in denen Signal- und Maskiermodulation auf den gleichen Träger aufgeprägt sind wie z.B. in Ewert und Dau (2000), sondern auch wenn Signal- und Maskierträger spektral mehrere Oktaven voneinander entfernt sind. Allerdings scheinen die zugrunde liegenden Mechanismen weniger fest verschaltet zu sein als in on-frequency Situationen (Moore und Shailer, 1992; Hall und Grose, 1991). Es zeigt sich zum Beispiel, dass MDI stark *vermindert* ist, wenn Signalträger und Maskierträger zeitlich versetzt ein- und ausgeschaltet werden, selbst wenn die Signal- und Maskiermodulation zeitlich synchron dargeboten werden. MDI ist sogar völlig aufgehoben, wenn im Vergleich zur klassischen MDI Situation mit zeitlich synchron geschalteten Trägern und Modulationen *vor* den Maskierer zusätzliche Tonpulse gleicher Frequenz geschaltet werden. Hierdurch wird der Maskierer perzeptiv gebunden und die Signalmodulation wird unabhängig verarbeitet.



Ähnliche Effekte sind in der Literatur in Untersuchungen zu sequential streaming untersucht worden (Bregman und Campbell, 1971; Bregman, 1978; Darwin et al., 1989, 1995; Culling und Summerfield, 1995). Die gefundenen Ergebnisse sind wichtig für die noch ausstehende Modellierung frequenzgruppenübergreifender Prozesse bei der Verarbeitung nicht-stationärer Signale.

Die psychoakustischen Experimente zum Themenkomplex „Interne Modulation durch Dispersion“ sind in Oxenham und Dau (2001 b,c) veröffentlicht. Ziel der Arbeiten ist die Weiterentwicklung kochleärer Modelle. Während der Amplitudengang der Filter bereits in vielen Arbeiten untersucht wurde, ist der Phasengang der Übertragung bisher meist vernachlässigt worden. Die dispersiven Prozesse innerhalb eines Segmentes (Filters) auf der Basilarmembran können zu stark unterschiedlichen internen Repräsentationen am Ausgang führen, je nachdem, ob die im Eingangsstimulus enthaltenen Frequenzkomponenten gerade durch den Phasengang des Filters zeitlich komprimiert oder gestreckt werden. Die Auswirkungen sind wahrscheinlich unkritisch für die Modellierung der evozierten Potenziale, da hierfür vornehmlich die Synchronisation in vielen Kanälen frequenzübergreifend wichtig ist, während die genaue Abbildung der Aktivität innerhalb einer Frequenzgruppe vernachlässigt werden kann. Demgegenüber zeigen sich in psychoakustischen Experimenten z.T. extreme Effekte, die nur mit einem realistischen Phasengang nachgebildet werden können. In Oxenham und Dau (2001b) wird gezeigt, dass weder gängige Filterbankmodelle wie Gammatone- und Gammachirp-Filterbank (Patterson *et al.*, 1987, Patterson *et al.*, 1995) noch eindimensionale Transmission-Line Modelle (Strube, 1986; Giguere und Woodland, 1994) in der Lage sind, die experimentellen psychoakustischen Daten zu beschreiben. Gammatone- bzw. Gammachirp-Filterung bilden den Amplitudengang recht gut nach, versagen aber völlig bei der Phasencharakteristik. Transmission-line Modelle realisieren zwar eine dispersive Übertragung, allerdings ist die angenommene Krümmung des Phasengangs (also die zweite Ableitung der Phase nach der Frequenz) zu gering. Vor allem aber ist der in diesen Modellen vorhergesagte Amplitudengang vollkommen unrealistisch. Ausgehend von unseren experimentellen Daten konnten wir schließlich ein Filter extrahieren, dessen Amplituden- und Phasengang in getrennten Simulationen an die Daten angepaßt wurden. In Oxenham und Dau (2001c) wurde der Phasengang der Basilarmembran als Funktion der Mittenfrequenz und des Pegels mit Hilfe von Detektionsexperimenten mit Tonkomplexmaskierern geschätzt. Es zeigte sich, dass der Phasengang stark von der Frequenz und nur unwesentlich vom Pegel abhängt. Die Entwicklung effizienter Modelle zur Beschreibung all dieser Effekte ist komplex und steht noch aus.

#### 4. Diskussion

Der Chirpreiz ist bereits in einer Reihe von Arbeiten in unterschiedlichen Zusammenhängen auch außerhalb des SFBs untersucht worden. Rupp *et al.* (2001) haben Vielkanal-MEG Experimente durchgeführt und konnten zeigen, dass die bisher im Hirnstamm beobachteten charakteristischen Unterschiede zwischen Upchirp-, Downchirp- und Click-Anregung bis zum primären auditorischen Cortex (AI) erhalten bleiben. Dies bedeutet, dass auch der Verlauf der evozierten Potenziale mittlerer Latenz maßgeblich von der Erregungsbildung in der Peripherie abhängt. Dieses hat für die noch ausstehende Modellierung kortikaler Potenziale große Bedeutung.

Der Chirp wird zudem inzwischen im Bereich transient evozierter otoakustischer Emissionen (TEOAE) (Medri und Özdamar, 2000) und in der klinischen Diagnostik (Bell *et al.*, 2001) eingesetzt, da bessere Signal-Rausch Verhältnisse als z.B. mit Clickanregung erzielt werden können. Bell *et al.* (2001) boten den Chirp in Maximalfolgensequenzen an, um bei Messungen von kortikalen Potenzialen innerhalb einer vorgegebenen Zeit ein maximales Signal-Rausch-Verhältnis zu erreichen.

Auch die *Wahrnehmung* von Chirps wird bereits in einigen Arbeitsgruppen intensiv erforscht. Wie hängt die interne neuronale Repräsentation des Chirps mit dem Perzept zusammen? Warum klingt der Click wie ein Click? Warum klingt der Upchirp weniger kompakt als der Downchirp? Diese Effekte wurden quantitativ in psychoakustischen Experimenten untersucht (Uppenkamp *et al.*, 2000, 2001; Fobel *et al.*, 2000, 2001). Für die Geräuschqualität von kurzen Chirpsignalen spielt die Feinstruktur *einzelner* Kanäle offensichtlich eine wichtige Rolle, während Phasenunterschiede zwischen verschiedenen Kanälen vernachlässigt werden können. Eine mögliche Erklärung ist ein zeitlicher *Integrationsmechanismus*, der Phasenunterschiede entfernt und die Feinstruktur bewahrt. Ein solcher Mechanismus ist in dem von Patterson *et al.* (1995) vorgeschlagenen Auditory Image Modell (AIM) realisiert. Das Modell simuliert Basilarmembranbewegung, die neuronale Aktivität im auditorischen Nerv und produziert daraus durch zeitliche Integration ein 'Stabilised Auditory Image'. Ob ein solches Image tatsächlich als interne Repräsentation des akustischen Signals die Basis für unsere Wahrnehmung darstellt, muß noch in weiteren kritischen Experimenten untersucht werden.

Ziel unseres Projektes ist die Erforschung des Zusammenhangs zwischen psychoakustischen Empfindungsgrößen und akustisch evozierten Potenzialen. In vielen Arbeiten wird postuliert, dass entsprechende Korrelate existieren. Beispielsweise wird in der

klassischen Studie von Marsh *et al.* (1975) gezeigt, dass die psychoakustische Mithörschwelle eines (tieffrequenten) Tones in maskierendem Rauschen mit der Schwelle des entsprechenden Frequenzfolgepotenzials übereinstimmt. Allerdings wurde dieses nur für hohe Maskiererpegel und entsprechend hohe Testsignalpegel (>70 dB SPL) getestet. Mit unserem Modell der evozierten Potenziale können die von Marsh *et al.* gefundenen Daten genau nachgebildet werden. Allerdings ist die Interpretation im Rahmen des Modells eine völlig andere. Für die evozierten Potenziale spielt die synchronisierte Aktivität in den basalen Frequenzkanälen eine entscheidende Rolle, während in den psychoakustischen Experimenten im wesentlichen die Signalinformation in der Nähe der Signalfrequenz zur Detektion ausgenutzt wird (Viemeister, 1988). Die gefundene postulierte Korrelation kann deshalb nur zufällig sein. Die zugrunde liegenden Mechanismen sind demnach in diesen Konditionen höchstwahrscheinlich sehr unterschiedlich.

Ähnlich verhält es sich mit anderen Wahrnehmungsgrößen. In den von uns in der ersten Forschungsperiode durchgeführten Experimente konnten wir zwar eine gewisse Korrelation zwischen der Amplitude der Welle V und der psychoakustischen *Lautheit* feststellen, allerdings bildete sich das Phänomen der Lautheitssummation nicht in den Potenzialen ab (Wegner *et al.*, 1999, 2000). In Untersuchungen zur Kodierung der Tonhöhe (Pitch) haben Chambers *et al.* (1986) Frequenzfolgepotenziale von Stimuli untersucht, die entweder die gleiche Einhüllendenperiodizität aber unterschiedlichen Pitch erzeugen oder aber gleichen Pitch besitzen bei unterschiedlicher Periodizität. Die Ergebnisse zeigten eindeutig, dass sich in den Potenzialen die physikalischen Parameter wie in diesem Fall die Einhüllendenperiodizität abbildete, während der Pitch offensichtlich entweder auf andere Weise oder in späteren Prozessen extrahiert wird.

Die experimentellen Ergebnisse und unsere Modellrechnungen zeigen, dass zumindest die bis zum Hirnstamm und wahrscheinlich bis zum primären auditorischen Kortex generierten Potenziale in direktem Zusammenhang mit dem internen neuronalen Erregungsmuster am Ausgang der kochleären Vorverarbeitung stehen. Viele der bekannten (nichtlinearen) Effekte in der Peripherie bilden sich direkt in den Fernfeldpotenzialen ab. Hingegen findet die *Bewertung* des Schalls sowie zeitlich und spektrale Integrationsmechanismen offenbar erst auf zentraleren Stufen jenseits des primären auditorischen Kortex statt. Dieses mag etwas ernüchternd sein, da diese Mechanismen gerade für das Verständnis der neuronalen Grundlagen *kognitiver* Leistungen wichtig sind. Andererseits waren alle bisherigen Erkenntnisse von fundamentaler Bedeutung für das Verständnis der Entstehungsmechanismen der frühen und mittleren evozierten Potenziale. Die

bisherige Vorgehensweise erlaubte den kritischen Test bisheriger klassischer Hypothesen und dürfte wesentliche Konsequenzen haben in wichtigen Anwendungsbereichen der klinischen Diagnostik. Der bisherige bottom-up Ansatz wird auch weiterhin sehr vielversprechend sein bei der Erforschung der steady-state Antworten. Für die Modellrechnungen in diesem Bereich muß die im bisherigen Modell angenommene effektive Impulsantwort des Systems um eine Komponente mittlerer Latenz erweitert werden, die die Antwort im primären auditorischen Kortex repräsentiert, erweitert werden. Da hierzu keine tierexperimentellen physiologischen Daten vorliegen, wird die entsprechende Impulsantwort durch Dekonvolution aus gemessenen Daten und der (integrierten) Aktivität im Hörnerven berechnet werden (Gutschalk *et al.*, 1999).

Unsere psychoakustischen Ergebnisse zur Modulationsverarbeitung bilden eine geeignete Grundlage für die geplanten Untersuchungen zu den steady-state Antworten. Die Annahme einer Modulationsfrequenzerlegung innerhalb jeder Frequenzgruppe scheint inzwischen etabliert und ist bereits in vielen veröffentlichten Arbeiten ausserhalb des SFB in der Modellierung eingesetzt worden (z. B. Moore *et al.*, 1999, 2000; Lorenzi *et al.*, 2001). Die Modulationsfilterbank ermöglicht die Nachbildung einer Vielzahl von psychoakustischen Phänomenen. Natürlich kann es sich hierbei nur um eine Modellierung der effektiven Signalverarbeitung handeln: die zugrundeliegenden neuronalen Entstehungsmechanismen sind noch nicht verstanden. Es wird interessant sein zu untersuchen, ob mit Hilfe der evozierten Potenziale ein Nachweis der Modulationsfilter gelingen kann. Zudem wird es eine große Herausforderung sein, die in Oxenham und Dau (2001a) gefundenen für die akustische Objektbildung wichtigen Parameter (wie z.B. zeitliche Synchronizität, Harmonizität, Streaming) in eine verallgemeinerte Modellierung einzubeziehen. Hierbei wird es nötig sein, auch top-down Prozesse zu berücksichtigen.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

- Die erhoffte erhöhte Synchronisation der neuronalen Aktivität durch Stimulation mit einem die kochleären Laufzeitunterschiede ausgleichenden Chirp konnte in den Hirnstammpotenzialen bestätigt werden. Alle im Stimulus enthaltenen Spektralanteile tragen zum Potenzial bei. Die Amplitude der Welle V der Potenziale fällt deutlich höher aus als beim Click, der bisher als idealer Reiz für die Auslösung der Potenziale betrachtet wurde. Hirnstammpotenziale dürfen deshalb nicht, wie häufig postuliert, als bloße onset-

oder offset-Antworten aufgefaßt werden. Statt dessen kommt es auf die geeignete Phasencharakteristik der im Stimulus enthaltenen Frequenzen an.

- Die frequenzspezifischen Arbeiten zeigen, dass sich der Vorteil des Chirps gegenüber dem Click über den gesamten Frequenzbereich erstreckt. Signifikante Unterschiede können aber nur bei Anregung in Frequenzbereichen größer 1 Oktave nachgewiesen werden. Besonders interessant ist der Vorteil des Chirps bei tiefen Frequenzen ( $< 1$  kHz), wo er als objektiver Nachweis des Hörvermögens in der klinischen Diagnostik eingesetzt werden kann.
- Durch Faltung des Feuerratenverlaufs im auditorischen Nerven mit der für eine feste Elektrodenkonfiguration angenommenen effektiven Impulsantwort der am Entstehungsprozeß beteiligten Neuronen (in AN, AVCN, MSO, IC) kann die von diesen Neuronen hervorgerufene Feldverteilung am Ausgang berechnet werden. Aus der linearen Superposition der Aktivitäten in allen Frequenzbereichen kann die Gesamtaktivität berechnet und mit gemessenen Potenzialen verglichen werden.
- Das Modell kann sowohl die eigenen Daten sowie viele in der Literatur beschriebene Potenzialverläufe erfolgreich nachbilden. Der wichtigste Erkenntnisgewinn lag in der Analyse der Entstehungsmechanismen der Frequenzfolgepotenziale. Diese typischerweise von Tönen im Tieffrequenzbereich ( $< 1$  kHz) hervorgerufenen Potenziale, die nur bei hohen Pegeln sichtbar sind, repräsentieren höchstwahrscheinlich die im hochfrequenten Bereich ( $> 1$  kHz) synchronisierte neuronale Aktivität, die die gleiche Periodizität aufweist wie der Stimulus.
- Psychoakustisch gemessene Modulationstransferfunktionen hängen stark vom verwendeten Trägersignal ab. Bei Rauschträgern bestimmen die statistischen Eigenschaften des Trägers den Verlauf der TMTF. Bei Sinusträgern ist internes Rauschen der die Detektion limitierende Faktor. Periphere Filterung beeinflusst die Wahrnehmung, da bei hohen Modulationsfrequenzen die Seitenlinien spektral aufgelöst werden. Beim Übergang von zeitlicher zu spektraler Wahrnehmung treten Trägheitseffekte auf, die nur durch zentrale Mechanismen erklärt werden können.
- Modulationsfilter konnten durch die Auswahl spezieller experimenteller Paradigmen direkt charakterisiert werden. Die Filter lassen sich in einem Modulationsfrequenzbereich bis etwa 150 Hz nachweisen. An die Daten können Bandpaßfilter 2. Ordnung angepaßt werden. Die Skalierung der Filter ist unabhängig von der Trägerfrequenz.
- Modulationsfrequenzselektivität zeigt sich auch bei frequenzgruppenübergreifender Verarbeitung. Die beobachtete Interferenz hängt allerdings stark von der akustischen

Umgebung ab. Die Wahrnehmung ist von objektbildenden Parametern wie z.B. Synchronizität oder Harmonizität der beteiligten Signalkomponenten abhängig, so dass top-down Prozesse beteiligt sind.

- Abhängig von der komplexen Übertragungsfunktion der peripheren Filter können starke Unterschiede in der zeitlichen Modulation der internen neuronalen Repräsentation der Signale auftreten und in psychoakustischen Detektionsexperimenten beobachtet werden. Der Phasengang der einzelnen peripheren Filter kann demnach in Wahrnehmungsexperimenten eine große Rolle spielen, während die Bedeutung für die Ausbildung von evozierten Potenzialen ungeklärt ist.

#### Offene Fragen:

- Das bisher entwickelte Modellierungskonzept der evozierten Potenziale müßte prinzipiell auf die Beschreibung mittlerer Potenziale erweitert werden können, um die Aktivitäten bis zum primären auditorischen Kortex zu erfassen. Besonders interessant wäre es hierbei zu testen, inwiefern sich steady-state Potenziale bereits durch die lineare Überlagerung der frühen und mittleren Komponenten beschreiben lassen, oder ob eigenständige Resonanzen angenommen werden müssen.
- Die Entstehungsmechanismen der Amplitude Modulation Following Responses (AMFR) sind vollkommen unklar. Alle veröffentlichten Daten zeigen eine Tiefpaßcharakteristik bei der Übertragung der Modulationen, unabhängig vom verwendeten Träger. Dieses steht in völligem Gegensatz zu den aus Wahrnehmungsexperimenten abgeleiteten Übertragungsfunktionen. Was wird also durch die AMFR repräsentiert?
- Während in einfachen akustischen Umgebungen die Konzepte/Prinzipien der Verarbeitung von Amplitudenmodulationen weitgehend verstanden sind, sind die Strategien des Gehörs in komplexeren Bedingungen noch sehr unklar. Während inzwischen umfangreiche experimentelle Daten gesammelt wurden, steht eine konsistente Modellierung noch aus. Top-down Prozesse müssen berücksichtigt werden, um auch Aspekte der auditorischen Objektbildung erfassen zu können.
- Ein großes Ziel bleibt ein besseres Verständnis der Korrelation von Perzeption und evozierten Potenzialen. Während die Interpretation der beobachteten Potenzialmuster immer klarer wird, bleiben wichtige Fragen offen. Beispielsweise bilden sich Lautheit und Tonhöhe nicht direkt in den (bisher untersuchten) Potenzialen ab; statt dessen sind es die Signalparameter, die sich nach gehörgerechter bottom-up Verarbeitung deutlich in den

Potenzialen widerspiegeln. Alternative experimentelle Methoden, z.B. die Potenzialaufzeichnung in aufmerksamkeitsgesteuerten Experimenten, sollten einbezogen werden, um einen direkteren Vergleich mit den Ergebnissen aus den Wahrnehmungsexperimenten zu ermöglichen.

- Ein wichtiger Punkt für das Verständnis der Zusammenhänge zwischen evozierten Potenzialen und psychoakustischen Leistungen ist die Erarbeitung eines gemeinsamen Modell-, „Frontends“. Die Transformation durch das Frontend sollte auf alle Signale gleichermaßen angewendet werden, unabhängig ob sie die Grundlage für die evozierten Potenziale bildet oder ob durch sie die Leistung des auditorischen Systems in psychoakustischen Experimenten nachgebildet werden soll.

## **6. Literaturverzeichnis**

- Batra, R., Kuwada, S., and Maher, V.L. (1986). The frequency following response to continuous tones in humans. *Hear. Res.* 21, 167-177.
- Bell, S.L., Allen, R., Lutman, M.E. (2001). Optimising the acquisition time of middle latency response using Maximum Length Sequences and Chirps. Submitted to *J. Acoust. Soc. Am.*
- Bregman, A. S. (1978). Auditory streaming is cumulative, *J. Exp. Psychol.: Hum. Perc. Perf.* 4, 380-387.
- Bregman, A. S., and Campbell, J. (1971). Primary auditory stream segregation and perception of order in rapid sequences of tones, *J. Exp. Psychol.* 89, 244-249.
- Chambers, R.D., Feth, L.L., and Burns, E.M. (1986). The relation between frequency-following response and the low pitch of complex tones. *J. Acoust. Soc. Am.* 80, 1673-1680.
- Chistovich, L.A. (1957). Frequency characteristics of masking effects. *Biophysics* 2, 743-755.
- de Boer, E. (1980). Auditory Physics. Physical principles in hearing theory I. *Phys. Rep.* 62, 87-174.
- de Boer, E. (1975). Synthetic whole-nerve action potential for the cat. *J. Acoust. Soc. Am.* 58, 1030-1045.
- Darwin, C. J., Pattison, H., and Gardner, R. B. (1989). Vowel quality changes produced by surrounding tone sequences, *Percept. Psychophys.* 45, 333-342.
- Darwin, C. J., Hukin, R. W., and al-Khatib, B. Y. (1995). Grouping in pitch perception: Evidence for sequential constraints, *J. Acoust. Soc. Am.* 98, 880-885.
- Dau, T., Püschel, D. and Kohlrausch, A. (1996a): A quantitative model of the “effective” signal processing in the auditory system: I. Model structure, *J. Acoust. Soc. Am.* 99, 3615-3622.

- Dau, T., Püschel, D. and Kohlrausch, A. (1996b): A quantitative model of the “effective” signal processing in the auditory system: II. Simulations and measurements, *J. Acoust. Soc. Am.* 99, 3623-3631.
- Dau, T., Kollmeier, B, and Kohlrausch, A. (1997a): Modeling auditory processing of amplitude modulation. I. Modulation detection and masking with narrowband carriers, *J. Acoust. Soc. Am.* 102, 2892-2905.
- Dau, T., Kollmeier, B, and Kohlrausch, A. (1997b): Modeling auditory processing of amplitude modulation. II. Spectral and temporal integration in modulation detection, *J. Acoust. Soc. Am.* 102, 2906-2919.
- Don, M. und Eggermont, J.J. (1978). Analysis of the click-evoked brains-stem potenzials in man using high-pass noise masking. *J. Acoust. Soc. Am.* 63, 1084-1092.
- Elberling, C. (1976). Simulation of cochlear action potenzials recorded from the ear canal in man. In *Electrocochleography*, edited by R.J. Ruben, C. Elberling, and G. Salomon, University Park Press, Baltimore.
- Fletcher, H. (1940). Auditory patterns, *Rev. Mod. Phys.* 12, 47-65.
- Fullerton, B.C., Levine, R.A., Hosford-Dunn, H.L., und Kiang, N.Y.S. (1987) Comparison of cat and human brain-stem auditory-evoked potenzials. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 66, 547-570.
- Giguère, C., and Woodland, P. C. (1994). A computational model of the auditory periphery for speech and hearing research. I. Ascending path. *J. Acoust. Soc. Am.* 95, 331-342.
- Goldstein, M.H. und Kiang, N.Y.S. (1958). Synchrony of neural activity in electric responses evoked by transient stimuli. *J. Acoust. Soc. Am.* 30, 107-114.
- Gutschalk, A., Mase, R., Roth, R., Ille, N., Rupp, A., Hähnel, S., Picton, T.W., und Scherg, M. (1999). Deconvolution of 40 Hz steady-state fields reveals two overlapping source activities of the human auditory cortex. *Clin. Neurophysiol.* 110, 856-868.
- Hall, J. W., and Grose, J. H. (1991). Some effects of auditory grouping factors on modulation detection interference (MDI), *J. Acoust. Soc. Am.* 90, 3028-3035.
- Heinz, M.G., Zhang, X., Bruce, I.C., und Carney, L.H. (2001). Auditory-nerve model for predicting performance limits for normal and impaired listeners. *Arlo* 5.3.
- Heinz, M.G. (2000). Quantifying the effects of the cochlear amplifier on temporal and average-rate information in the auditory nerve. PhD thesis, Massachusetts Institute of Technology.
- Janssen, T. Steinhoff, H.J., Böhnke, F. (1991). Zum Entstehungsmechanismus der Frequenzfolgepotenziale. *Acta Oto-Rhino-Laryngol. Nova* 1, 16-25.
- Jewett, D.L. und Williston, J.S. (1971). Auditory-evoked far fields averaged from the scalp of humans. *Brain* 94, 681-696.



Johnson, D.H. (1980). The relationship between spike rate and synchrony in responses of auditory-nerve fibers to single tones. *J. Acoust. Soc. Am.* 68, 1115-1121.

Kiang, N.Y.S. und Moxon, E.C.(1974). Tails of tuning curves of auditory-nerve fibers. *J. Acoust. Soc. Am.* 55, 620-630.

Kiang, N.Y.S., Moxon, E.C., und Kahn, A.R. (1976). The relationship of gross potentials recorded from the cochlea to single unit activity in the auditory nerve. In *Electrocochleography*, edited by R.J. Ruben, C. Elberling, and G. Salomon, University Park Press, Baltimore.

Kohlrausch, A., and Sander, A. (1995). Phase effects in masking related to dispersion in the inner ear. II. Masking period patterns of short targets, *J. Acoust. Soc. Am.* 97, 1817-1829.

Kuwada, S., Batra, R., und Maher, V.L. (1986). Scalp potentials of normal and hearing-impaired subjects in response to sinusoidally amplitude-modulated tones. *Hear. Res.* 21, 179-192.

Lorenzi, C., Soars, C., und Vonner, T. (2001). Second-order temporal modulation transfer functions. *J. Acoust. Soc. Am.*, in press.

Marsh, J.T., Brown, W.S., und Smith, J.C. (1975). Far-field recorded frequency-following responses: Correlates of low-pitch auditory perception in humans. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 38, 113-119.

Melcher, J.R. (1995). Contributions from AVCN Cells to evoked potentials depend strongly on fiber diameter: results from a physico-mathematical model. Presented at the 18<sup>th</sup> meeting of the Association for Research in Otolaryngology, Florida.

Melcher, J.R. und Kiang, N.Y.S. (1996). Generators of the brainstem auditory evoked potential in cat III: identified cell populations. *Hear. Res.* 93, 52-71.

Moore, J.K. (1987). The human auditory brainstem as a generator of auditory evoked potentials. *Hear. Res.* 29, 33-43.

Moore, B. C. J., and Shailer, M. J. (1992). Modulation discrimination interference and auditory grouping, *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B* 336, 339-346.

Moore, B.C.J., Alcantara, J.I., and Dau, T. (1998): Masking patterns for sinusoidal and narrowband noise maskers, *J. Acoust. Soc. Am.* 104, 1023-1038

Moore, B. C. J., Sek, A., and Glasberg, B.R. (1999). Modulation masking produced by beating modulators. *J. Acoust. Soc. Am.* 106, 908-918.

Moore, B. C. J., and Sek, A. (2000). Effects of relative phase and frequency spacing on the detection of three-component amplitude modulation. *J. Acoust. Soc. Am.* 108, 2337-2344.

Palmer, A.R., und Russell, I.J. (1986). Phase locking in the cochlear nerve of the guinea pig and its relation to the receptor potential of the inner hair-cells, *Hear. Res.* 24, 1-15.

Patterson, R.D., Nimmo-Smith, I., Holdsworth, J., and Rice, P. (1987). An efficient auditory filterbank based on the gammatone function. Paper presented on a meeting of the IOC Speech Group on Auditory Modeling at RSRE, Dezember 14-15,

Patterson, R. D., Allerhand, M. H., and Giguère, C. (1995). "Time-domain modeling of peripheral auditory processing: A modular architecture and a software platform," *J. Acoust. Soc. Am.* 98, 1890-1894.

Recio, A., Narayan, S. S., and Ruggero, M. A. (1998). Basilar-membrane responses to clicks at the base of the chinchilla cochlea, *J. Acoust. Soc. Am.* 103, 1972-1989.

Rees, A., Green, G.G.R., and Kay, R.H. (1986). Steady-state evoked responses to sinusoidally amplitude-modulated sounds recorded in man. *Hear. Res.* 23:123-133.

Rose, J.E., Brugge, J.F. Anderson, D.J., and Hind, J.E. (1968). Pattern of activity in single auditory nerve fibers of the squirrel monkey, in *Hearing mechanisms in Vertebrates*, edited by A.V.S. de Reuck und J. Knight (Churchill, London).

Ross, B., Borgmann, C., Draganova, R., Roberts, L.E., and Pantev, C. (2000). A high-precision magnetoencephalographic study of human auditory steady-state responses to amplitude-modulated tones. *J Acoust Soc Am.* 108, 679-691.

Ruggero, M.A., Rich, N.C., Recio, A., Narayan, S.S., and Robles, L. (1997). Basilar-membrane responses to tones at the base of the chinchilla cochlea. *J. Acoust. Soc. Am.* 101, 2151-2163.

Sachs, M.B., und Kiang, N.Y.S. (1986). Two-tone inhibition in auditory-nerve fibers. *J. Acoust. Soc. Am.* 43, 1120-1128.

Sachs, M.B., und Abbas, P.J. (1974). Rate versus level functions for auditory nerve fibers in cats: Tone burst stimuli. *J. Acoust. Soc. Am.* 81, 680-691.

Sheft, S., and Yost, W. A. (1990). Temporal integration in amplitude modulation detection, *J. Acoust. Soc. Am.* 88, 796-805.

Smith, B. K., Sieben, U. K., Kohlrausch, A., and Schroeder, M. R. (1986). Phase effects in masking related to dispersion in the inner ear, *J. Acoust. Soc. Am.* 80, 1631-1637.

Strickland, E.A., und Viemeister, N. F. (1996). Cues for discrimination of envelopes. *J. Acoust. Soc. Am.* 99, 3638-3646.

Strube, H.W. (1986). The shape of the nonlinearity generating the combination tone  $2f_1 - f_2$ . *J. Acoust. Soc. Am.* 79, 1511-1518.

Teas, D.C., Eldredge, D.H., und Davis, H. (1962). Cochlear responses to acoustic transients: An interpretation of whole-nerve action potentials. *J. Acoust. Soc. Am.* 34, 1438-1459.

Uppenkamp, S, S Fobel, and RD Patterson (2000): Temporal integration and the perception of short frequency sweeps. In 8<sup>th</sup> Oldenburg Symposium on Psychoacoustics, ed. A Schick, M Meis, C Reckhardt, p. 355-371, BIS, Oldenburg.

Uppenkamp, S., Fobel, S., Patterson, R.D. (2001): The effects of temporal asymmetry on the detection and the perception of short chirps. *Hearing Research*, in press.

Viemeister, N.F. (1979). Temporal modulation transfer functions based upon modulation thresholds. *J. Acoust. Soc. Am.* 66, 1364-1380.

Viemeister, N.F. (1988). Psychophysical aspects of auditory intensity coding. In *Auditory Function*, edited by G.M. Edelman, W.E. Gall, and W.A. Cowan (Wiley, New York).

Wang, B. (1979). The relation between the compound action potential and unit discharges of the auditory nerve. PhD Thesis, Massachusetts Institute of Technology.

Winter, I.M., und Palmer, A.R. (1991). Intensity coding in low-frequency auditory-nerve fibers of the guinea pig. *J. Acoust. Soc. Am.* 90, 1958-1967.

Yates, G.K. (1990). Basilar membrane nonlinearity and its influence on auditory-nerve rate-intensity functions. *Hear. Res.* 50, 145-162.

Yost, W. A., and Sheft, S. (1989). Across-critical-band processing of amplitude-modulated tones, *J. Acoust. Soc. Am.* 85, 848-857.

Yost, W. A., Sheft, S., and Opie, J. (1989). Modulation interference in detection and discrimination of amplitude modulation, *J. Acoust. Soc. Am.* 86, 2138-2147.

Im Berichtszeitraum publizierte eigene Arbeiten:

**Zeitschriftenartikel:**

Dau, T. (2001). The importance of basilar-membrane and auditory-nerve processing for the formation of auditory brainstem responses. Submitted to *J. Acoust. Soc. Am.*

Dau, T., Verhey, J.L., and Kohlrausch, A. (1999): Intrinsic envelope fluctuations and modulation-detection thresholds for narrowband noise carriers, *J. Acoust. Soc. Am.* 106, 2752-2760.

Dau, T., Wegner, O., Mellert, V., and Kollmeier, B. (2000): Auditory brainstem responses (ABR) with optimized chirp signals compensating basilar-membrane dispersion, *J. Acoust. Soc. Am.* 107, 1530-1540.

Derleth, R.P., and Dau, T. (2000): On the role of envelope fluctuation processing in spectral masking, *Acoust. Soc. Am.* 108, 285-296

Derleth, R.P., Dau, T., and Kollmeier, B.(2001):Amplitude modulation processing in normal and hearing impaired listeners, submitted to *J. Acoust. Soc. Am.*

Derleth, R.P., Dau, T., and Kollmeier, B.(2001): Modeling temporal and compressive properties of the normal and impaired auditory system, submitted to *Hear.Res.*

Ewert, S.D. and Dau, T. (2000): Characterizing frequency selectivity for envelope fluctuations, *J. Acoust. Soc. Am.* 108, 1181-1196

Kohlrausch, A., Fassel, R., and Dau, T. (2000): The influence of carrier level and frequency on modulation and beat-detection thresholds for sinusoidal carriers J. Acoust. Soc. Am. 108, 723-734

Oxenham, A. and Dau, T. (2001a): Modulation detection interference: Effects of concurrent and sequential stream segregation, J. Acoust. Soc. Am., in press.

Oxenham, A. and Dau, T. (2001b): Reconciling frequency selectivity and phase effects in masking, J. Acoust. Soc. Am., in press.

Oxenham, A. and Dau, T. (2001c): Behavioral measures of phase response in the human auditory system, submitted to J. Acoust. Soc. Am.

Uppenkamp, S., Patterson, R.D., Rupp, A., Scherg, M. and Dau, T. (2001): The neural basis of the perception of temporal asymmetry in short frequency sweeps, in *Physiological and Psychophysical Bases of Auditory Function - 12th International Symposium on Hearing*, edited by D.J. Breebaart, A.J.M. Houtsma, A. Kohlrausch, V.F. Prijs, R. Schoonhoven, 343-351, Shaker, Maastricht.

Verhey, J.L., Dau, T., and Kollmeier, B. (1999): Modeling comodulation masking release (CMR) with a single-channel analysis, J. Acoust. Soc. Am. 106, 2733-2745.

Wegner, O., and Dau, T. (2001): Frequency specificity of auditory brainstem responses (ABR) elicited by optimized chirp signals, submitted to J. Acoust. Soc. Am.

Monographien, Bücher:

*Psychophysics, Physiology and Models of Hearing* (1999), edited by T. Dau, V. Hohmann, and B. Kollmeier, World Scientific, Singapore.

Dau, T. (1999): *Modell der effektiven Signalverarbeitung im Gehör*, in Einblicke (Forschungsmagazin der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg), Heft 29, ISSN 0930/8253.

Dau, T. (2001): *Akustisch evozierte Potenziale im EEG: Neuronale Mechanismen beim Hören*, in Einblicke (Forschungsmagazin der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg), Heft 34, ISSN 0930/8253.

Schriftliche Kongreßbeiträge:

Dau, T., and Verhey, J. (1999). Modeling across-frequency processing of amplitude modulation. In *Psychoacoustics, Physiology and Models of Hearing*, edited by T. Dau, V. Hohmann, and B. Kollmeier. (World Scientific, Singapore), 229-234.

Derleth, R.P., Dau, T. and Kollmeier, B. (1999). Modeling masking patterns for sinusoidal and narrowband noise carriers, in *Psychoacoustics, Physiology and Models of Hearing*, edited by T. Dau, V. Hohmann, and B. Kollmeier. (World Scientific, Singapore), 239-242.

Ewert, S.D., and Dau, T. (1999). Psychophysical tuning in auditory AM-processing, in *Psychoacoustics, Physiology and Models of Hearing*, edited by T. Dau, V. Hohmann, and B. Kollmeier. (World Scientific, Singapore), 73-76.

Fobel, S., Uppenkamp, St., Patterson, R. D., Kollmeier, B. (2000). Asymmetrie in der Wahrnehmung von kurzen Chirpsignalen. Fortschritte der Akustik - DAGA 2000, Oldenburg, Deutsche Gesellschaft für Akustik e.V., 324-325.

Fobel, S., Uppenkamp, St., Patterson, R. D., Kollmeier, B. (2001). Asymmetrien in der Wahrnehmung von transienten Chirpsignalen. Zeitschrift für Audiologie/Audiological Acoustics, Suppl. IV, 4. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Audiologie (DGA), Aachen. In press

Junius, D., Wegner, O., Dau, T. (2000). Zusammenhang zwischen Frühen Akustisch Evozierten Potenzialen (FAEP) und Frequenzfolgepotenzialen (FFP). Fortschritte der Akustik - DAGA 2000, Oldenburg, Deutsche Gesellschaft für Akustik e.V., 336-339

Uppenkamp, S., Patterson, R.D. Rupp, A., Scherg, M. and Dau, T. (2001). The neural basis of the perception of temporal asymmetry in short frequency sweeps. In *Physiological and Psychophysical Bases of Auditory Function - 12th International Symposium on Hearing*, edited by D.J. Breebaart, A.J.M. Houtsma, A. Kohlrausch, V.F. Prijs, R. Schoonhoven, 343-351, Shaker, Maastricht.

Verhey, L.J., and Dau, T. (1999). Frequenzübergreifende Modulationsverarbeitung im menschlichen Gehör. Zeitschrift für Audiologie, Suppl. II, 19-20.

Wegner, O., Dau, T., and Kollmeier, B. (1999). On the relationship between auditory evoked potentials and psychophysical loudness. In *Psychoacoustics, Physiology and Models of Hearing*, edited by T. Dau, V. Hohmann, and B. Kollmeier. (World Scientific, Singapore), 59-62.

Wegner, O., Dau, T., Kollmeier, B. (2000). Frequenzspezifische Messung früher akustisch evozierter Potenziale (FAEP) mit optimierten Chirps. Fortschritte der Akustik - DAGA 2000, Oldenburg, Deutsche Gesellschaft für Akustik e.V., 322-323.

Wegner, O., Dau, T., Kollmeier, B. (2000). Frequenzspezifische Messung früher akustisch evozierter Potenziale (FAEP) mit optimierten Chirp-Signalen. Zeitschrift für Audiologie/Audiological Acoustics, Suppl. III, 3. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Audiologie (DGA), Hannover. In press.

Zerbs, C., Dau, T., and Kollmeier, B. (1999). Modeling the "effective" binaural signal processing in detection experiments. In *Psychoacoustics, Physiology and Models of Hearing*, edited by T. Dau, V. Hohmann, and B. Kollmeier. (World Scientific, Singapore), 207-210.

Abstracts weiterer Kongreßbeiträge.

Dau, T. (2001). The importance of basilar-membrane and auditory-nerve processing for the formation of auditory brainstem responses. Assoc. Res. Otolaryngol. Abs. 24 (abstract 688). 195.

Dau, T. (1999). Modeling within- and across-channel processing of amplitude modulation. J. Acoust. Soc. Am. 105, 963.

Derleth, R.P., Dau, T. and Kollmeier, B. (1999). Modelling masking patterns for sinusoidal and narrow-band noise maskers. *J. Acoust. Soc. Am.* 105, 1233.

Ewert, S. and Dau, T. (1999). Frequency selectivity in amplitude-modulation processing. *J. Acoust. Soc. Am.* 105, 1234.

Junius, D. Wegner, O., and Dau, T. (2000). Human audiotory brainstem potenzials using optimized stimuli tzo compensate for basilar-membrane dispersion. In 23th meeting of the Association for research in Otolaryngology, St. Petersburg Beach, Florida.

Kollmeier, B., Verhey, J.L., Wegner, O. and Dau, T. (1999). Loudness and ABR findings with short signals. More compression than expected? *J. Acoust. Soc. Am.* 105, 1022.

Kollmeier, B., Wesselkamp, M., Hansen, M., and Dau, T. (1999). Modeling speech intelligibility and quality on the basis of the "effective" signal processing in the auditory system. *J. Acoust. Soc. Am.* 105, 1305.

Oxenham, A.J., and Dau, T. (2001). Behavioral estimates of the phase response of the auditory system. In 24th meeting of the Association for research in Otolaryngology, St. Petersburg Beach, Florida.

Oxenham, A.J., Dau, T., and Kawakyu, K. (2000). Within- and across-channel processes in masking by Schroeder-phase complexes. in 23th meeting of the Association for research in Otolaryngology, St. Petersburg Beach, Florida.

Rupp, A., Uppenkamp, S., Gutschalk, A., Dau, T., Patterson, R., Scherg, M. (2001). On the representation of peripheral neural activity patterns in primary auditory cortex. In 24th meeting of the Association for research in Otolaryngology, St. Petersburg Beach, Florida, 186.

Verhey, J.L. and Dau, T. (1999). Simulations of spectral masking and the asymmetry of masking. *J. Acoust. Soc. Am.* 105, 1152.

Verhey, J.L., and Dau, T. (2000). Modulation detection interference with narrow-band noise interferes. *J. Acoust. Soc. Am.* 107, 753.

Wegner, O., Dau, T. and Kollmeier, B. (2000). On the relationship between auditory evoked potenzials and psychophysical loudness. *J. Acoust. Soc. Am.* 105, 1347.

Wegner, O., Dau, T. and Kollmeier, B. (2000). Frequency specificity of auditory brainstem responses (ABR) elicited by optimized chirp signals. In 23th meeting of the Association for Research in Otolaryngology, St. Petersburg Beach, Florida.

Diplomarbeiten:

Fobel, S. (2000). Temporal asymmetry in the perception of frequency sweeps. Oldenburg. Universität Oldenburg.

Junius, D. (2000). Zusammenhang zwischen frühen akustisch evozierten Potenzialen und Frequenzfolgepotenzialen. Oldenburg, Universität Oldenburg.

Dissertationen:

Brand, T. (2000). Analysis and optimization of psychophysical procedures in audiology. Oldenburg, Universität Oldenburg.

Derleth, R.P. (1999). Temporal and compressive properties of the normal and impaired auditory system. Oldenburg, Universität Oldenburg.

Reckhardt, C. (2000). Factors influencing equal-loudness level contours. Oldenburg, Universität Oldenburg.

Verhey, J.L. (1999). Psychoacoustics of spectro-temporal effects in masking and loudness perception. Oldenburg, Universität Oldenburg.

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

### **7.1 Teilnahme an Veranstaltungen des SFB**

November 1999: Mitarbeiter-Berichts-Kolloquium des SFB im HWK

Dezember 1999 / Mai 2000: SFB-Workshop „Bedeutungsentstehung im Gehirn“,  
HWK/Borkum

Vortragsreihe „Gehirneinsichten“

Regelmäßige Teilnahme am SFB-Seminar Neurokognition in Oldenburg

### **7.2 Mitwirkung an Kongressen und Fachtagungen, Kolloquien**

März 1999: Gemeinsame Tagung der Acoust. Soc. of Am. (ASA) und Europ. Assoc. for Acoust. (EAA) in Berlin (Vorträge von T. Dau, J. Verhey, R.P. Derleth, V. Mellert, B. Kollmeier, Posterbeiträge von S. Ewert und O. Wegner). Organisation von strukturierten Sitzungen (B. Kollmeier, T. Dau).

November 1999: Teilnahme an der AGERA in Kiel

Februar 2000: ARO-Tagung in Florida (Posterbeiträge von O. Wegner, T. Dau)

März 2000: DAGA in Oldenburg (Beiträge von S. Ewert, D. Junius, J. Verhey, R.P. Derleth, O. Wegner, V. Mellert, B. Kollmeier)

März 2000: DGA-Tagung in Hannover (Beiträge von T. Brand, R.P. Derleth, V. Hohmann, B. Kollmeier, K. Wagener, O. Wegner)

July 2000: BCN Summerschool in Groningen (eingeladene Vorträge von B. Kollmeier, J. Verhey und O. Wegner)

Juni 2000: ASA-Tagung in Atlanta (Vortrag von S. Ewert, Posterbeiträge von J. Verhey und T. Dau)

November 2000: AGERA in München (Vortrag von T. Dau)

Februar 2001: ARO-Tagung in Florida (Posterbeiträge von T. Dau)

März 2001: DGA-Tagung in Aachen (Beiträge von S. Fobel, Vorsitz B. Kollmeier)

März 2001: DAGA in Hamburg (Vorträge von J. Verhey, T. Dau, B. Kollmeier)

Juni 2001: ASA-Tagung in Chicago (Vortrag von B. Kollmeier, Posterbeiträge von S. Ewert, J. Verhey und T. Dau)

### **7.3 Sonstige Aktivitäten**

Einjähriger Forschungsaufenthalt (Aug. 99 – Aug. 2000) an Boston University und MIT (T. Dau) durch Stipendium der Max-Kade Foundation. In dieser Zeit eingeladene Vorträge in Harvard (Eaton Peabody Lab), Chicago, Minneapolis, Berkley, San Francisco, Farmington.

Dreimonatiger Forschungsaufenthalt (April – Juni 2001) am MIT (S. Ewert). Vorträge am MIT und Boston University.

Sechsmonatiger Forschungsaufenthalt (Forschungsfreisemester, Sept. 2001 – Feb. 2002) in San Francisco (B. Kollmeier) am International Computer Science Institute, Berkeley und am Keck Center for Neurosciences der Univ. of California at San Francisco.



## **Teilprojekt C 2**

### **Neurophysiologische Korrelate auditorischer Objekterkennung mit EEG und MEG**

#### **Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Dr. Birger Kollmeier

AG Medizinische Physik, FB Physik  
Universität Oldenburg  
Postfach 25 03  
26111 Oldenburg

## **1. Einleitung**

Ziel dieses Projektes ist die Erfassung der bei der räumlichen auditorischen Objektbildung beteiligten Prozesse mit Methoden der Psychophysik und der nicht-invasiven Neurophysiologie beim Menschen, sowie die quantitative Modellierung dieser Vorgänge. Dieses Ziel steht im Einklang mit dem Gesamt-Ziel des Sonderforschungsbereichs (Charakterisierung der neuronalen Grundlagen kognitiver Leistungen), wobei als neuronale Grundlagen hier die mit EEG (bzw. in späteren Arbeitsschritten MEG und fMRI) erfassbaren Prozesse zur binauralen (zweiohrigen) Interaktion zu verstehen sind, die zur Objektbildung auf der Ebene von Hirnstamm und Kortex beitragen. Als kognitive Komponente wird die mit psychoakustischen Methoden erfassbare Leistung der akustischen Lokalisation bzw. Lateralisation (bei Kopfhörer-Experimenten) verstanden sowie die Zusammenfassung verschiedener akustischer Eigenschaften zu einem Hörobjekt. Die Modellierung soll schließlich die Brücke zwischen diesen beiden Ansätzen zu bilden helfen.

Im Berichtszeitraum (1999 bis erstes Quartal 2001) konnten die zum Erreichen dieses Ziels notwendigen Arbeiten deutlich vorangetrieben werden, auf die in den folgenden Abschnitten näher eingegangen wird. Das im Antrag für die laufende Berichtsperiode vorgelegte Arbeitsprogramm konnte jedoch aufgrund technischer Probleme und personeller Engpässe nicht wie geplant durchgeführt werden, so daß neben den ursprünglich vorgesehenen Arbeiten zur Elektrophysiologie verstärkt Arbeiten zur binauralen Psychoakustik im Rahmen dieses Projektes durchgeführt wurden. Zu den technischen Schwierigkeiten zählte, daß die bewilligte Erweiterung der vorhandenen Messapparatur auf 64 Kanäle (32-Kanal-Verstärker der Firma Synamps) einen ungünstigeren Signal-Rausch-Abstand erreichte als die vorhandene Apparatur, so daß hier unvorhergesehene Mehrarbeit auftrat (s. u.). Außerdem konnte die vorhandene Software zur Dipol-Anpassung (BESA) nicht die für dieses Projekt notwendigen Anforderungen in vollem Umfang erfüllen, so daß erst mit der Anschaffung einer anderen kommerziellen Software (ASA) zu Beginn 2001 zufriedenstellende Dipol-Fits erfolgten. Zu personellen Engpässen kam es aufgrund der für die Forschung äußerst ungünstigen, für Physik-Absolventen mit einschlägiger Vorbildung jedoch äußerst günstigen Entwicklung auf dem Arbeitsmarkt, so daß der für die Durchführung des Arbeitsprogramms wichtige Doktorand Michael Granzow im Juni 1999 die Universität verließ, um einen wesentlich attraktiveren Dauer-Arbeitsplatz in der einschlägigen Software-Industrie anzutreten. Ebenso wurde der für die binaurale psychophysikalische Modellierung im Rahmen des Projektes wichtige wissenschaftliche Mitarbeiter Dr. Carsten Zerbs ab 01.02.2000 auf einer attraktiven

Stelle in der Industrie (Müller BBM, München) eingestellt. Ein Teil dieser Personal-Engpässe konnte durch erhöhten Einsatz des verbleibenden Personals kompensiert werden (insbesondere durch die Beschäftigung von Dipl.-Phys. Helmut Riedel mit einer vollen Stelle zu Lasten des Projektes ab 01.01.2001, Beschäftigung von Dipl.-Phys. Jörn Otten mit einer halben Stelle im Rahmen des Projektes ab 01.01.2000, bzw. danach aus Landesmitteln vom 16.01.2001 bis 30.04.2001), sowie durch die Unterstützung der Projektarbeit durch Prof. Dr. H. Steven Colburn (April bis Juli 1999) und Dr. Adelbert Bronkhorst (April bis September 2000) als Gastwissenschaftler (Fellows) des Hanse-Wissenschafts-Kollegs. Diese für den Bereich der binauralen Psychophysik äußerst günstige personelle Konstellation führte dazu, daß das Arbeitsprogramm im Bereich der binauralen Psychophysik im laufenden Projekt deutlich verstärkt wurde. Insgesamt können mit den hier erzielten Fortschritten die Erfolgsaussichten für das Gelingen des Gesamt-Projektes im Rahmen des Sonderforschungsbereichs als sehr gut erachtet werden.

## **2. Binaurale Psychophysik**

Ziel der Arbeiten in diesem Teilgebiet ist die möglichst quantitative Erfassung und Modellierung der „effektiven“ Signalverarbeitung beim binauralen Hören und darauf aufbauend die mit psychoakustischen Methoden charakterisierbare Bildung von räumlichen Hörobjekten. Im Berichtszeitraum standen daher einerseits die Arbeiten zur Erstellung und Validierung eines Modells der effektiven binauralen Signalverarbeitung im Vordergrund (Dissertation Carsten Zerbs, 2000, sowie Zerbs et al., 2001a und b) und andererseits die systematische Erfassung der Sensitivität der (binauralen) Lokalisation von den physikalischen Parametern spektrale Auflösung, spektrale Feinstruktur, interaurale Zeitdifferenz (im Jahr 2001 abzuschließende Dissertation von Jörn Otten). Dabei ist von besonderem Interesse, welchen Einfluß natürliche Lokalisations-Merkmale (individuelle Außenohr-Übertragungsfunktion, Lokalisation in reflexionsarmer oder nachhall-behafteter Umgebung) auf die Verarbeitung und Diskrimination physikalischer Merkmale ausüben bzw. ob es akustische Täuschungen bei der räumlichen Objektbildung gibt. Die entsprechenden Original-Arbeiten sind entweder eingereicht (Zerbs et al., 2001a,b) oder werden in Kürze mit Abschluß der Dissertation von J. Otten bei internationalen Zeitschriften eingereicht werden. Bei der Modellierung der „effektiven“ Signalverarbeitung des binauralen Systems wurde aufbauend auf dem Perzeptionsmodell nach Dau et al. (1996a,b) und ersten Ansätzen von Holube et al. (1998) die in Abb. 1 dargestellte Modellstruktur entwickelt und getestet, die eine

Reihe verschiedener binauraler psychoakustischer Effekte quantitativ vorherzusagen gestattet. Sie besteht im wesentlichen aus zwei monauralen Modellen (jeweils mit Gammaton-Filterbank, Halbwellen-Gleichrichtung und Adaptations-/Kompressionsstufen) und einer anschließenden binauralen Auswerteeinheit (interaurationaler Kreuzkorrelations-Koeffizient) zur Bestimmung der optimal einzustellenden interauralen Zeitverzögerung für die Rauschunterdrückungs-Stufe. Bei der anschließenden Vollweggleichrichtung (ähnlich etwa dem EC-Mechanismus nach Durlach, 1972), sowie anschließender Tiefpaßfilterung findet die binaurale Störgeräusch-Unterdrückung statt, an die sich die Auswertung beider monauraler und des binauralen Kanals mit einem optimalen Detektor anschließt. Der Vorteil dieser Modellstruktur ist die explizite Einbeziehung der monauralen Vorverarbeitung (insbesondere der Kompression), so daß – im Gegensatz zum klassischen EC-Modell – keinerlei weitere Amplituden-Angleichung der beiden Eingänge zum binauralen Störgeräuschunterdrücker vorgesehen werden muß. Weiterhin erlaubt die Struktur die Beibehaltung des erfolgreichen monauralen Modells (so daß eine Vielzahl von monauralen psychoakustischen Experimenten erfolgreich vorhergesagt werden kann) und die explizite/automatische Einstellung der „optimalen“ binauralen Störunterdrückungs-Strategie anhand der interauralen Kreuzkorrelations-Funktion, so daß das Modell ohne Vorwissen über die angebotene binaurale Stimuluskonfiguration eingesetzt werden kann. Zeitgleich wurden von der Eindhovener Arbeitsgruppe um Prof. Kohlrausch mehrere Paper mit einem ähnlichen binauralen Modell publiziert, das jedoch nicht die monaurale Verarbeitung in gleicher Weise einschließt wie im vorliegenden Fall (Breebart et al., 2000). Mit der Demonstration der Funktionsfähigkeit des binauralen Modells und seiner Anwendbarkeit auf eine Reihe von verschiedenen binauralen Leistungen sind die Arbeiten in diesem Bereich im wesentlichen abgeschlossen, so daß derzeit nur noch an Revisionen der zugehörigen Original-Arbeiten für internationale Zeitschriften gearbeitet wird (Zerbs et al., 2001a,b).

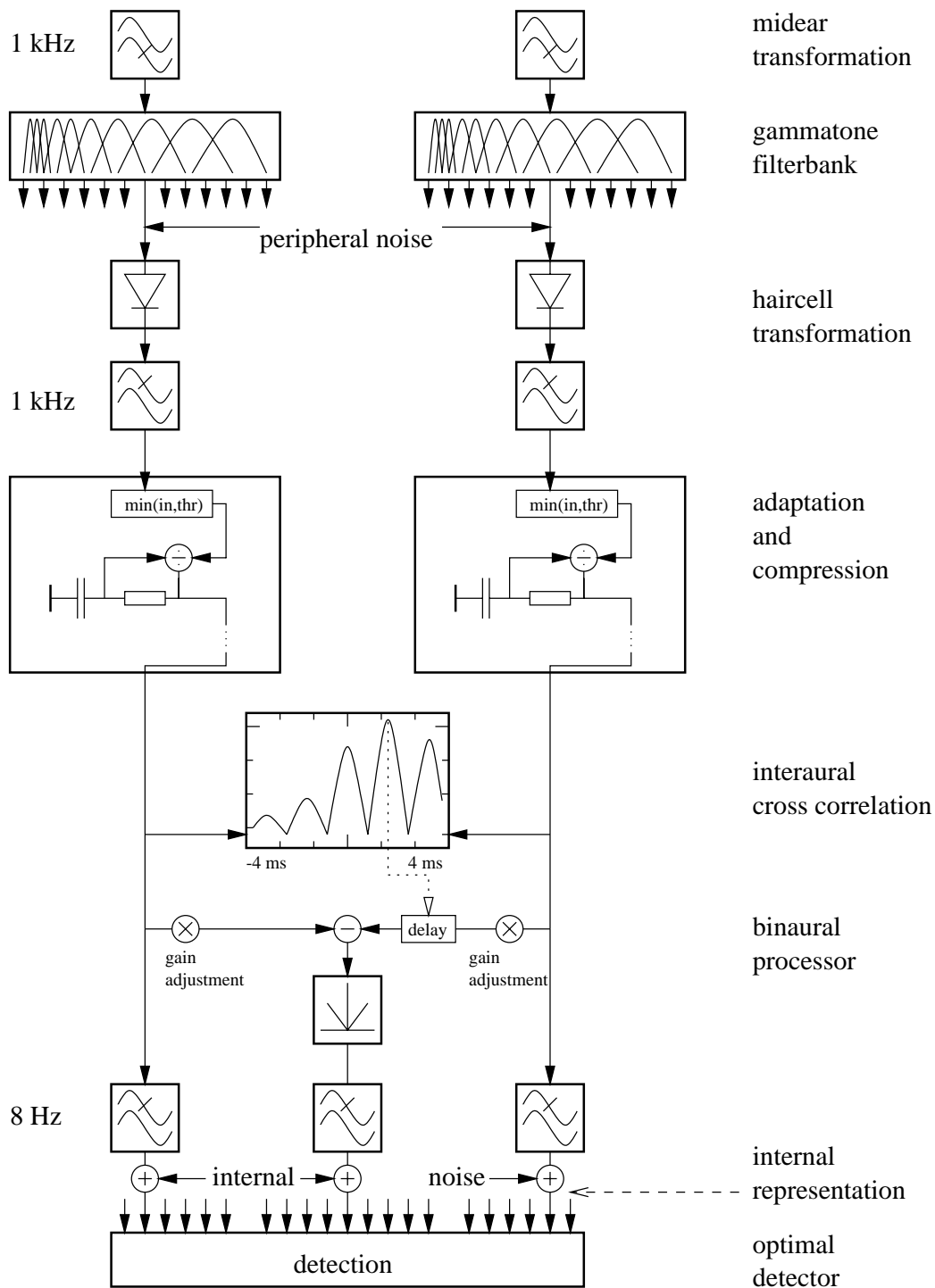


Abb. 1: Struktur des Modells der effektiven Verarbeitung im binauralen System nach Zerbs et al. (2001).

Um aufbauend auf diesen Modellvorstellungen zum binauralen System die Faktoren zu charakterisieren, die bei der Bildung von räumlichen Hörobjekten beteiligt sind, wurden psychoakustische Arbeiten mit Parameter-Manipulationen von Außenohr-Übertragungsfunktionen durchgeführt. Dabei wurde untersucht, wie die Sensitivität der

akustischen Objektwahrnehmung von physikalischen Parametern (z. B. Spektrum des Stimulus, interaurale Zeit- und Pegeldifferenzen) abhängt und inwiefern diese Abhängigkeit von der Ausprägung der Objekt-Lokalisation abhängt, d.h. ob in einer akustisch „trockenen“ simulierten Umgebung dieselbe Sensitivität gegenüber einer Änderung der interauralen Laufzeit in der Lokalisationsleistung auftritt wie in einer realistischeren, mit Nachhall versehenen Situation. Dazu wurde die Detektionsleistung von manipulierten HRTFs unter reflexionsfreien und reflexionsbehafteten Bedingungen mittels eines 2I-2AFC (two interval, two alternative forced choice) Verfahrens gemessen. Die Aufgabe der Versuchsperson bestand darin, aus einer Stimulussequenz von vier virtuellen Stimuli dasjenige Intervall zu benennen (erstes Paar oder zweites Paar), in dem sich die Stimuli räumlich voneinander unterscheiden. Einer der vier Stimuli wurde mit manipulierten HRTFs erzeugt und diente als Target. Als Quellsignal diente ein 500 ms langes weißes Rauschen (Frozen Noise). Folgende Manipulationen wurden durchgeführt:

#### *Detailreduktion der HRTF Spektren*

Mittels cepstraler Glättung wurden die Details der individuellen HRTF Spektren schrittweise reduziert und die Detektionsleistung bestimmt. Die Glättung wird erreicht, indem die Spektren durch eine Fourier-Reihe approximiert werden. Die Anzahl der Reproduktionsterme bestimmt den Grad der Glättung. Dieses Verfahren erhält die individuellen Informationen in den Spektren der HRTFs, die durch die Mittenfrequenzen der charakteristischen Anhebungen und Absenkungen ausgeprägt werden. Die Messung entspricht bis auf leichte methodische Verbesserungen der Arbeit von Kulkarni et al. (Kulkarni, 1997).

Ziel dieser Messung war es, die Detektionsleistung von Manipulationen der spektralen Grobstruktur zu ermitteln. Dies wurde erreicht, indem die spektrale Grobstruktur der individuellen HRTFs durch die Grobstruktur eines Kunstkopfes schrittweise ersetzt wurde. Die Transformation wird parametrisiert über den Faktor  $\alpha$ , der das Mischungsverhältnis von individueller und Kunstkopf-Grobstruktur angibt. Diese Manipulation verändert die Mittenfrequenzen der individuellen spektralen Erhebungen und Einbrüche und gibt Aufschluss über die maximale spektrale Distanz zwischen einer individuellen und nicht-individuellen HRTF.

Variation der spektralen Grobstruktur (ILD Morphing)

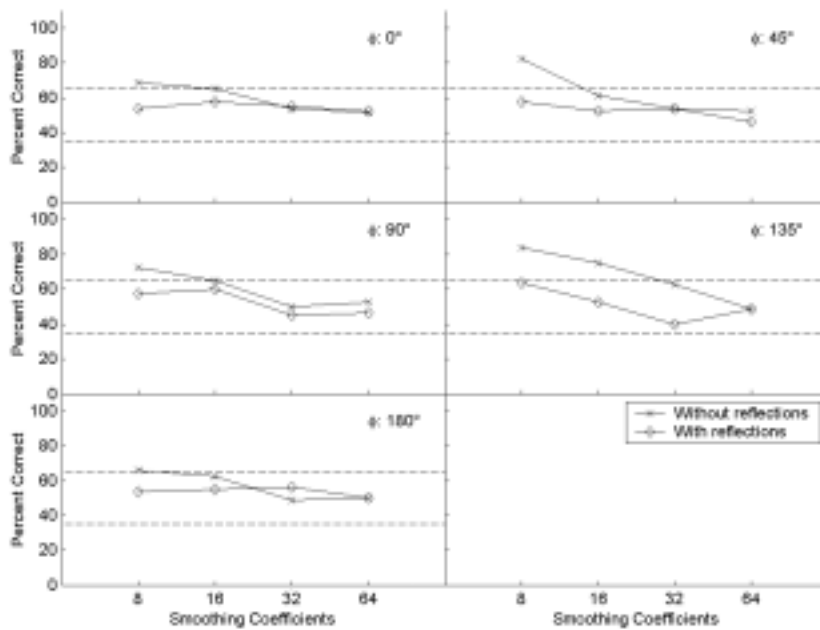


Abb. 2: Detektionsleistung für geglättete HRTF Spektren als Funktion der cepstralen Glättungskoeffizienten unter reflexionsfreien (Kreuze) und reflexionsbehafteten (Rauten) Bedingungen.

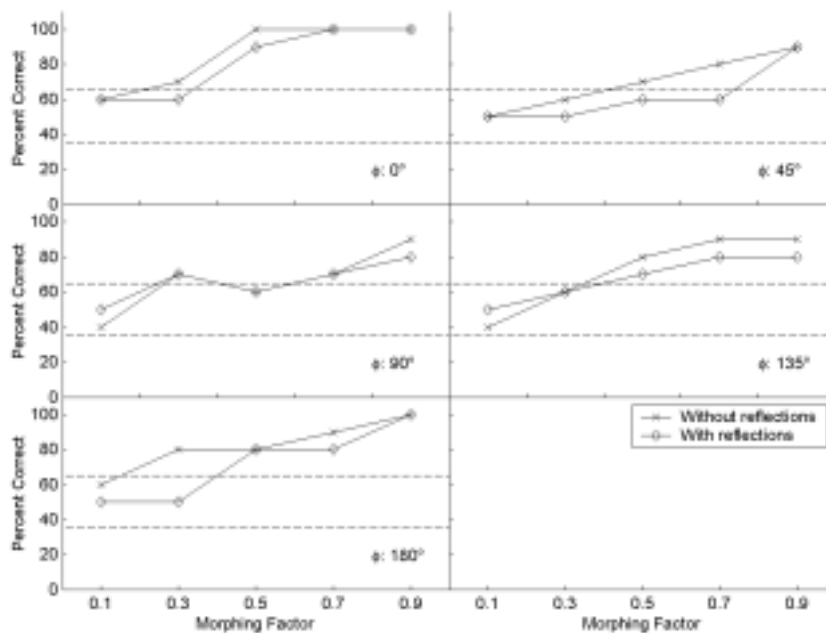


Abb. 3: Detektionsleistungen für die Variation der spektralen Grobstruktur mittels ILD-Morphing unter reflexionsfreien (Kreuze) und reflexionsbehafteten (Rauten) Bedingungen.

### Variation der ITD

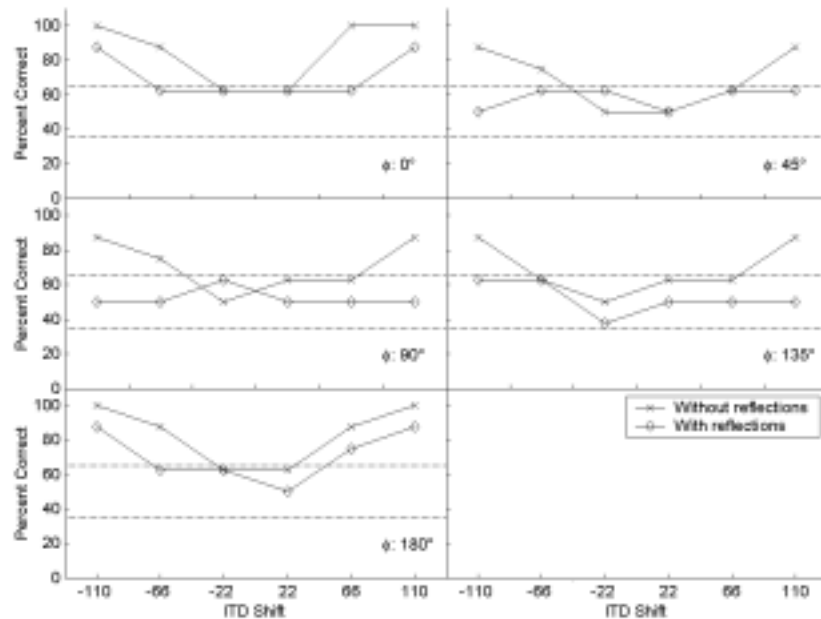


Abb. 4: Detektionsleistungen für die ITD-Variation unter reflexionsfreien (Kreuze) und reflexionsbehafteten (Rauten) Bedingungen.

Die interaurale Laufzeitdifferenz wurde variiert, indem die Impulsantwort des linken Ohres um  $\pm 22, 66, 110 \mu\text{s}$  relativ zum rechten Ohr verschoben wurde. In Gegensatz zu den sonst üblichen Messungen der ITD-JND wurde in dieser Messung individuelle HRIRs verwendet.

In den Abbildungen 2-4 sind die Detektierbarkeit von Lokalisationsänderungen aufgrund der oben beschriebenen Manipulationen jeweils für reflexionsfreie (Kreuze) und reflexionsbehaftete (Rauten) Bedingungen dargestellt. Die Unterbilder einer jeden Abbildung zeigen die entsprechenden Detektionsleistungen für verschiedene Schalleinfallrichtungen in der Horizontalebene. Die waagerechten gestrichelten Linien geben das 95% Signifikanzniveau für die Abweichung von einer zufälligen Antwortverteilung an.

Aus Abb. 2 (cepstrale Glättung der HRTF) geht hervor, daß sogar für nur 8 Koeffizienten der Fourier-Reihe keine signifikante Detektion der manipulierten HRTFs für die Bedingung ohne Reflexionen erfolgt, unabhängig von der Schalleinfallrichtung. Damit können die Ergebnisse der Arbeit von Kulkarni et al. (1997) reproduziert und erweitert werden. Erst bei der Verwendung realistischer Außenohrübertragungsfunktionen im Raum ist der Lokalisationseindruck so scharf, daß eine relativ starke cepstrale Verschmierung bei seitlicher Einfallrichtung detektierbar wird. 16 Koeffizienten der Fourierreihe reichen in den meisten



Fällen aus, um die räumlichen Informationen der HRTF Spektren zu reproduzieren. Um jedoch die Klangfarbe der Stimuli zu erhalten, müssen mehr als 64 Koeffizienten verwendet werden. Die Analyse der physikalischen Parameter der manipulierten HRTFs ergibt, daß die psychoakustischen Daten am besten durch die Abweichung der interauralen Pegeldifferenz (ILD) als Folge der Glättung vorhergesagt werden können. Die zugehörigen kalkulatorischen Detektionsschwellen betragen 1dB ILD-Abweichung für frontalen Schalleinfall und 2 dB Abweichung für lateralen Schalleinfall. Die Schwelle für die Detektion von Klangfarbenänderungen liegt unterhalb von 0.5 dB für frontalen Schalleinfall und bei 0.5 dB für seitlichen Schalleinfall, d.h. bei zunehmender interauraler Pegeldifferenz wird zunächst eine Klangverfärbung detektiert, die erst bei größerer Pegeldifferenz im Sinne einer Lokalisationsverschiebung interpretiert wird.

In Abb. 3 (Detektionsleistungen für HRTFs mit veränderter spektraler Grobstruktur) lassen sich die größten Unterschiede zwischen reflexionsfreier und reflexionsbehafteter Bedingung für 45° und 180° Schalleinfall feststellen. Nur leichte Unterschiede hingegen sind für die übrigen Winkel zu erkennen. Offenbar dominiert hier die Wahrnehmung von Klangunterschieden deutlich die Wahrnehmung von räumlichen Verschiebungen, so daß das Zufügen von Reflexionen (verbunden mit einem schärferen und stabileren Räumlichkeitseindruck) keine deutliche Verbesserung der Diskriminationsleistung hervorruft. Auch für diese Manipulation korreliert die ILD-Abweichung am besten mit den psychoakustischen Daten. Trotz des unterschiedlichen Ansatzes der spektralen Manipulation ergeben sich die gleichen Detektionsschwellen wie für die spektrale Glättung (1dB, frontaler Schalleinfall, 2dB lateraler Schalleinfall).

In Abb. 4 sind die Detektionsleistungen für eine Variation der ITD abgebildet. Im reflexionsfreien Fall liegt die Diskriminationsschwelle (d.h. Überschreiten der Signifikanzgrenze mit zunehmender Zeitdifferenz) deutlich niedriger als im reflexionsbehafteten Fall, weil hier die zusätzlichen Räumlichkeits-Cues offenbar den räumlichen Eindruck auch noch für stark unplausible interaurale Zeitdifferenzen stabil halten. Für Schalleinfall aus der Medianebene ergibt sich im reflexionsarmen Fall eine Detektionsschwelle von ca. 23µs-28µs, die sich um den Faktor 3-4 für seitlichen Schalleinfall erhöht. Weiterhin konnte in dem Verlauf der Schwellen als Funktion des Schalleinfallswinkels die Tendenz festgestellt werden, daß die Schwellen in der rückwärtigen Hemisphäre angehoben sind.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse zur Wahrnehmung manipulierter Außenohrübertragungsfunktionen eine Diskriminationsleistung unter „akustisch trockenen“ Bedingungen, die sich durch die Größe der manipulierten physikalischen Parameter (interaurale Pegeldifferenz und Zeitdifferenz) aus den bekannten psychophysikalischen Diskriminationsschwellen voraussagen läßt. Bei Zufügen von Nachhall führen die zusätzlichen Räumlichkeits-Merkmale zu einem perzeptiven „Magnet-Effekt“, d.h. die Detektionsschwellen von interauralen Zeit- und Pegeldifferenzen erhöhen sich. Von besonderem Interesse ist es daher, ob sich diese Mechanismen der räumlichen akustischen Objekt-Bildung auch objektivieren lassen und auf welcher Station der Hörbahn sie ggf. bereits einsetzen. Diese Frage (Objektivierung und physiologische Zuordnung von akustischen Täuschungen bei der Objektbildung) stellt daher einen wesentlichen Aspekt der geplanten Arbeiten im beantragten Verlängerungszeitraum dar.

### **3. EEG-Meßtechnik für die binaurale Interaktion**

#### *Optimierung des Signal-Rauschabstandes*

Da im Rahmen des vorliegenden Projektes primär die spezifisch auf die binaurale Signalverarbeitung zurückführbaren binauralen Interaktions-Potentiale von Interesse sind, werden besonders hohe Anforderungen an die Meßtechnik zur Reduktion von Störungen und zur Optimierung des Signal- Störabstandes gelegt. Zunächst wurden daher die Methoden zur Auswertung und Qualitätsbeurteilung im Sinne des Signal-Rausch-Abstands (SNR) akustisch evozierter Potentiale (AEP) optimiert. Die einzelepochenbasierte SNR-Schätzung ist der konventionellen Schätzung, die auf Teilmittelwerten oder der Varianz im Prästimulusintervall beruht, überlegen. Beste Potentialrekonstruktionen ergeben sich durch linearphasiges Filtern mit anschließendem iterierten, gewichteten Mitteln, das zudem die willkürliche Wahl einer konventionellen Artefaktschranke überflüssig macht (Riedel et al., 2001). Die hierzu notwendigen Grundlagen-Arbeiten konnten im Berichtszeitraum abgeschlossen und publiziert werden (Granzow et al., 2001, Riedel et al., 2001).

#### *Aufbau der 64-Kanalapparatur*

Im Antragszeitraum wurde ein zweiter EEG-Verstärker (Synamps) beschafft, um die bestehende 32-Kanal-Apparatur auf 64 Kanäle zu erweitern. Leider erwies sich der neue Verstärker wegen starken Netzbrummens zunächst als unbrauchbar. Nach Auskunft des Herstellers lag dies an der jetzt zu erfüllenden CE-Norm. Nach mehreren Revisionen konnte dieses Problem schließlich überwunden werden, es blieb lediglich das lästige Übersprechen

des Stimulus-Trigger-Signals. Im Gegensatz zum ersten, fünf Jahre älteren Verstärker ist es mit dem neuen Synamps möglich, kontinuierlich mit 10 kHz Abtastrate zu messen. Dies ermöglicht uns das simultane Ableiten akustisch evozierter Potentiale früher und mittlerer Latenz. Der alte Verstärker durchlief auch mehrere Revisionen: Zunächst mußten wir feststellen, daß die Zuordnung der Triggerwörter, die verschiedene Stimuli markieren, nicht zuverlässig funktionierte. Dies konnte nach anderthalb Jahren vom Hersteller abgestellt werden und erlaubte uns fortan Messungen mit randomisierter Stimulation. Leider konnten wir nur im sog. Epochenmodus, nicht aber kontinuierlich ableiten, wodurch die Koregistrierung von FAEP und MAEP entfiel. Im kontinuierlichen Modus verlor der Verstärker nach wenigen Minuten die Synchronisation zwischen Daten und Trigger. Vom Hersteller wurde behauptet, dies sei unmöglich und müsse an unserer selbst gebauten Stimulusapparatur liegen. Erst mit dem zweiten, neueren Verstärker konnten wir zeigen, daß der Fehler nicht am Stimulator, sondern am alten Verstärker lag, da der neue Synamps nicht desynchronisierte. Daraufhin wurde der alte Verstärker zum Austausch der Hauptplatine in die USA geschickt. Die Kopplung der beiden Verstärker zu einer 64-Kanalapparatur kann erst nach der Revision des alten Verstärkers vorgenommen werden. Trotz dieser apparativen Probleme konnte eine Reihe von Meßserien erfolgreich abgeschlossen werden (s.u.), wobei aufgrund der genauen Kenntnisse der apparativen Restriktionen die Qualität der aufgenommenen Daten sehr sicher eingeschätzt werden kann.

#### *Binaurale FAEP und BD auf Clicks und Chirps*

In TP C1 wurde ein Chirp Stimulus entwickelt, der durch die Kompensation der Dispersion auf der Basilarmembran eine größere neuronale Synchronisation und damit größere evozierte Potentiale als der Click hervorrufen kann (Dau et. al, 2000). Hier wurde der Chirp in der Variante mit flachem Spektrum, das dem Click-Spektrum ähnelt, verwendet, um binaurale Potentiale und das binaurale Differenzpotential auf Clicks und Chirps vergleichend zu analysieren. Dazu wurden von 10 normalhörenden Versuchspersonen FAEP auf Clicks und Chirps mit Pegeln von 10 bis 60 dB nHL in Schritten von 10 dB vergleichend gemessen. Pro Stimuluskondition wurden 10000 Einzelepochen aufgenommen und wie oben beschrieben ausgewertet. Die binaurale Welle V auf Clicks wächst für alle Versuchspersonen monoton mit dem Pegel. Für Chirps sind die Wachstumsfunktionen steiler und saturieren im Mittel über die Versuchspersonen bei 40 dB nHL, allerdings gibt es große interindividuelle Schwankungen: Mit von 40 bis 60 dB nHL steigendem Pegel wächst bei einigen Versuchspersonen die Welle V, bei anderen fällt sie. Der Amplitudenunterschied zwischen Click- und Chirp-evozierten

binauralen Potentialen ist für Pegel zwischen 20 und 40 dB nHL hochsignifikant ( $p < 0.001$ , Wilcoxin Ranktest), und für 50 bis 60 dB nHL noch signifikant ( $p < 0.05$ ). Für das BD wurden analog monotone Wachstumsfunktionen für Clicks, steilere und bei 40 dB saturierende Wachstumsfunktionen bei Chirps gefunden (Abb. 5). Die BD-Differenzen sind im Pegelbereich 30 bis 40 dB nHL signifikant ( $p < 0.01$ , Wilcoxin Ranktest). Die Ergebnisse belegen, daß der Chirp-Stimulus für binaurale Fragestellungen, insbesondere für Untersuchungen zur binauralen Interaktion wegen des größeren Dynamikbereichs der evozierten Potentiale besser geeignet ist als der Click (Riedel und Kollmeier, 2001).

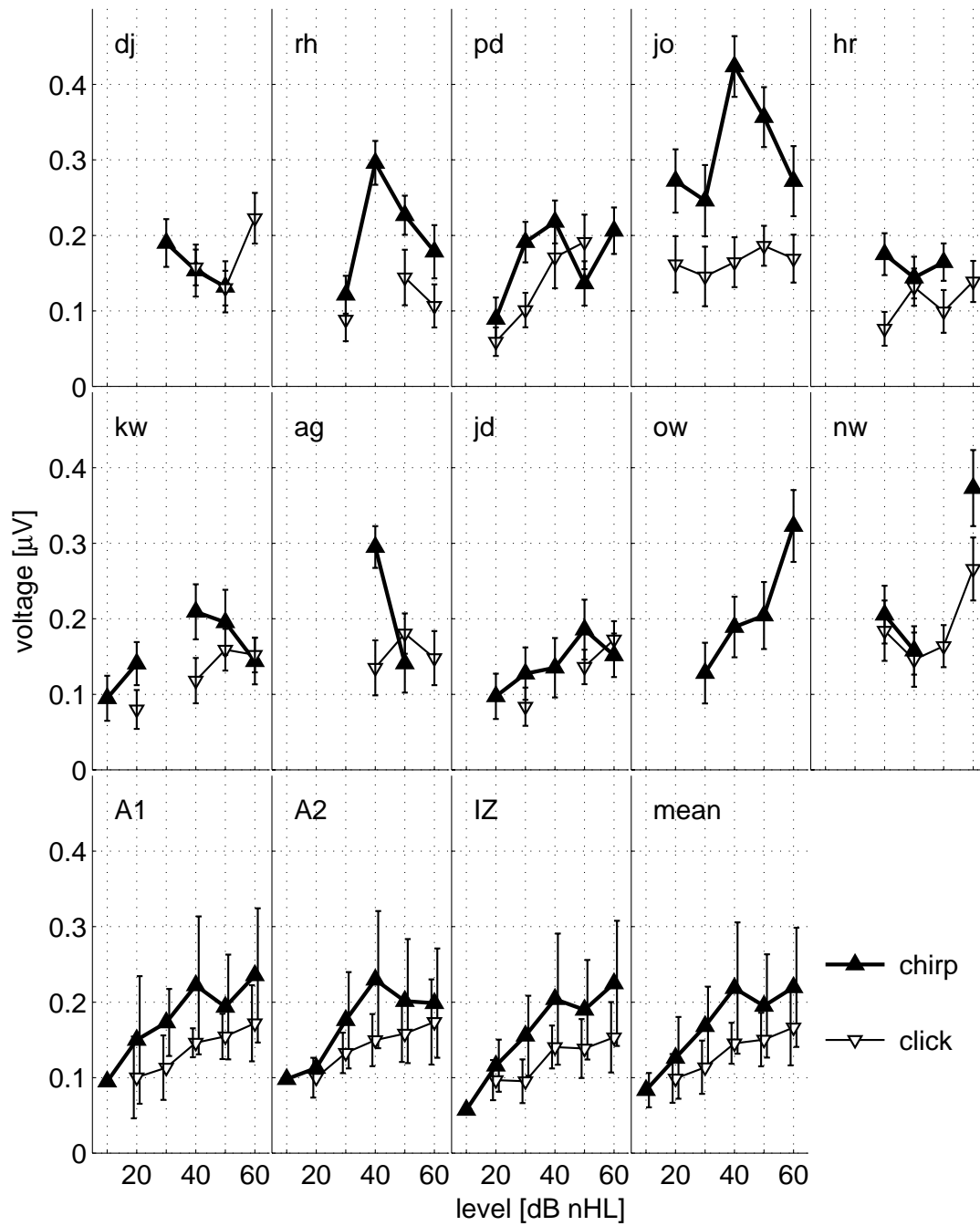


Abb. 5: Vergleich der Amplitudendifferenz DP1-DN1 des binauralen Differenzpotentials für Clicks und Chirps in Abhängigkeit vom Stimulationspegel.

### *Binaurale Potentiale auf Rauschen mit abrupter interauraler Phasenumkehr*

Binaurale Differenzpotentiale als Korrelate der spezifisch binauralen Verarbeitung haben große Nachteile: Sie werden indirekt aus drei Messungen bestimmt (derived potentials), weisen sehr kleine Amplituden auf und haben zudem etwa die dreifache Varianz der Einzelantworten.

Oben wurden bereits die Bemühungen zur Verbesserung des SNR ausgeführt. Ein Ausweg aus diesen Problemen wäre ein spezifisch binauraler Stimulus, d.h. ein Stimulus, der monaural keine Potentiale hervorruft, aber trotzdem eine binaurale Antwort. Für späte Potentiale sind solche Stimuli von Ungan et al. (1997) entwickelt worden. Für Potentiale früher und mittlerer Latenz sind spezifisch binaurale Stimuli bisher nicht bekannt. Hier wurden Versuche mit binauralem binären laufendem Rauschen (running noise) durchgeführt. Das Rauschen war 67 ms diotisch, dann wurde für 1 ms das Vorzeichen des Signals für das linke Ohr umgekehrt, danach wieder diotisch fortgefahren. Das psychoakustische Perzept ist zentral wahrgenommenes Rauschen, das von einem lateralisierten Clicktrain unterbrochen wird. Monaural hört man keine Clicks.

Es wurden Pilotmessungen mit verschiedenen Pegeln, Filtern und Zeitdauern der interauralen Korrelationsumkehr durchgeführt. Mit 80000 Einzelepochen konnte zwar das Restrauschen auf 3 nV reduziert werden, ein evoziertes Potential wurde aber nicht sichtbar. Die Desynchronisation der Neurone durch das Rauschen ist offenbar zu stark im Vergleich zu dem geringen „effektiven“ Pegel des akustischen Objektes, das durch Umschalten der Korrelation hervorgerufen werden kann, so daß dieses Paradigma für die weiteren Untersuchungen als nicht geeignet erscheint.

## **4. Analyse der Vielkanal-MAEP-Daten mit dynamischen raumzeitlichen Modellen**

Die hohe Daten-Qualität (großer Signal-Rauschabstand, hohe Abtastfrequenz) der im Rahmen des vorliegenden Projektes aufgenommenen akustisch evozierten Potentiale ermöglicht die Anwendung neuer Analyse-Techniken aus der Theorie nichtlinearer dynamischer Systeme auf diese Daten. In Kooperation mit A. Hutt (Max-Planck-Institut für neuropsychologische Forschung und Max-Planck-Institut für Mathematik in den Naturwissenschaften in Leipzig) wurde daher die Kombination einer Clustering- und nichtlinearen Modellierungsmethode angewendet, um dynamische raumzeitliche Modelle für evozierte Potentiale zu bestimmen. Viele Analysemethoden müssen sich dabei auf feste Zeitfenster beschränken und meist stationäres Verhalten des Signals voraussetzen, was in gemessenen EEG/MEG Daten nicht gegeben ist. Eine Methode zur Modellierung raumzeitlicher Dynamik, die nicht-stationäres

Verhalten berücksichtigt und weitgehend das Problem eines optimalen Zeitfensters löst, ist als Kombination einer Clusteranalyse und einer nichtlinearen raumzeitlichen Modellierung entwickelt worden (Uhl, 1999). Fixed Point Analysis (FPA, Hutt et al., 2000, 2001) detektiert Zeitfenster quasi-stabiler räumlicher Muster in raumzeitlichen Signalen und beschreibt nicht-stationäres raumzeitliches Verhalten als Sequenz quasi-stabiler Prozesse. Mittels Clusteranalyse im hochdimensionalen Signalraum können quasi-stabile Muster detektiert und bestimmt werden. Das hierbei auftretende Problem der Bestimmung der Anzahl von Clustern ist durch ein abgeleitetes Kriterium (Hutt et al., 2001) gelöst. Die anschließende niederdimensionale Modellierung der Dynamik eines detektierten Zeitfensters (Hutt et al., 1999) bestimmt Systeme nichtlinearer gewöhnlicher gekoppelter Differentialgleichungen. Die Anwendung auf mittellatente akustisch evozierte Potentiale (MAEP) erlaubt die Zuordnung einer bestimmten Topologie zur Komponente P30, welche durch jeweils zwei Sattelpunkte und stabile Foki im niederdimensionalen Projektionsraum bestimmt ist (Hutt und Riedel, 2001). Diese Topologie bestimmt die raumzeitliche Dynamik der Komponente. Die Bedeutung der Fixpunkte ist noch unklar, wobei weitere Analysen ähnlicher Datensätze mehr Licht auf ihre Bedeutung in der Dynamik neuronaler Prozesse werfen wird.

## **5. Binaurale Objektbildung mit akustisch evozierten Potentialen**

Ziel unserer Untersuchungen ist die Frage, wo und wie die „räumliche Karte“ der äußeren akustischen Umwelt in unserem Gehirn gebildet wird und wie die dazu beitragenden physikalischen Reize in auditorische Objekte umgesetzt werden. Eine mögliche Hypothese ist die Auswertung von „primitiven Merkmalen“ wie interauralen Zeit- und Pegeldifferenzen im Hirnstamm, während im Kortex diese Merkmale (zusammen mit weiteren Merkmalen) zu auditorischen Objekten zusammengesetzt werden. Um diese Hypothese zu prüfen, ist die Frage wichtig, wo interaurale Zeitdifferenzen (ITD) und interaurale Pegeldifferenzen (ILD) verrechnet werden. Bei einer Verrechnung im Hirnstamm wäre von einer Umsetzung beider Größen direkt in einem Lateralisations- bzw. Lokalisations-Perzept auszugehen. Alternativ würden interaurale Zeit- und Pegeldifferenzen getrennt voneinander im Hirnstamm ausgewertet werden, um auf der kortikalen Ebene jeweils als „Time“-Image bzw. „Intensity“-Image abrufbar zu sein, die dann zu einem Objekt zusammengefügt werden. Zur Klärung dieser Fragen wurden einerseits frühe akustisch evozierte Potentiale und andererseits späte Potentiale (Odd Ball Paradigma bei der Mismatch-Negativity) bei normalhörenden Menschen für verschiedene Kombinationen von interauralen Zeit- und Pegeldifferenzen durchgeführt.

### *Frühe akustisch evozierte Potentiale (FAEP)*

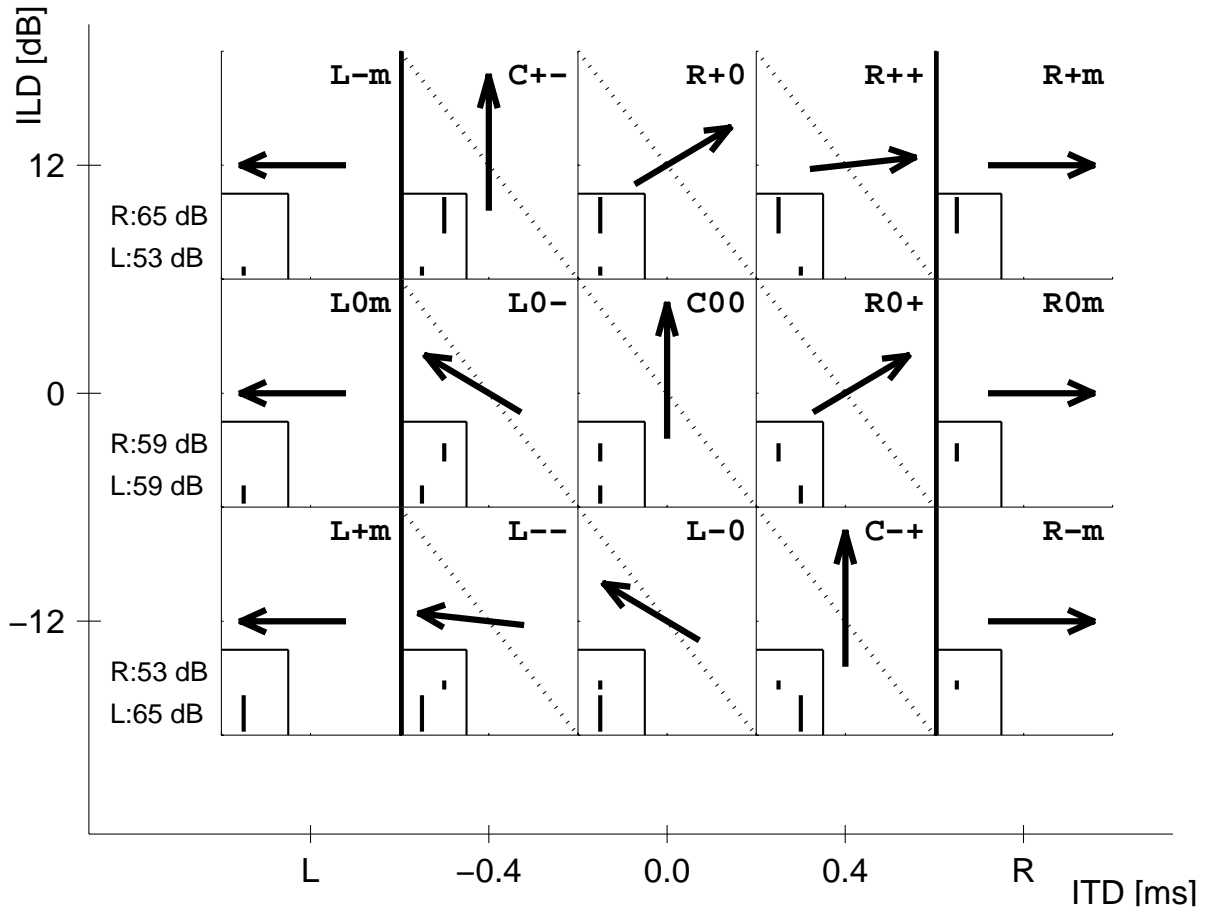
Von 12 normalhörenden Versuchspersonen (3 weiblich, 9 männlich, Alter 25-36 Jahre) wurden Click-evozierte FAEP für 15 Stimuluskonditionen, 6 monaural und 9 binaural, gemessen. Die monauralen Antworten wurden mitgemessen, um neben den binauralen Antworten auch das sog. binaurale Differenzpotential, d.h. die Differenz zwischen binauralem Potential und der Summe der monauralen Potentiale ( $BD = B - (L + R)$ ), auswerten zu können. Die monauralen Clicks wurden mit den Pegeln 53, 59 und 65 dB nHL für beide Ohren dargeboten. Die binauralen Stimuli waren alle neun Kombinationen aus 3 ITDs (-0.4, 0.0 und +0.4 ms) und 3 ILDs (-12, 0, und +12 dB), siehe Abb.6. Eine ITD von +0.4 ms sowie eine ILD von +12 dB rufen psychakustisch eine ähnlich starke, aber nicht totale Lateralisation zur rechten Seite hervor (Furst et al. 1985, McPherson und Starr 1995). Durch die synergistische Kombination (ITD = +0.4 ms und ILD = +12dB) wird der Lateralisationseffekt verstärkt. Durch die antagonistische Kombination (ITD = +0.4 ms und ILD = -12dB) ergibt sich dagegen ein zentrales Perzept (time-intensity-trading).

Die 4 Ableitpositionen waren beide Mastoiden (A1, A2) und die parieto-okzipitalen Kanäle PO9 und PO10, gemeinsame Referenzelektrode war Cz. Für jede der 15 Stimuluskonditionen wurden 10000 Einzelepochen bei einer mittleren Wiederholrate von 15 Hz aufgezeichnet. Es wurden die jeweils 5 Stimuli zu einer ILD (eine Zeile in Abb. 6) durch Randomisierung auf Einzelepochenbasis quasi-simultan gemessen. Auf kontralaterale Vertäubung während der monauralen Stimulation konnte verzichtet werden, da die Verwendung von Schlauchhörern und moderaten Pegeln Artefakte durch akustisches Übersprechen ausschloß (Levine 1981). Die Methode der quasi-simultanen Messung von linker, rechter und binauraler Antwort schließt Artefakte im BD durch Langzeitänderungen der Aufnahmebedingungen oder des Versuchspersonenstatus aus.

Für die monauralen und binauralen Potentiale wurden Amplitude und Latenz der Welle V, für das BD die Amplitudendifferenz der Peaks DP1-DN1 (Notation nach Ito et. al., 1988) sowie die Latenz von DN1 ausgewertet. Das Restrauschen der Potentiale wurde als Standardfehler  $\sigma$  über die 10000 Einzelepochen bestimmt. Der Standardfehler des BD wurde als Wurzel aus der Summe der Varianzen von linker, rechter und binauraler Stimulation berechnet. Peaks wurden als signifikant angesehen, wenn sie mehr als  $2\sigma$  von der baseline abwichen (bzw.  $2\sigma\sqrt{2}$  für peak-to-peak-



Abb. 6: Nomenklatur und Lateralisation (Pfeile) der verwendeten Stimuli.



Messungen der Amplitude des BD). Latenzfehler wurden aus den Amplitudenfehlern und der Krümmung der Peaks geschätzt (Hoth 1986).

Abb. 7 zeigt die Abhängigkeit der Amplitude der Welle V von den Stimulusparametern. Aus der dreidimensionalen Darstellung rechts ist ersichtlich, daß die Amplitude maximal ist für den diotischen und die antagonistischen Stimuli, also für zentral wahrgenommene Stimuli. Mit wachsender Lateralisation wird Welle V kleiner und ist minimal für die synergistischen, am stärksten lateralisierten Stimuli. Die Latenz der Welle V hängt dagegen nicht systematisch von der Lateralisation ab. Die Latenzen sind am kleinsten für den diotischen und die synergistischen Stimuli, am größten für die antagonistischen Stimuli.

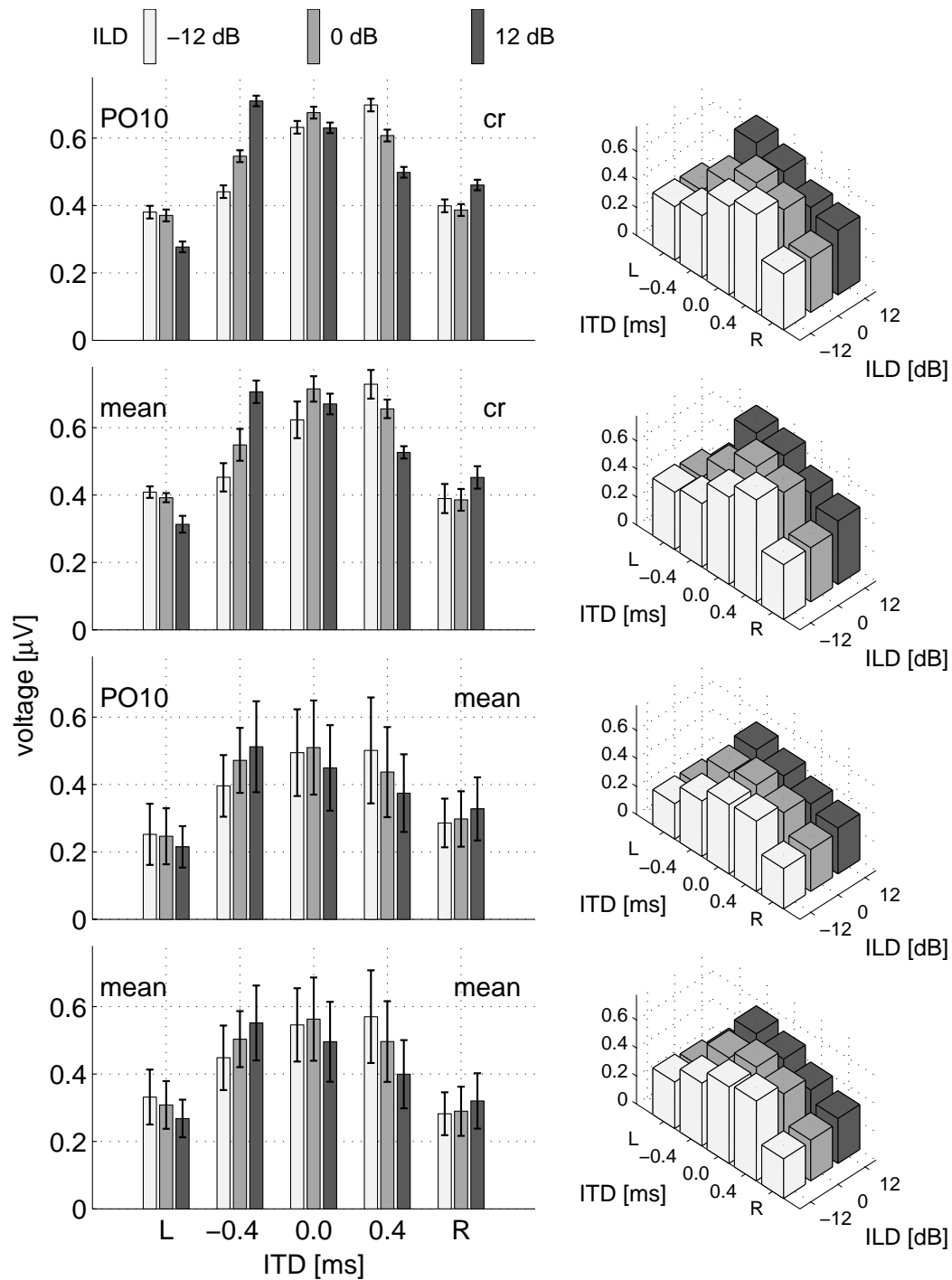


Abb. 7: Amplitude der Welle V als Funktion von ILD und ITD.

Die Analyse des binauralen Differenzpotentials BD ergibt ein zu den binauralen Antworten analoges Bild: Die Amplitudendifferenz DP1-DN1 ist maximal für zentrale und minimal für synergistische Stimuli. Die Latenz von DN1 hängt dagegen nur von der ITD ab: Sie ist für Stimuli mit ITD um 0.21 ms, also etwa  $ITD/2$ , größer als für Stimuli mit  $ITD=0$ . Die

Unterschiede in den Amplituden bei antagonistischer und synergistischer Kombination von ITD und ILD sind sowohl für die binauralen Potentiale ( $p < 0.01$ , Wilcoxin Ranktest) als auch für das BD ( $p < 0.05$ ) signifikant. Diese Amplitudendifferenzen zeigen, daß Zeit- und Pegeldifferenzen im Hirnstamm nicht unabhängig verarbeitet werden. Denn bei unabhängiger Verarbeitung könnten keine Unterschiede zwischen synergistischen und antagonistischen Antworten auftreten (Riedel und Kollmeier, 2001, eingereicht bei Hearing Research).

### *Späte Potentiale mit dem Paradigma der Mismatch-Negativity*

Um zu prüfen, ob eine abhängige Verarbeitung von Zeit- und Pegeldifferenzen auch für kortikale Potentiale gefunden wird und damit die Ergebnisse von Schroeger et al. (1997) zu überprüfen, wurden vergleichbare Messungen mit ITD und ILD sowie synergistischer und antagonistischer Kombination dieser Parameter mit dem Paradigma der Mismatch-Negativity durchgeführt (Damaschke, 1999). Als Standardreiz wurde jeweils eine ILD und ITD von 0 angeboten, während als Deviant (in 5% der Fälle mit statistischer Abfolge) entweder eine interaurale Pegeldifferenz, eine interaurale Zeitdifferenz oder eine synergistische bzw. antagonistische Kombination beider Größen unter Verwendung von Click-Stimuli angeboten wurde. Als Mismatch-Negativity wird der Unterschied zwischen der Antwort auf dem Devianten zu der Antwort auf den Standardstimulus bezeichnet, die ein Maximum bei etwa 100 ms (N 100) aufweist. Als Ergebnis zeigte sich bei den Experimenten, daß die von interauralen Zeit- und Pegeldifferenzen hervorgerufenen Mismatch-Negativity-Werte sich deutlich voneinander unterscheiden. Während die MMN sich bei synergistischen Stimuli fast wie eine Linearkombination aus den Antworten zu den jeweiligen Einzelstimuli interpretieren ließen, ist dies bei antagonistischer Darbietung (Kompensation der interauralen Zeit-Differenz durch eine gegensinnige interaurale Pegeldifferenz) nicht mehr der Fall: Die Antwort läßt sich weder durch eine konstruktive noch durch eine destruktive Überlagerung der Antworten auf die Einzelstimuli erklären. Subjektiv nach ihrer Lateralisation gleich bewertete Einzelstimuli generieren also unterschiedliche MMNs je nach interauraler Zeit- oder Pegeldifferenz. Dies läßt sich als eine (zumindest teilweise) unabhängige Verarbeitung von interauraler Pegel- und interauraler Zeitdifferenz interpretieren, so daß auf der kortikalen Ebene (zum Verarbeitungszeitpunkt der Mismatch-Negativity) ein anderes Muster resultiert als bei den frühen akustisch evozierten Potentialen (s. o.). Allerdings stimmt dieses Muster mit dem subjektiven Eindruck überein, daß bei einem „trading“ von interauraler Zeit- und Pegeldifferenz der Höreindruck zwar in der Mitte zentralisiert ist, dafür aber etwas breiter bzw. diffuser erscheint als bei der Referenzsituation mit verschwindender Zeit- und Pegeldifferenz.

### ***Folgerungen***

Insgesamt können die hier vorliegenden Daten daher so gedeutet werden, daß im Hirnstamm eine „echte“ binaurale Interaktion nachweisbar ist, die in einer systematischen Abhängigkeit von frühen akustisch evozierten Potentialen (Welle V) und des binauralen Differenzpotentials von der Lateralisation resultiert. Dies gibt Hinweise auf eine Objektbildung bereits im Hirnstamm, z. B. auf der Ebene der oberen Olive bzw. des colliculus inferior und lemniscus lateralis. Die dazu komplementären Befunde der Mismatch-Negativity sprechen für eine teilweise getrennte Verarbeitung, die (ebenso wie der subjektive Eindruck) auf eine separate Abbildung des „Zeit“-Bildes und „Intensitäts“-Bildes im Kortex hindeuten.

Eine mögliche Interpretation wäre eine schnelle und „unscharfe“ Lokalisation von Objekten auf der Ebene des Hirnstamms, bei der sämtliche verfügbaren Merkmale (speziell ILD und ITD) auf die plausibelste Weise in festverdrahteter Form (d.h. „hard-wired“ Verrechnung von ILD und ITD) zu einem ersten Ortseindruck zusammengefügt werden. Auf kortikaler Ebene wäre eine genauere, aber erst langsam entstehende Abbildung des Hörobjektes möglich, bei der sämtliche verfügbaren Merkmale einbezogen werden, so daß sich die Beschaffenheit (Feinstruktur) des Hörobjektes je nach Kombination von ILD und ITD ändert, selbst wenn der wahrgenommene Ort (Lage des Objektes im Raum) sich nicht ändert. Diese Sichtweise ist möglicherweise vergleichbar mit den unterschiedlichen Verarbeitungswegen im visuellen System, bei denen die grobe und schnelle Ortsinformation getrennt von der langsameren und fein aufgelösten Struktur-Information verarbeitet wird. In der Terminologie der bekannten Modelle zur binauralen Verarbeitung würden die bisherigen Befunde dafür sprechen, daß auf Hirnstammebene die klassischen Modell-Annahmen zutreffen, die eine unmittelbare Verrechnung von Zeit- und Pegeldifferenzen zur Ermittlung des Ortes einer Schallquelle annehmen (z. B. das Modell nach Lindemann, 1986, mit kontralateraler Inhibition oder das klassische Jeffress-Modell, das eine Umrechnung interauraler Intensitäts-Differenzen in interaurale Zeitdifferenzen anhand von Latenzverschiebungen vorsieht). Diese Hypothese ist konsistent mit den Ergebnissen von Ulanovsky (1997), der die Latenz des Binauralen Differenzpotentials (BD) auf Hirnstammebene in Abhängigkeit von der ITD untersuchte. Im Jeffress-Modell (2 delay lines) muß die Latenz der BD mit  $ITD/2$  zunehmen. Bei der von uns gemessenen  $ITD=0.4$  ms ist die BD-Latenz um 0.21 ms verzögert, stimmt also bei dieser einen ITD mit der Hypothese überein. Bei einer single delay line muß die Latenzverschiebung gerade ITD sein.

Auf kortikaler Ebene müßten dagegen mehrdimensionale Muster aus den jeweiligen subkortikalen Merkmalsdetektoren (einschließlich Ausgängen des Jeffress-Modells)

zusammengesetzt werden, um die feine Auflösung des akustischen Objektes adäquat zu beschreiben.

## **6. Zusammenfassung und Ausblick**

Die wesentlichsten Ergebnisse des Arbeitsberichtes können wie folgt zusammengefaßt werden:

- Ein Modell der „effektiven“ binauralen Signalverarbeitung konnte auf der Basis der bereits existierenden monauralen Modelle und einer spezifischen binauralen Verarbeitungsstufe vorgestellt und erfolgreich getestet werden (Zerbs et al., 2001). Diese Arbeiten können in Bezug auf das laufende Projekt als abgeschlossen angesehen werden.
- Mit Hilfe der virtuellen Akustik und einer speziell konstruierten Lautsprecher-Positioniereinrichtung im reflexionsarmen Raum (Otten, 2001) konnte psychoakustisch die Sensitivität des räumlichen Lokalisationseindrucks von Parameter-Änderungen (cepstrale Glättung des Spektrums, parametrische Änderung der spektralen Feinstruktur, Änderung der interauralen Zeitverzögerung) ausgemessen werden. Dabei zeigte sich eine hohe Robustheit der Lokalisation gegenüber Parameter-Änderungen (abhängig vom Stimulus), die sich bei Zufügen von Nachhall noch deutlich vergrößerte („perzeptiver Magneteffekt“). Von besonderem Interesse ist es daher, ob sich diese Mechanismen der räumlichen akustischen Objekt-Bildung auch objektivieren lassen und auf welcher Station der Hörbahn sie ggf. bereits einsetzen. Diese Frage (Objektivierung und physiologische Zuordnung von akustischen Täuschungen bei der Objektbildung) stellt daher einen wesentlichen Aspekt der geplanten Arbeiten im beantragten Verlängerungszeitraum dar.
- Die Messmethodik von Vielkanal-Aufnahmen akustisch evozierter Potentiale konnte anhand optimierter Mittelungstechniken (iteratives gewichtetes Mittel) und durch einen Chirp-Reiz als Ersatz für den Click-Reiz deutlich verbessert werden. Sie stellt die Voraussetzung für die geplanten weiteren neurophysiologischen Arbeiten dar, bei denen frühe und mittellatente akustisch evozierte Potentiale ebenso wie die Mismatch Negativity ausgemessen werden sollen.
- Die Anwendung neuer Analysemethoden zur raumzeitlichen Dynamik auf mittellatente akustisch evozierte Potentiale (MAEP) erlaubt die Zuordnung einer bestimmten Topologie zur Komponente P30 (jeweils zwei Sattelpunkte und stabile

Foki im niederdimensionalen Projektionsraum, Hutt und Riedel, 2001), deren Bedeutung allerdings noch unklar ist.

- Der Vergleich von interauraler Zeitdifferenz- versus interauraler Pegeldifferenz-Abhängigkeit auf Hirnstammebene (Welle V der frühen akustisch evozierten Potentiale) und auf kortikaler Ebene (Methode der Mismatch-Negativity) liefert Hinweise auf eine direkte, schnelle Verrechnung von Ortungs-Merkmalen im Hirnstamm und eine unabhängige, zu einem detaillierteren akustischen Objekt führende Verarbeitung auf kortikaler Ebene.

Die hier vorgestellten methodischen Voraussetzungen und die Paradigmen zur systematischen Abhängigkeit der Wahrnehmung und der akustisch evozierten Potentiale von den physikalischen binauralen Parametern stellen die Grundlage für die im Rahmen des Folgeantrags geplanten Experimente dar. Dabei soll zunächst geklärt werden, ob das hier bestimmte binaurale Differenzpotential (BD) sich bei externalisierten Stimuli (erzeugt durch individuelle Außenohrübertragungsfunktionen) verstärkt und wie es von der Einfallsrichtung des Schalls abhängt. Anschließend sollte die hier eingeführte akustische Täuschung des „perzeptiven Magneteffekts“ ebenso wie andere akustische Paradoxien (Präzedenzeffekt, inheritance-effekt aus der visuellen Analogie) mit EEG-Messungen überprüft werden. Dabei könnte möglicherweise gezeigt werden, auf welcher Station der Hörbahn die akustische Illusion entsteht bzw. welche Objekteigenschaften wie für die Wahrnehmung umgesetzt werden. Das langfristige Ziel dieser Arbeiten ist ein quantitatives, hierarchisches Modell der auditorischen Objektbildung, bei dem die „effektive“ Signal- und Merkmalsverarbeitung auf jeder Stufe der Hörbahn ausgenutzt wird, um auf einer höheren Stufe der Hörbahn eine auditorische Szenenanalyse (mit Synthese bzw. Segregation verschiedener auditorischer Objekte) zu leisten.

## **7. Literaturverzeichnis**

Breebart, J., van der Par, S. und Kohlrausch, A. (2000). „An explanation for the apparently wider critical bandwidth in binaural experiments“, In: D.J. Breebart, A.J.M. Houtsma,

A.Kohlrausch, V.F.Prijs und R.Schoonhoven (Eds.): Proceedings of the 12<sup>th</sup> International Symposium on Hearing. Physiological and psychophysical bases of auditory function, Shaker, Maastricht

Breebart, J., van der Par, S. und Kohlrausch, A. (2001). „A model for the effective signal processing in the binaural auditory system based on contralateral inhibition. I. Model setup“, J. Acoust. Soc. Am. In preparation

- Dau, T., Püschel, D. und Kohlrausch, A. (1996). „A quantitative model of the ‘effective’ signal processing in the auditory system. I. Model structure“ J. Acoust. Soc. Am. 99: 3615-3622
- Dau, T., Püschel, D. und Kohlrausch, A. (1996). „A quantitative model of the ‘effective’ signal processing in the auditory system. II. Simulations and measurements“, J. Acoust. Soc. Am. 99: 3623-3631
- Durlach, N. I. (1972). „Binaural signal detection: Equalization and cancellation theory“, In: J.V. Tobias (Ed.): Foundations of modern auditory theory, vol II, chap. 10. Academic Press, New York
- Furst, M., Levine, R. A. und McGaffigan, P. M. (1985). „Click lateralization is related to the  $\beta$ -component of the dichotic brainstem auditory evoked potentials of human subjects“, J. Acoust. Soc. Am. 78 (5): 1644-1651
- Holube, I., Kinkel, M. und Kollmeier, B. (1998). „Binaural and monaural filter bandwidths and time constants in probe tone detection experiments“, J. Acoust. Soc. Am. 104 (4): 2412-2425
- Hoth, S. (1986). „Reliability of latency and amplitude values of auditory-evoked potentials“, Audiology 25: 248-257
- Ito, S., Hoke, M., Pantev, C. und Lütkenhöner, B. (1988). „Binaural interaction in brainstem auditory evoked potentials elicited by frequency-specific stimuli“, Hear. Res. 35: 9-20
- Jeffress, L. A. (1948). „A place theory of sound localization“, J. Comp. Physiol. Psychol. 41: 35-39
- Kulkarni, A. und Colburn, H. (1998). „Role of spectral detail in sound localization“, Nature 396: 747-749
- Lindemann, W. (1986). „Extension of a binaural cross-correlation model by contralateral inhibition.  
I. Simulation of lateralization of stationary signals“, J. Acoust. Soc. Am. 80: 1609-1622
- Levine, R. A. (1981). „Binaural interaction in brainstem potentials of human subjects“, Ann. Neurol. 9: 384-393
- McPherson, D. L. und Starr, A. (1995). „Auditory time-intensity cues in the binaural interaction component of the auditory evoked potentials“, Hear. Res. 89: 162-171
- Schröger, E., Tervaniemi, M., Winkler, I. und Näätänen, R. (1997). „Processing of interaural cues used for auditory lateralization as revealed by the mismatch negativity“, Contributions to Psychological Acoustics: Results of the Seventh Oldenburg Symposium on Psychological Acoustics. A. S. a. M. Klatt. Oldenburg, BIS: 49-56
- Ungan, A., Yagcioglu, S. und Özmen, B. (1997). „Interaural delay-dependent changes in the binaural difference potential in cat auditory brainstem response: implications about the origin of the binaural interaction component“, Hear. Res. 106: 66-82

Uhl, C. (Ed.,1999). „Analysis of Neurophysiological Brain Functioning”, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg

Uhl, C., Kruggel, F., Opitz, B. und von Cramon, Y. (1997). „A New Concept for EEG-MEG-Signal Analysis: Detection of Interacting Spatial Modes”, *Human Brain Mapping* 6: 137-149

### **Im Berichtszeitraum publizierte eigene Arbeiten**

#### Zeitschriftenartikel und Buchbeiträge

Damaschke, J., Granzow, M., Riedel, H. und Kollmeier, B. (2000). „Zur Äquivalenz von interauralen Zeit- und Pegelunterschieden bei kurzen Stimuli”, *Zeitschrift für Audiologie/Audiological Acoustics* 39(2): 40-52

Dau, T., Wegner, O., Mellert, V. und Kollmeier, B. (2000). „Auditory brainstem responses (ABR) with optimized chirp signals compensating basilar-membrane dispersion.”, *J. Acoustical Soc. Am.* 107(3): 1530-1540

Granzow, M., Riedel, H. und Kollmeier, B. (2001). „Single-sweep-based methods to improve the quality of auditory brain stem responses. Part I: optimized linear filtering”, *Z. Audiol.* 40(1):32-44

Hansen, M. und Kollmeier, B. (1999). „Continuous Assessment of time-varying speech quality”, *J. Acoust. Soc. Am.* 106, p. 2888-2899

Hansen, M. und Kollmeier, B. (2000). „Objective modeling of speech quality with a psychoacoustically validated auditory model”, *J. Audio Eng. Soc.* 48(5): 395-408

Hansen, M. und Kollmeier, B. (2000). „Perception of band-specific speech quality distortions: detection and pairwise comparison”, *Acustica united with acta acustica* 86(2): 338-349

Holube, I., Kinkel, M. und Kollmeier, B. (1998). „Binaural and Monaural Auditory Filter Bandwidths and Time Constants in Probe Tone Detection Experiments”, *Journal of the Acoustical Society of America* 104: 2412-2425

Hutt, A., Svensen, M., Kruggel, F. und Friedrich, R. (2000). „Detection of fixed points in spatiotemporal signals by a clustering method”, *Physical Review E*, 6 (5): R4691-R4693

Hutt, A. und Kruggel, F. (2001). „Fixed Point Analysis: Dynamics of Non-stationary Spatiotemporal Signals”, in S.Boccaletti et al. (Ed.), „Space-Time Chaos: Characterization, Control and Synchronization”, World Scientific, im Druck

Hutt, A., Uhl, C. und Friedrich, R. (1999). „Analysis of spatiotemporal signals: A method based on perturbation theory”, *Physical Review E*, 60 (2): 1350-1358

Kollmeier, B. (1999). „On the four factors involved in sensorineural hearing loss”, *Psychophysics, Physiology and Models of Hearing*. T. Dau, Hohmann, V., Kollmeier, B. Singapore, World Scientific: 211 -218



Mauermann, M., Uppenkamp, S., Hengel, P. W. J. v. und Kollmeier, B. (1999a). „Evidence for the distortion product frequency place as a source of DPOAE fine structure in humans I. Fine structure and higher order DPOAE as a function of the frequency ratio  $f_2/f_1$ ”, J. Acoust. Soc. Am. 106(6): 3473-3483

Mauermann, M., Uppenkamp, S., Hengel, P. W. J. v. und Kollmeier, B. (1999b). „Evidence for the distortion product frequency place as a source of DPOAE fine structure in humans II. Fine structure for different shapes of cochlear hearing loss”, J. Acoust. Soc. Am. 106(6): 3484-3491

Riedel, H., Granzow, M. und Kollmeier, B. (2001). „Single-sweep-based methods to improve the quality of auditory brain stem responses. Part II: averaging methods“, Z. Audiol., im Druck

Tchorz, J. und Kollmeier, B. (1999). „A model of auditory perception as front end for automatic speech recognition”, Journal of the Acoustical Society of America 106(4): 2040-2050

Verhey, J. L., Dau, T. und Kollmeier, B. (1999). „Within-channel cues in comodulation masking release (CMR): Experiments and model predictions using a modulation-filterbank model”, Journal of the Acoustical Society of America 106(5): 2733-2745

H. Riedel, Granzow, M. und Kollmeier, B. (2001). „Single-sweep-based methods to improve the quality of auditory brain stem responses. Part II: averaging methods“, Z. Audiol., im Druck

#### *Eingereichte Zeitschriftenartikel*

Bronkhorst, A.W., Townsend, J.T., Kollmeier, B. (2000): „Selectivity of the spatial filter in auditory attention“, Percept. Psychophys. (submitted)

Damaschke, J., Granzow, M., Riedel, H. und Kollmeier, B. (2000). „Vergleich von drei verschiedenen Definitionen der Mismatch Negativity”, Z. f. Audiologie/Audiological Acoustics (submitted)

Damaschke, J., Granzow, M., Riedel, H. und Kollmeier, B. (2001): „MMN Messungen mit lateralisierten, transienten Stimuli“, Z. f. Audiologie/Audiological Acoustics (submitted)

Damaschke, J., Granzow, M., Riedel, H. und Kollmeier, B. (2001): „MMN Messungen mit lateralisierten, transienten Stimuli“, eingereicht bei Z.f. Audiologie

Hutt, A. und Riedel, H. (2001). „Spatiotemporal Analysis and Modelling of MLAEP-data: Topology of the P30-component”, eingereicht bei Physica D

Otten, J. und Kollmeier, B. (2001). „Sensitivity of Human Listeners to Manipulations of Head related Transfer functions”, (in preparation).

Riedel, H. und Kollmeier, B. (2001). „Auditory brain stem responses evoked by lateralized clicks: Is lateralization extracted in the human brain stem?”, eingereicht bei Hear. Res.

Riedel, H. und Kollmeier, B. (2001). „Comparison of auditory binaural difference potentials evoked by clicks and chirps“, eingereicht bei Hear. Res.

Zerbs, C., Verhey, J. und Kollmeier, B. (2001a). „Modeling binaural auditory processing: I. Role of monaural processing in binaural detection“, eingereicht bei J. Acoust. Soc. Am.

Zerbs, C., Verhey, J. und Kollmeier, B. (2001b). „Modeling binaural auditory processing: II. Spectral resolution and across-frequency processing“, eingereicht bei J. Acoust. Soc. Am.

### *Diplomarbeiten*

J. Damaschke (1999). „Psychoakustische und elektroenzephalographische Untersuchungen zur Lateralisation transients Stimuli“, Diplomarbeit, Universität Oldenburg

### *Dissertationen*

R.-P. Derleth (1999). „Temporal and compressive properties of the normal and impaired auditory system“, Dissertation, Universität Oldenburg

A. Hutt (2001). „Methoden zur Untersuchung der Dynamik raumzeitlicher Signale“, Dissertation, Universität Stuttgart

M. Marzinzik (2001). „Noise reduction schemes for digital hearing aids and their use for the hearing impaired“, Dissertation, Universität Oldenburg. Zugleich: BIS-Verlag

Otten, J. (2001). „Localization in real and virtual environments“, Dissertation, Universität Oldenburg (in preparation)

J. Tchorz (2000). „Auditory-based signal processing for noise suppression and robust speech recognition“, Dissertation, Universität Oldenburg. Zugleich: BIS-Verlag, ISBN 3-8142-0755-6

J. Verhey (1999). „Psychoacoustics of spectro-temporal effects in masking and loudness perception“, Dissertation, Universität Oldenburg, Zugleich: BIS-Verlag, 1999

T. Wittkop (2001). „Two-channel noise reduction algorithms motivated by models of binaural interaction“, Dissertation, Universität Oldenburg. Zugleich: BIS-Verlag

C. Zerbs (2000). „Modelling the effective binaural signal processing in the auditory system“, Dissertation, Universität Oldenburg. Zugleich: Herbert Utz Verlag, ISBN 3-89675-821-7

## **8. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

### **8.1 Teilnahme an Veranstaltungen des SFB, Kontakte mit anderen Wissenschaftlern**

November 1999: Mitarbeiter-Berichts-Kolloquium des SFB im HWK

Dezember 1999 / Mai 2000: SFB-Workshop „Bedeutungsentstehung im Gehirn“,  
HWK/Borkum

Vortragsreihe „Gehirneinsichten“

Regelmäßige Teilnahme am SFB-Seminar Neurokognition in Oldenburg

### **8.2 Mitwirkung an wichtigen Kongressen und Fachtagungen, Kolloquien**

März 1999: Gemeinsame Tagung der Acoust. Soc. Of Am. (ASA) und Europ. Assoc. For Acoust. (EAA) in Berlin (Vorträge von T. Dau, J. Verhey, R. P. Derleth, V. Mellert, B. Kollmeier, Posterbeiträge von S. Ewert und O. Wegner). Organisation von strukturierten Sitzungen (B. Kollmeier, T. Dau)

März 2000: DAGA in Oldenburg (Beiträge von S. Ewert, D. Junius, J. Verhey, R. P. Derleth, O. Wegner, J. Damaschke, V. Mellert (Tagungsleitung), B. Kollmeier (Programmkomitee))

März 2000: DGA-Tagung in Hannover (Beiträge von T. Brand, R. P. Derleth, V. Hohmann, B. Kollmeier, K. Wagener, O. Wegner, Sitzungsorganisation B. Kollmeier)

Juni 2000: Tagung über binaural Hearing Aids in Iowa City, USA (eingeladener Vortrag B. Kollmeier)

Juli 2000: BCN Summerschool in Groningen (eingeladene Vorträge von B. Kollmeier, J. Verhey und O. Wegner)

August 2000: Int. Symposium on Hearing in Mierlo, NL (Vortrag B. Kollmeier)

August 2000: Workshop am MPI für komplexe Systeme in Dresden (eingeladener Vortrag B. Kollmeier)

August 2000: Int. Congress of Audiology in Den Haag, NL (eingeladener Plenarvortrag und Sitzungsorganisation B. Kollmeier)

September 2000: Europ. Biophysik-Tagung in München (Eingeladene Sitzung und Vortrag B. Kollmeier)

Oktober 2000: Diskussionssitzung Binaurale Audiologie in München (eingeladener Vortrag C. Zerbs)

Januar 2001: DGMP-Winterschule in Pichl/Österreich (Leitung B. Kollmeier)

März 2001: DGA-Tagung in Aachen (Beiträge von S. Fobel, B. Kollmeier (Sitzungsorganisation)

März 2001: DAGA in Hamburg (Vorträge von J. Verhey, T. Dau, B. Kollmeier (Programmkomitee)

Mai 2001: Jahrestagung Japan Society for Promotion of Sciences in Bayreuth (eingeladener Hauptvortrag B. Kollmeier)

Juni 2001: ASA-Tagung in Chicago (Vortrag von B. Kollmeier, Posterbeiträge von S. Ewert, J. Verhey und T. Dau)

### Teilprojekt C 3

#### Zur Psychophysik der visuell - auditorischen Interaktion und der Einfluß auditiver Reize auf Augenbewegungen

#### Zwischenbericht

**Anmerkung:** Da für dieses Projekt keine Weiterfinanzierung beantragt wird, ist hier nur ein Zwischenbericht geliefert. Der Abschlußbericht wird nach Beendigung des Projektes zum 31.12.2001 vorgelegt.

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Hans Colonius

Institut für Kognitionsforschung  
Universität Oldenburg, FB 5  
Postfach 25 03  
26111 Oldenburg

## 1. Zusammenfassung

Ziel des Projektes ist die Aufklärung der visuell-auditorischen Interaktionsprozesse bei der Planung und Durchführung sakkadischer Augenbewegungen. In der zweiten Antragsphase wurden folgende Experimente durchgeführt: (a) Freifelddarbietung visueller Zielreize mit auditorischen Distraktoren (als Vergleich mit vorhergehender Darbietung in virtueller auditorischer Umgebung); (b) Variation der Intensität des auditorischen Reizes; (c) Reizdarbietung mit Interstimulus-Kontingenzen; (d) Darbietung multipler visueller Zielreize; (e) Stoppsignal-Experiment mit visuellem Zielreiz und auditorischen Stoppsignalen unter Variation der räumlichen Anordnung der Stoppsignale. Außerdem wurde das Modell zur visuell-auditorischen Interaktion bei der Sakkadensteuerung (Colonius & Arndt, 2001) an den neuen Daten geprüft und weiterentwickelt. Im Stoppsignal-Experiment wurde Evidenz gegen das winner-take-all Modell von Hanes & Carpenter (1999) gefunden (vgl. Colonius, Özyurt, & Arndt, 2001). Ein alternatives Modell (*leaky-integrator*) wird zur Zeit an den Daten geprüft.

## 2. Literaturverzeichnis

### Erschienen:

- Colonius, H., & Arndt, P. (1999). A comment on „A model of saccade generation based on parallel processing and competitive inhibition“ by J. M. Findlay & R. Walker. *Behavioral and Brain Sciences*, 22, 677-678.
- Colonius, H. (1999) A theorem on parallel processing models with a generalized stopping rule. *Mathematical Social Sciences*, 38, 247-258.
- Dzhafarov, E. N., & Colonius, H.(1999) Fechnerian metrics in unidimensional and multidimensional stimulus spaces. *Psychonomic Bulletin & Review*, 6, 239-26
- Van Zandt, T., Colonius, H., & Proctor, R. (2000). A comparison of two reaction time models applied to perceptual matching. *Psychonomic Bulletin & Review*, 208-256. ,
- Colonius, H. & Arndt, P. (2001). A two-stage model for visual-auditory interaction in saccadic latencies. *Perception & Psychophysics*, 63(1), 126-147.
- Colonius, H., Özyurt, J., & Arndt, P.A. (2001). Countermanding saccades with auditory stop signals: Testing the race model. *Vision Research*, 41, 1951-1968.

Eingereicht:

- Özyurt, J., Colonius, H., & Arndt, P.A. Countermanding saccades with auditory stop signals: Effects of position and speed instruction. (Vision Research)
- Kirchner, H. & Colonius, H. Saccadic responses in a bimodal go/no-go task show interstimulus contingency effects. (Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance)
- Arndt, P.A. & Colonius, H. Effects of accessory auditory stimulus intensity on saccades to visual targets. (Experimental Brain Research)
- Heuermann, H. & Colonius, H. Visual-auditory interaction in saccades: Modeling the effects of auditory position. (Perception & Psychophysics)
- Troidl, K., Diederich, a., & Colonius, H. Saccade latency and choice frequency in double target tasks. (Vision Research)

Kongressbeiträge/Abstracts:

- Arndt, P.A. & Colonius, H. (1999). Visually guided arm movements under accessory auditory stimulation. In: Elsner, N., Eysel, U. (Hrsg.), From Molecular Neurobiology to Clinical Neuroscience, Proceedings of the 1st Göttingen Conference of the German Neuroscience Society 1999, Stuttgart: Georg Thieme, p. 194.
- Arndt, P.A. & Colonius, H. (2000). Where and how does stimulus intensity affect visual-auditory interaction ? In: Bühlhoff, H.H., Fahle, M., Gegenfurtner, K.R., Mallot, H.A. (Hrsg.), Visuelle Wahrnehmung: Beiträge zur 3. Tübinger Wahrnehmungskonferenz, Kirchentellinsfurt: Knirsch.
- Arndt, P.A. & Colonius, H. (2000). Auditory intensity effects on visual-auditory integration in the control of eye and hand movements. Perception, Vol.29, Suppl.2, p.90.
- Heuermann, H. & Colonius, H. (1999). Localization experiments with saccadic responses in virtual auditory environments. In: Bühlhoff, H.H., Fahle, M., Gegenfurtner, K.R., Mallot, H.A. (Hrsg.), Beiträge zur 2. Tübinger Wahrnehmungskonferenz. Knirsch Verlag, Kirchentellinsfurt. S.78.
- Heuermann, H. & Colonius, H. (1999). Localization experiments with saccadic responses in virtual auditory environments. Joint ASA / EAA / DEGA Meeting on Acoustics. Berlin, 14th – 19th March 1999 (Poster)
- Heuermann, H. & Colonius, H. (1999). Lokalisationsexperimente in realer und virtueller akustischer Umgebung mit sakkadischen Antworten. In: Schröger, E., Mecklinger, A., Widmann, A., (Hrsg.), Experimentelle Psychologie. Pabst Science Publishers, Leipzig. S. 290.

- Kirchner, H. & Colonius, H. (1999). Visual-auditory interaction in saccades: Interstimulus contingency effects. In: A. Schick, M. Meis and C. Reckhardt (eds.), Contributions to Psychological Acoustics (pp. 449 - 454).
- Kirchner, H. & Colonius, H. (1999). Visual-auditory interaction in saccades: Interstimulus contingency effects. In: Book of Abstracts, ECEM 10, p. 114.
- Kirchner, H. & Colonius, H. (2000). Zeitbereich visuell-auditorischer Interstimulus-Kontingenzen. In: D. Vorberg, A. Fuchs, T. Futterer, A. Heinecke, U. Heinrich, U. Mattler und S. Töllner (Hrsg.), Experimentelle Psychologie. Pabst Science Publishers, Lengerich, Berlin. S. 141.
- Kirchner, H. & Colonius, H. (2000). Visual-auditory interstimulus contingency effects: Prosaccades versus antisaccades. Perception, Vol.29, Suppl.2, p. 18(a).
- Özyurt, J. & Colonius, H. (2000). Evidence for a psychological refractory period in a visual-auditory countermanding task. Perception, Vol.29, Suppl.2, p.110.
- Özyurt, J. & Colonius, H. (2000). Monte-Carlo Simulationen des Reaktionszeitverhaltens in einer sakkadischen Stop-Signal Aufgabe. In: Vorberg, D., Fuchs, A., Futterer, A., Heinecke, U., Heinrich, U., Mattler, U., Töllner, S. (Hrsg.), Experimentelle Psychologie. Lengerich u.a.: Pabst Science Publishers, S. 158.
- Özyurt, J. & Colonius, H. (1999). Influence of auditory stop-signals on visually guided saccadic eye movements. In: Book of Abstracts, ECEM 10, p. 133
- Özyurt, J., Colonius, H. & Arndt, P.A. (1999). Einfluß auditorischer Stop-Signale auf visuell gesteuerte Augenbewegungen. In: Schröger, E., Mecklinger, A., Widmann, A., Hrsg. (1999) Experimentelle Psychologie. Beiträge zur 41. Tagung experimentell arbeitender Psychologen. Pabst Science Publishers, Leipzig. S. 148.
- Troidl, K. E., Kirchner, H. & Colonius, H. (1999). Untersuchung visuell-auditiver Interstimulus-Kontingenzen anhand von Blickbewegungen. In: Schröger, E., Mecklinger, A., Widmann, A., Hrsg. (1999) Experimentelle Psychologie. Beiträge zur 41. Tagung experimentell arbeitender Psychologen. Pabst Science Publishers, Leipzig. S. 165.
- Troidl, K. E. & Colonius, H. (1999). The influence of an auditory accessory stimulus on saccadic responses to multiple visual targets. In: Book of Abstracts, ECEM 10, p. 143.
- Troidl, K. E. & Colonius, H. (2000). The influence of an auditory accessory stimulus on saccadic responses to multiple visual targets. In: A. Schick, M. Meis and C. Reckhardt (eds.), Contributions to Psychological Acoustics (pp. 455 - 462).
- Troidl, K. E. & Colonius, H. (2000). The influence of an auditory accessory stimulus on target choice and reaction time with two visual stimuli. Perception, Vol.29, Suppl.2, p.55.

### **3. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

Alle Mitarbeiter haben an allen Aktivitäten des SFB teilgenommen.

#### **Zusätzlich wurden Ergebnisse des Projektes auf folgenden Tagungen vorgetragen:**

Psychonomic Society Meeting, New Orleans, 2000

2nd Multisensory Research Conference, New York, 2000



Tübinger Wahrnehmungskonferenz, Tübingen, 1999, 2000  
 Joint ASA / EAA / DEGA Meeting on Acoustics. Berlin, 1999  
 Tagung experimentell arbeitender Psychologen, 1999, 2000, 2001  
 27th Göttingen Neurobiology Conference, Göttingen, 1999.  
 8th Oldenburg Symposium on Psychological Acoustics, Bad Zwischenahn, 1999.  
 10th European Conference on Eye Movements. Utrecht, 1999  
 Crossmodal Attention and Multisensory Integration Conference, Oxford, 1999  
 23rd European Conference on Visual Perception, Groningen, 2000  
 42. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Psychologie. Jena, 2000  
 Society for Mathematical Psychology, USA, 1999, 2000  
 Int. Conference on Cognitive and Neural Systems, Boston University., 1999

**Wissenschaftliche Kooperation bzw. Erfahrungsaustausch mit anderen Wissenschaftlern im Zusammenhang mit dem Projekt:**

Prof. James T. Townsend, Indiana University, USA  
 Prof. Ehtibar Dzhafarov, Purdue University, USA  
 Prof. Trisha Van Zandt, The Ohio State University, USA  
 Prof. Roger Ratcliff, Northwestern University, USA

4. Förderung des Teilprojektes im Rahmen des Sonderforschungsbereich

(aufgeteilt nach Haushaltsjahren in TDM)

bis 1998	1999	2000	2001	Gesamt
394,8	155,2	113,9	116,3	780,2

## **Teilprojekt C 8**

### **Der Einfluß von Aufmerksamkeit, Feedback und Motivation auf das perzeptuelle Lernen**

#### **Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.01.1999 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Manfred Fahle

AG Humanbiologie  
Institut für Hirnforschung  
Universität Bremen, FB 2  
Argonnenstr. 3  
28211 Bremen

## 1. Einleitung

Die Untersuchung des perzeptuellen Lernens, d.h. die Fähigkeit etwas vorher Unbekanntes wahrnehmen zu lernen, hat in den letzten zehn Jahren eine stürmische Entwicklung erlebt. Trotzdem sind die dem perzeptuellen Lernen zu Grunde liegenden neuronalen Mechanismen nach wie vor unbekannt und eine kohärente mathematische Beschreibung steht ebenfalls weiterhin aus. Ein Grund dafür liegt darin, dass Lernen fast ausschließlich als reizgetrieben betrachtet wird: die Verbesserung der Erkennung „einfacher“ Stimuli erfordert dieser Ansicht zufolge nur einfache low-level Mechanismen, die die Reize direkt „abarbeiten“ und sich mit einfachen neuronalen Netzen simulieren lassen. Wir konnten in einigen Arbeiten experimentell wie auch theoretisch zeigen, dass eine derartige Sichtweise zu kurz greift (Herzog & Fahle, 1997; Herzog & Fahle, 1998; Herzog & Fahle, 1999a). Komplexe Interaktionen zwischen „top-down“ Prozessen und „low-level“ Kodierungsmechanismen sind notwendig, um Lernen biologisch realistisch zu beschreiben. So läßt sich im allgemeinen für jedes Ensemble von Reizen weit mehr als eine Aufgabe definieren. Aus komplexitätstheoretischen Gründen können aber nicht alle Aufgaben simultan verbessert werden. Da angenommen wird, dass ein Großteil der synaptischen Veränderungen während des perzeptuellen Lernens auf den frühen Stufen der visuellen Wahrnehmung stattfindet, muß deswegen aufgabenbezogenes Wissen auf diesen frühen Ebenen wirksam werden. Ganz analoge Argumente ergeben sich ebenso für andere top-down Aspekte. Ziel des Projektes der letzten Antragsperiode war es daher, diese Wechselwirkungen genauer zu untersuchen. Dabei standen die Verarbeitung externer Informationen wie Feedback, die Auswertung der dem Reizenensemble innewohnenden Information (wie z.B. dessen Stimulus-Statistik), als auch der Einfluß von Aufmerksamkeit auf den Lernverlauf im Vordergrund. Wie interagieren diese Prozesse? Welche Modelle können diese Phänomene erklären? Welche nicht?

### Literatur zu 1.:

Herzog M.H., Fahle M. (1997). The role of feedback in learning a vernier discrimination task. *Vision Research*, 37, 2133-2142.

Herzog M.H., Fahle M. (1998). Modeling perceptual learning: difficulties and how they can be overcome. *Biological Cybernetics*, 78, 107-117.

Herzog M.H., Fahle M. (1999a). A Recurrent Model for Perceptual Learning. *Journal of Optical Technology*, 66, No. 9, 85-92.

## **2. Verwendete Methoden und Arbeitsprogramm**

Als eine hochsensitive Testaufgabe, um perzeptuelles Lernen zu untersuchen, hat sich die Diskrimination des Noniusversatzes erwiesen. Aus diesem Grund fanden diese Reize auch in den beantragten Experimenten ihre Anwendung. Reize wurden auf Analog-Monitoren dargeboten, die über eine schnelle D/A-Karte (1 MHz Pixelrate) von einem Power-Macintosh erzeugt wurden. Die vertikalen Nonien waren 21 Winkelsekunden lang, wobei die beiden Segmente durch einen ein-minütigen ( $1'$ ) vertikalen Spalt getrennt waren. Die Luminanz der Reize variierte zwischen den Experimenten, lag aber immer deutlich über der Detektionsschwelle. Die Darbietungsdauer lag in den meisten Experimenten zum perzeptuellen Lernen bei 150ms, also deutlich unter der Zeit, die nötig ist, um eine Sakkade auszuführen.

Die Versuchspersonen waren fast ausschließlich bezahlte Studenten im Alter von 18 bis 32 Jahren. Vor jedem Experiment wurde der allgemeine Zweck des Versuchs erklärt und ein Einwilligungs-formular unterschrieben, das die freiwillige Teilnahme bestätigte.

In einigen Versuchen wurden Nonien mit binokularer Disparität verwendet, während in anderen Experimenten Reize in nur ein Auge projiziert wurden. In beiden Fällen wurden Nonien auf zwei Analogmonitoren dargeboten, deren Bilder mit Hilfe eines halbdurchlässigen Spiegels fusioniert wurden. Vor jedem Monitor war ein Polarisationsfilter angebracht, dessen Schwingungsebene der des Polarisationsfilters einer Brille entsprach, durch die die Beobachter auf den Spiegel schauten. Da die Schwingungsebenen der Filter senkrecht aufeinander standen, projizierte auf diese Weise jeder Monitor sein Bild auf nur ein Auge (siehe Abbildung 1 im Fortsetzungsantrag).

## **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

Vor der Durchführung der Experimente stand zunächst der Umzug des Labors von Tübingen nach Bremen, der im Sommersemester 1999 stattfand. Neben der Beschaffung neuer Geräte, dem Aufbau des Computernetzes und sonstiger Infrastruktur des Labors einschließlich neuer Mitarbeiter mussten vor allem die Analogmonitore aufgebaut und neu eingestellt werden.

### **Enkodierungs- versus Entscheidungslernen**

Es ist allgemein anerkannt, dass in die Antwort einer Versuchsperson bezüglich eines (visuellen) Reizes mindestens zwei Teilkomponenten der Informationsverarbeitung eingehen. Zum ersten spielt die Enkodierung des Reizes auf den frühen Stufen der Wahrnehmung eine

wichtige Rolle. Diese spiegelt unter anderem die sensorische Empfindlichkeit der Versuchsperson wieder. Zum zweiten muß ausgehend von der sensorischen Informationsverarbeitung eine Entscheidung darüber getroffen werden, zu welcher Klasse der dargebotene Reiz gehört. Externe Information, wie Feedback, kann einen Einfluß sowohl auf die Kodierungs- als auch auf die Entscheidungsebene ausüben.

In der letzten Antragsperiode haben wir ein Paradigma entwickelt, das es erlaubt, den Einfluß auf diese beiden Ebenen getrennt zu untersuchen (Herzog & Fahle, 1999b; Herzog, Ewald & Fahle, eingereicht). In den Experimenten wurde ein Nonius präsentiert, der zufällig aus einem Ensemble ausgewählt wurde, das drei oder fünf Nonien umfaßte. Für jeden dieser Reize konnten die Feedbackbedingung, die Darbietungswahrscheinlichkeit, wie auch die Versetzungsweite individuell eingestellt werden. Nonien mit der kleinsten Versetzungsweite erhielten dabei ein reverses Rückmeldesignal, d.h. richtige Antworten wurden als inkorrekt, falsche Antworten dagegen als korrekt angezeigt. Feedback wurde durch einen Fehlerton realisiert (zu den Details siehe Herzog & Fahle, 1999b).

Zur Modellierung des Kodierungs-Lernens werden oft neuronale Netze eingesetzt. Dabei machen neuronale Netze des überwachten Lernens eine eindeutige Aussage, wie sich die Leistung einer Versuchsperson durch Training mit einem wie oben beschriebenes Ensemble von Nonien verändern wird: die Leistung für die durch Feedback korrekt gekennzeichneten Nonien wird sich verbessern, während die Leistung für die Nonien, denen ein reverses Feedback folgt, sich verschlechtern wird (siehe Abbildung 1). Beeinflußt Feedback dagegen das Entscheidungslernen, wird Feedback für das ganze Ensemble von Reizen gemeinsam ausgewertet, d.h. reverses Feedback beeinflußt alle Nonien- unabhängig von ihrer individuellen Feedbackbedingung (siehe Abbildung 2 und Signal-Detektions-Theorie, Green & Swets, 1966). Genau diese Vorhersage konnten wir in unseren Experimenten bestätigen (Abbildung 3), während die Vorhersagen neuronaler Netze mit einem Lehrer sich nicht bewahrheiteten. Die Leistung für Nonien, die die gleiche Versetzungsrichtung haben wie der Nonius, für den reverses Feedback verabreicht wurde, verschlechtert sich dramatisch, während die Leistung für Nonien der entgegengesetzten Versetzungsrichtung sich verbessert (Verschiebungseffekt). Der Verschiebungseffekt scheint fast ausschließlich von der Stärke des reversen Feedbacks abzuhängen (Herzog & Fahle, 1999b).

Unter den obigen Feedbackbedingungen tritt kein "echtes" perzeptuelles Lernen auf, d.h. wir gehen beispielsweise davon aus, dass auf den frühen Stufen der visuellen Wahrnehmung keine Veränderungen von rezeptiven Feldern bezüglich der Noniusdiskrimination auftreten. In Herzog und Fahle (1999b) haben wir argumentiert, dass Versuchspersonen über interne

Kriterien verfügen, die es ihnen erlauben, sich in Konfliktbedingungen flexibel in ihrem Antwortverhalten an die Umwelt bzw. an externe Information anzupassen. Unter normalen Versuchsbedingungen bleibt eine Verbesserung der Noniussehstärke, erlernt in wenigen Sitzungen, weit über ein halbes Jahr erhalten, vielleicht sogar lebenslang. Dagegen scheinen Entscheidungskriterien nicht langfristig, sondern sehr flexibel angepaßt zu werden, wie in Abbildung 3 zu sehen ist. Nach der Korrektur des Feedbacks erfolgt unmittelbar eine Wiederherstellung der Leistung, die dann fast identisch ist mit der am Anfang des Experiments. Unserer Hypothese zufolge vollzieht sich diese Korrektur deswegen schneller als der vorherige Verschiebungseffekt, weil nach der Korrektur des Feedbacks interne Kriterien und externe Information übereinstimmen, während sich diese in den ersten sieben Blöcke des Experiments widersprechen. Wir gehen davon aus, dass diese Nichtübereinstimmung ein langfristiges und folgenreiches Kodierungslernen unterdrückt, um eine folgenreiche perzeptuelle Veränderung zu verhindern. Es soll erwähnt werden, dass auch interne Kriterien überwunden werden können und sich die Wahrnehmung selbst ändern kann. Anfänglich wird durch das Tragen eines das Netzhautbild verschiebenden Prismas nur das Entscheidungsverhalten in einer Lokalisationsaufgabe verändert, während sich nach einem langen Zeitraum mit dem Prisma die Wahrnehmung selbst verändert. Zusammengefaßt haben unsere Experimente gezeigt, dass sich mit dem obigen Paradigma Kodierungs- und Entscheidungsprozesse getrennt ansprechen lassen, dass die Entscheidungsprozesse einen Einfluß auf die Kodierungslernprozesse haben, und dass die meisten neuronalen Netze nicht in der Lage sind, dieses Verhalten zu beschreiben.

Um die obigen Effekte genauer zu charakterisieren haben wir eine weitere Reihe von Experimenten durchgeführt (Herzog, Ewald & Fahle, eingereicht). In diesen Versuchen konnten wir zeigen, dass die Prozesse, von denen wir annehmen, dass sie auf der Entscheidungsebene stattfinden starke Spezifitäten aufweisen- ganz analog zum Enkodierungslernen. Speziell konnten wir zeigen, dass Versuchspersonen nicht einfach die globale Rate der Feedbacktöne analysieren, um ihr Entscheidungskriterium zu verschieben. In den Experimenten wurden Nonien entweder rechts oder links eines Fixationspunkts dargeboten. Reverses Feedback wurde so eingestellt, dass die beiden Verschiebungseffekte sich ausglich, d.h. wenn z.B. auf der linken Position eine Rechtsbevorzugung induziert wurde, wurde für die rechte Position eine Linksbevorzugung (Bias) induziert. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Stärke der beiden Bevorzugungen (Biase) vergleichbar war. Das bedeutet, die globale Feedbackrate weist keinen Bias für eine der beiden

Versetzungsrichtungen auf. Trotzdem zeigen die Versuchspersonen positionsspezifische Verschiebungseffekte. Analoge Resultate finden sich für die Orientierung der Reize. Positions- und Orientierungsspezifität sind insofern überraschend, als bezüglich der Reizstärke, (Noniusversetzung) keine unabhängigen Entscheidungskriterien unterhalten werden, wie wir in den obigen Experimenten gezeigt haben. Selbst wenn sich die Versetzungsweiten der Nonien sehr deutlich unterscheiden, kann der Verschiebungseffekt induziert werden. Dies impliziert, dass die Gesamtheit aller einzelnen Feedbackbedingungen das ganze Ensemble der Reize affiziert und nicht, dass jeder einzelne Reiz gemäß seiner individuelle Feedbackbedingung ausgewertet wird. Ganz analoge Resultate wurden von Gorea und Sagi (2000) erst kürzlich in den Proceedings of the National Academy of Science, USA, veröffentlicht.

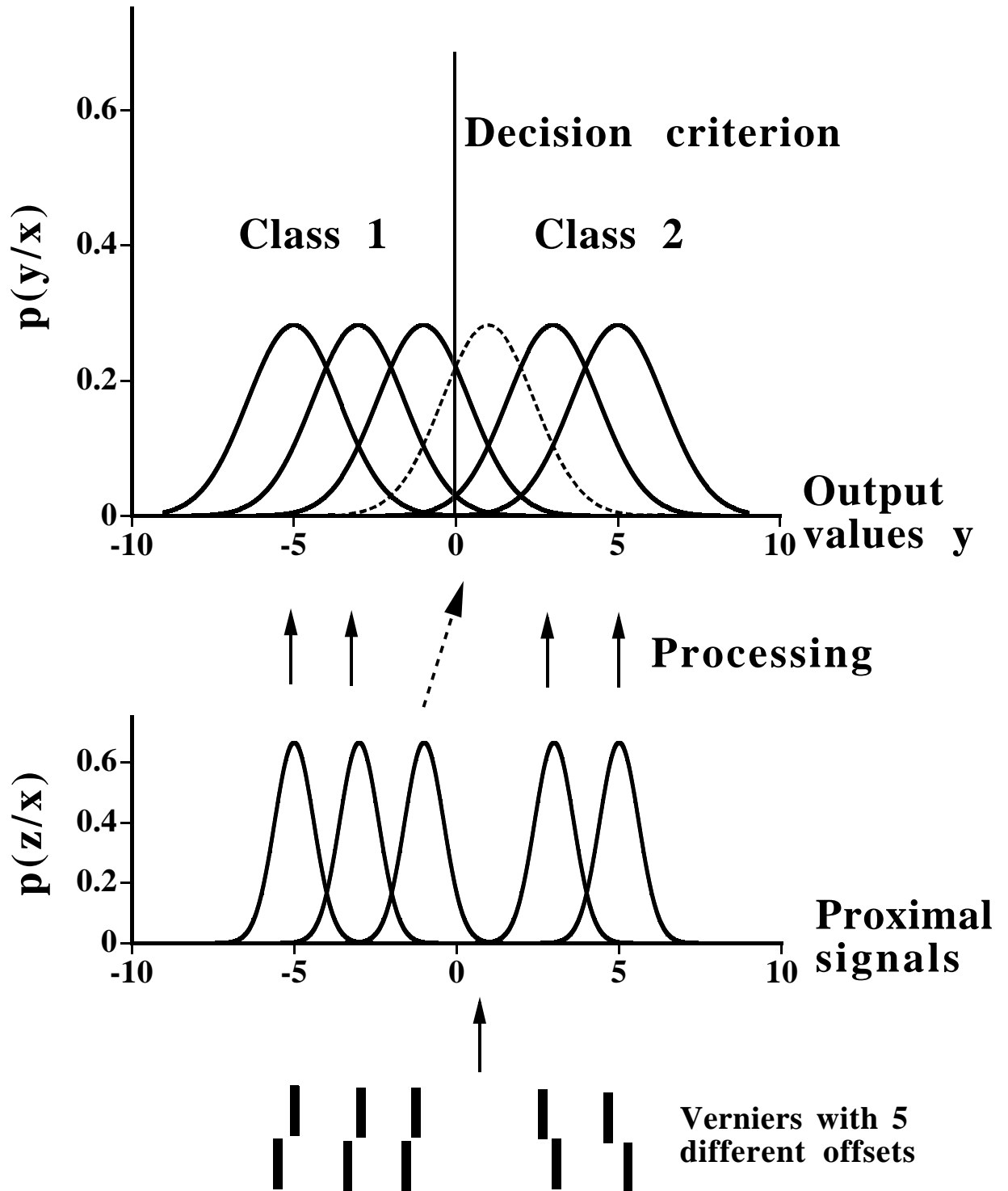
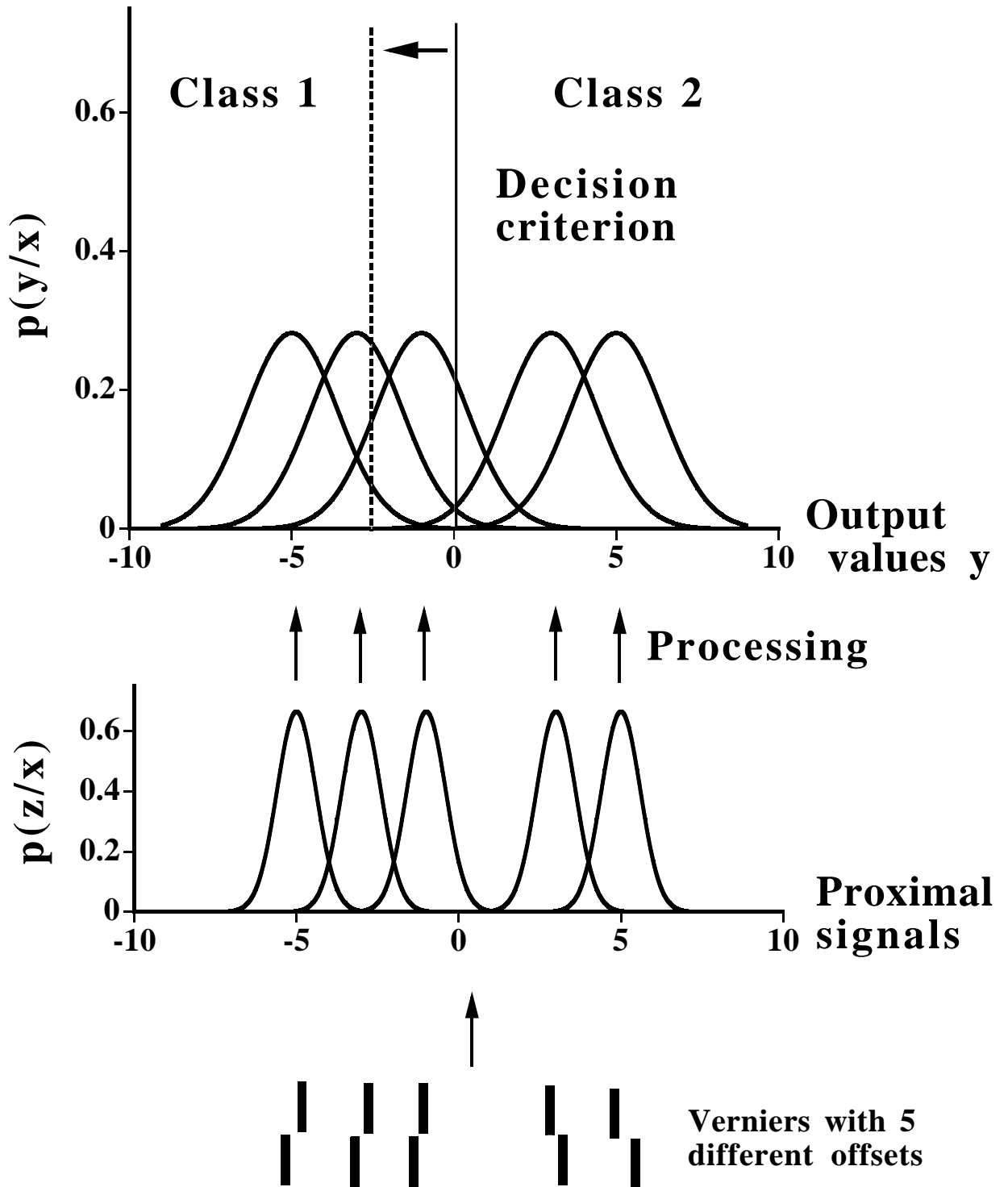




Abbildung 1: Pro Darbietung wurde einer von fünf Nonien in der Mitte des Bildschirms präsentiert. Links bzw. rechtsversetzte Nonien hatten verschiedene Versetzungsweiten, unterschiedliche Darbietungswahrscheinlichkeiten und Feedbackbedingungen. Im Beispiel dieser Figur wird reverses Feedback nur für den Nonius mit der kleinsten Versetzung nach links gegeben. Jeder Reiz  $x_i$  erzeugt auf der Enkodierungsebene ein proximales Signal  $z$ . Je größer die Versetzung desto größer ist im Mittel der Wert auf dieser Ebene. Durch Rauschen wird aber der gleiche Reiz bei jeder Darbietung unterschiedliche Werte  $z$  erzeugen. In der obigen Abbildung wird deshalb eine gaußförmige Verteilung der Werte  $z$  angenommen. Die Abszisse zeigt den entsprechenden Wert auf der Kodierungsebene, die Ordinate die korrespondierende Wahrscheinlichkeitsfunktion  $P(z/x_i)$ . Ausgehend von diesen proximalen Signalen wird auf der Entscheidungsebene ein Signal  $y$  erzeugt. Die Ordinate des oberen Teils der Abbildung zeigt die korrespondierenden Wahrscheinlichkeits-funktionen. Diese Funktionen sind durch zusätzliches internes Rauschen weiter verbreitert. Die Abszissenwerte von  $z$  und  $y$  sind in dieser Abbildung beliebige Einheiten, die z.B. die Feuerrate von Neuronen bezeichnen können. Ein Entscheidungskriterium ist notwendig, um auf der Entscheidungsebene die Werte  $y$  einer von zwei Klassen zuordnen zu können. Die Vorhersage neuronaler Netze mit einem Lehrer ist, dass Feedback jeden Nonius spezifisch gemäß seiner individuellen Feedbackbedingung beeinflusst. In diesem Fall würde sich nur die Wahrscheinlichkeitsfunktion des Nonius mit reversen Feedback verschieben. Dies bedeutet eine Leistungsver schlechterung nur für diesen Reiz (aus Herzog & Fahle, 1999b).

Abbildung 2 (aus Herzog & Fahle, 1999b): Beeinflußt Feedback das ganze Ensemble von Reizen, findet sich eine Verschiebung des Entscheidungskriteriums, die folgerichtig die Leistung aller Reize beeinflusst. Deswegen verschlechtert sich die Leistung für alle Nonien, die dieselbe Versetzungsrichtung aufweisen wie der Nonius, für den reverses Feedback gegeben wurde. Diese Vorhersage steht in sehr guter Übereinstimmung mit unseren Resultaten (siehe Abbildung 3).



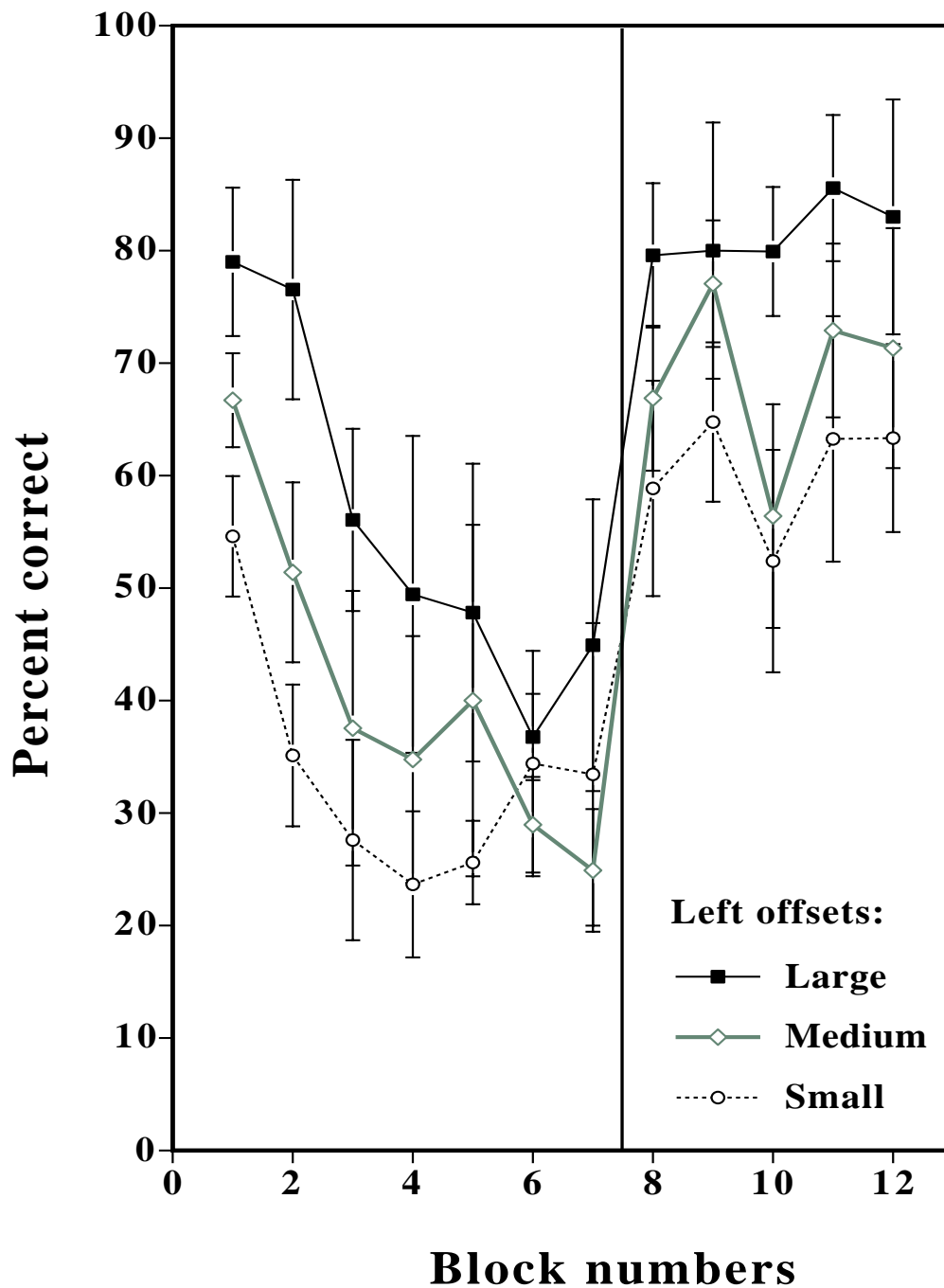


Abbildung 3: Die Ordinate zeigt die Leistung für die drei nach links versetzten Nonien. Obwohl nur für den Nonius mit der kleinsten Versetzung reverses Feedback gegeben wurde, verschlechtert sich die Leistung für alle linksversetzten Nonien während die für rechtsversetzte sich verbessert (Resultate für rechtsversetzte Nonien nicht gezeigt). Nach dem siebten Block wird korrektes Feedback für alle Nonien gegeben (vertikale Linie). Die Leistung verbessert sich für alle linksversetzten Nonien innerhalb eines Blocks auf das ursprüngliche Niveau (aus Herzog & Fahle, 1999b).

## Statistik des Reizensembles

Nicht nur Modelle des überwachten Lernens, sondern auch Modelle des unüberwachten Lernens, wie z.B. Hebbsches oder kompetitives Lernen, können die Resultate zum Enkodierungsstrich vs. Entscheidungslernen nicht erklären. Letzteres gilt, da Feedback in diesen unüberwachten Architekturen allgemein keine Rolle spielt, sich also auch kein feedback-induzierter Verschiebungseffekt ergeben kann. Für das unüberwachte Lernen spielen dagegen die Darbietungswahrscheinlichkeiten des Reizensembles eine wesentliche Rolle.

Um den Einfluß der Darbietungsstatistik der Reize genauer zu untersuchen, wurde eine weitere Versuchsreihe durchgeführt (Herzog, Broos & Fahle, in Revision). Wir konnten zeigen, dass für deutlich von der Gleichverteilung abweichende Darbietungswahrscheinlichkeiten, kein Kodierungslernen stattfindet. Auch in diesem Fall scheint die Entscheidungsebene darüber zu bestimmen, ob und wann Kodierungslernen stattfindet. Es scheint, dass die Statistik der Reize explizit geschätzt wird und dadurch den Lernverlauf beeinflusst. Dies steht wiederum in guter Übereinstimmung mit der Signal-Detektions-Theorie, während eine implizite Verarbeitung der Statistik in Gewichten unwahrscheinlich ist, wie sie von Modellen des unüberwachten Lernens postuliert wird. Im Verlauf dieser Experimente machten wir eine überraschende Entdeckung. Werden Nonien zufällig entweder dem rechten oder dem linken Auge dargeboten, tritt keine Leistungsverbesserung ein (Abbildung 4). Wird dagegen der rechtsversetzte Nonius immer dem rechten und der linksversetzte immer dem linken Auge dargeboten, verbessert sich die Leistung deutlich (Abbildung 5). Ebenso findet sich Lernen, wenn ein Auge abgedeckt wird (Fahle, Edelman & Poggio, 1995). Es scheint, dass bekannt sein muß auf welches Auge der Nonius projiziert wird, damit Lernen möglich wird bzw., dass eine Korrelation zwischen Noniusversetzung und Auge bestehen muß. Die Gründe für diese Effekte sind vollkommen unbekannt. Im Fortsetzungsantrag soll diese Fährte weiter verfolgt werden.

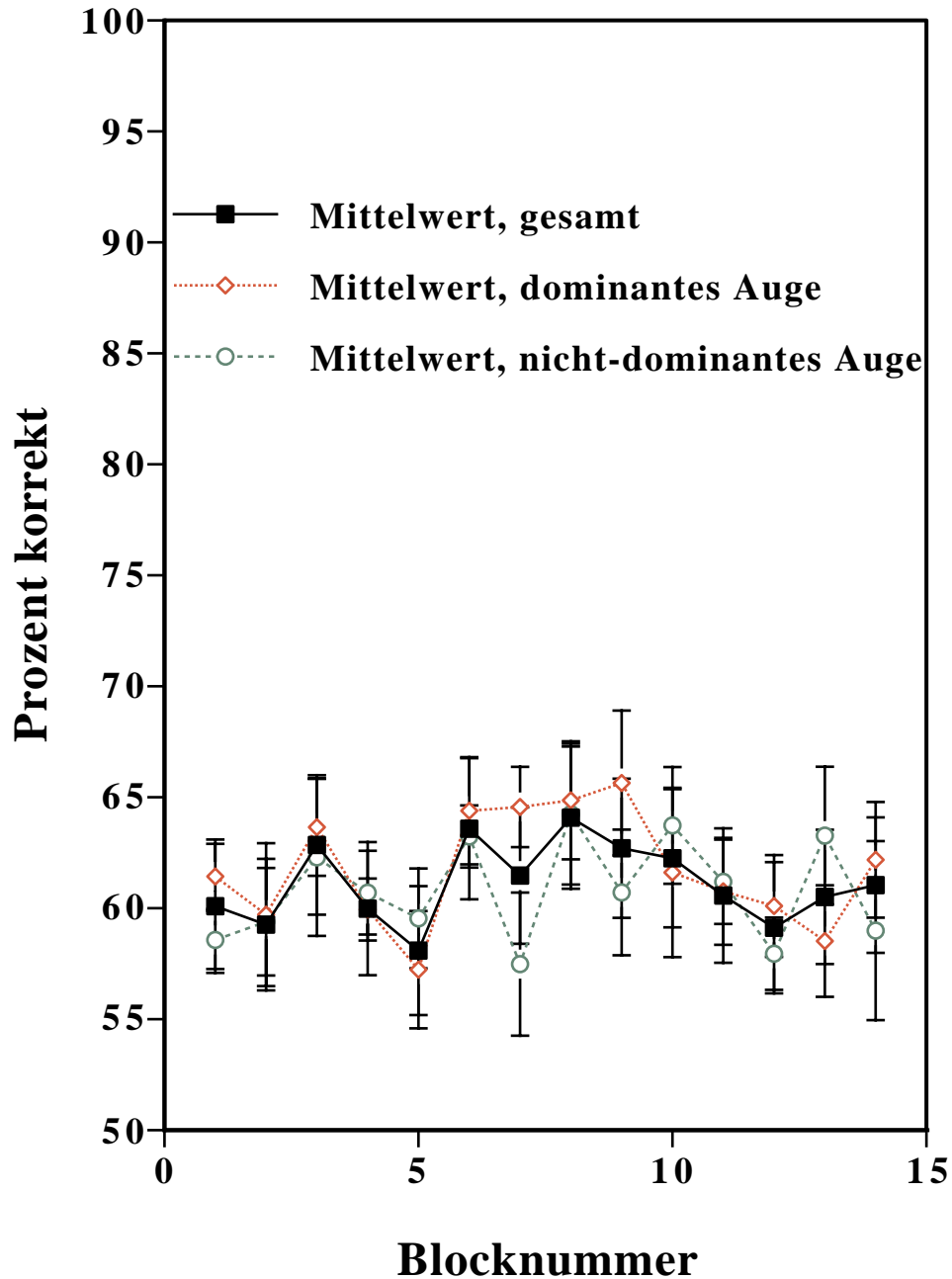


Abbildung 4: Lernen bei dichoptischer Präsentation der Reize. Zuerst wurde mit einer Wahrscheinlichkeit von je 0,5 ein Auge für die Projektion des Reizes ausgewählt und dann mit einer Wahrscheinlichkeit von 0,5 ein links- oder rechtsversetzter Nonius diesem Auge präsentiert. Die Reize wurden also gleichverteilt dargeboten. Der Versuch wurde von acht Versuchspersonen durchgeführt.

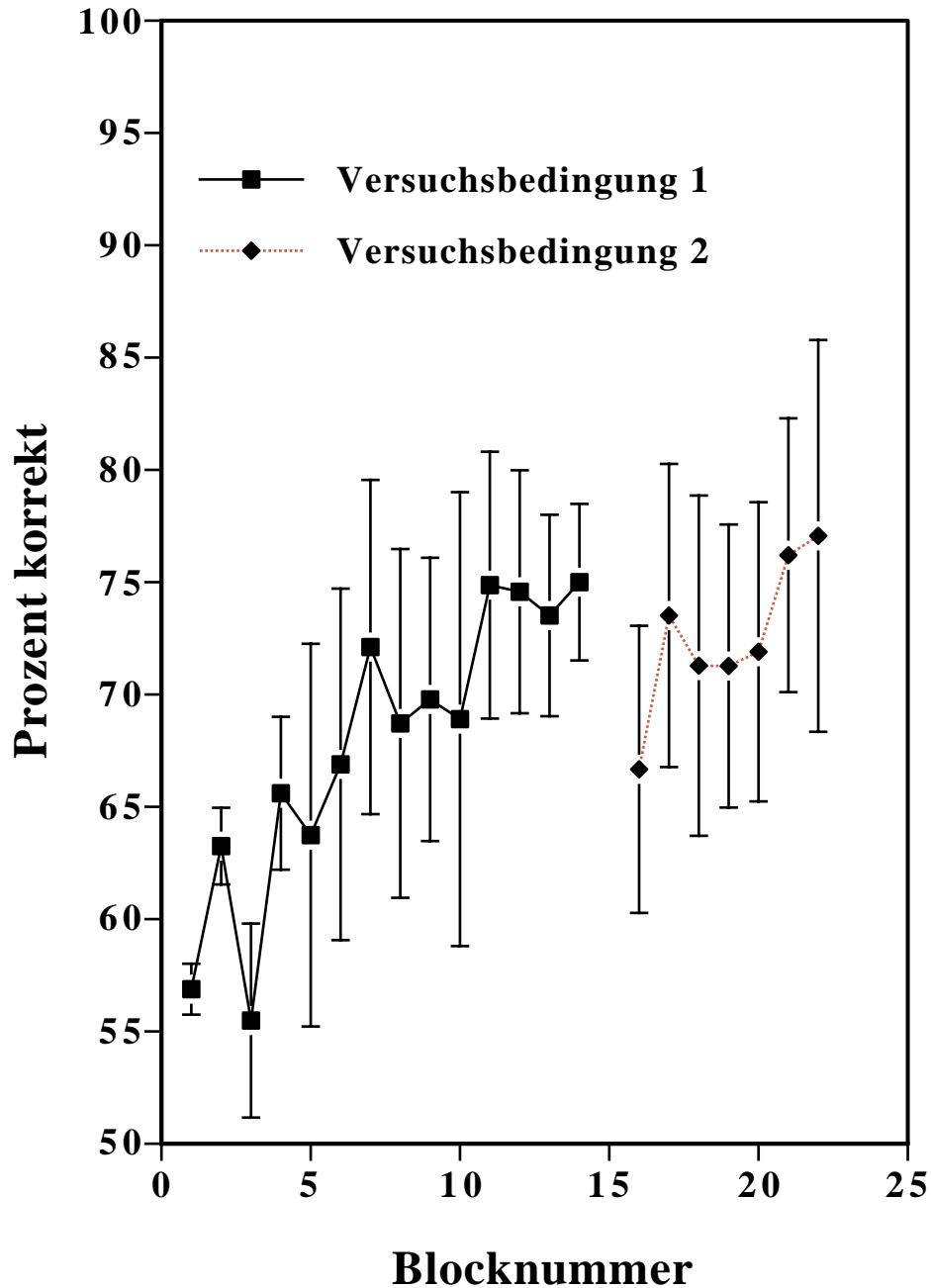


Abbildung 5: Lernen bei dichoptischer Präsentation der Nonien für sechs Versuchspersonen.

Versuchsbedingung 1: Nach links versetzte Nonien wurden nur in das linke Auge projiziert, nach rechts versetzte nur in das rechte Auge. Die Darbietungswahrscheinlichkeit für jedes Auge betrug 0,5.

Versuchsbedingung 2: Umkehr der Wahrscheinlichkeitsverteilung: nach rechts versetzte Nonien wurden nur in das linke Auge, nach links versetzte nur in das rechte Auge projiziert.

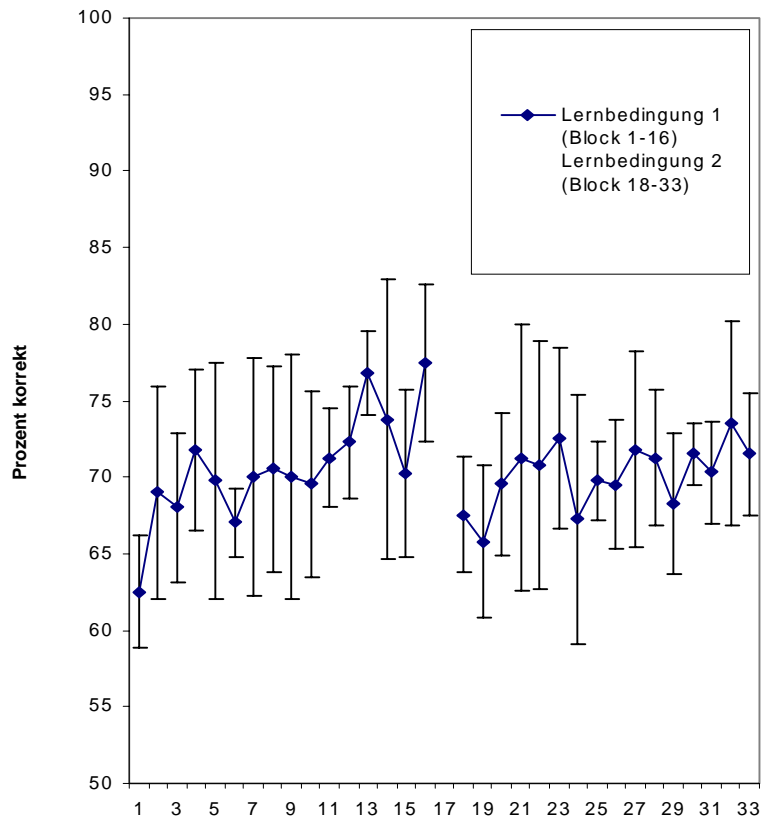


Abbildung 6: Zwei Nonien, deren Versetzungsrichtungen unkorreliert zueinander waren wurden simultan dargeboten. In der ersten Lernbedingung sollte die Noniusversetzung des einen, in der zweiten Sitzung die des anderen Nonius trainiert werden. Es findet sich kaum ein Leistungstransfer von der ersten auf die zweite Bedingung, obwohl beide Nonien gleichzeitig dargeboten werden also nur die Aufgabenstellung den Unterschied zwischen den beiden Bedingungen definiert, während die physikalische Reizstruktur identisch bleibt.

### Aufmerksamkeit und Motivation

Unsere theoretischen Analysen und experimentellen Vorversuche haben ergeben, dass nicht alle Merkmale eines Reizensembles erlernt werden können (siehe oben und Herzog & Fahle, 1998, 1999a). In Versuchen zum Einfluß von Aufmerksamkeit auf das perzeptuelle Lernen konnten wir zeigen, daß allgemein nur das attendierte Merkmal erlernt wird, selbst wenn die Anzahl der möglichen Merkmale begrenzt ist, d.h. Aufmerksamkeit ist konstitutiv für Lernen. Pro Darbietung präsentierten wir zwei Nonien gleichzeitig. Diese Nonien hatten orthogonale Orientierungen und die Versetzungsrichtungen waren unkorreliert zueinander. Es ergibt sich eine kreuzförmige Anordnung. Im ersten Versuchsdurchlauf sollte die Diskrimination der Versetzung für einen der beiden Nonien durchgeführt werden, während im zweiten Teil der

andere Nonius beachtet wurde. Es zeigte sich, dass sich die Leistung nur für den Nonius verbessert, der attendiert wurde (Abbildung 6; Herzog, Enskat & Fahle, in Vorbereitung). Des Weiteren ergaben diese Experimente, dass sich auch kein Transfer einstellt, wenn der aus beiden Nonien bestehende Gesamtreiz etwas verschoben wird. Die Aufmerksamkeit wirkt also sowohl Reizelement-spezifisch (welcher von beiden wird attendiert?), als auch Positionsspezifisch (auf welchen Ort wird fokussiert?).

Experimente zum Einfluß der Motivation und der Intelligenz auf das perzeptuelle Lernen sind begonnen worden, lassen aber noch keine Schlussfolgerungen zu.

### **Elektrophysiologie, Neuropsychologie**

In Zusammenarbeit mit Prof. Daum konnte gezeigt werden, dass auch amnestische Patienten, die beispielsweise an einem Korsakoffsyndrom leiden, in der Lage sind, langanhaltend perzeptuell zu lernen- obwohl sie sich an die Lernsituationen selbst nicht erinnern können. Perzeptuelles Lernen scheint also implizit zu sein (Fahle & Daum, in Revision). Die dem perzeptuellen Lernen unterliegenden Mechanismen wurden in Kollaboration mit Prof. Skrandies elektrophysiologisch weiter charakterisiert (Skrandies, Jedynak & Fahle, 2001).

### **Transfer**

Im Rahmen weiterer Experimente fanden wir, dass das Lernen von zweidimensional dargebotenen Nonien sich auf die Leistung für dreidimensionale Nonien, d.h. auf die Erkennbarkeit von Noniusversetzungen in der Tiefe überträgt (DeLuca & Fahle, 1999). Es ist bekannt, dass die Verbesserung der Noniusdiskriminationsfähigkeit nicht zwischen orthogonalen Orientierungen des Nonius transferiert, d.h. wird z.B. mit einem senkrechten Nonius trainiert, findet sich keine Leistungsverbesserung für den horizontalen Nonius. In einer quantitativen Studie konnten wir zeigen, dass diese Orientierungsspezifität bis zu einer Orientierungsdifferenz von etwa 5 Grad zwischen den Nonien spezifisch ist, d.h. viel enger ist als die Bandbreite der meisten orientierungssensitiven Neurone im primären visuellen Sehcortex V1 (Fahle, Spang & Herzog, in Vorbereitung).

### **Perzeptuelles Lernen und Maskierung**

Um den Zeitverlauf des perzeptuellen Lernens genauer zu untersuchen, wurden Nonien durch nachfolgende Gitter maskiert. Dabei zeigte sich, dass im Gegensatz zu einer weitverbreiteten Annahme eine Maske nicht einfach die Informationsverarbeitung und damit den Lernprozeß beendet. Im Gegenteil, bei Versuchen mit Rückwärtsmaskierung wird die komplexe raum-



zeitliche Beziehung der Elemente zueinander gelernt. So fanden wir unter anderem, dass Lernen *nicht* spezifisch für das Zielelement Nonius ist- wie es für den unmaskierten Nonius zutrifft. Spezifitäten finden sich dagegen für die Orientierung des maskierenden Gitters. Aus diesen Gründen halten wir Maskierungs-Experimente zum perzeptuellen Lernen, die allein räumliche Aspekte des Zielelements untersuchen, für ungeeignet. Es wird immer auch die zeitliche Dimension des Reizes mitgelernt. Ähnliche Argumente gelten auch, wenn die Zielelemente statt zeitlich rückwärts simultan maskiert werden (Spang, Herzog, Holland-Moritz, Stein & Fahle, 2000). In Anbetracht dieser Tatsachen haben wir geplante Versuche zur Aufmerksamkeit mit Maskierungen nicht durchgeführt und uns stattdessen zusätzlich mit Maskierung von Nonien beschäftigt. Dabei entdeckten wir zwei neue Effekte, die wir Merkmalsvererbung und Durchscheineffekt nennen (Herzog, Fahle & Koch, 2001).

### **Merkmalsvererbung und Durchscheineffekt**

Folgt einem sehr kurz dargebotenen Nonius (10-40ms) ein Gitter für 300ms scheint der vorhergehende Nonius durch das Gitter hindurch, wenn dieses mehr als sieben Elemente umfasst (Abbildung 7). Ansonsten bleibt der Nonius wegen der Rückwärtsmaskierung des Gitters unsichtbar. In diesem Fall kann aber das Gitter die Versetzungsrichtung des Nonius übernehmen, wenn dieser lange genug dargeboten wird (ca. 20 -70ms). Auch andere Merkmale wie Orientierung und Scheinbewegung lassen sich vererben (Herzog & Koch, 2001). Durchscheineffekt und Merkmalsvererbung erlauben die detaillierte quantitative wie qualitative Analyse so unterschiedlicher Forschungsgebiete wie Merkmalsbindung (Herzog, Koch & Fahle, 2001a), Maskierung (Herzog, Fahle & Koch, 2001), Zeitverlauf der visuellen Informationsverarbeitung (Herzog, Koch & Fahle, 2001b; Herzog, Parish, Fahle & Koch, eingereicht), kontextuelle Modulation (Herzog & Fahle, eingereicht), Aufmerksamkeit (Herzog & Koch, eingereicht) und Bewusstsein (Herzog & Koch, 1999).

In diesem Bereich hat sich eine Kollaboration mit Dr. Christian Eurich (TP B7\*) ergeben, die sich bereits in einem akzeptierten Abstract niedergeschlagen hat (Eurich, Bormann & Herzog, 2001). Ziel dieser Zusammenarbeit ist eine rigorose mathematische Beschreibung der beiden Effekte, Merkmalsvererbung und Durchscheineffekt, basierend auf einfachen exzitatorischen wie inhibitorischen Wechselwirkungen. Seit Anfang 2001 ist Dr. Udo Ernst (TP B5) zu diesem Projekt hinzugestoßen. Dr. Ernst beschäftigt sich seit vielen Jahren mit der biologisch plausiblen Modellierung von Kontexteffekten mit Schwerpunkt. Eine weitere Kollaboration hat sich auch mit Dr. Thomas Kammer vom Max-Planck-Institut für biologische Kybernetik in Tübingen ergeben. Wir untersuchen sowohl den Durchscheineffekt wie auch die Maskierung

im allgemeinen mit Hilfe der transkraniellen magnetischen Stimulation (Kammer, Scharnowski & Herzog, eingereicht; Kammer & Herzog, 2001). Eine Zusammenarbeit mit Dr. Brand vom städtischen Krankenhaus Ost in Bremen existiert seit Ende 2000. Schizophrene Patienten zeigen deutlich stärkere zeitliche Rückwärtsmaskierungseffekte als Gesunde, während ihre Leistung für Vorwärtsmaskierungsreize vergleichbar bleibt. Wir haben begonnen, mit Hilfe des Durchscheineffekts diese Maskierungsdefizite genauer zu untersuchen (Brand, Herzog & Gröger, 2001).

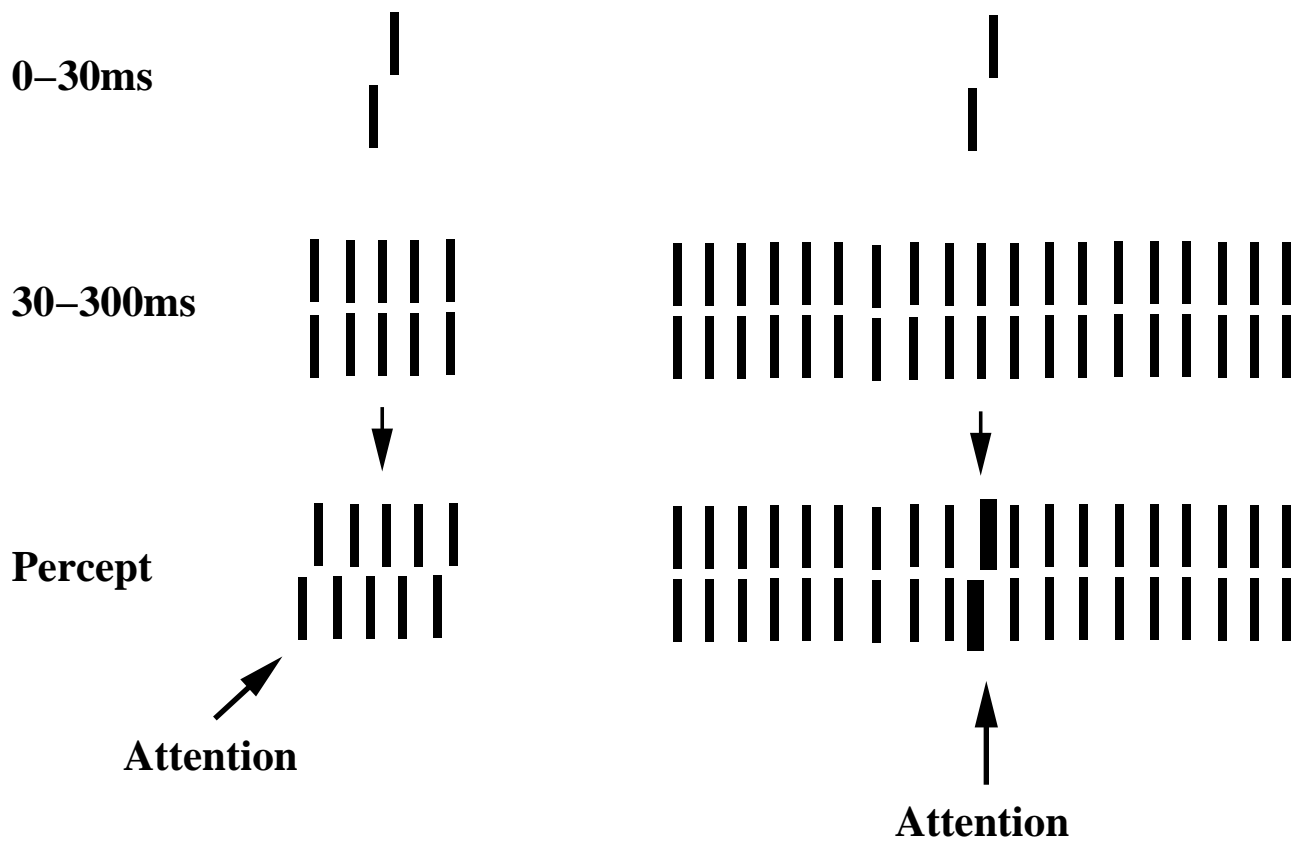


Abbildung 7: Merkmalsvererbung und Durchscheineffekt. Ein Nonius, der einem Gitter mit weniger als sieben Elementen vorangeht, bleibt unsichtbar, kann aber seine Versetzung an das Gitter *vererben*. Dabei wird die Versetzung illusionär an einer der Gitterkanten wahrgenommen. Für mehr als sieben Elemente wird der Nonius als *Durchscheinelement* sichtbar.

**Modellierung:**

Die Professoren Zhaopping Li und Peter Dayan (University College, London) haben ein sehr detailliertes Modell zur Positionsvarianz von einfachen Reizen und perzeptuellem Lernen vorgelegt, das wesentlich auf statistischen Analysen beruht. In unserem Labor haben wir in Zusammenarbeit mit Li und Dayan begonnen, Vorhersagen des statistischen Modells zu testen. Erste Ergebnisse liegen vor, lassen aber noch keine Schlussfolgerungen zu. Eigene Modellierungen, die das sogenannte „Reinforcement Learning“ als zentralen Bestandteil der Lernarchitektur verwenden, werden zur Zeit begonnen.

**Lehrbuch**

Neben den experimentellen Arbeiten entstand im Antragszeitraum ein Lehrbuch zum perzeptuellen Lernen mit den Herausgebern Fahle und Poggio, das von MIT-Press herausgegeben wird. Das Buch umfasst in 20 Artikeln den gegenwärtigen Stand der Forschung und wird wohl noch in diesem Jahr erscheinen. Prof. Fahle steuert neben der Einleitung (zusammen mit Prof. Poggio) noch ein eigenes Kapitel über die Spezifität perzeptuellen Lernens bei, während Dr. Herzog mit einem Kapitel über Probleme der theoretischen Beschreibung perzeptuellen Lernens vertreten ist.

Literatur zu 3.:

Brand A., Herzog M.H, Gröger T. (2001).

Nicht-semantisches visuelles Backward Masking zeigt Defizite der visuellen Verarbeitung bei schizophrenen Störungen. Gesundheitswesen in Bremen.

De Luca E., Fahle M. (1999). Learning of interpolation in 2 and 3 dimensions. *Vision Research*, 39, 2051-2062.

Eurich C. W., Borman R., Herzog M.H. (2001). A dynamic system approach to emerging visibility as found in the shine-through effect. 5<sup>th</sup> ICCNS.

Fahle M., Daum (in Revision). Perceptual learning in amnesic patients. *Neuropsychologia*.

Fahle M., Edelman S., Poggio T. (1995). Fast perceptual learning in visual hyperacuity. *Vision Research*, 35, 3003-3013.

Fahle M., Spang K., Herzog M.H. (in Vorbereitung). Perceptual learning is extremely orientation specific. *Vision Research*.

Gorea A., Sagi D. (2000). Failure to handle more than one internal representation in visual detection tasks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97(22), 12380-12384.

Green D., Swets J. (1966). *Signal Detection Theory and Psychophysics*. Huntington, New York: Robert E. Krieger Publishing Company.

Herzog M.H., Broos A., Fahle M. (in Revision). Practicing a vernier discrimination task with non uniformly distributed stimuli. *Vision Research*.

Herzog M.H., Enskat I., Fahle M. (in Vorbereitung). Attention and perceptual learning.

Herzog M.H., Ewald K.R.F., Fahle M. (eingereicht, Juni 2001). Reverse feedback during perceptual learning: Effects specific for stimulus position and orientation. *Vision Research*.

Herzog M.H., Fahle M. (1998). Modelling perceptual learning: difficulties and how they can be overcome. *Biological Cybernetics*, 78, 107-117.

Herzog M.H., Fahle M. (1999a). A Recurrent Model for Perceptual Learning. *Journal of Optical Technology*, 66, No. 9, 85-92.

Herzog M.H., Fahle M. (1999b). Effects of biased feedback on learning and deciding in a vernier discrimination task. *Vision Research*, 39, 4232-4243.

Herzog M.H., Fahle M. (eingereicht, Juni 2001). Grouping determines contextual modulation. *Nature*

Herzog M.H., Fahle M., Koch C. (2001, im Druck). Spatial aspects of object formation revealed by a new illusion, shine-through. *Vision Research*.

Herzog, M.H., Koch C. (1999). How a Conscious Percept can Inherit a Property of an Invisible Prime. *Proceedings of the 3rd Annual Conference of the Association for the Scientific Study of Consciousness (ASSC)*.

Herzog M.H., Koch C. (2001). Seeing properties of an invisible element: feature inheritance and shine-through. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 98, 4271-4275.

Herzog M.H., Koch C. (eingereicht). Traveling features and feature inheritance. *Perception & Psychophysics*.

Herzog M.H., Koch C., Fahle M. (2001a, im Druck). Switching binding states. *Visual Cognition*.

Herzog M.H., Koch C., Fahle M. (2001b, im Druck). Shine-through: temporal aspects. *Vision Research*.

Herzog M.H., Parish L., Fahle M., Koch C. (eingereicht). Competition of features during the first milliseconds of human information processing. *Vision Research*.

Kammer T., Herzog M.H. (2001). Discrimination determined by detection: a TMS study of visual perception. *Beiträge zur 4. Tuebinger Wahrnehmungskonferenz*, 63.

Kammer T., F. Scharnowski, Herzog M.H. (eingereicht, Juni 2001). Masking revealed by the shine-through effect and TMS. *Neuroscience letters*.

Skrandies, W.; Jedyak, A. & Fahle, M.: Perceptual learning: Psychophysical thresholds and electrical brain topography. *International Journal of Psychophysiology* 41, 119-129 (2001)

Spang K.M., Herzog M.H., Holland-Moritz A., Stein M., Fahle M. (2000). Suppression learning of masking elements is not orientation specific. *Investigative Ophthalmology & Visual Sciences*, 41/4, No. 243.

#### **4. Diskussion**

In den letzten zwei Jahren hat sich ein reger Informationsaustausch mit anderen Gruppen im Bereich des perzeptuellen Lernens ergeben. So wurden die Daten aus Herzog und Fahle (1997) von Dr. Williamson (Boston University) mit Hilfe von Art-Map-Netzen modelliert (Williamson, 1999a,b). Eine geplante Kooperation, die in Williamsons Modell die Resultate der Arbeit von Herzog und Fahle (1999b) erklären sollte, kam leider nicht zu Stande, da Dr. Williamson den Wissenschaftsbereich in der Zwischenzeit verlassen hat.

Dagegen begann eine Zusammenarbeit mit Dr. Meinhard und Prof. Mortensen (Universität Münster), die bei gegenseitigen Besuchen intensiviert wurde. So berichtete Dr. Meinhard im Rahmen des SFB-517-Kolloquiums über seine Resultate zum Lernen von Gitter-Reizen, die eine genaue mathematische Analyse von Veränderungen im Frequenzwahrnehmungsbereich erlauben. Im Gegenzug trug Dr. Herzog über Probleme der mathematischen Modellierung von perzeptuellen Lernen an der Universität Münster vor.

#### **Literatur zu 4.:**

Herzog M.H., Fahle M. (1997). The role of feedback in learning a vernier discrimination task. *Vision Research*, 37, 2133-2142.

Herzog M.H., Fahle M. (1999b). Effects of biased feedback on learning and deciding in a vernier discrimination task. *Vision Research*, 39, 4232-4243.

Williamson J.R. (1999a). A hierarchical network for learning vernier discrimination. *Proceedings of the Third International Conference on Cognitive and Neural Systems*, Department of Cognitive and Neural Systems, Boston, MA.

Williamson J.R. (1999b). Learning vernier discrimination with a model of hierarchical map formation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 39/7, 3976.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

Perzeptuelles Lernen mit einfachen Reizen wie Nonien kann nicht einfach mit der Anpassung von Gewichten in einfachen „Feedforward“ gekoppelten Netzen beschrieben werden. Top-down Information ist notwendig, die die genauen bottom-up Lernprozesse kontrolliert. Wir haben ein Paradigma entwickelt, das die Wechselwirkung von Entscheidungsprozessen auf das Kodierenslernen mit Hilfe von manipuliertem Feedback ermöglicht. Mit Hilfe dieser Ergebnisse konnten wir auch zeigen, dass auf überwachtem Lernen basierende neuronale Netze nicht geeignet sind, um diese Wechselwirkungen zu beschreiben. Dagegen konnten Vorhersagen der Signal-Detektions-Theorie bestätigt werden. Aufmerksamkeit scheint zusätzlich konstitutiv für perzeptuelles Lernen zu sein. Verbessert wird nur, was beachtet wird. Auch mit Hilfe vieler weiterer Experimente, wie z.B. der Bestimmung der maximalen Orientierungsdifferenz zwischen Nonien die noch einen Leistungstransfer ermöglicht, konnten wir perzeptuelles Lernen genauer charakterisieren. Überraschende Ergebnisse fanden wir im Bereich der monokularen Informationsverarbeitung. So scheint, wie oben erwähnt, das Auge, auf das der Nonius projiziert wird, bekannt sein zu müssen, um Lernen zu ermöglichen. In der nächsten Antragsperiode wollen wir diese Phänomene aufklären.

## **6. Literaturverzeichnis**

### **Veröffentlichungen (chronologisch)**

Herzog, M.H., Fahle, M. (1999a). A Recurrent Model for Perceptual Learning. *Journal of Optical Technology*, 66, No. 9, 836-841. Publication available in Russian: *Opticheskii Zhurnal*, 66, No. 9, 85-92.

Herzog M.H., Fahle M. (1999b). Effects of biased feedback on learning and deciding in a vernier discrimination task. *Vision Research*, 39, 4232-4243.

DeLuca, E. & Fahle, M.: Learning of interpolation in 2 and 3 dimensions. *Vision Research* 39, 2051-2062 (1999)

Dill, M. & Fahle, M.: Display-symmetry affects positional specificity in same/different judgements of pairs of novel visual patterns. *Vision Research* 39, 3752-3760 (1999)

Glickstein, M. & Fahle, M.: T. Inouye: Visual disturbances following gunshot wounds of the cortical visual area (Translation). *Brain* 123, Special Supplement 1-101 (2000)

Morgan, M.J. & Fahle, M.: Motion-stereo mechanisms are sensitive to inter-ocular phase, not temporal delay. *Vision Research* 40, 1667-1675 (2000)

Skiera, G.; Petersen, D.; Skalej, M. & Fahle, M.: Correlates of figure-ground segregation in functional Magnetic Resonance Imaging. *Vision Research* 40, 2047-2056 (2000)

Zenger, B. & Fahle, M.: Performance asymmetries in visual search demonstrate failure of independent processing models. *Vision Research* 40, 2677-22696 (2000)

Bachmann, G. & Fahle, M.: Component perimetry: A fast method to uncover visual field defects caused by brain lesions. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 41, 2870-2886 (2000)

Fahle, M.; Heinrich, S. & Mahmud, S: Parallel processing of orientation differences in the presence of orientation gradients. *Vision Research* 40, 2905-2913 (2000)

Skrandies, W.; Jedynek, A. & Fahle, M.: Perceptual learning: Psychophysical thresholds and electrical brain topography. *International Journal of Psychophysiology* 41, 119-129 (2001)

Herzog M.H., Koch C. (2001). Seeing properties of an invisible element: feature inheritance and shine-through. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 98, 4271-4275.

Herzog, M.H., Koch C., Fahle M. (in the press). Switching binding states. *Visual Cognition*.

Herzog M.H., Fahle M., Koch C. (in the press). Spatial aspects of object formation revealed by a new illusion, shine-through. *Vision Research*.

Herzog M.H., Koch C., Fahle M. (in the press). Shine-through: temporal aspects. *Vision Research*.

Bach, M., Schmitt, C., Quenzer, T., Meigen, Fahle, M. (in Druck). Linear summation of texture segregation across orientation and spatial frequency: Electrophysiological and psychophysical findings. *Vision Research*.

Herzog, M.H., Broos, A., Fahle, M. (under review). Practicing a vernier discrimination task with non uniformly distributed stimuli. *Vision Research*.

Herzog M.H., Koch C. (submitted). Traveling features and feature inheritance. *Vision Research*.

Herzog M.H., Behrendt G., Hering C. (submitted). The Structure of the Automorphism Group of Hamming- and their subgraphs. *European Journal of Combinatorics*.

Herzog M.H., Schmonsees U., J., Mertins T., Fahle M. (submitted). Shine-through and emerging objects: stronger signal does not imply better performance. *European Journal of Neuroscience*.

Herzog M.H., Parish L., Fahle M., Koch C. (submitted). Competition of features during the first milliseconds of human information processing. *Vision Research*.

Herzog M.H., K.R.F. Ewald, Fahle M. (submitted, June 2001). Reverse feedback during perceptual learning: Effects specific for stimulus position and orientation. *Vision Research*.

Herzog M.H., Fahle M. (submitted, June 2001). Grouping determines contextual modulation. *Nature*.

Kammer T., F. Scharnowski, Herzog M.H. (submitted, June 2001). Masking revealed by the shine-through effect and TMS. *Neuroscience letters*.

Herzog M.H., I. Enskat, Fahle M. (in preparation). Attention and perceptual learning.

### **Buch Kapitel**

Herzog, M.H., Fahle, M. (to appear). Top-down information and models of learning. In: Fahle M., Poggio T.: *Perceptual Learning, a textbook*. MIT Press, Cambridge, MA, USA.

### **Buchbesprechungen**

Herzog M.H. (to appear). Review on *Beyond Neurotransmission*, Edited by Paul S. Katz, 1999, Oxford University Press. *Anthropologischer Anzeiger*.

### **Abstracts (chronologisch)**

Herzog, M.H., Fahle, M. (1999). Ein Modell fuer Perzeptuelles Lernen, das Top-down Einfluesse erklaren kann. *Beitraege zur 2. Tuebinger Wahrnehmungskferenz*.

M. Stein, Herzog, M.H., Fahle, M. (1999). Perzeptuelles Lernen: Hilft Vorwissen? *Beitraege zur 2. Tuebinger Wahrnehmungskferenz*.

K.R. Ewald, Herzog, M.H., Fahle, M. (1999). Vollkommene Plastizitaet beim perzeptuellen Lernen? *Beitraege zur 2. Tuebinger Wahrnehmungskferenz*.

Herzog, M.H., Broos, A.H., Fahle, M. (1999). Practicing a vernier discrimination task with non-uniformly distributed stimuli influences decision but not learning processes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40/4, No. 3077.

Herzog, M.H., Koch C. (1999). How a Conscious Percept can Inherit a Property of an Invisible Prime. *Proceedings of the 3rd Annual Conference of the Association for the Scientific Study of Consciousness (ASSC)*.

Herzog, M.H., Parish L.S., Koch C. (1999). How invisible properties of a prime determine the visible ones of a mask. *Perception Supplement*, 28, 35b.

Herzog, M.H., Koch, C., Fahle, M. (1999). How attention modulates the inheritance of invisible features. *First Conference on Cognitive Neuroscience, Bremen*.

Fahle, M., Skiera, G., Petersen, D.: Frigure Ground Segmentation and Funktional Magnetic Resonance Imaging. *IOVS*, 40, 4 S201, 1999.

Franz, V., Fahle, M., Gegenfurtner, K.R., Bülthoff, H.H.: Grasping visual illusions: No difference between perception and action?. *IOVS*, 40, 4 S413, 1999.



Fahle, M., Skiera, G., Quenzer, T.: Figure-ground segregation: fMRI and EEG correlates. *Perception* 28, Supplement, 1999 .

Zanker, J.M., Quenzer, T., Fahle, M. : Illusory deformation of moving contours. *Perception* 28, Supplement, 1999.

Giersch, A. Fahle, M. : Can segmentation processes be modulated at an early level in visual perception? *Perception* 28, Supplement, 1999.

Herzog, M.H., Mahmud S.M., Koch C., Fahle M. (2000). Ein unsichtbares Element sehen: der Durchscheineffekt. (Seeing an invisible element: the shine-through effect.) *Beitraege zur 3. Tuebinger Wahrnehmungskonferenz*, 63.

Heinrich S.P., Herzog, M.H., Koch C., Fahle M. (2000). Ein unsichtbares Element sehen: Merkmalsvererbung und Merkmalsreise. (Seeing an invisible element: feature inheritance and traveling features). *Beitraege zur 3. Tuebinger Wahrnehmungskonferenz*, 64.

Herzog M.H., Koch C. (2000). Seeing an invisible element: feature inheritance and shine-through. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41/4, No. 2329.

Spang K.M., Herzog M.H., Holland-Moritz A., Stein M., Fahle M. (2000). Suppression learning of masking elements is not orientation specific. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41/4, No. 249.

Fahle, M., Ewald K.R.F., Herzog, M.H. (2000). Learning of faulty information? *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41/4, No. 243.

Herzog, M.H., Koch C., Fahle M. (2000). Aspects of the first milliseconds of human information processing. *Perception*, 29, Supplement, 59a.

Kammer T., Herzog M.H., (2001). Discrimination determined by detection: a TMS study of visual perception. *Beitraege zur 4. Tuebinger Wahrnehmungskonferenz*, 63.

Herzog M.H., Fahle M., (2001). Erster Bester. *Beitraege zur 4. Tuebinger Wahrnehmungskonferenz*, 53.

Eurich C. W., Bormann R., Herzog M.H. (2001). A dynamical system approach to emerging visibility as found in the shine-through effect. *5<sup>th</sup> ICCNS*.

Herzog M.H., Fahle M., (2001). First is Best. *First Vision Sciences Conference*.

Herzog M.H., Otto T., Fahle M., (2001). Freed, snared, and integrated features. *Perception*, 30, Supplement.

Brand A., Herzog M.H, Gröger T. (2001).

Nicht-semantisches visuelles Backward Masking zeigt Defizite der visuellen Verarbeitung bei schizophrenen Störungen. *Gesundheitswesen in Bremen*.

**Teilprojekt C 9**

**Funktionelle kernspintomographische Untersuchungen des  
visuellen Arbeitsgedächtnisses**

**Arbeits- und Ergebnisbericht**

Förderzeitraum: 01.03.2000 - 31.12.2001

Projektleiter: Prof. Dr. Mark W. Greenlee

Institut für Kognitionsforschung,  
Universität Oldenburg, FB5  
Postfach 2503  
26111 Oldenburg

## **1. Einleitung**

Bei der Erkundung der visuellen Welt und der Identifizierung einzelner Objekte in der visuellen Umgebung spielen Arbeitsgedächtnisprozesse eine bedeutende Rolle. Dabei muss visuelle Gedächtnisinformation kurzzeitig aktiv repräsentiert, mit aktuellem visuellen Input abgeglichen und gegebenenfalls im Arbeitsspeicher manipuliert werden.

Ziel des vorliegenden Teilprojektes war es, zum Verständnis der neuronalen Grundlagen des visuellen Arbeitsgedächtnisses und der okulomotorischen Steuerung bei visuell-mnestischen Aufgaben und reizgeleiteten Sakkaden beizutragen. Aufgabenabhängige Veränderungen hämodynamischer Antworten (BOLD-Kontrast) werden mit der Methode der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) erfasst. Im Vordergrund stehen Fragen nach dem Einfluss, den spezifische Reizmerkmale (Farbe, Form, Ortsfrequenz) auf Behaltensleistungen und kortikale Aktivierung haben. Kortikale Aktivierungsdaten werden mit Verhaltensdaten verglichen, die mit einem fMRT-tauglichen Augenbewegungsmessgerät erhoben werden. Neben der Kontrolle einer korrekten Aufgabendurchführung ermöglichen die Augenbewegungsmessungen im Tomographen Aussagen über den Zusammenhang zwischen Sakkadenausführung und neuronaler Aktivierung, aber auch über den Einfluss der Aufgabe auf Verhaltensparameter wie sakkadische Reaktionszeiten, Geschwindigkeiten und Amplituden. Psychophysische Messungen ausserhalb des Tomographen dienen in Vorversuchen zur Auswahl geeigneter Reize und Reizabfolgen für die fMRT-Untersuchungen, in Einzelfällen (Experiment 3a) auch zur Erhebung und Analyse einer großen Datenmenge auf der Verhaltensebene. Die Optimierung der Augenbewegungsmessungen im Tomographen bilden einen weiteren Schwerpunkt unseres Forschungsvorhabens.

Der Begriff des Arbeitsgedächtnisses stammt aus der experimentellen Psychologie und geht auf ein weithin akzeptiertes und in der Neuropsychologie durch zahlreiche Befunde bestätigtes Modell des Kurzzeitgedächtnisses zurück (Baddeley, 1992). Gemäß dieses Arbeitsgedächtnismodells von Baddeley gliedert sich das menschliche Arbeitsgedächtnis in eine supramodale zentrale Exekutive, die im Sinne einer Aufmerksamkeitssteuerung und -verwaltung zwei modalitätsspezifische Subsysteme kontrolliert: eines für die verbal-phonologische Verarbeitung (“articulatory loop”), ein weiteres für die Verarbeitung bildhafter Informationen (“visuo-spatial scratch-pad”). Für das von Baddeley als einheitlich angenommene visuell-räumliche Subsystem wurden in den letzten Jahren zwei voneinander getrennt zu betrachtende Komponenten postuliert: eine visuelle Komponente für die

Speicherung von Elementarmerkmalen wie Farbe und Form sowie eine räumliche Komponente für die mnestiche Repräsentation räumlicher Informationen des visuellen Materials.

Neben Aufgaben, die Tastendruckreaktionen oder Armbewegungen erfordern, gehören okulomotorische Paradigmen zu den bevorzugt verwendeten Aufgaben zur Untersuchung des visuellen Arbeitsgedächtnisses. Einzelzelleableitungen an Affen, die darauf trainiert waren, Sakkaden zu einer Stelle im Gesichtsfeld auszuführen, an der kurz zuvor ein Reiz eingeblendet worden war (Funahashi et al., 1989; Funahashi et al., 1993a; Funahashi et al., 1993b; Goldman-Rakic, 1988), zeigen, dass v.a. der dorsolaterale Präfrontalkortex (Brodmann Areal [BA] 46) eine wichtige Rolle für die Steuerung solcher gedächtnisgeleiteter Sakkaden einnimmt. Eine Schädigung dieses Areals führt zu einer deutlichen Beeinträchtigung der Fähigkeit, gedächtnisgeleitete Sakkaden korrekt auszuführen (Funahashi et al., 1993a; Greenlee et al., 2000).

Aus Untersuchungen mit bildgebenden Verfahren sind inzwischen eine Reihe von weiteren kortikalen Arealen bekannt, die an Arbeitsgedächtnisleistungen beteiligt sind. Eine umfassende Übersicht findet sich in Cabeza und Nyberg (1997) und D'Esposito et al. (1998a). Darüberhinaus liegen Befunde vor, die Aussagen über die neuronalen Korrelate von Arbeitsgedächtnisleistungen bei unterschiedlichen Reizbedingungen und Aufgabenanforderungen ermöglichen. So konnten Cohen et al. (1997) mit einer visuellen Arbeitsgedächtnisaufgabe neben stärkeren BOLD-Antworten im visuellen Cortex, Gyrus angularis, Gyrus supramarginalis und im dorsolateralen Präfrontalcortex (BA 9, 46) eine zunehmende Aktivierung in den präfrontalen Zentren mit zunehmender Aufgabenschwierigkeit feststellen. Bei einer Untersuchung des Arbeitsgedächtnisses für Farbe und Lokalisation von Reizen fanden McCarthy et al. (1994) eine im Vergleich zur Farbgedächtnisaufgabe stärkere Aktivierung des BA 46 bei der Lokalisationsaufgabe. Mit hierzu besonders geeigneten Paradigmen (ereigniskorrelierte fMRT) können im Kernspintomographen auch transiente und tonische Prozesse bei der visuellen Enkodierung bzw. bei der Abspeicherung im Gedächtnis untersucht werden. Ergebnisse von Courtney et al. (1997) zeigen, dass die präfrontalen Areale 9 und 46 an Gedächtnisleistungen, striäre bzw. extrastriäre Areale hingegen an der Enkodierung beteiligt sind.

Wenngleich D'Esposito et al. (1998b) die exklusive Gedächtnisfunktion des präfrontalen Kortex in Frage stellen, deuten die vorliegenden Befunde doch insgesamt darauf hin, dass der dorsolaterale Präfrontalkortex als wichtiges kortikales Korrelat des Arbeitsgedächtnisses zu sehen ist. Wie Untersuchungen mit funktioneller Bildgebung aufzeigen konnten, sind diese

Areale auch Teil eines kortikalen Netzwerkes, das der Kontrolle sakkadischer Augenbewegungen bei Menschen zugrunde liegt (Petit et al., 1993; Luna et al., 1998; Darby et al., 1996; Bodis-Wollner et al., 1997; Paus et al., 1995). Leider konnten in den Untersuchungen zur kortikalen Kontrolle von Augenbewegungen, mit wenigen Ausnahmen (Gitelman et al., 1999), Augenbewegungen während der Aufgabendurchführung im Tomographen nicht adäquat aufgezeichnet werden. Versuche, die Aufgabendurchführung mit elektrookulographischen Aufzeichnungen zu kontrollieren, waren meist nicht besonders erfolgreich, da die Feldgradienten Artefakte hervorrufen (vgl. Felblinger et al., 1996). Daher blieb die genaue Abfolge von Augenbewegungen im Tomographen unbekannt.

### **Literatur zu 1.**

Baddeley, A. (1992). Working memory. *Science*, 255, 556-559.

Bodis-Wollner, I., Bucher, S.F., Seelos, K.C., Paulus, W., Reiser, M., Oertel, W.H. (1997). Functional MRI mapping of occipital and frontal cortical activity during voluntary and imagined saccades. *Neurology*, 49, 416-420.

Cabeza, R., Nyberg, L. (1997). Imaging cognition: An empirical review of PET studies with normal subjects. *J. Cognitive Neuroscience*, 9, 1-26.

Cohen, J.D., Perstein, W.M., Braver, T.S., Nystrom, L.E., Noll, D.C., Jonides, J., Smith, E.S. (1997). Temporal dynamics of brain activation during a working memory task. *Nature*, 386, 604-607.

Courtney, S.M., Ungerleider, L.G., Keil, K., Haxby, J.V. (1997). Transient and sustained activity in a distributed neural system for human working memory. *Nature*, 386, 608-611.

Darby, D.G., Nobre, A.C., Thangaraj, V., Edelman, R., Mesulam, M.M., Warach, S. (1996). Cortical activation in the human brain during lateral saccades using EPISTAR functional magnetic resonance imaging. *NeuroImage*, 3, 53-62.

D'Esposito, M., Aguirre, G.K., Zarahn, E., Ballard, D., Shin, R.K., Lease, J. (1998a). Functional MRI studies of spatial and nonspatial working memory. *Cognitive Brain Research*, 7(1), 1-13.

D'Esposito, M., Ballard, D., Aguirre, G.K., Zarahn, E. (1998b). Human prefrontal cortex is not specific for working memory: A functional MRI study. *NeuroImage*, 8, 274-282.

Felblinger, J., Müri, R. M., Ozdoba, C., Schroth, G., Hess, C. W., Boesch, C. (1996). Recordings of eye movements for stimulus control during fMRI by means of electro-oculographic methods. *Magnetic Res. Med.*, 36, 410-414.

Funahashi, S., Bruce, C.J., Goldman-Rakic, P.S. (1989). Mnemonic coding of visual space in the monkey's dorsolateral prefrontal cortex. *Journal of Neurophysiology*, 61, 331-349.

Funahashi, S., Bruce, C.J., Goldman-Rakic, P.S. (1993a). Dorsolateral prefrontal lesions and oculomotor delayed-response performance: evidence for mnemonic scotomas. *Journal of Neuroscience*, *13*, 1479-1497.

Funahashi, S., Chafee, M., Goldman-Rakic, P.S. (1993b). Prefrontal neuronal activity in rhesus monkeys performing a delayed anti-saccade task. *Nature*, *365*, 753-756.

Gitelman, D.R., Parrish, T.B., LaBar, K.S., Mesulam, M.M. (2000). Real-time monitoring of eye movements using infrared video-oculography during functional magnetic resonance imaging of the frontal eye fields. *NeuroImage*, *11*(1), 58-65.

Goldman-Rakic, P.S. (1988). Topography of cognition: Parallel distributed networks in primate association cortex. *Ann. Rev. Neurosci*, *11*, 137-156.

Greenlee, M.W., Berg, H., Stuhr, V., Mergner, T. (2000). Visual search and visual working memory in patients with focal cortical lesions. *Vision Research*, *40*, 3759-3773.

Luna, B., Thulborn, K.R., Strojwas, M.H., McCurtain, B.J., Berman, R.A., Genovese, C.R., Sweeney, J.A. (1998). Dorsal cortical regions subserving visually guided saccades in humans: an fMRI study. *Cereb. Cortex*, *8*, 40-47.

McCarthy, G., Blamire, A.M., Puce, A., Nobre, A.C., Bloch, G., Hyder, F., Goldman-Rakic, P., Shulman, R.G. (1994). Functional magnetic resonance imaging of human prefrontal cortex activation during a spatial working memory task. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *91*, 8690-8694.

Paus, T., Marrett, S., Worsley, K.J., Evans, A.C. (1995). Extraretinal modulation of cerebral blood flow in the human visual cortex: implications for saccadic suppression. *J. Neurophysiol.*, *74*, 2179-2183.

Petit, L., Orssaud, C., Tzourio, N., Salamon, G., Mazoyer, B., Berthoz, A. (1993). PET study of voluntary saccadic eye movements in humans: basal ganglia-thalamocortical system and cingulate cortex involvement. *J. Neurophysiol.*, *69*, 1009-1017.

## **2. Angewandte Methoden und Arbeitsprogramm**

### 2.1. Methoden und Versuchsaufbau

#### **Messung der Augenbewegungen und Auswertung der Augenbewegungsdaten**

Zur Aufzeichnung der Augenbewegungen im Tomographen und im Psychophysik-Labor wird ein Gerät verwendet (MR-Eyetracker), das eigens für Experimente im funktionellen Magnetresonanztomographen entwickelt wurde (Kimmig et al., 1999). Das Messgerät liefert über zwei getrennte Kanäle jeweils ein analoges Signal für die horizontale und die vertikale Augenposition. Diese Analogsignale werden mittels einer National Instruments Data Acquisition Card (NI-DAQ) mit einer Rate von 1.000 Hz digitalisiert. Die räumliche Auflösung beträgt ca. 0.1°. Zur Registrierung, Darstellung und Auswertung der

Augenbewegungen wurde von Prashanth DeSouza, in enger Zusammenarbeit mit Mitarbeitern des Projektes, ein Matlab-Programm erstellt. Dieser im Rahmen einer Master's Thesis (Master Studiengang „Engineering Physics“, Oldenburg) entwickelte sogenannte „Automatic Saccade Detection Algorithm“ (ASDA) ermöglicht eine fortlaufende Darstellung der Augenposition während der Messung. Unmittelbar im Anschluss an jeden experimentellen Durchgang kann eine Routine ausgeführt werden, die Sakkaden, Blinzler und instabile Fixationen automatisch detektiert und mit entsprechenden Markern kennzeichnet. Reaktionszeiten und Bewegungsparameter, wie Amplituden und Spitzengeschwindigkeiten der Augenbewegungen, werden in eine Ergebnisdatei geschrieben und für eine spätere Offline-Analyse zusammen mit dem MR-Protokoll abgespeichert. Die erzeugten Ergebnisdateien können zur zusätzlichen Varianzaufklärung der fMRT-Daten in „SPM99“ (Statistical Parametric Mapping, 1999) eingelesen werden. Durch die Kooperation mit Cambridge Research Systems Ltd. hat die Arbeitsgruppe bezüglich der Erhebung von Augenbewegungsdaten einen deutlichen Vorsprung gegenüber anderen Gruppen.

#### Reizpräsentation

In Zusammenhang mit den Experimenten 3a und 3b (Farb- und Formwahrnehmung) wurde die Farbdarstellung der benutzten LCD-Projektoren sowohl für die psychophysischen als auch die kernspintomographischen Untersuchungen spektralphotometrisch (SpectraCal) kalibriert, um eine Vergleichbarkeit beider Untersuchungsmethoden zu gewährleisten. In Zusammenarbeit mit der Firma Cambridge Research Systems Ltd. wurde ein Programm entwickelt, um auf einem PC mit VSG-Karte gleichzeitig die Reizpräsentation und die Aufnahme der Augenbewegungen zu gewährleisten. Die aufgezeichneten Augenbewegungen sind dabei kalibriert und können direkt mit dem von DeSouza (2001) entwickelten Programm ausgewertet werden.

#### Erhebung, Vorverarbeitung und Auswertung der fMRT-Daten

Die fMRT-Daten werden mittels eines 1,5 Tesla Vision Magnetom (Siemens) mit der Methode des „Echo-planar Imaging“ erhoben. Für alle fMRT-Untersuchungen wurde das „block design“ verwendet. Dabei wurden jeweils 50 Sekunden andauernde Zustände von Ruhe und Aktivierung miteinander verglichen. In jeder dieser Ruhe- bzw. Aktivierungsperioden wurden 10 Aufnahmen gemacht. Das Design ermöglicht „whole brain“ Messungen und somit die Messung der Aktivierung im gesamten Kortex während der Durchführung unterschiedlicher Aufgaben.

Die fMRT-Daten werden in einem Siemens-DICOM-Format auf CD übernommen. Zur schnellen und automatischen Umwandlung in das von SPM verwandte „Analyze-Format“ wurde die freie Software xmedcon (<http://xmedcon.sourceforge.net>) von Herrn Dr. Rutschmann angepasst. Die Fähigkeit zur Verarbeitung von „Siemens-Mosaic“ Dateien wurde dem Programm zugefügt und ist bei der neuen Version des Programms allgemein frei erhältlich (Batch-basierte Auswertung). Es erfolgte eine Umstellung der kernspintomographischen Auswertung auf das Programm SPM99. Die Mitarbeiter wurden und werden unter Anleitung von Herrn Dr. Rutschmann in dieses Programm eingewiesen. Es wurde eine interne Dokumentation erstellt, die auf die lokalen Gegebenheiten eingeht. Die im Institut früher verwendete Software Braintools und mri3dX wird nach wie vor verwendet, da sie zu einem besseren Vergleich mit früheren Auswertungen, zur Visualisierung aktueller Auswertungen und für Lehrveranstaltungen herangezogen wird. Die Magnetresonanzdaten der nachfolgend beschriebenen Experimente wurden sowohl mit den Programmen BrainTools, als auch mit SPM99 analysiert (Abschnitt 3).

## **2.2. Arbeitsprogramm**

Der Antrag für das vorliegende Teilprojekt wurde während der laufenden Förderperiode zum 1.3.2000 genehmigt. Im Juni 2000 konnte die für das Projekt genehmigte BAT IIA/2 Stelle mit einer wissenschaftlichen Mitarbeiterin besetzt werden. Eine positive Begutachtung vorausgesetzt, wird ca. Mitte 2002 ein 1,5 T MR-Tomograph aus Landesmitteln angeschafft. Vorversuche und laufende Experimente werden in Kooperation mit der Neuroradiologie im Zentralkrankenhaus St.-Jürgen-Str., Bremen (Prof. Terwey), mit der Neuroradiologie in Groningen (Prof. Leenders) und der Universitätsklinik in Freiburg (Prof. Dr. J. Hennig) durchgeführt. Für die in diesen Einrichtungen verfügbare begrenzte Messzeit wurden von der DFG zusätzliche Mittel bereitgestellt. Die Kooperation mit Prof. Terwey ermöglicht uns bis zur Bereitstellung des Kernspintomographen im Ev. Krankenhaus Oldenburg regelmäßige Messungen.

Im Anschluss an den Aufbau der Apparatur und parallel zu den Bemühungen um eine Optimierung der Datenerhebung und -auswertung wurden die ersten Vorversuche und die ersten Experimente durchgeführt. Im Experiment 1 wurden BOLD-Kontrast Effekte bei gedächtnisgeleiteten und visuell geleiteten Sakkaden verglichen, wobei die visuell geleiteten Sakkaden in zwei verschiedenen okulomotorischen Standardparadigmen (Gap- und Step-Paradigma) durchgeführt wurden. Experiment 2 wurde durchgeführt, um die neuronalen



Korrelate des visuellen Arbeitsgedächtnisses für einfache visuelle Reizmerkmale zu untersuchen. Die im Antrag skizzierte Fragestellung für Experiment 3 wurde um den Aspekt des Gedächtnisses für Formen erweitert. Die Untersuchung ist zugleich Teil einer Kooperation mit Prof. James P. Thomas (University of California Los Angeles, USA). Die geplante Untersuchungsreihe beschäftigt sich mit der Frage, wie unabhängig voneinander Farb- und Forminformationen verarbeitet und gespeichert werden.

## **Literatur zu 2.**

Kimmig, H., Greenlee, M.W., Heuthe, F., Mergner, T. (1999). MR-Eyetracker: A new method for eye movement recording in functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Experimental Brain Research*, 126, 443-449.

DeSouza, P. (2001). Development of data analysis techniques for classification of oculomotor behaviour for use in cognitive neuroscientific research. Master's of Engineering Physics, University of Oldenburg, 2001.

## **3. Ergebnisse und ihre Bedeutung**

Experiment 1: fMRT-Untersuchung der Okulomotorik während gedächtnisgeleiteter Sakkaden.

In einer derzeit noch andauernden fMRT-Untersuchung werden die neuronalen Korrelate gedächtnisgeleiteter und visuell geleiteter Sakkaden vergleichend untersucht. Die visuell geleiteten Sakkaden werden dabei in zwei okulomotorischen Standardparadigmen gemessen (Gap- und Step-Paradigma). Im Gegensatz zu früheren Arbeiten, die diese Paradigmen im Tomographen verglichen, werden hier zum ersten Mal die Augenbewegungen der Probanden während der Aufgabendurchführung dargestellt und für eine später durchzuführende Analyse abgespeichert. Die Messungen im Kernspintomographen werden im Block-Design, mit alternierenden, 50 Sekunden andauernden Blöcken von „Memory-guided-“ bzw. Step- oder Gap-Trials durchgeführt. Jedem dieser Aktivierungsblöcke geht eine 50 Sekunden andauernde Ruheperiode voraus. In der reizgeleiteten Bedingung (Gap- und Step-Paradigma) besteht jeder Trial aus einer zentralen Fixationsperiode, gefolgt vom Erlöschen des Fixationspunktes und dem Erscheinen eines peripher dargebotenen Lichtpunktes als Zielreiz (entweder 5° links oder rechts von dem zuvor dargebotenen Fixationspunkt). Während im Step-Paradigma der Zielreiz zeitgleich mit dem Erlöschen des Fixationspunktes dargeboten wird, erlöscht der Fixationsreiz im Gap-Paradigma 200 ms vor der Zielreizdarbietung. In der Gedächtnisaufgabe wird der Zielreiz (Lichtpunkt) während der Fixationsreizdarbietung kurz (200 ms, 5° links

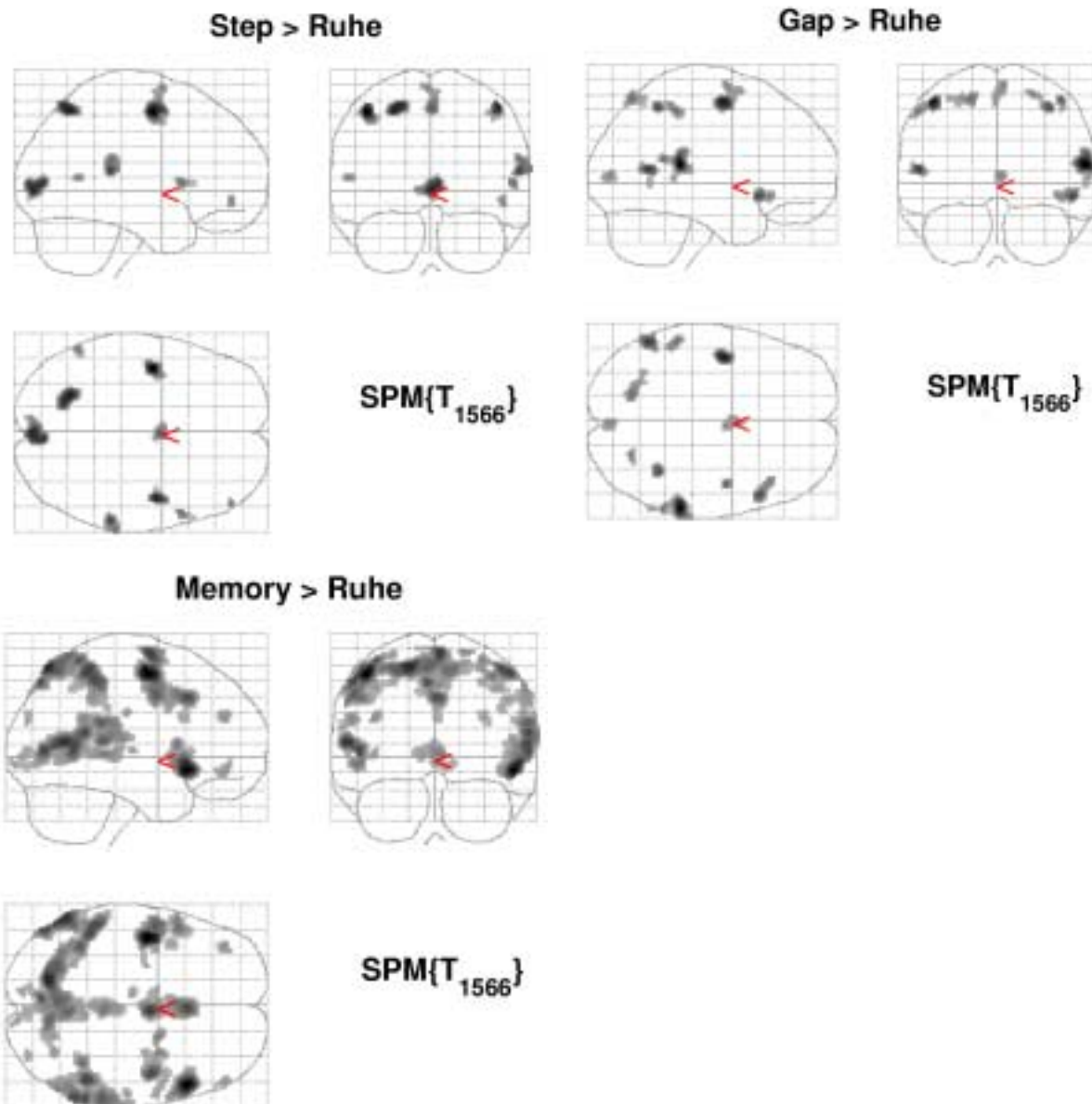
oder rechts vom Fixationspunkt) eingeblendet. Die Probanden haben die Aufgabe, sich die Zielreizposition zu merken und erst nach dem Erlöschen des Fixationsreizes (700 bis 1200 ms nach der Zielreizdarbietung) eine sakkadische Augenbewegung zur erinnerten Zielreizposition hin auszuführen.

Es liegen Daten von sieben Probanden vor, die in jeweils zwei experimentellen Durchgängen im Tomographen gewonnen wurden.

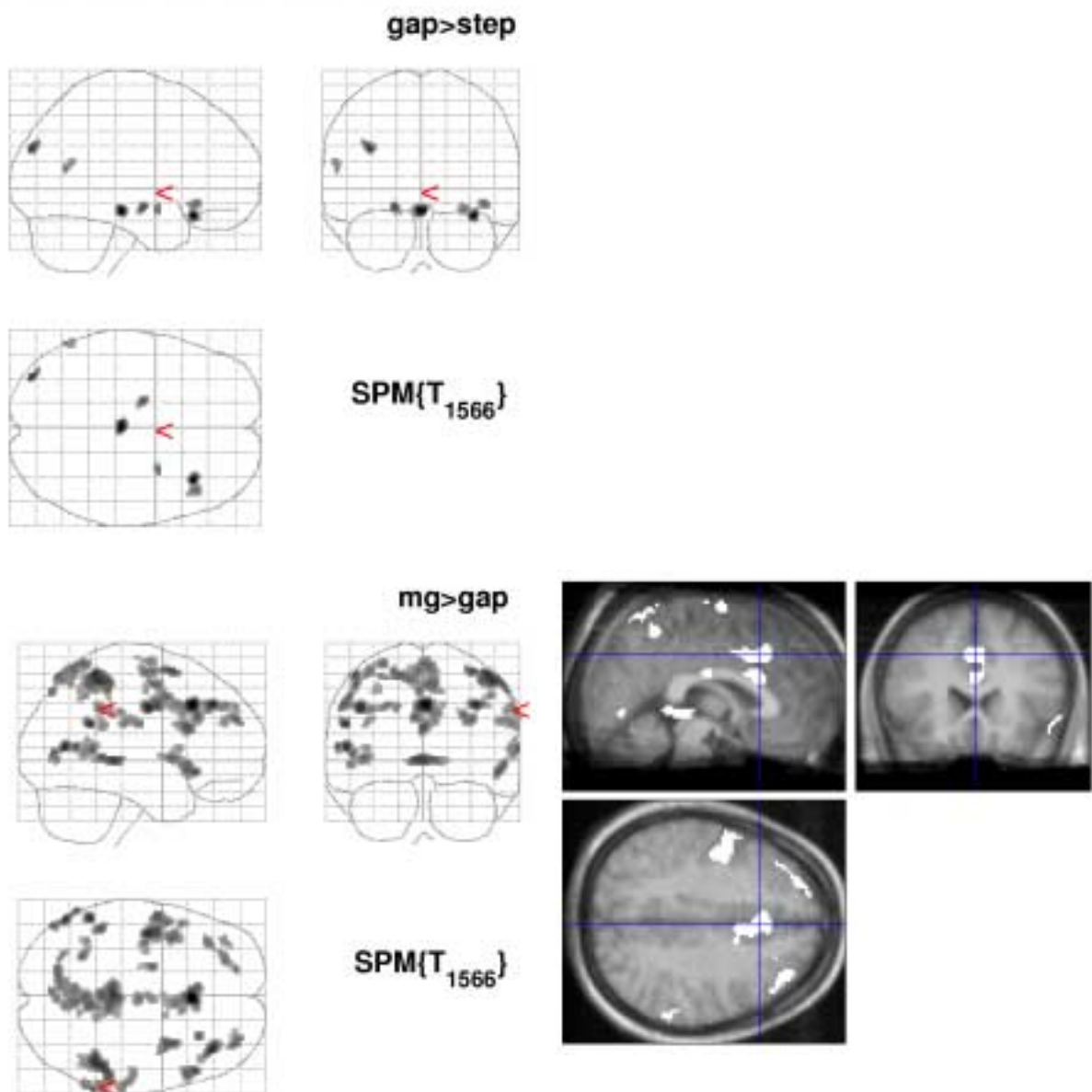
Für die Vergleiche 1. Ordnung (Aktivierung vs. Ruhe) zeigen vorläufige Ergebnisse einer Gruppenanalyse der fMRT-Daten (vgl. Tab.1; Abb. 1) bei allen okulomotorischen Paradigmen (Gap-, Step-, Memory Guided) eine im Vergleich zur Ruhebedingung (nur Fixation) signifikante Aktivierungszunahme in den frontalen Augenfeldern (FEF; BA 6), im supplementären Augenfeld (SEF; BA 6, medialer Anteil), im lateralen intraparietalen Kortex (LIP; BA 7, links), im Gyrus temporalis superior (BA 39, rechts) und im okzipitalen Kortex (BA 17). Die aktivierten frontalen, parietalen und temporalen Areale sind wesentliche Bestandteile eines weitverteilten kortikalen Netzwerkes zur Steuerung von Augenbewegungen (Corbetta et al., 1998). Bei dem Kontrast „Memory Guided vs. Ruhe“ (Memory>Ruhe) ist eine im Vergleich zu den Kontrasten „reizgeleitete Sakkaden vs. Ruhe“ (Step>Ruhe und Gap>Ruhe) wesentlich ausgedehntere und in einigen Arealen stärkere kortikale Aktivierung beobachtbar. Aktivierungen zusätzlicher frontaler Areale bei der Gedächtnisaufgabe sind im dorsalen (BA 46, links) und im ventralen (BA 47, links) Präfrontalkortex, im Gyrus frontalis medialis (BA 10, rechts) und im anterioren cingulären Kortex (BA 32, rechts) beobachtbar. Zusätzlich sind im Parietalkortex der Gyrus angularius (BA 39, bilateral) und der posteriore Parietalkortex der rechten Hemisphäre (BA 7, 40) aktiviert sowie im Temporalkortex der Gyrus temporalis superior (BA 39, links).

Bei den Vergleichen 2. Ordnung (Vergleich von Aktivierungsperioden; siehe Abb.2, Tab.1) ergab die Kontrastierung der Aktivierungsdaten aus den beiden Bedingungen mit visuell geleiteten Sakkaden (Gap>Step) keine signifikanten Unterschiede. Eine signifikante Signalzunahme im Mittelhirn ist vermutlich auf venöse Artefakte zurückzuführen. Subtraktion der Gap- von der Memory Guided-Bedingung resultierte in einer bei der Gedächtnisaufgabe signifikant stärkeren Aktivierung in kortikalen Arealen, die an Arbeitsgedächtnisleistungen beteiligt sind (Cabeza & Nyberg, 2000): im dorsalen (BA 9, 46, rechts) und im ventralen (BA 47, rechts) präfrontalen Kortex, im posterioren parietalen Kortex der rechten Hemisphäre (BA 7, 40) und im Gyrus angularius (BA 39). Die von uns

beobachtete Signalzunahme im anterioren cingulären Kortex (BA 32) stützt die Annahme, dass das mediale prämotorische Areal ebenfalls an Arbeitsgedächtnisprozessen beteiligt ist (vgl. Petit et al., 1998). In den FEF und im SEF konnte keine signifikant stärkere Aktivierung festgestellt werden.



**Abb. 1:** „Glasbrain“-Darstellungen der BOLD-Kontraste für Experiment 1: Vergleiche 1. Ordnung. Oben links: Step-Aufgabe gegen Ruhe (Step>Ruhe); oben rechts: Gap-Aufgabe gegen Ruhe (Gap>Ruhe); unten links: Memory guided gegen Ruhe (Memory>Ruhe).



**Abb. 2:** „Glasbrain“-Darstellungen der BOLD-Kontraste für Experiment 1: Vergleiche 2. Ordnung. Oben links: Vergleich Gap-Aufgabe gegen Step-Aufgabe (gap>step); unten links: Vergleich Gedächtnisaufgabe gegen Gap-Aufgabe (mg>gap). Unten rechts: Überlagerung der ROIs („regions of interest“) auf gemittelte und normalisierte anatomische Daten von sieben Probanden. Besonders deutlich: die Aktivierung im anterioren cingulären Kortex.

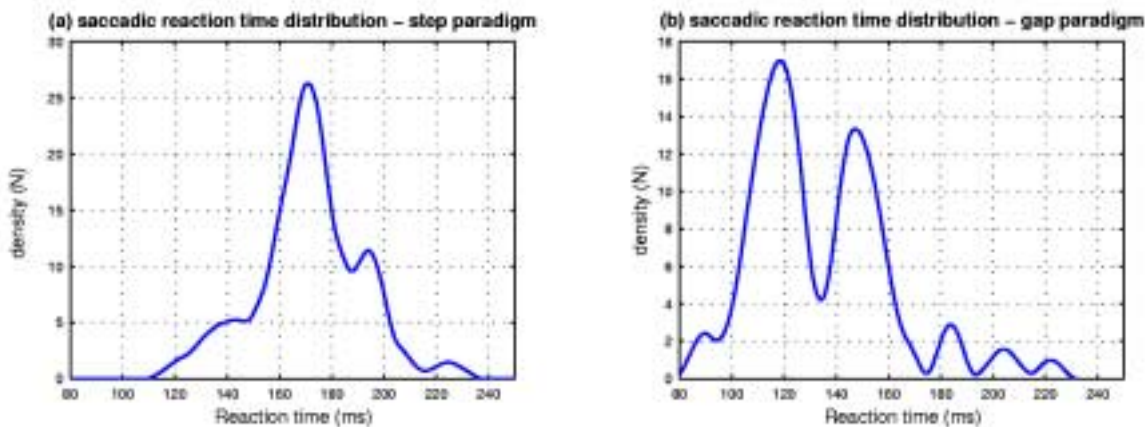
Bereich	Hemisphäre	Brodmann Area	Talairach-Koordinaten			z-Werte (Anzahl zusammenhängender aktivierter Voxel)					
			x	y	z	Vergleiche 1. Ordnung			Vergleiche 2. Ordnung		
						Step > Ruhe	Gap > Ruhe	Memory > Ruhe	Gap > Step	Memory > Gap	
<b>FRONTAL</b>											
FEF	rechts	6	45 (±1)	0 (±1)	53 (±1)	6,6 (68)	6,2 (26)	>8 (176)			
FEF	links	6	-43 (±1)	-3	51 (±1)	7,2 (110)	7,6 (82)	>8 (444)			
SEF	--		2 (±2)	-2 (±2)	60 (±6)	5,8 (91)	5,4 (70)	>8 (616)			
DLPF	rechts	9	36	37	35					5,2 (63)	
DLPF	links	9	-24	44	35					4,14 (68)	
DLPF	rechts	46	34	50	25					4,3 (34)	
DLPF	links	46	-38	40	24			6,0 (27)			
GFm	rechts	10	50	42	-9			5,7 (33)			
GFi	rechts	44	55	14	5	5,4 (30)					
FO	rechts	47	51	18 (±1)	-8 (±1)		6,6 (83)	>8 (307)		4,7 (65)	
FO	links	47	-50	13	-3 (±1)			7,3 (139)		4,0 (16)	
ACC	rechts		2	22 (±1)	36			>8 (616)		5,8 (471)	
<b>PARIETAL</b>											
GA	rechts	39	62 (±3)	-49 (±3)	10			>8 (974)		4,5 (66)	
GA	links	39	-55 (±2)	-62 (±3)	12			>8 (305)		5,2 (78)	
LP	rechts	40	48 (±2)	-42	56 (±2)			>8 (185)		5,6 (214)	
LP	links	40	-51 (±3)	-38 (±3)	53 (±5)		5,74 (42)	>8 (1143)		4,6 (36)	
LIP	links	7	-22 (±4)	-61 (±2)	56 (±1)	6,8 (134)	5,8 (86)	>8 (1143)			
Precuneus	rechts	7	6	-45 (±1)	50 (±2)			5,6 (89)		4,4 (133)	
<b>TEMPORAL</b>											
GTs	rechts	39	60 (±1)	-33 (±1)	14 (±1)	6,2 (110)	>8 (233)	>8 (974)			

GTs	links	39	-53	-46 (±1)	26	6,4 (97)	5,0 (34)
OKZIPITAL							
V1	17	1 (±1)	76 (±7)	7 (±3)	6,6 (197)	5,4 (42)	6,4 (213)
SUBKORTIKAL							
HS		0	-24	-11			4,7 (50)

**Tabelle 1:** Talairach-Koordinaten für die Kontraste des Experiments 1. Talairach-Koordinaten wurden aus den mit SPM99 an das MNI (Montreal Neurological Institute) Standardgehirn angepassten Koordinaten errechnet (vgl. [www.mrc-cbu.cam.ac.uk/Imaging/mnispace.html](http://www.mrc-cbu.cam.ac.uk/Imaging/mnispace.html)). In jedem aufgeführten Gebiet überschritten mind. 15 zusammenhängende Voxel eine Schwelle von  $Z = 4,3$  bei Vergleichen erster Ordnung bzw.  $Z = 3,0$  bei Vergleichen 2. Ordnung.

FE F= frontales Augenfeld; SEF = supplementäres Augenfeld; DLPF = dorsolateraler Präfrontalkortex; GFm = Gyrus frontalis medialis; GFi = Gyrus frontalis inferior; FO = frontales Operkulum; ACC = anteriorer cingulärer Kortex; GA = Gyrus angularis; LP = lateraler parietaler Kortex; LIP = lateraler intraparietaler Kortex; GTs = Gyrus temporalis superior; HS = Hirnstamm.

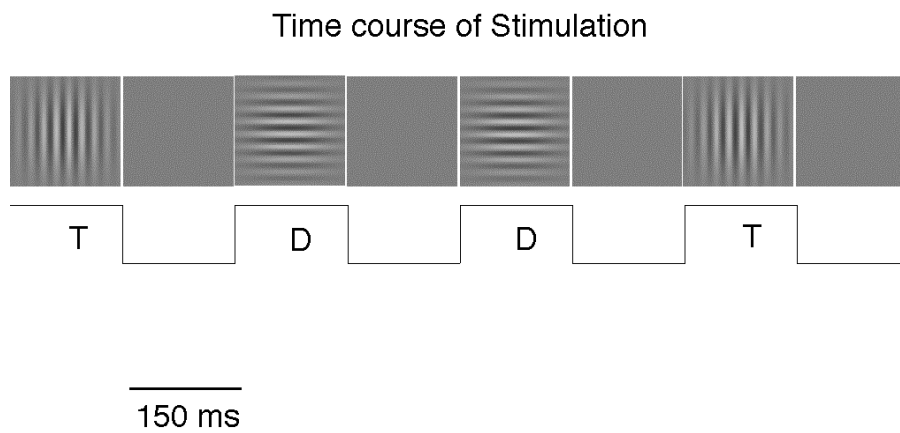
Die Auswertung der okulomotorischen Daten zeigt, dass sakkadische Reaktionszeitverteilungen unimodal in der Step- und Gedächtnisaufgabe sowie bimodal in der Gap-Aufgabe sind. Express-Sakkaden (sakkadische Reaktionszeiten  $< 120$  ms) konnten nur bei der Gap-Bedingung beobachtet werden (siehe Abb. 3). Diese Ergebnisse stimmen mit zahlreichen Befunden aus der Literatur überein (vgl. Fischer & Weber, 1993).



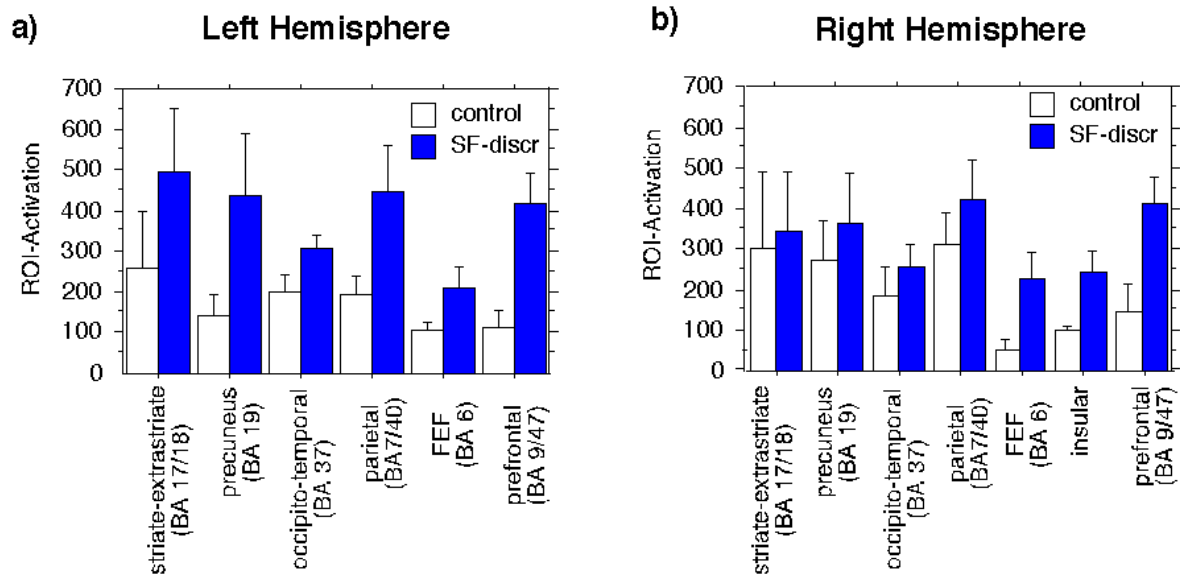
**Abb. 3:** Beispiel für Dichteverteilungen der sakkadischen Reaktionszeiten im Step- (links) und im Gap-Paradigma (rechts).

#### *Experiment 2: fMRT-Untersuchungen des visuellen Arbeitsgedächtnisses*

In einer zusammen mit Prof. S. Magnussen und Prof I. Reinvang (Oslo) durchgeführten fMRT-Untersuchung (Greenlee et al., 2000) wurden die BOLD-Antworten im striären, extrastriären, parietalen und präfrontalen Kortex von Probanden verglichen, die entweder eine einfache Orientierungsunterscheidung oder eine anspruchsvolle Ortsfrequenzunterscheidung zu leisten hatten. Den Probanden wurden vertikale Zielreize zwischen horizontalen Distraktoren dargeboten. In der Kontrollbedingung wurden sie aufgefordert, bei vertikalen Gaborreizen eine Taste zu betätigen (einfache Reaktion auf senkrechte Reize). Bei der Ortsfrequenzunterscheidung mit Gedächtnisbeteiligung waren die Probanden instruiert, sich die Ortsfrequenz des ersten senkrechten Gaborreizes zu merken und mit der Ortsfrequenz des zweiten senkrechten Gaborreizes zu vergleichen (Abb. 4). Im Gegensatz zur Einfachreaktion verlangte die Ortsfrequenzunterscheidung eine kurzzeitige Speicherung der visuellen Information im Arbeitsgedächtnis. In allen gemessenen Arealen wurde das BOLD-Signal bei der Aufgabe mit Arbeitsgedächtnisbeteiligung stärker. Vor allem im posterior parietalen (BA 7, 40) und präfrontalen (BA 6, 9, 47) Kortex konnte eine deutliche Signalzunahme festgestellt werden (Abb. 5).



**Abb. 4:** Schematische Darstellung der Reizfolge für die einfache Orientierungsunterscheidung (Kontrollaufgabe) und die Diskriminationsaufgabe mit Arbeitsgedächtnisbelastung. T = Target; D = Distraktor.



**Abb. 5:** Mittlere BOLD-Signale für die Diskriminationsaufgabe (blau; SF-discr) und die Kontrollbedingung (weiß; control) in ausgewählten ROIs. a) Ergebnisse für die linke Hemisphäre, b) Ergebnisse für die rechte Hemisphäre.

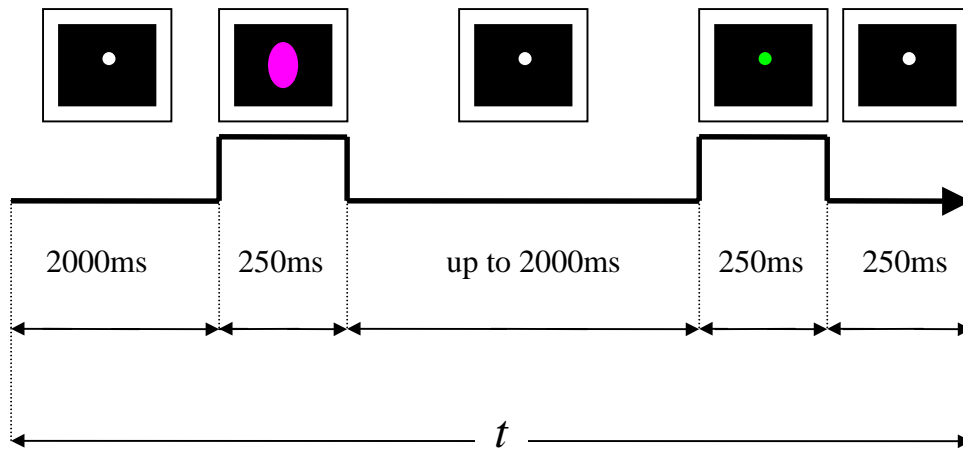


### **Experimente 3a und 3b: Psychophysische und fMRT-Untersuchungen zur Farb- und Formdiskrimination**

Der Mensch ist in der Lage, kleine Abweichungen in den Merkmalen einfacher visueller Reize zu erkennen. In diesen Experimenten wurde die Fähigkeit untersucht, Abweichungen in der Form bzw. der Farbe eines Objektes von einem impliziten – aber nie präsentierten - Standard zu erkennen.

#### **Experiment 3a: Psychophysische Untersuchungen zur Farb- und Formdiskrimination**

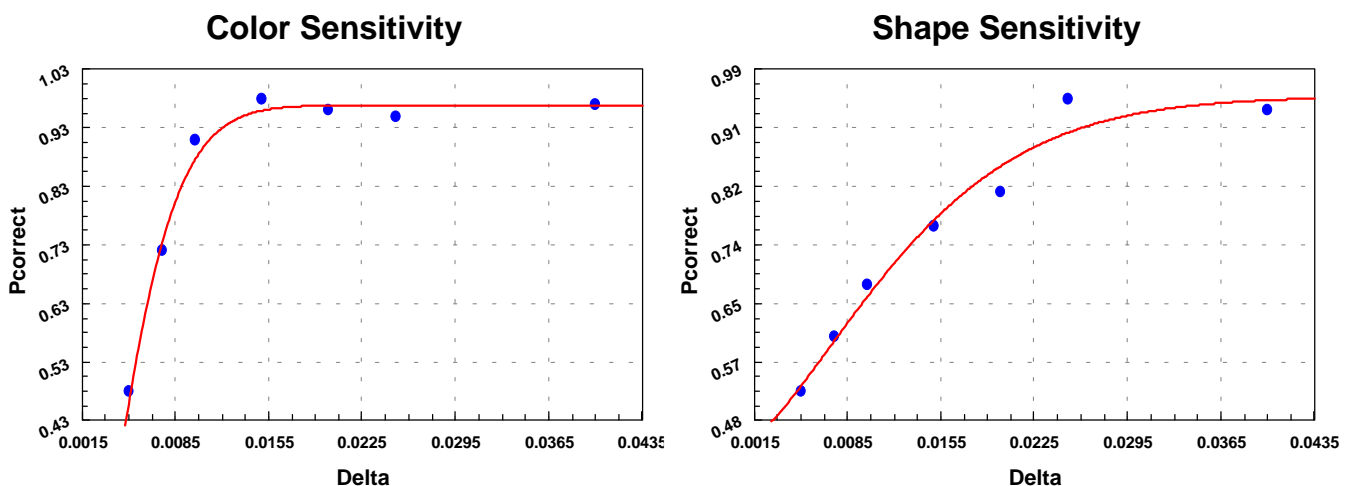
In einem psychophysischen Versuch ausserhalb des Tomographen wurden die Versuchspersonen zunächst in einer einfachen Farb- bzw. Formunterscheidungsaufgabe trainiert und ihre Sensitivität ( $d'$ ) geschätzt. Die Probanden hatten die Aufgabe, ein mittig dargebotenes Oval bezüglich seiner Farb- bzw. Formabweichung mit einem impliziten Standard zu vergleichen. Das Vergleichsurteil (rötlicher vs. bläulicher bzw. breiter vs. schmaler) wurde mittels Tastendruck auf eine von zwei möglichen Tasten abgegeben. Nach dem Tastendruck erhielten die Probanden eine Rückmeldung über richtige bzw. falsche Antworten in Form einer farblichen Veränderung (grün bzw. rot) des zentral dargebotenen Fixationspunktes (Abb.6). In jedem experimentellen Block variierten die Reize entweder nur entlang der Dimension Farbe oder aber nur entlang der Dimension Form, wobei die jeweils variierte Dimension den Versuchspersonen bekannt war (Reizsicherheits-Bedingung). Die Größe der Unterschiede zwischen den Ovalen hinsichtlich ihrer Farbe und Form (Delta) wurde auf der Grundlage des Trainings für jede Versuchsperson individuell so angepasst, dass der Schwierigkeitsgrad für alle gleich war und jede Versuchsperson den gleichen  $d'$ -Wert erreichte, der bei etwa 2.0 (ca. 90% korrekt) lag (Abb.7). Die Unterschiede zwischen den Stimuli waren bewusst möglichst gering gewählt, um den Einfluss der selektiven Aufmerksamkeit auf die Verarbeitung und Speicherung perzeptuell nahezu identischer Reize zu untersuchen. In anderen Arbeiten, die sich ebenfalls mit Aufmerksamkeitseinflüssen auf die Reizverarbeitung beschäftigten (z.B. Le et al., 1998), wurden größere Reizunterschiede verwendet. Dies hat zur Folge, dass nicht eindeutig zu klären ist, ob die beobachteten Unterschiede in den kortikalen Aktivierungsmustern auf die Reizunterschiede oder die unterschiedliche Ausrichtung der selektiven Aufmerksamkeit zurückzuführen sind. Die für jede Versuchsperson ermittelten Delta-Werte wurden anschließend in einer Aufgabe verwendet, bei der die Reize in jedem Trial, in randomisierter Abfolge, entweder entlang der einen oder der anderen Dimensionen variieren konnten (Reizunsicherheits-Bedingung). Solch ein Doppelaufgaben-Paradigma kann verwendet werden, um den Grad der Unabhängigkeit der Verarbeitung zweier Reizmerkmale zu untersuchen (Greenlee & Thomas, 1993).



**Abb. 6 :** Schematische Darstellung der Reizabfolge für alle Bedingungen des Experiment 3a.

Weiß der Proband im voraus, dass sich die Reize nur entlang der einen oder der anderen Reizdimension unterscheiden können, so ist die Unterschiedsschwelle geringer als bei Variationen entlang zweier Dimensionen. Ist dem Probanden bekannt, dass die Testreize nur bestimmte Werte entlang kritischer Dimensionen (z.B. Ort im Gesichtsfeld, Ortsfrequenz, Orientierung) annehmen dürfen (Davis et al., 1983), ist auch die Entdeckungsschwelle geringer. Erwartungsgemäß waren die Unterschiedsschwellen in der Doppelaufgabe höher als die Schwellen in den einfachen Aufgaben, in denen nur ein Reizmerkmal (Farbe *oder* Form) verändert wurde. Diese Schwellenerhöhung als Effekt der Reizunsicherheit entsprach annähernd dem Wert, den man erwartet, wenn die beiden zu beurteilenden Reizdimensionen unabhängig voneinander verarbeitet werden.

Insgesamt unterstützen die Ergebnisse die Annahme, dass die beiden Dimensionen – Form und Farbe – unabhängig verarbeitet werden.



### **Experiment 3b: fMRT-Untersuchungen zur Farb- und Formdiskrimination**

In diesem, noch andauernden Experiment wird untersucht, ob sich in Abhängigkeit von der beachteten Dimension (Farbe bzw. Form) Unterschiede in den kortikalen Aktivierungsmustern zeigen. Dabei führen Probanden, die bereits an den psychophysischen Messungen des Experimentes 3a teilgenommen haben, die im Abschnitt „Experiment 3a“ beschriebene Aufgabe in allen Bedingungen (Reizsicherheit und Reizunsicherheit) im MRT durch. Um sicherzustellen, dass die Aufgabe für alle Versuchspersonen denselben Schwierigkeitsgrad hat, werden die im psychophysischen Experiment ermittelten individuellen Delta-Werte verwendet.

Für die Auswertung der fMRT-Daten wurden, nach der im Block-Design üblichen Subtraktionsmethode, die für unsere Fragestellung bedeutsamen Kontraste berechnet (vgl. Tabelle 2). Da uns z.Z. nur Daten einer kleinen Stichprobe vorliegen, können die im Folgenden zusammengefaßten Ergebnisse nur einen Trend anzeigen. Vorläufige Ergebnisse der statistischen Gruppenanalyse der uns vorliegenden Daten (vgl. Tab. 2, Abb. 8 und 9) zeigen, dass gegenüber der Ruhebedingung die Aktivität in den FEF und im posterioren parietalen Cortex (40, 7) sowohl in der Farb- als auch in der Formaufgabe signifikant erhöht war. Damit können wir, ergänzend zu dem Befund von Corbetta et al., (1998), der eine Rolle der FEF bei der verdeckten Aufmerksamkeitsverschiebung nachwies, zeigen, dass allein eine Fokussierung der Aufmerksamkeit zu einer erhöhten Aktivierung in den frontalen Augenfeldern während der Diskriminationsaufgaben führen kann. Erwartungsgemäß war bei der Farbaufgabe das Areal V4 (ventraler Anteil) sowohl gegenüber der Ruhebedingung (Farbe>Ruhe) als auch gegenüber der Formaufgabe (Farbe>Form) signifikant stärker aktiviert. Gegenüber der Ruhebedingung konnte bei der Farbaufgabe (Farbe>Ruhe) außerdem eine Signalzunahme im frontalen Operkulum (FO; BA 47, rechts) festgestellt werden. Dieser Befund weist auf eine mögliche Beteiligung dieses Areals an der Verarbeitung von Farbinformation hin. Für die Form-Aufgabe konnte im Vergleich zur Farbaufgabe (Form>Farbe) signifikante Aktivierung im orbitofrontalen Kortex verzeichnet werden, deren Bedeutung noch nicht geklärt ist.

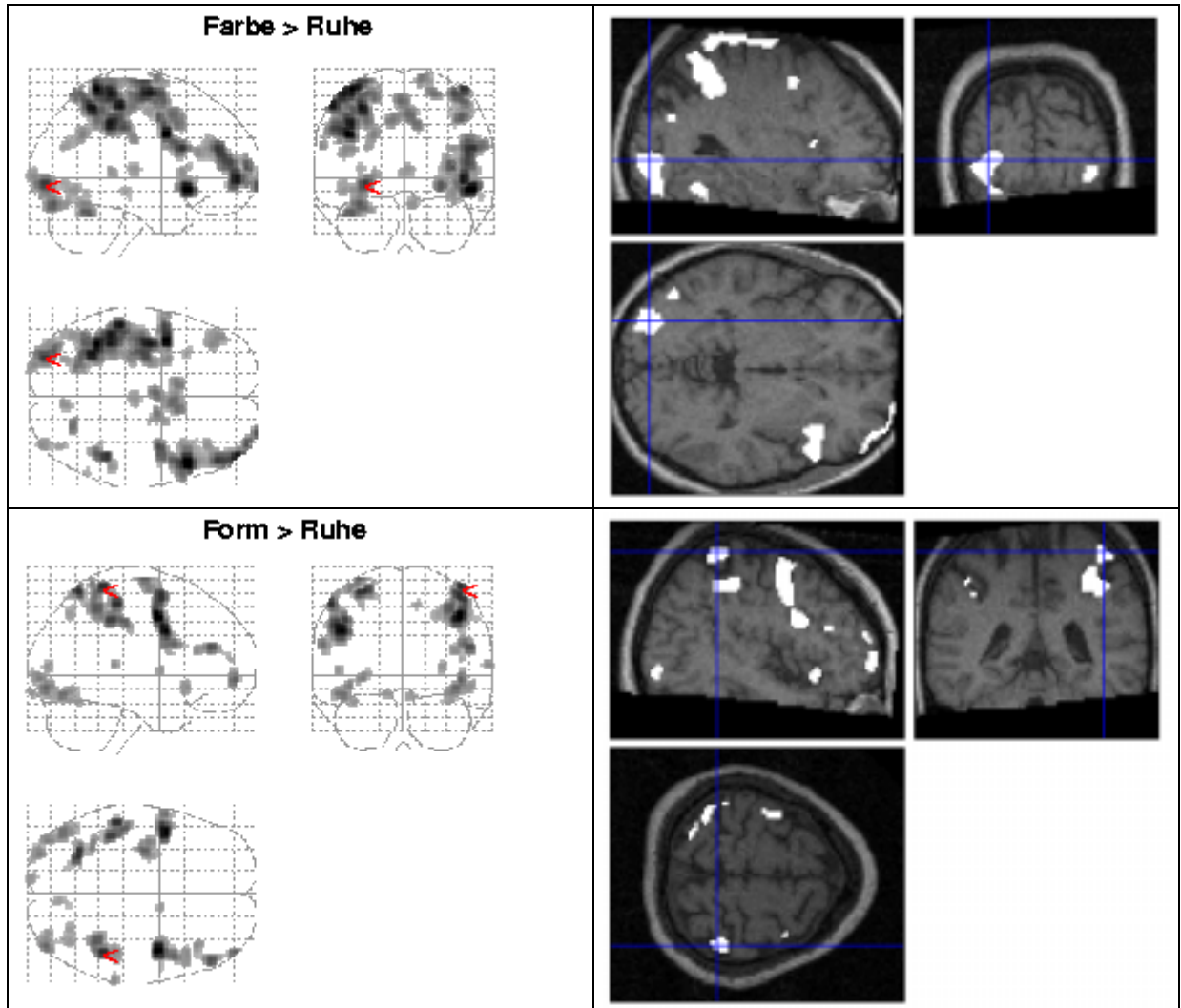
BOLD-Kontraste, die für den Vergleich zwischen der Reizunsicherheits- und Reizsicherheitsbedingung (Unsicherheit>Sicherheit) erhalten wurden, zeigen in der Reizunsicherheitsbedingung eine signifikante Aktivierung in parietalen (BA 40, links) und dorsolateralen präfrontalen Arealen (BA 9, links), deren Beteiligung an Arbeitsgedächtnisprozessen bereits bekannt ist. Aus der Literatur liegen Hinweise dafür vor, dass der präfrontale Kortex nicht nur ein bedeutendes neuronales Substrat für

Arbeitsgedächtnisprozesse, sondern auch für exekutive Kontrollprozesse darstellt (vgl. D'Esposito, 2001). Die Doppelaufgabenbearbeitung in der Reizunsicherheitsbedingung stellt in erhöhtem Maße Anforderungen an exekutive Kontrollprozesse, die ihrerseits im Arbeitsgedächtnismodell von Baddeley (1992) ein zentraler Bestandteil des Arbeitsgedächtnisses sind. Eine weitere signifikante Aktivierung bei diesem Kontrast zeigte sich im lateralen okzipitalen Kortex (LO; BA37, links).

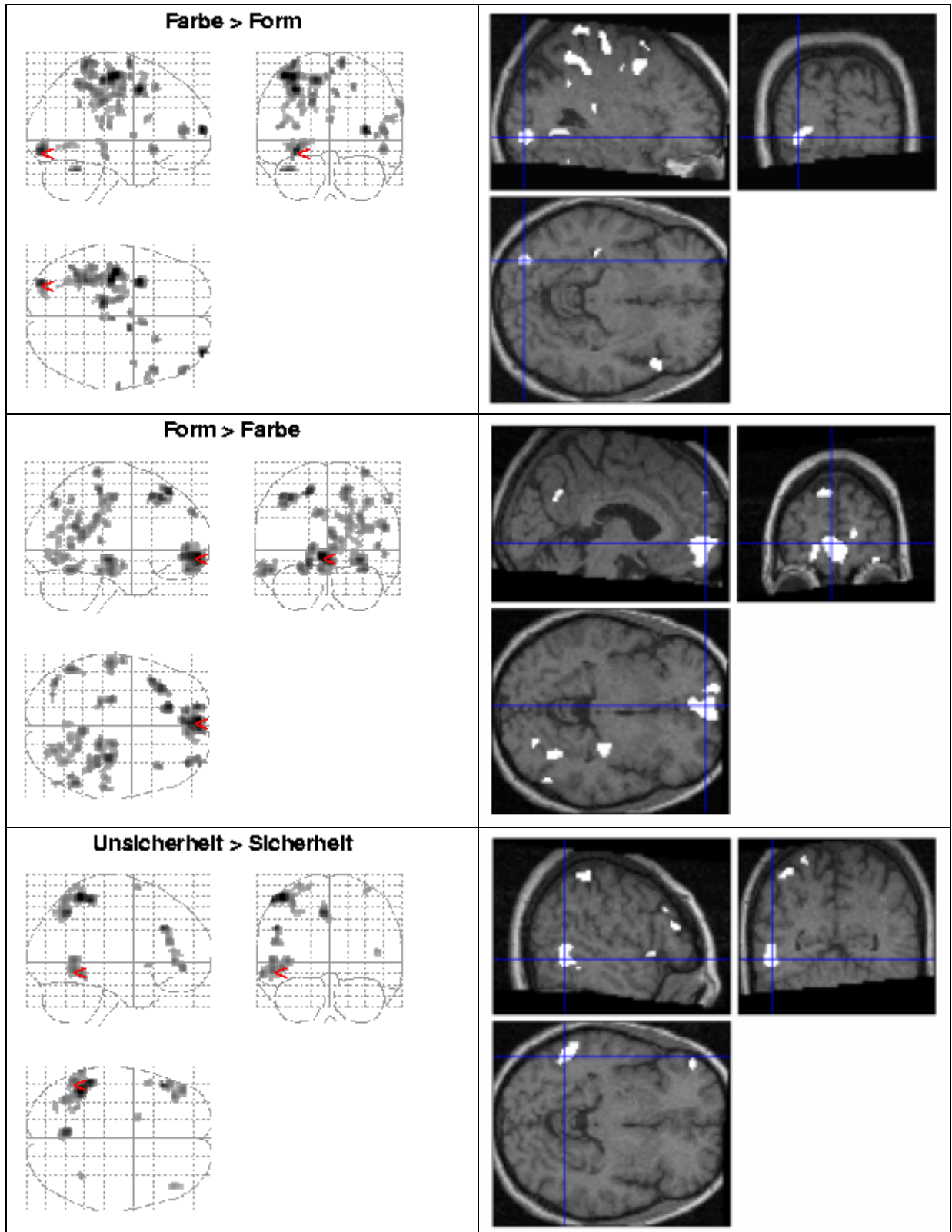
Bereich Hemisphäre	Brodmann Area	Talairach-Koordinaten			z-Werte (Anzahl zusammenhängender aktivierter Voxel)					
		x	y	z	Vergleiche 1. Ordnung		Vergleiche 2. Ordnung		Unsicherheit > Sicherheit	
					Farbe > Ruhe	Form > Ruhe	Farbe > Form	Form > Farbe		
<b>FRONTAL</b>										
FEF	links	6	-44 (±2)	4 (±1)	31	> 8 (391)	> 8 (443)			
FEF	rechts	6	43 (±1)	0	41 (±1)	7,47 (341)	> 8 (453)			
FO	rechts	47	50	19	-8	> 8 (436)				
PF	links	9	-50	29	28					5,24 (100)
OF	links	11	-4	60	-10				5,43 (782)	
<b>PARIETAL</b>										
LP	links	7	-37 (±3)	-42 (±1)	65 (±2)	> 8 (3045)			4,35 (233)	
LP	rechts	40	44	-39 (±1)	63	> 8 (159)	> 8 (538)			
LP	links	40	-53	-30	51		7,81 (387)			
LP	links	40	-44	-46	59					6,13 (356)
<b>TEMPORAL</b>										
LO	links	37	-51	-55	-4					4,52 (253)
<b>OKZIPITAL</b>										
V4v	links	19	-30	-85 (±1)	-2 (±3)	> 8 (722)			4,69 (132)	

**Tabelle 2:** Talairach-Koordinaten für die Kontraste des Experiments 3b. Talairach-Koordinaten wurden aus den mit SPM99 an das MNI (Montreal Neurological Institute) Standardgehirn angepassten Koordinaten errechnet (vgl. [www.mrc-cbu.cam.ac.uk/Imaging/mnispace.html](http://www.mrc-cbu.cam.ac.uk/Imaging/mnispace.html)). In jedem aufgeführten Gebiet überschritten mind. 15 zusammenhängende Voxel eine Schwelle von  $Z = 4,3$  bei Vergleichen erster Ordnung bzw.  $Z = 3,0$  bei Vergleichen 2. Ordnung.

FEF = frontales Augenfeld; LP = lateraler parietaler Kortex; V4v = V4, ventraler Teil; LO = lateraler okzipitaler Kortex; FO = frontales Operkulum; PF = präfrontaler Kortex; OF = orbitofrontaler Kortex.



**Abb. 8:** Vergleiche 1. Ordnung für Experiment 3b. Oben: Farb-Aufgabe gegen Ruhe (Farbe>Ruhe); unten: Form-Aufgabe gegen Ruhe (Form>Ruhe). Links: „Glasbrain“ – Darstellungen; rechts: Überlagerung der ROIs auf gemittelte und normalisierte anatomische Daten (Farbe>Ruhe: Area V4v, links; Form>Ruhe: lateral parietal rechts).



**Abb. 9:** Vergleiche 2. Ordnung für Experiment 3b. Oben: Farb-Aufgabe gegen Form-Aufgabe (Farbe>Form); mitte: Form-Aufgabe gegen Farb-Aufgabe (Form>Farbe); unten: Reizunsicherheits- gegen Reizsicherheitsbedingung (Unsicherheit>Sicherheit). Links: „Glasbrain“ –Darstellungen; rechts: Überlagerung der ROIs auf gemittelte und normalisierte anatomische Daten (Farbe>Form: Area V4v, links; Form>Farbe: orbitofrontaler Kortex; Unsicherheit>Sicherheit: lateraler Okzipitalkortex, links).

### **Literatur zu 3.**

Baddeley, A. (1992). Working memory. *Science*, 255, 556-559.

Cabeza, R., Nyberg, L. (2000). Imaging cognition II: An empirical review of 275 PET and fMRI studies. *J Cogn Neurosci*. 12, 1-47.

Corbetta, M., Akbudak, E., Conturo, T.E., Snyder, A.Z., Ollinger, J.M., Drury, H.A., Linenweber, M.R., Petersen, S.E., Raichle, M.E., Van Essen, D.C., Shulman, G.L. (1998). A common network of functional areas for attention and eye movements. *Neuron*, 21, 761-773.

Davis, E. T., Kramer, P., & Graham, N. (1983). Uncertainty about spatial frequency, spatial position, or contrast of visual patterns. *Perception and Psychophysics*, 33, 20-28.

D'Esposito, M. (2001). Functional neuroimaging of working memory. In: R. Cabeza & A. Kingstone (Eds.), *Handbook of functional neuroimaging of cognition* (pp. 293-327). MIT: Cambridge, MA.

Fischer, B., Weber, H. (1993). Express saccades and visual attention. *Behavioral and Brain Sciences* 16, 553-610.

Greenlee, M.W., Magnussen, S., Reinvang, I. (2000). Brain regions involved in spatial frequency discrimination: Evidence from fMRI. *Exp. Brain. Res.*, 132, 399-403.

Greenlee, M.W., & Thomas, J.P. (1993). Simultaneous discrimination of the spatial frequency and contrast of periodic stimuli. *Journal of the Optical Society of America A*, 10, 395-404.

Le, T.H., Pardo, J.V., Hu, X. (1998). 4 T-fMRI study of nonspatial shifting of selective attention: Cerebellar and parietal contributions. *J. Neurophysiol.*, 79, 1535-1548.

Petit, L., Courtney, S.M., Ungerleider, L.G., & Haxby, J.V. (1998). Sustained activity in the medial wall during working memory delays. *J. Neurosci*. 18, 9429-9437.

### **4. Diskussion**

In den meisten bisherigen fMRT-Untersuchungen, in denen Probanden bei ganz unterschiedlichen Aufgaben angewiesen wurden, mit Augenbewegungen zu reagieren, oder in denen explizit die neuronalen Korrelate der okulomotorischen Steuerung untersucht wurden, wurden okulomotorische Reaktionen entweder nicht oder nur mit elektrookulographischen Methoden registriert. Im laufenden Forschungsvorhaben wird erstmals erfolgreich versucht, regelmäßig Augenbewegungen während der Aufgabendurchführung im Tomographen zu erfassen. Ermöglicht wird dieses durch ein eigens für fMRT-Messungen entwickeltes Faseroptiksystem (Kimmig et al., 1999).



Erste Ergebnisse der Augenbewegungsmessungen in Experiment 1 zeigen, dass es möglich ist, reliable okulomotorische Daten im Tomographen zu erfassen. Im Gap-, nicht aber im Step- oder Memory Guided-Paradigma konnte eine Population von Express-Sakkaden in der Reaktionszeitverteilung nachgewiesen und somit ein Befund repliziert werden, der aus psychophysischen Untersuchungen bekannt ist, die ausserhalb des Tomographen durchgeführt wurden (Fischer & Weber, 1993). Trotz dieser deutlichen Unterschiede in den Verhaltensdaten konnten auf der neuronalen Ebene keine signifikanten Unterschiede zwischen der Aktivierung im Gap- und im Step-Paradigma aufgezeigt werden. Dieses ist möglicherweise durch eine mangelnde Sensitivität des Block-Designs für die Aufdeckung relativ kleiner Unterschiede in den kortikalen hämodynamischen Antworten bedingt. Eine andere Erklärung wäre, dass nicht alle Probanden Express-Sakkaden ausführen (vgl. Fischer & Weber, 1993). Die vollständige Auswertung der Augenbewegungsdaten steht noch aus, so dass möglicherweise Daten von solchen Probanden in die Analyse miteinbezogen wurden.

Da die zur Verfügung stehende Messzeit im Kernspintomographen äußerst begrenzt ist und bei jeder Messung nur wenig Verhaltensdaten erhoben werden können, wurden die fMRT-Untersuchungen durch umfangreiche psychophysische Untersuchungen vorbereitet. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, dass die optimale Reizauswahl für die Untersuchungen im Tomographen festgelegt und der individuelle Schwierigkeitsgrad für die Durchführung einer Aufgabe abgeglichen werden kann (vgl. Experiment 3a und 3b). Diese Vorgehensweise ermöglicht die Erfassung der für die jeweilige Fragestellung relevanten Aktivierung, kann aber auch dazu führen, dass die Aktivierungsunterschiede zwischen den untersuchten Bedingungen verhältnismäßig klein sind. Die Ergebnisse der psychophysischen Untersuchungen können, wie in Experiment 3a, einen eigenständigen Beitrag zum Verständnis der Prozesse liefern, die den Leistungen des Arbeitsgedächtnisses zugrundeliegen.

Die Auswertung der fMRT-Daten ergab für alle Bedingungen mit Arbeitsgedächtnisbelastung (gedächtnisgeleitete Sakkaden in Experiment 1, Diskrimination sukzessiv dargebotener Reize in Experiment 2, Reizunsicherheits-Bedingung in Experiment 3b) eine im Vergleich zu den Kontrollbedingungen stärkere oder exklusive Aktivierung in präfrontalen und parietalen Arealen (vgl. Tab. 1 und 2), auf deren Beteiligung an Arbeitsgedächtnisleistungen in zahlreichen Untersuchungen hingewiesen wurde (vgl. Cabeza & Nyberg, 2000; D'Esposito 2001).

Über diese bekannten und vielfach bestätigten Ergebnisse hinaus liefern unsere Experimente einige Befunde, die bisher noch nicht beobachtet wurden, bzw. zur Klärung kontrovers diskutierter Fragestellungen beitragen können. Während weitgehende Übereinstimmung darin besteht, dass der Präfrontalkortex eine bedeutende Rolle in der Aufrechterhaltung von Gedächtnisinformation einnimmt (vgl. Cabeza & Nyberg, 2000; D'Esposito 2001), wird die Frage, ob und in welcher Weise sich der laterale präfrontale Cortex in funktionelle Untereinheiten einteilen lässt, weiterhin kontrovers diskutiert. Eine Zusammenstellung von Ergebnissen aus fMRT-Untersuchungen, die räumliche oder nicht-räumliche Arbeitsgedächtnisaufgaben verwendeten, weist darauf hin, dass der laterale Präfrontalcortex in einen ventralen Anteil (BA 44, 45, 47) für die temporäre Gedächtnisrepräsentation von Objektmerkmalen (z.B. Farbe, Form) und einen dorsalen Anteil (BA 9 und 46) für die Gedächtnisrepräsentation von Objektlokalisationen unterteilt werden kann (Überblick in D'Esposito et al., 1998). Die kortikalen Aktivierungen, die wir in unseren experimentellen Bedingungen mit Arbeitsgedächtnisbelastung feststellen konnten, liefern hingegen keine Hinweise auf eine Unterteilung des lateralen Präfrontalcortex hinsichtlich der untersuchten Reizaspekte. Dies stimmt mit Ergebnissen von Untersuchungen überein, in denen sowohl räumliche als auch nicht-räumliche Arbeitsgedächtnisaufgaben durchgeführt und miteinander verglichen wurden (Owen et al., 1998; Postle et al., 2000).

Die Bedeutung der frontalen Augenfelder für die Kontrolle von Augenbewegungen ist gut untersucht. Die Rolle, die die FEF im Rahmen von Arbeitsgedächtnisprozessen einnehmen, ist hingegen noch nicht ausreichend geklärt. Läsionen in den FEF führen dazu, dass die Patienten Schwierigkeiten in der Ausführung visuell geleiteter (Rivaud et al., 1994) und gedächtnisgeleiteter (Pierrot-Deseilligny et al., 1991; Ploner et al., 1999) Sakkaden haben. Während Sweeney et al. (1996) in einer PET-Studie für den Vergleich zwischen gedächtnis- und visuell geleiteten Sakkaden eine stärkere Aktivierung der FEF bei gedächtnisgeleiteten Sakkaden feststellten, konnten wir, in Experiment 1, in den FEF und im SEF keine signifikant stärkere Aktivierung feststellen.

Erwähnenswert ist weiterhin, dass bei der Farbaufgabe in Experiment 3b (Farbe>Ruhe) neben der erwarteten Aktivierung in Areal V4 eine Signalzunahme im frontalen Operkulum (FO; BA 47, rechts) festgestellt werden konnte. Dies stimmt überein mit Ergebnissen einer Läsionsstudie von Rüttiger et al. (1999), bei der Patienten, die Läsionen in diesem Bereich

aufwiesen, spezifische Störungen der Farbkonstanz zeigten. Weitere Hinweise auf eine Beteiligung des FO bei der Verarbeitung von Farbinformation liegen bislang nicht vor.

In der Reizunsicherheitsbedingung des Experiments 3b wurde eine im Vergleich zur Reizsicherheitsbedingung stärkere Aktivierung des lateralen okzipitalen Kortex verzeichnet. Die Bedeutung des lateralen okzipitalen Kortex für die Kontur- und Formwahrnehmung konnte in fMRT-Untersuchungen von Kourtzi & Kanwisher (2000) und Mendola et al. (1999) aufgezeigt werden. Die stärkere Aktivierung dieses Areals in der Reizunsicherheitsbedingung ist möglicherweise durch die im Vergleich zur Reizsicherheitsbedingung höheren Anforderungen an die Formwahrnehmungsleistungen bedingt.

Insgesamt unterstützen die Ergebnisse der Experimente 3a und 3b die Annahme, dass die beiden Dimensionen – Form und Farbe – unabhängig verarbeitet werden.

#### **Literatur zu 4.**

Cabeza, R., Nyberg, L. (2000). Imaging cognition II: An empirical review of 275 PET and fMRI studies. *J Cogn Neurosci*, 12, 1-47.

D'Esposito, M. (2001). Functional neuroimaging of working memory. In: R. Cabeza & A. Kingstone (Eds.), *Handbook of functional neuroimaging of cognition* (pp. 293-327). MIT: Cambridge, MA.

D'Esposito, M., Aguirre, G.K., Zarahn, E., Ballard, D., Shin, R.K., Lease, J. (1998). Functional MRI studies of spatial and nonspatial working memory. *Cognitive Brain Research*, 7(1), 1-13.

Fischer, B., Weber, H. (1993). Express saccades and visual attention. *Behavioral and Brain Sciences*, 16, 553-610.

Kimmig, H., Greenlee, M.W., Huethe, F., & Mergner, T. (1999). MR-Eyetracker: A new method for eye movement recording in functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Experimental Brain Research*, 126, 443-449.

Kourtzi, Z., Kanwisher, N. (2000). Cortical regions involved in perceiving object shape. *J.Neurosci.*, 20 (9), 3310-3318.

Mendola, J.D., Dale, A.M., Fischl, B., Liu, A.K., Tootell, B.H. (1999). The representation of illusory and real contours in human cortical visual areas revealed by functional magnetic resonance imaging. *J. Neurosci.*, 19, 8560-8572.

Owen, A.M., Stern, C.E., Look, R.B., Tracey, I., Rosen, B.R., & Petrides, M. (1998). Functional organization of spatial and nonspatial working memory processing within the human lateral frontal cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 7721-7726.

Pierrot-Deseilligny, C., Rivaud, S., Gaymard, B., & Agid, Y. (1991). Cortical control of memory-guided saccades in man. *Experimental Brain Research*, 83, 607-617.

Ploner, C.J., Rivaud-Péchoix, S., Gaymard, B.M., Agid, Y., Pierrot-Deseilligny, C. (1999). Errors of memory-guided saccades in humans with lesions of the frontal eye field and the dorsolateral prefrontal cortex. *J. Neurophysiol.*, 82, 1086-1090.

Postle, B.R., Stern, C.E., Rosen, B.R. & Corkin, S. (2000). An fMRI investigation of cortical contributions to spatial and nonspatial visual working memory. *NeuroImage*, 11, 409-423.

Rivaud, S., Müri, R.M., Gaymard, B., Vermersch, A.I., Pierrot-Deseilligny, C. (1994). Eye movement disorders after frontal eye field lesions in humans. *Exp. Brain Res.*, 102, 110-120.

Rüttiger, L., Braun, D.I., Gegenfurtner, K.R., Petersen, D., Schönle, P., Sharpe, L.T. (1999). Selective color constancy deficits after circumscribed unilateral brain lesions. *J. Neurosci.*, 19, 3094-3106.

Sweeney, J.A., Mintun, M.A., Kwee, S., Wiseman, M.B., Brown, D.L., Rosenberg, D.R., Carl, J.R. (1996). Positron emission tomography study of voluntary saccadic eye movements and spatial working memory. *Journal of Neurophysiology*, 75, 454-468.

## **5. Zusammenfassung und Ausblick**

Im Teilprojekt C9 werden die neuronalen Korrelate des visuellen Arbeitsgedächtnisses und der okulomotorischen Steuerung untersucht. Aufgabenabhängige Veränderungen hämodynamischer Antworten werden mit funktioneller Magnetresonanztomographie erfasst und mit Verhaltensdaten (Augenbewegungen, Tastendruckreaktionen) verglichen, die im Tomographen erhoben wurden. Erste Auswertungen der okulomotorischen Daten, die im Tomographen gewonnen wurden, zeigen, dass es möglich ist, zuverlässige Signale über die Position der Augen während Messungen im fMRT zu erhalten (Experiment 1).

Psychophysische Voruntersuchungen wurden erfolgreich eingesetzt, um die Reizauswahl für die fMRT-Untersuchungen zu optimieren und individuell an die Leistungen der Probanden anzupassen.

Die fMRT-Daten zeigen für alle Aufgaben mit Arbeitsgedächtnisbelastung eine im Vergleich zu den Kontrollbedingungen stärkere oder exklusive Aktivierung in präfrontalen und parietalen Arealen, deren Bedeutung für Arbeitsgedächtnisprozesse in zahlreichen Untersuchungen bestätigt wurde. Über diese bekannten Befunde hinaus konnten wir mit unseren Experimenten Ergebnisse erzielen, die bisher noch nicht beobachtet wurden oder geeignet sind, zur Klärung kontrovers diskutierter Fragestellungen beizutragen.

Für den verbleibenden Antragszeitraum ist eine weitere Datenerhebung und –auswertung für Experiment 1 und Experiment 3b geplant. Ein weiterer Schwerpunkt liegt in der Auswertung der Augenbewegungsdaten. Anschließend sollen die okulomotorischen Informationen (z.B. Anzahl und Amplituden von Sakkaden, Latenz der Sakkaden, Dauer und Häufigkeit von Fixationsperioden, Anzahl von Blinks) als Kovariate in die fMRT-Designmatrix integriert werden, um den Beitrag der Augenbewegungen zur kortikalen Aktivierung zu bestimmen.

In der nächsten Förderperiode beabsichtigen wir, eine genauere Analyse von Aufmerksamkeitseinflüssen u.a. auf Antworten in frühen sensorischen Arealen durchzuführen. Arbeitsgedächtnis- und Aufmerksamkeitsprozesse stehen in einem engen Zusammenhang. Das visuelle Arbeitsgedächtnis spielt bei der Verarbeitung und Speicherung von ausgewählten Reizen eine wichtige Rolle. Selektive Aufmerksamkeit ist dabei eine Voraussetzung für die Enkodierung von Information im Arbeitsgedächtnis. Durch eine sukzessive Fokussierung der Aufmerksamkeit auf unterschiedliche Teilbereiche des Gesichtsfeldes (auf Merkmale von Objekten, ganze Objekte oder eine Gruppe von Objekten) wird die visuelle Szene gegliedert und die Speicherung von Einheiten unterschiedlicher Komplexität ermöglicht. Top-down Prozesse wie Intentionen beeinflussen, wie die Aufmerksamkeit auf die Szene verteilt wird. Dabei spielen Gedächtnisinhalte, die sich auf Erfahrungen mit der visuellen Umwelt beziehen, eine modulierende Rolle.

## **6. Eigene Publikationen im Antragszeitraum**

Colonius, H., Özyurt, J., Arndt, P. (2001). Saccadic responses to visual targets under auditory stop signals: Testing the race model. *Vision Research* (im Druck).

Cornelissen, F.W., Kimmig, H., Schira, M., Broerse, A., Rutschmann, R.M., Maguire, R.P., Den Boer, J.A., Greenlee, M.W. (2001). Event-related fMRI responses in the human frontal eye fields in a randomized pro- and antisaccade task. *Exp. Brain Res.* (im Druck).

Cornelissen, F.W., Greenlee, M.W. (2000). Visual memory for random block patterns defined by luminance and color contrast. *Vision Res.*, 40, 287-99.

Freitag, P., Greenlee, M.W., Wachter, K., Ettl, T.M., Radue, E.W. (2001). FMRI response during visual motion stimulation in patients with late whiplash syndrome. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, 15, 15-21.

Gopfert, E., Müller, R., Breuer, D., Greenlee, M.W. (1999). Similarities and dissimilarities between pattern VEPs and motion VEPs. *Doc. Ophthalmol.*, 97, 67-79.

Greenlee, M.W. (2000). Human cortical areas underlying the perception of optic flow: brain imaging studies. *Int. Rev. Neurobiol.*, 44, 269-92. Review.

- Greenlee, M.W., Berg, H., Stuhr, V., Mergner, T. (2000). Visual search and visual working memory in patients with chronic focal cortical lesions. *Vision Res.* 40, 3759-3773.
- Greenlee, M.W., Magnussen, S., Reinvang, I. (2000). Brain regions involved in spatial frequency discrimination: Evidence from fMRI. *Exp. Brain Res.* 132, 399-403.
- Kassubek, J., Otte, M., Wolter, T., Greenlee, M.W., Mergner, T., Lucking, C.H. (1999). Brain imaging in a patient with hemimicropsia. *Neuropsychologia*, 37, 1327-34.
- Kimmig, H., Greenlee, M.W., Gondan, M., Schira, M., Kassubek, J., Mergner, T. (2001). Relationship between saccadic eye movements and cortical activity as measured by fMRI: Quantitative and qualitative aspects. *Experimental Brain Research* (im Druck).
- Kimmig, H., Greenlee, M.W., Huethe, F., Mergner, T. (1999). MR-eyetracker: a new method for eye movement recording in functional magnetic resonance imaging. *Exp. Brain Res.* 126, 443-9.
- Knauff, M., Mulack, T., Kassubek, J., Salih, H.R., Greenlee, M.W. Imaging deductive reasoning: A functional MRI study. *Cognitive Brain Research* (eingereicht).
- Langheinrich, T., Tebartz van Elst, L., Lagreze, W.A., Bach, M., Lucking, C.H., Greenlee, M.W. (2000). Visual contrast response functions in Parkinson's disease: Evidence from electroretinograms, visually evoked potentials and psychophysics. *Clin. Neurophysiol.*, 111, 66-74.
- Lieb, K., Brucker, S., Bach, M., Els, T., Lucking, C.H., Greenlee, M.W. (1999). Impairment in preattentive visual processing in patients with Parkinson's disease. *Brain*, 122, 303-13.
- Magnussen, S., Greenlee, M.W., Aslaksen, P.M., Kildebo, O.Ø. High-fidelity perceptual long-term memory revisited – and confirmed. *Psychological Science* (eingereicht).
- Magnussen, S., Greenlee, M.W. (1999). The psychophysics of perceptual memory. *Psychol. Res.*, 62, 81-92.
- Muller, R., Gopfert, E., Breuer, D., Greenlee, M.W. (1999). Motion VEPs with simultaneous measurement of perceived velocity. *Doc. Ophthalmol.*, 97, 121-34.
- Özyurt, J., Colonius, H., Arndt, P. Countermanding saccades with auditory stop signals: Effects of position and speed instruction. *Vision Research* (eingereicht).
- Rutschmann, R.M., Schrauf, M., Greenlee, M.W. (2000). Brain activation during dichoptic presentation of optic flow stimuli. *Exp. Brain Res.*, 134, 533-7.
- Singh, K.D., Smith, A.T., Greenlee, M.W. (2000) Spatiotemporal frequency and direction sensitivities of human visual areas measured using fMRI. *NeuroImage*, 12, 550-564.
- Smith, A.T., Singh, K.D., Williams, A.L., Greenlee, M.W. Estimating receptive field size and scatter from fMRI data in human striate and extrastriate visual cortex. *Cerebral Cortex* (eingereicht).

Smith, A.T., Singh, K.D., Greenlee, M.W. (2000). Attentional suppression of activity in the human visual cortex. *Neuroreport*, 11, 271-7.

Spreer, J., Martin, P., Greenlee, M.W., Wohlfarth, R., Hammen, A., Schumacher, M. (2001). Functional MRI in patients with band heterotopia. *NeuroImage* (im Druck).

Thomas, J.P., Magnussen, S., Greenlee, M.W. (2000). What limits simultaneous discrimination accuracy? *Vision Res.*, 40, 3169-72.

## **7. Dokumentation der sonstigen Aktivitäten**

### **7.1 Teilnahme an Veranstaltungen**

- Regelmäßige Teilnahme am SFB-Seminar sowie an Vortragsveranstaltungen des SFB
- Teilnahme am SFB-Workshop „Bedeutungsentstehung im Gehirn - Teil 2“, 12./13. Mai 2000, Borkum; M.W. Greenlee: Leitung der AG „Sensorische Integration und sensorisches Gedächtnis“
- Teilnahme an der Konferenz „European Conference on Visual Perception 2000“ (ECPV 2000), Groningen, Niederlande, 27.-31.08.2000; M.W. Greenlee: Leitung des Special Symposium „Computational neuroimaging of the human visual system“, darin Vortrag „Event-related fMRI of cortical activity related to pro-saccades and anti-saccades“
- M.W. Greenlee: Mitorganisator des Workshops zu Ehren Prof. Richard Gregory, University of Bristol, UK, 22.11.2000; Vortrag „What can fMRI tell us about human vision?“
- M.W. Greenlee: Teilnahme an der Tagung experimentell arbeitender Psychologen in Regensburg, 09.-11.04.2001; Leitung der Session „Kontrollprozesse: Aufmerksamkeit“, darin Vortrag „Ereigniskorrelierte fMRT in den frontalen Augenfeldern (FEF) während Pro- und Antisakkaden“
- M.W. Greenlee: Leitung eines Symposiums auf dem Kongress „XV International Congress of Clinical Neurophysiology“ ( XV ICCN), Buenos Aires, Argentinien, Mai 2001, Society for Neuroscience; darin Vortrag „Studies of visual attention and visual imagery using fMRI“
- Teilnahme an der Konferenz „European Conference on Visual Perception 2001“ (ECPV 2001), Kusadasi, Türkei, 26.-30.08.2001; M.W. Greenlee, J. Özyurt: Teilnahme an der Organisation der Konferenz; M.W. Greenlee: Leitung des Symposiums „Functional Brain Imaging“, darin Vortrag: Event-related fMRI of the saccadic system.

- M.W. Greenlee: Teilnahme am Kongress „Society for Neuroscience 31<sup>st</sup> Annual Meeting“, San Diego, Kalifornien, USA, 10.-15.11.2001; Vortrag: „Comparison of cortical activity and oculomotor performance in gap, step & memory-guided tasks“

## 7.2. Poster

### European Conference on Visual Perception 2001 (ECVP 2001)

- Özyurt, J., DeSouza, P., West, P., Rutschmann, R.M., Greenlee, M.W.: Comparison of cortical activity and oculomotor performance in the gap- and step paradigm.
- Weerda, R., Thomas, J.P., Vallines, J.I., Greenlee, M.W.: Neocortical areas underlying shape and color discriminations as assessed by fMRI.
- Rutschmann, R.M., Greenlee, M.W. : Brain activity correlated with disparity level as revealed by fMRI.
- Vallines, J.I., Thomas, J.P., Greenlee, M.W.: Concurrent judgments of color and shape.

## 7.3 Kooperationen

### Inland

- Uniklinik Freiburg, Radiologische Klinik: Prof. Dr. J. Hennig
- Zentralkrankenhaus St.-Jürgen-Strasse, Bremen: Prof. Dr. Terwey
- Uniklinik Magdeburg, Klinik für Neurologie II: Prof. Dr. Heinze

### Ausland

- Universität Oslo, Norwegen, Dept. Psychologie: Prof. I. Reinvang, Prof. S. Magnussen
- University of California at Los Angeles, USA, Dept. Psychology: Prof. J.P. Thomas
- Groningen University Hospital, Niederlande, Neurology Dept.: Prof. Dr. N. Leenders, F.W. Cornelissen.
- Cambridge Research Systems: Peter West