

4 Ergebnisse: Oszillationen des LFP im AL

Bei den Messungen im AL wurde das lokale Feldpotential (LFP) stets von den untersten Elektroden zweier benachbarter Schäfte mit einem Abstand von 80 μm registriert. Die Filtereinstellungen lagen dabei zwischen 1 und 125 Hz für die erste und zwischen 10 und 125 Hz für die zweite Elektrode. Nach Beendigung des Experiments konnte das LFP-Signal offline weiter gefiltert werden. Powerspektren wurden mit Hilfe einer Fast Fourier Transformation (FFT) berechnet. Eine FFT behandelt Daten als Signale mit zyklischer Wiederholung, deshalb müssen Anfang und Ende des Signals geglättet werden, um Artefakte zu vermeiden. Die Glättung geschah mit Hilfe einer Hamming window-Funktion (Blackman & Tukey, 1958).

Oszillationen des LFP im AL traten sowohl duftinduziert als auch spontan auf.

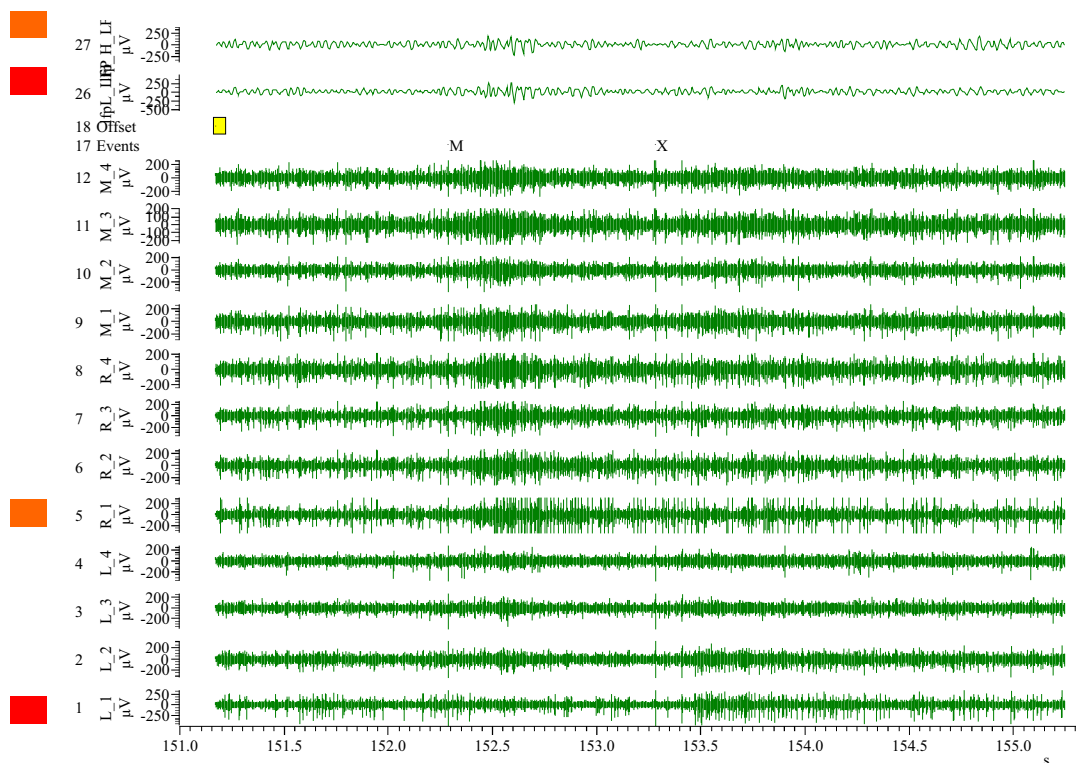


Abbildung 32: Beispiel für duftinduzierte Oszillationen im AL. Stimulusdauer 1 s. Die farbigen Quadrate markieren die zur selben Elektrode gehörenden Kanäle. „M“ und „X“ markieren Anfang und Ende des Stimulus (hier Cineol). Filtereinstellungen für die LFP-Kanäle 20-60 Hz. Es ist der spindelförmige Verlauf der Oszillationen zu erkennen, der etwa 300 ms anhält

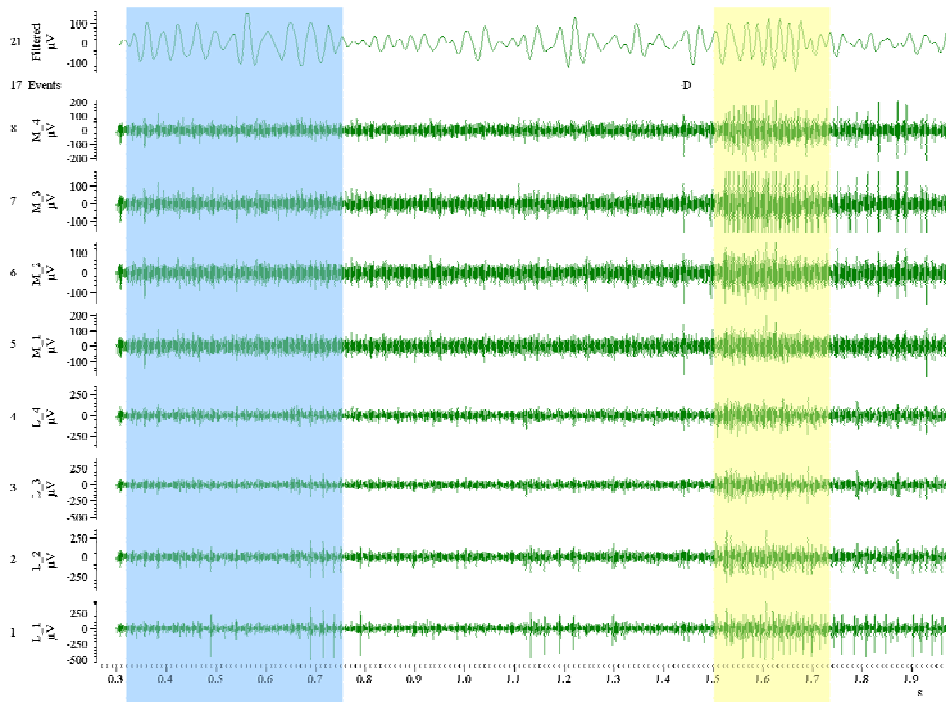
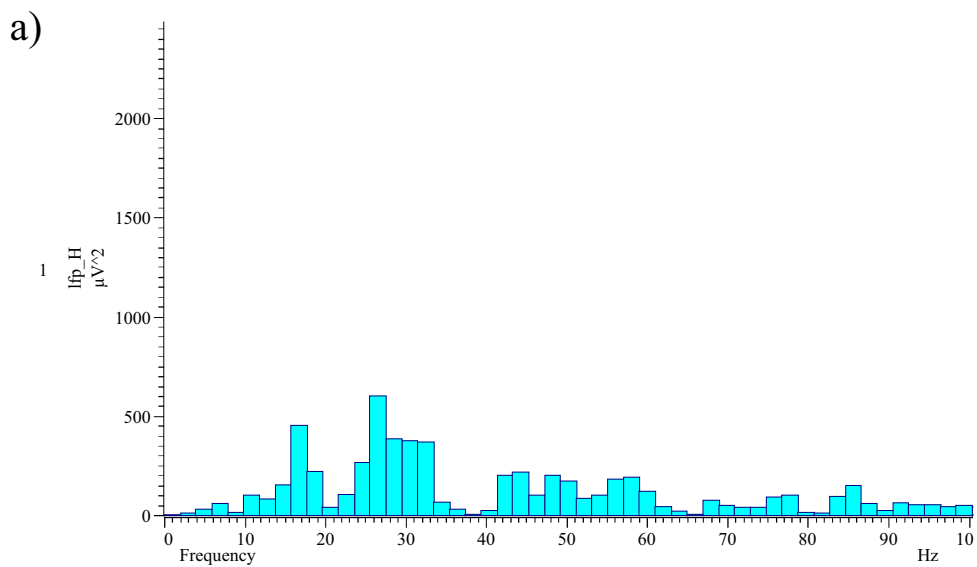


Abbildung 33: Weiteres Beispiel für Oszillationen im AL. Stimulusdauer 1 s. Blau unterlegt ist diesmal eine spontan auftretende 25 Hz-Oszillation auf der LFP-Spur (ganz oben) zu erkennen. Gelb unterlegt eine duftinduzierte 46 Hz-Oszillation. Filtereinstellungen für die LFP-Kanäle 20-60 Hz.



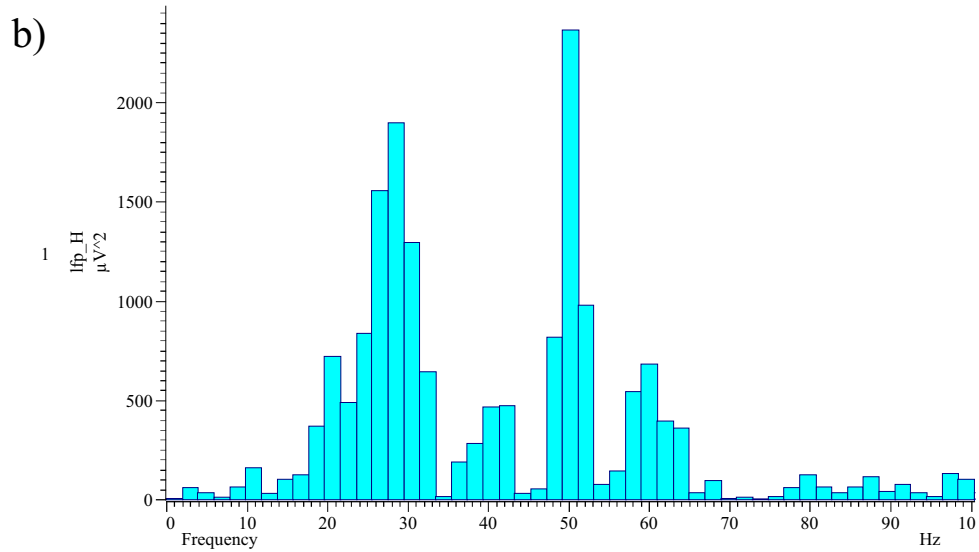
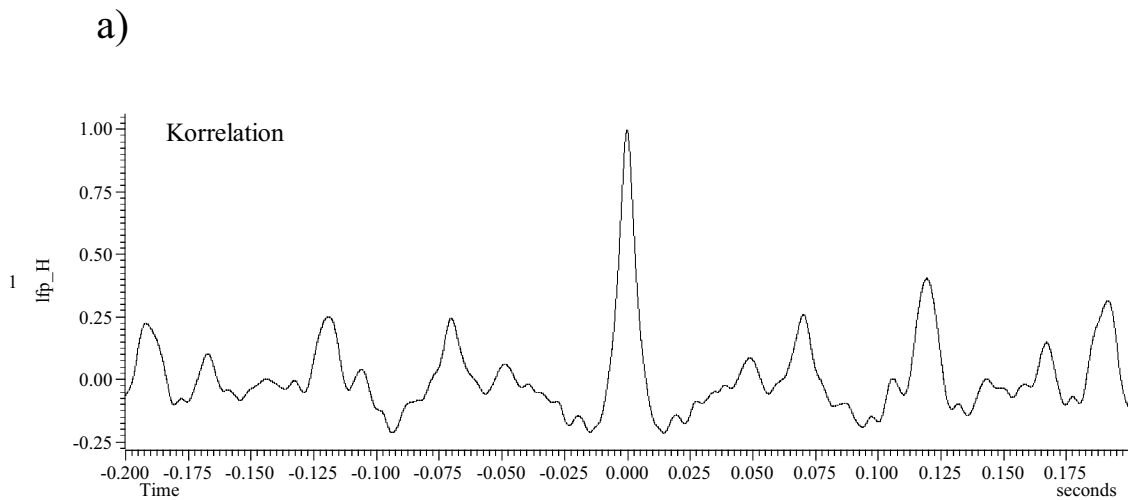


Abbildung 34: Powerspektren des LFP-Kanals aus Abb.33 für 1s Spontanaktivität vor Duftgabe (a) und während Duftgabe (b). Einheit der y-Achse in μV^2 . FFT mit Hamming window. Das LFP-Signal war zwischen 10 und 125 Hz bandpaßgefiltert. Das Spektrum der Duftgabe weist 2 deutliche Frequenzbänder im Bereich 25-30 Hz und um 50 Hz auf.



b)

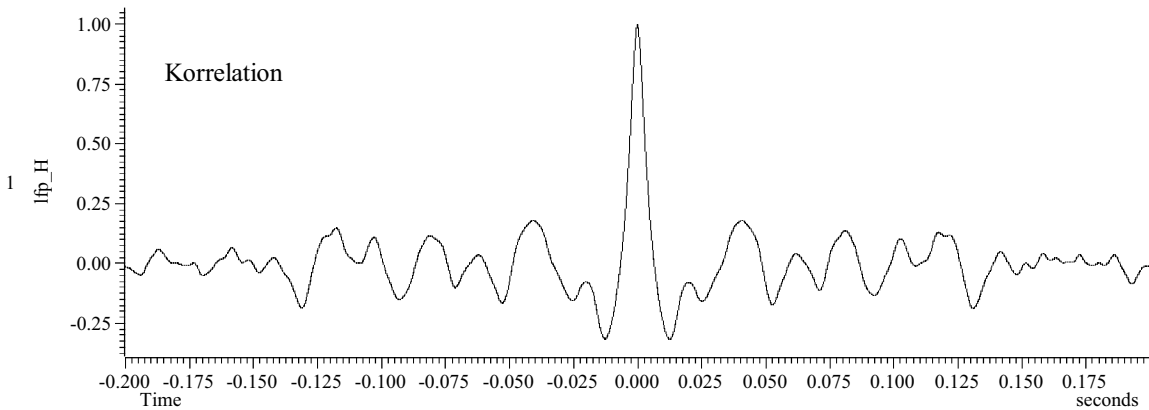


Abbildung 35: Autokorrelation der LFP-Datenspur aus Abb.33 .Für jeweils 400 ms wurde die Autokorrelation während Spontanaktivität (a) und Duftgabe (b) gemessen. Die Abbildungen verdeutlichen, dass Oszillationen im LFP sowohl in der Spontanaktivität als auch während einer Duftgabe auftreten.

In Abb.34 b) fällt das dominante 50 Hz-Band während der Duftgabe auf, das während der Spontanaktivität nicht auftritt und duftinduziert zu sein scheint. Duftinduzierte Oszillationen im Bereich 50 Hz waren auch in anderen Tieren zu beobachten, und zwar außerhalb der Konditionierungsphase, in der durch mangelnde Erdung Störsignale induziert sein könnten. Während der Ableitungen im AL wurden 50 Hz-Band-Eliminatoren (Hum Bug, Quest Scientific, Canada) verwendet, um die äußeren Störeinflüsse zu eliminieren. Diese Eliminatoren generieren ein dem äußeren 50 Hz-Störsignal um 90° phasenverschobenes und überlagern beide Signale, worauf sich beide auslöschen. Die Elimination weist daher eine gewisse Trägheit auf, wodurch es möglich war, duftinduzierte 50 Hz-Oszillationen zu registrieren.

4.1 Charakteristika der duftinduzierten Oszillationen

Es sollen im weiteren Verlauf typische Charakteristika duftinduzierter und spontan auftretender Oszillationen des LFP beschrieben werden. Zunächst wurde die Frage untersucht, in wie vielen Fällen überhaupt ein Duftstimulus eine Antwort im LFP hervorrief. Um etwaige lernspezifische Veränderungen auszuschließen, ist zunächst nur die Prekonditionierungsphase der differentiellen Konditionierung in die Analyse eingegangen.

Als ein Kriterium für eine duftinduzierte Änderung des LFP-Spektrums wurde sowohl für die Spontanaktivität 1 s vor Duftgabe als auch für die Zeitdauer der Duftgabe selbst die Fläche unter dem Powerspektrum jeweils für Zeitfenster von 100 ms Länge berechnet. Überschritt bzw. unterschritt der Wert während der Duftstimulation den Mittelwert der Fläche unter dem Powerspektrum während der Spontanaktivität zuzüglich dreifacher

Standardabweichung (99% Konfidenzintervall), so wurde dies als duftinduzierte Änderung des LFP gewertet. Anschaulich bedeutet dies eine Änderung in der Amplitude des LFP gegenüber Spontanaktivität.

Duftstimulationen haben anhand dieses Kriteriums in 54% aller Fälle eine Amplitudenänderung innerhalb der ersten 500 ms nach Stimulusbeginn hervorgerufen. In den 2. 500 ms wurde nur noch in 9% aller Fälle eine Änderung beobachtet, während nach Stimulusende keine einzige Änderung mehr auftrat. Damit beschränkt sich das Auftreten einer duftinduzierten Oszillation in den meisten Fällen zeitlich auf die ersten 500 ms. Sämtliche Änderungen der Amplitude bestanden zudem in einer Vergrößerung der Amplitude gegenüber Spontanaktivität. Die *Onset-Zeiten* duftinduzierter LFP-Oszillationen lagen im Durchschnitt bei 188 +/- 52 ms (Mittelwert +/- Standardfehler). Der Beginn einer duftinduzierten Antwort wurde hier ebenfalls über die Amplitudenänderung gegenüber der Spontanaktivität mit demselben gleitenden 100 ms-Zeitfenster bestimmt.

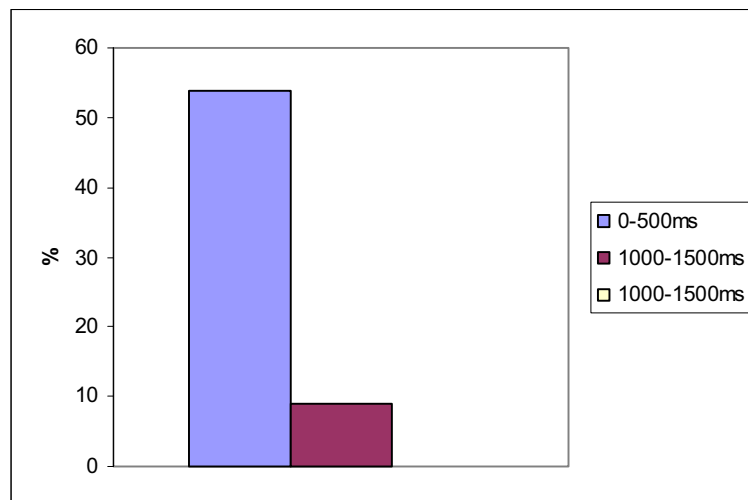
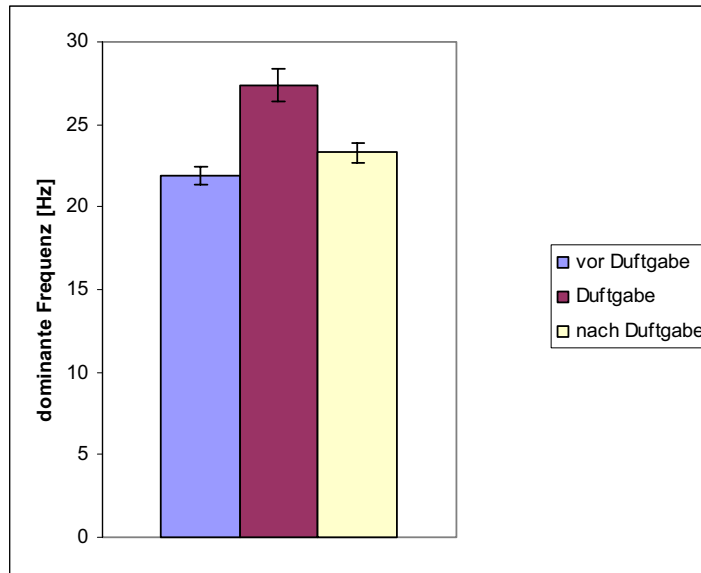


Abbildung 36: Prozentsatz der registrierten LFP-Kanäle, in denen eine Amplitudenänderung des LFP gegenüber Spontanaktivität aufgetreten ist. Einbezogen ist die Gesamtheit aller N=23 Tiere und alle Trials der Prekonditionierung über alle Düfte. In allen Fällen bestand die Änderung in der Vergrößerung der Amplitude

Fragt man nicht nach der Veränderung der Amplitude, sondern nach Verschiebungen dominanter Frequenzbänder, so lässt sich eine geringfügige, aber statistisch signifikante Verschiebung der mittleren dominanten Frequenz (Größter Peak im Powerspektrum) von 23,9 +/- 2,5 Hz (Mittelwert +/- Standardabweichung) in der Phase 1 s vor Stimulusbeginn zu 25,1 +/- 2,6 Hz während der Stimulation beobachten (Kruskal-Wallis, $p=0.0004$). Nach Stimulusende ging dieser Wert wieder auf 23,8 +/- 2,3 Hz zurück.

a)



b)

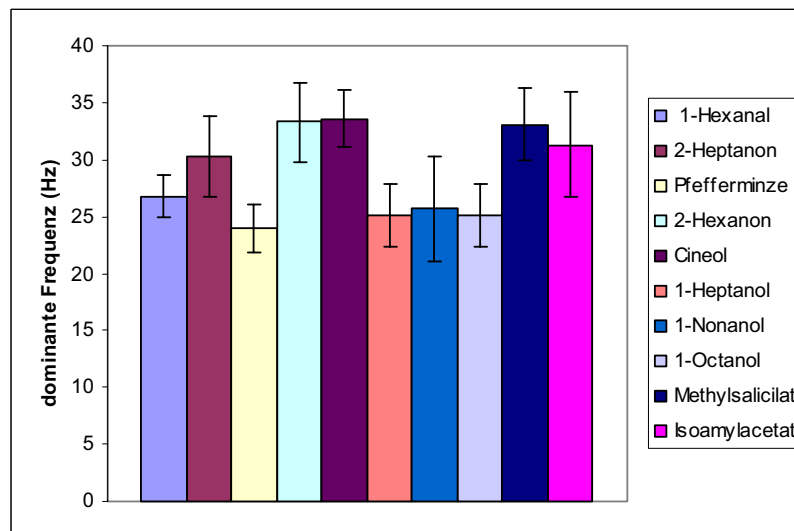


Abbildung 37: (a): Die Duftstimulation bewirkt eine signifikante Verschiebung des dominanten Frequenzbandes im LFP im AL. Aufgetragen ist für alle N=23 Tiere, alle Düfte und alle Trials der Prekonditionierung der Mittelwert der dominanten Frequenzen der LFPs während 1 s vor Stimulusbeginn, während Stimulation und während 1 s nach Stimulusende. (b): Die mittlere dominante Frequenz *während* Duftgabe zeigt für die getesteten Düfte keine signifikanten Unterschiede.

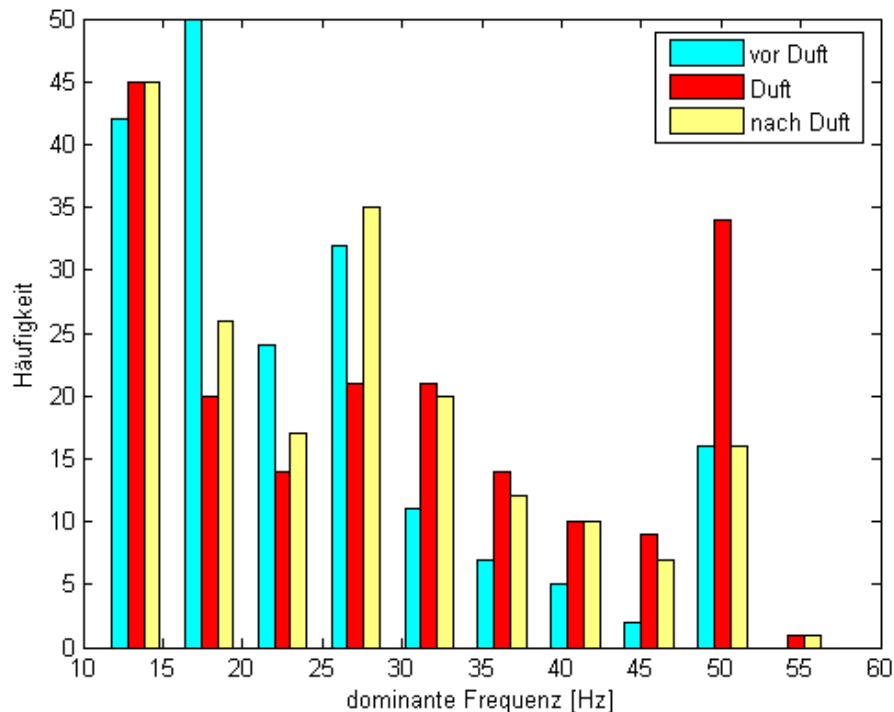


Abbildung 38: Histogramme der Verteilung der dominanten Frequenzen über alle N=23 Tiere, alle Düfte und Trials der Prekonditionierung für Spontanaktivität 1s vor Duftgabe, während Duftgabe (1s Dauer) und das Zeitfenster 1s nach Stimulusende. Man kann die Verschiebung zu höheren Frequenzen während der Duftgabe erkennen. Deutlich ist der generell hohe Anteil des Frequenzbandes 10-15 Hz und der duftinduzierte Anstieg bei 25-35 Hz und bei 50 Hz. Über 55 Hz sind keine dominanten Frequenzbänder mehr aufgetreten

Im Folgenden sollen typische Beispiele von duftvezierten LFP-Oszillationen gezeigt werden. Aufgrund dieser Bilder kann man mehrere Schlüsse ziehen. Zunächst zeigt sich in diesen Beispielen eine für alle Düfte und Tiere ähnliche Oszillationsdauer, die bei 300-400 ms lag. Die duftinduzierten Oszillationen können sowohl nur eine dominante Frequenz als auch mehrere ausgeprägte Frequenzen zwischen 10 und 50 Hz aufweisen. Die wiederholte Duftgabe in der Prekonditionierung rief zum Teil eine erheblich verschiedene Antwort hervor, so dass die Variabilität der duftinduzierten Oszillationen sehr stark war. Ebenfalls riefen verschiedene Düfte an derselben Ableitstelle unterschiedliche Spektren hervor. Es ist, bedingt durch die Variabilität der Trials für bereits einen Duft, aber nicht möglich zu entscheiden, ob die Oszillationen duftspezifisch sind oder nicht.

Schließlich trat im selben Tier für denselben Duft an den beiden unterschiedlichen Ableitpositionen für das LFP eine unterschiedliche Amplitudenverteilung der Frequenzbänder auf, obwohl eine deutliche Korrelation zwischen den LFPs der beiden Ableitorte vorhanden ist (Abb.43).

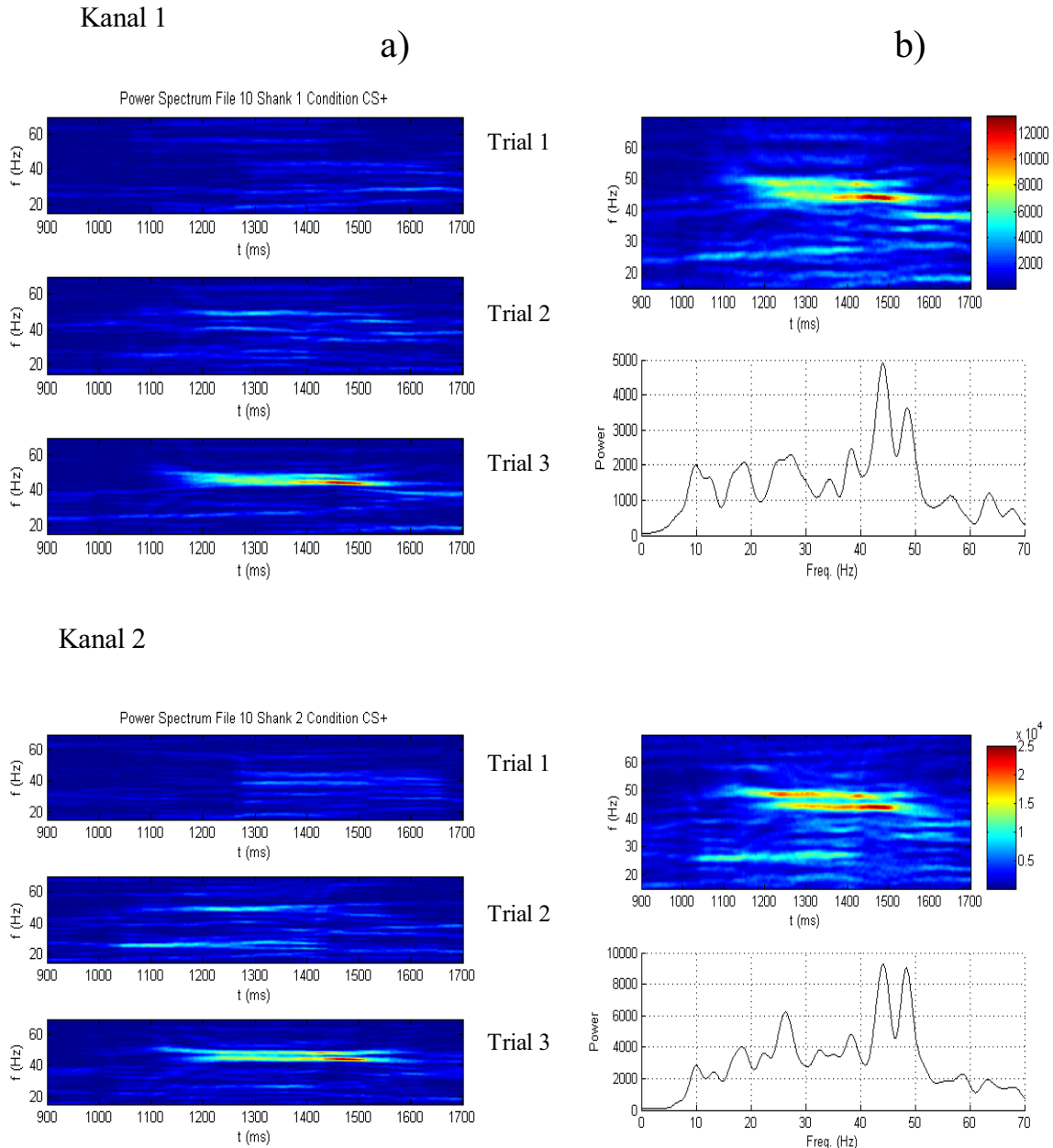


Abbildung 39: (a): Powerspektren mit gleitendem Fenster von 200 ms Länge über eine Zeitdauer von 100 ms vor Duftgabe (900 ms auf der x-Achse) bis 700 ms nach Stimulusbeginn. Farbcodiert sind die Amplituden der Frequenzanteile (y-Achse) aufgetragen. Links dargestellt sind die beiden simultan im Abstand von 80 μ m aufgenommenen LFP-Kanäle mit den 3 Trials eines Duftes (Cineol). Beim 1. Trial ist eine duftvezierte Oszillation mit mehreren Frequenzbändern zu erkennen, die bei ca. 300 ms nach Stimulusbeginn beginnt und ca. 400 ms andauert. Es sind sowohl die starke Variabilität der Oszillation in den 3 aufeinanderfolgenden Trials als auch Amplitudenunterschiede zwischen den beiden Kanälen zu erkennen. (b): Dargestellt sind die über alle 3 Trials gemittelten Powerspektren sowohl mit gleitendem Fenster als auch für den Gesamtzeitraum der Duftgabe

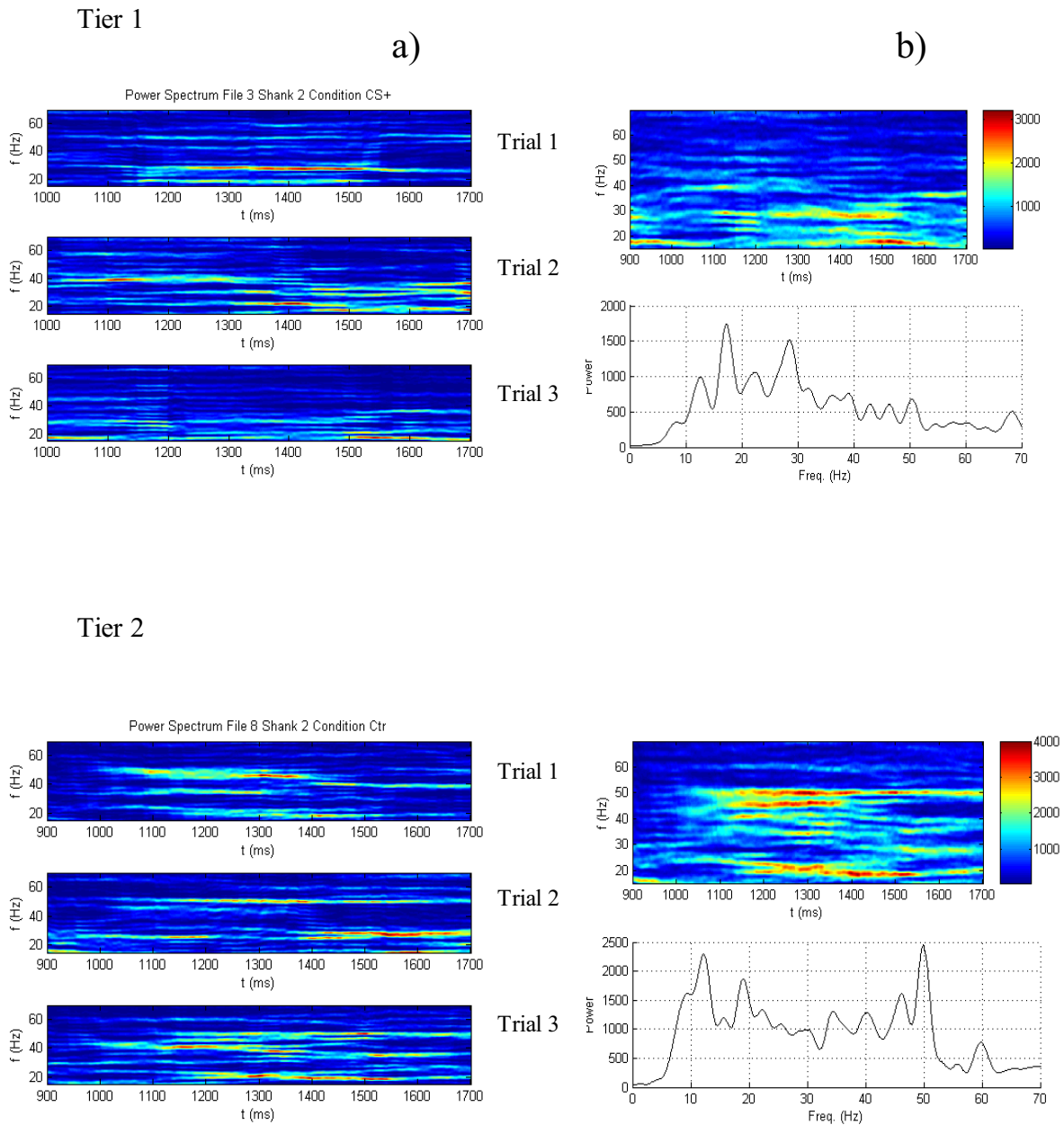
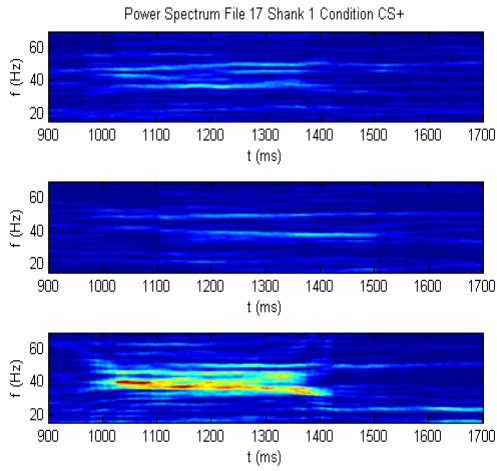


Abbildung 40: (a): Powerspektrum für die 3 Trials der Prekonditionierung in 2 verschiedenen Tieren und für denselben Duft (1-Hexanal). Wieder ist eine starke Variabilität innerhalb der Trials zu erkennen. (b): Dargestellt sind die über alle 3 Trials gemittelten Powerspektren sowohl mit gleitendem Fenster als auch für den Gesamtzeitraum der Duftgabe

2-Hexanon

a)

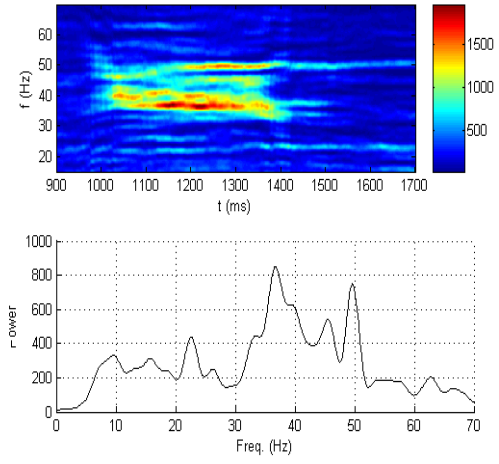
b)



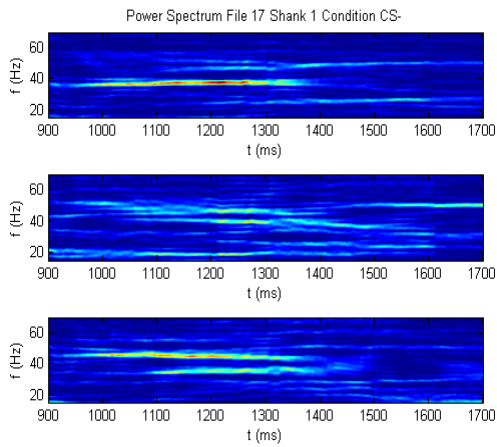
Trial 1

Trial 2

Trial 3



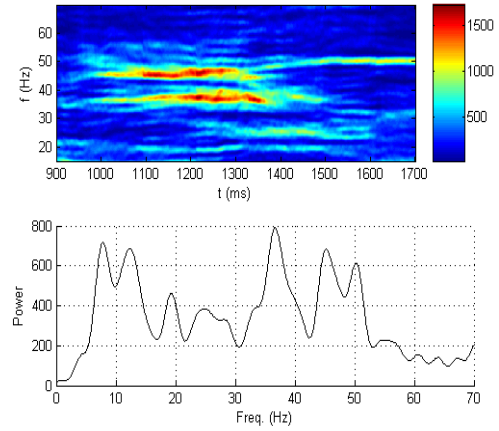
2-Heptanon



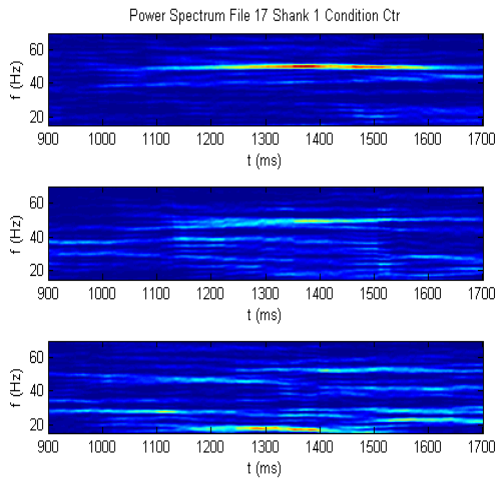
Trial 1

Trial 2

Trial 3



1-Heptanol



Trial 1

Trial 2

Trial 3

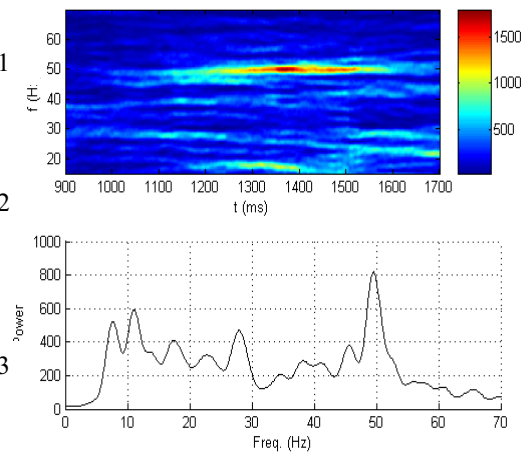
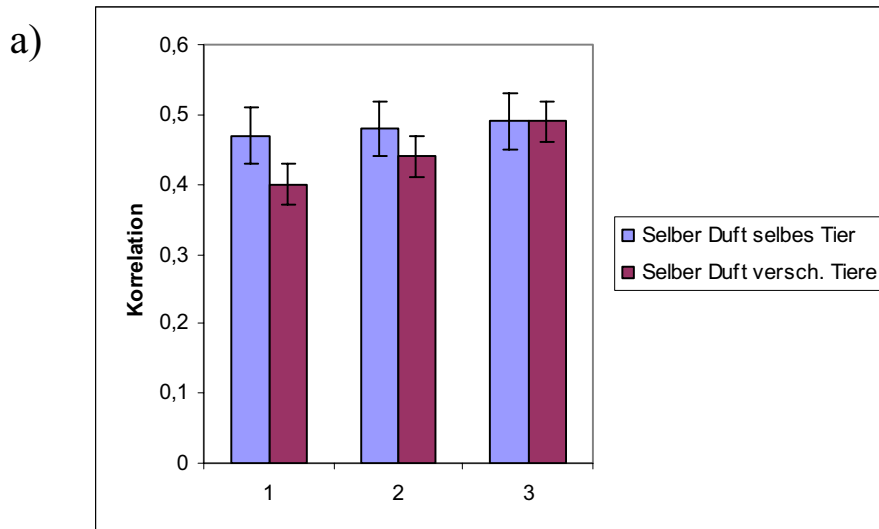


Abbildung 41: (a): Powerspektren der 3 Trials der Prekonditionierungsphase von 3 Düften in *einem* Tier und an derselben Ableitstelle. Auch hier ist die starke Variabilität aufeinander folgender Trials zu erkennen. Die Powerspektren sind ebenfalls unähnlich für die verschiedenen Düfte. (b): Dargestellt sind die über alle 3 Trials gemittelten Powerspektren sowohl mit gleitendem Fenster als auch für den Gesamtzeitraum der Duftgabe

Es wurden im Folgenden sowohl die LFP-Spuren als auch die Powerspektren miteinander korreliert, um Ähnlichkeit bzw. Duftspezifität der induzierten Oszillationen zu untersuchen. Hierfür wurden einmal alle 3 Trials der Prekonditionierung derselben Duftgabe im selben Tier miteinander korreliert, danach die 1., 2. und 3. Trials derselben Duftgabe in unterschiedlichen Tieren. Obwohl aufeinander folgende Stimulationen desselben Duftes im selben Tier stark unterschiedliche Powerspektren zur Folge hatten, könnte es sein, dass die Oszillationen dennoch duftspezifisch sind und die 1., 2. und 3. Trials derselben Duftgabe in verschiedenen Tieren stärker miteinander korreliert sind als aufeinander folgende Duftgaben im gleichen Tier. Das Ergebnis in Abb.43 zeigt jedoch, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen den Korrelationen aufeinander folgender Stimulationen desselben Duftes im selben Tier und den Korrelationen der jeweiligen Duftgaben desselben Duftes in verschiedenen Tieren zu finden sind.



b)

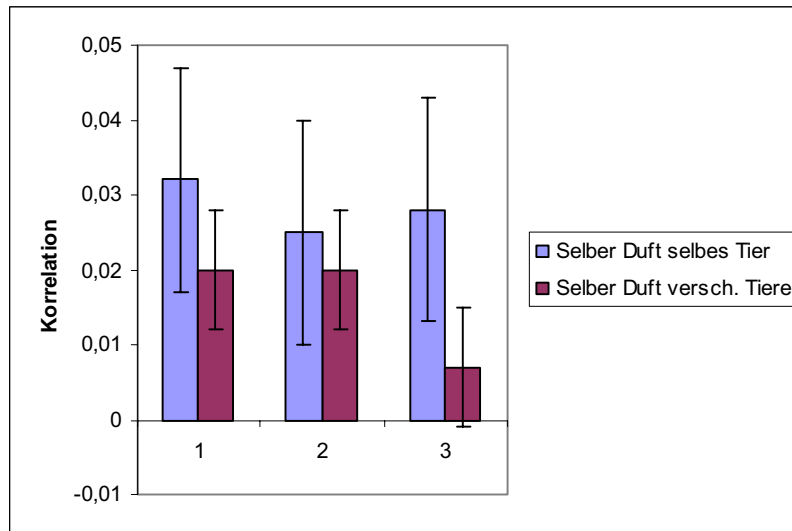


Abbildung 42: (a) Korrelation zwischen den Powerspektren desselben Duftes im selben Tier: Balken 1: Trial 1 gegen Trial 2. Balken 2: Trial 1 gegen Trial 3. Balken 3: Trial 2 gegen Trial 3. Korrelation zwischen den Powerspektren desselben Duftes in verschiedenen Tieren: Balken 1: Trial 1 gegen Trial 1. Balken 2: Trial 2 gegen Trial 2. Balken 3: Trial 3 gegen Trial 3. (b): Dieselbe Auswertung wie in (a) für die LFP-Datenspuren. Die Länge der miteinander korrelierten LFP-Antworten betrug 1s

Die Korrelation zwischen den beiden simultan abgeleiteten Signalen im selben Tier (Abb. 44) ist eindeutig höher als in Abb.43. Zu Bedenken ist, dass die Entfernung zwischen den simultan abgeleiteten Signalen nur 80µm beträgt. Eine vergleichbare Studie (Christensen *et al.*, 2003a) für den AL der Motte *Manduca Sexta*, bei der die Distanzen 270µm betragen, kommt zum Schluss, dass simultan abgeleitete LFP-Signale nicht global und nicht duftspezifisch sind, sondern eher lokal für verschiedene Düfte ähnliche Antworten aufweisen.

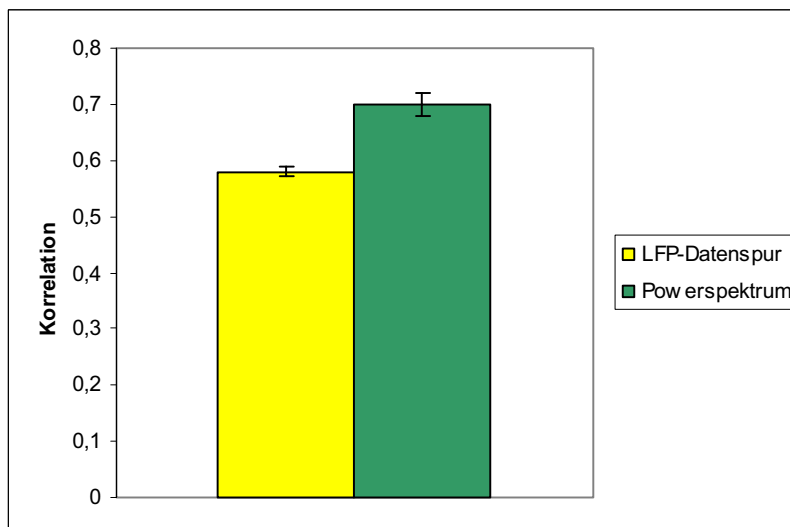


Abbildung 43: Korrelation der beiden simultan in einem Tier abgeleiteten LFP-Datenspuren und des zugehörigen Powerspektrums. Mittelung über alle Düfte und alle 3 Trials der Prekonditionierung. Die Länge der miteinander korrelierten LFP-Antworten betrug 1s