

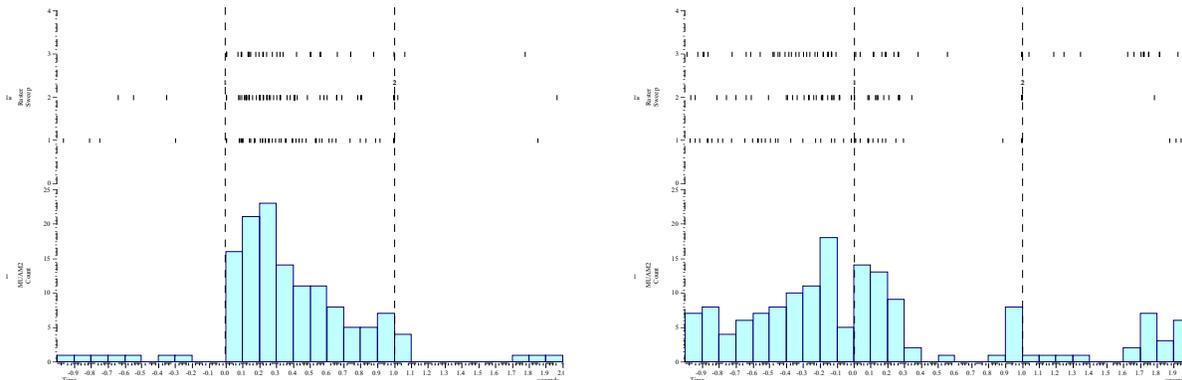
## 5 Ergebnisse: Differentielle Konditionierung und MUA im AL

Innerhalb dieser Arbeit wurde untersucht, ob sich die Konditionierung, die einem der 3 Düfte, dem CS+, eine besondere Bedeutung als belohnter Stimulus gibt, auf die Antwortstärke der MUAs auswirkt. Dazu wurden die Antwortstärken in Prekonditionierungs-, Konditionierungs- und Testphase miteinander verglichen.

Wie im vorherigen Kapitel dargestellt, zeigten die MUAs ein sehr individuelles Antwortverhalten, sowohl untereinander als auch auf verschiedene Düfte. In gleicher Weise war auf Einzeltierebene auch kein genereller Trend in der Änderung der Antwortstärken für *alle* MUAs, die den CS+ repräsentierten, zu beobachten. Eine strukturelle Änderung in der Antwortcharakteristik einzelner MUAs, so z.B. das Auftauchen einer MUA-Antwort in der Testphase, oder ein Wechsel von exzitatorischer zu inhibitorischer Antwort, ist bei den 110 untersuchten MUAs 13 mal aufgetreten und in Abb.44 aufgelistet.

Tier#	Duft	MUA	Stimulus	Prekonditionierung	Konditionierung	Test
1	1-Hexanal		1 CS+	keine Antwort	Inhibition ab 4. Trial	Inhibition
2	2-Hexanon		1 CS+	keine Antwort	exzitatorische Antwort ab 4. Trial	exzitatorische Antwort
3	1-Nonanol		1 CS+	keine Antwort	keine Antwort	Inhibition
4	2-Hexanon		1 CS+	exzitatorische Antwort	exzitatorische Antwort	keine Antwort
5	1-Nonanol		1 CS+	exzitatorische Antwort	exzitatorische Antwort	keine Antwort
6	2-Heptanon		1 CS+	exzitatorische Antwort	Inhibition ab 2. Trial	Inhibition
	Methylsalicylat	gleiche wie	CS-	exzitatorische Antwort	Inhibition ab 1. Trial	Inhibition
7	2-Hexanon		1 CS+	exzitatorische Antwort	exzitatorische Antwort	Inhibition
	2-Heptanon	gleiche wie	CS-	exzitatorische Antwort	Inhibition ab 4. Trial	Inhibition
	1-Heptanol	gleiche wie	Ctrl	exzitatorische Antwort		Inhibition
1	Cineol		1 CS-	keine Antwort	exzitatorische Antwort ab 1. Trial	exzitatorische Antwort
8	Cineol		1 CS-	exzitatorische Antwort	exzitatorische Antwort	keine Antwort
9	Methylsalicylat		1 Ctrl	keine Antwort		exzitatorische Antwort

Abbildung 44: MUAs, die ihre Antwortcharakteristik von Prekonditionierung zu Test deutlich geändert haben

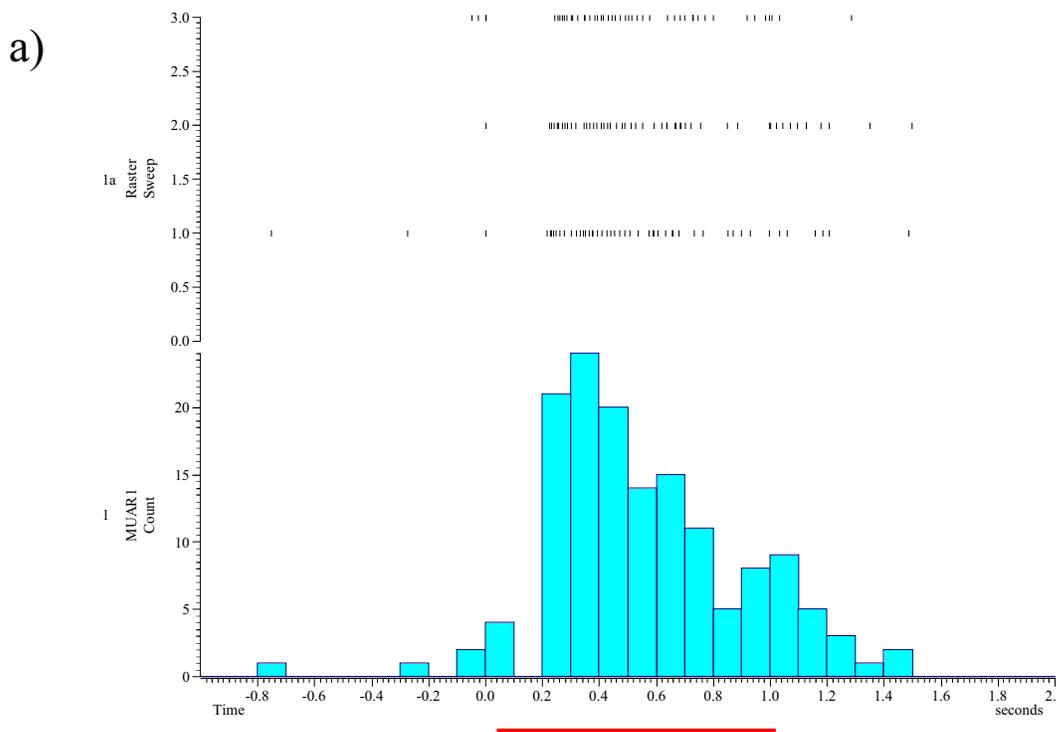


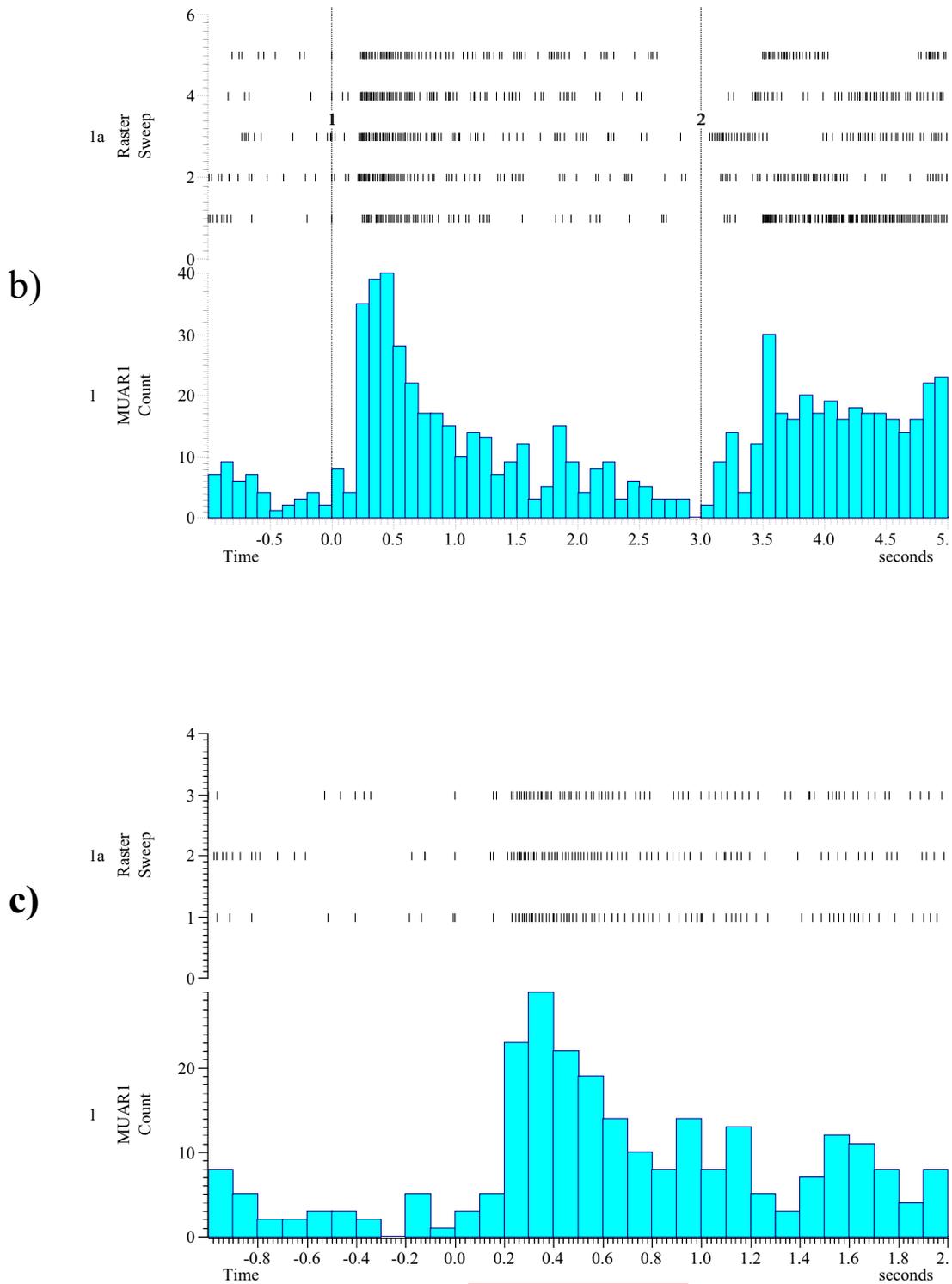
**Abbildung 45: Ratenantwort aus der Tabelle (CS-, 2-Hexanon) mit Änderung exzitatorisch-inhibitorisch. Links: Prekonditionierung. Rechts: Test. Die Linien markieren Beginn und Ende des Stimulus**

### 5.1 US-Antworten der MUAs in der Konditionierungsphase

Als weiterer Klassifizierungsversuch für eine mögliche lernbedingte Antwortänderung bot sich an, MUAs gesondert zu untersuchen, die in der Konditionierungsphase sowohl auf den CS als auch auf den US geantwortet haben. Dies könnte deswegen interessant sein, da solche MUAs eventuell eine Konvergenz zwischen CS und US anzeigen und dementsprechend geeignete Kandidaten für eine lernbedingte Plastizität darstellen könnten. Im Antennallobus haben 53 % der MUAs in der Konditionierungsphase auch auf den Zuckerwasserstimulus mit deutlicher Erregung geantwortet. In 6 Fällen zeigte eine MUA eine Antwort auf den US, jedoch keine auf den CS+.

In nur 4 Fällen konnte eine Veränderung (Vergrößerung) der Antwortstärke auf den CS+ im Test gegenüber der Prekonditionierung gefunden werden, wobei sich die Antworten für CS- und Kontrollstimulus nicht änderten. In den anderen Fällen war kein wesentlicher Unterschied zu MUAs zu beobachten, die nicht auf den US antworteten.



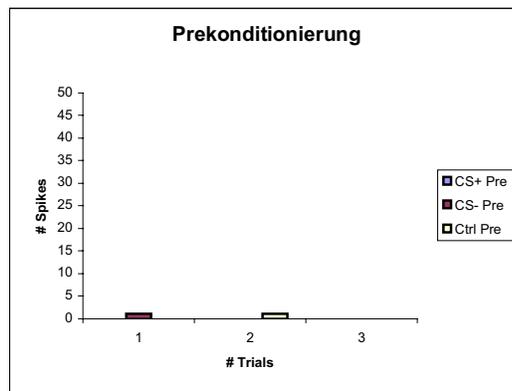
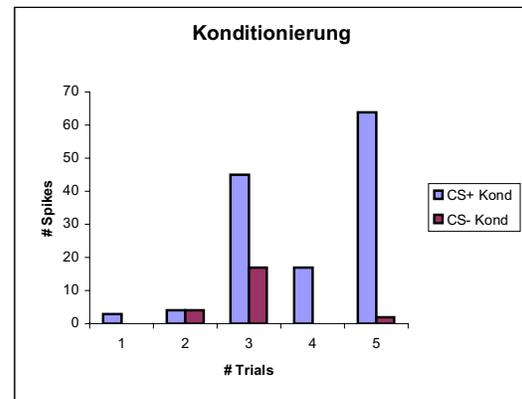
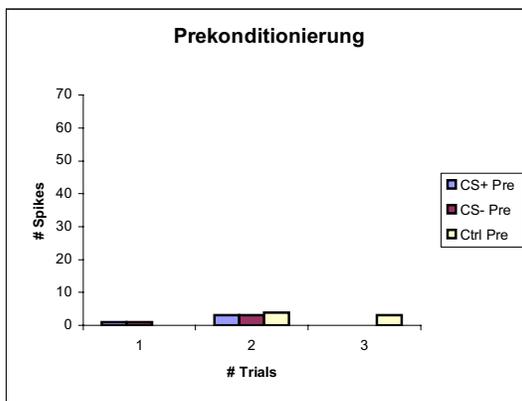


**Abbildung 46: Ratenantwort einer MUA, die in der Konditionierungsphase auf den US geantwortet hat (mittleres Bild; die Linien markieren jeweils den Anfang von CS+ und US). Dargestellt sind die Antworten in den 3 Experimentphasen (a) Pre, (b) Konditionierung, (c) Test. Im unteren Bild (Test) ist zu erkennen, dass diese MUA eine Verlängerung der Antwort gegenüber der Prekonditionierung für den CS+ zeigt.**

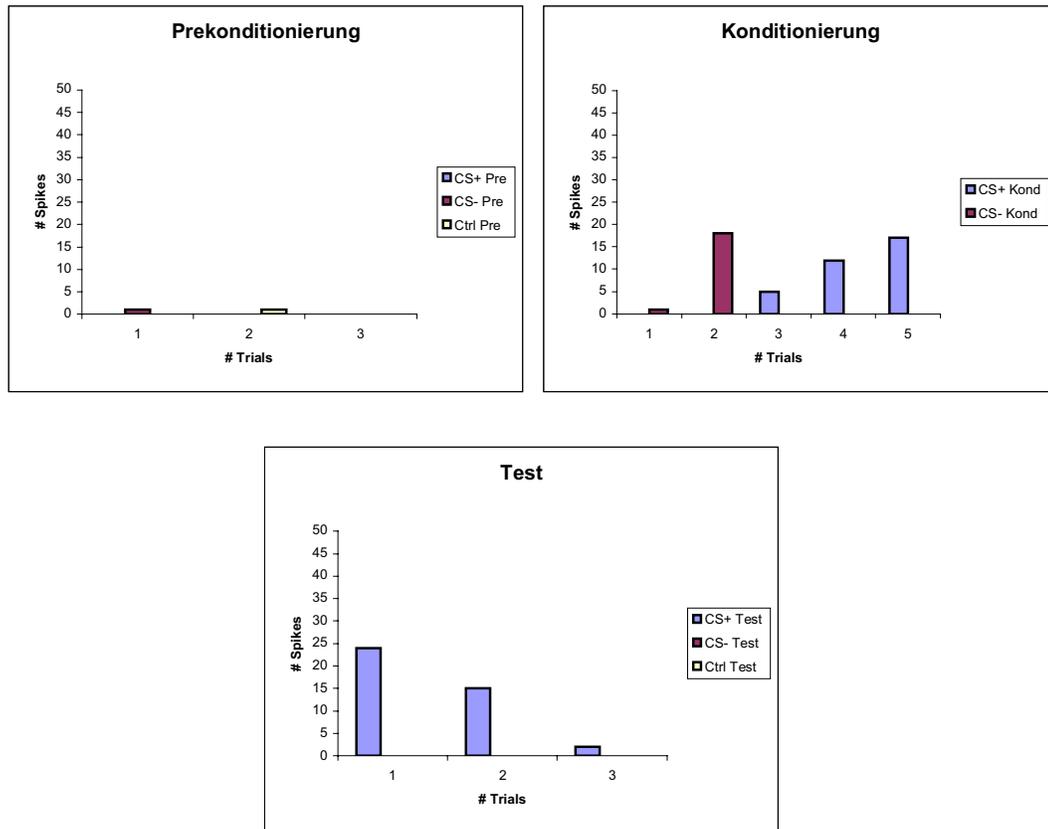
## 5.2 M17-Registrierungen in der differentiellen Konditionierung

Von den 23 Tieren, bei denen eine differentielle Konditionierung bei gleichzeitiger Ableitung im Antennallobus durchgeführt wurde, zeigten nur 5 Tiere eine klare M17 Antwort in der Testphase auf den CS+. Diese Gruppe ist natürlich besonders aussagekräftig im Hinblick auf lernbedingte Veränderungen von MUA-Antworten und wurde bei der weiteren Auswertung stets als gesonderte Untergruppe behandelt und mit den anderen Tieren verglichen.

a)



b)

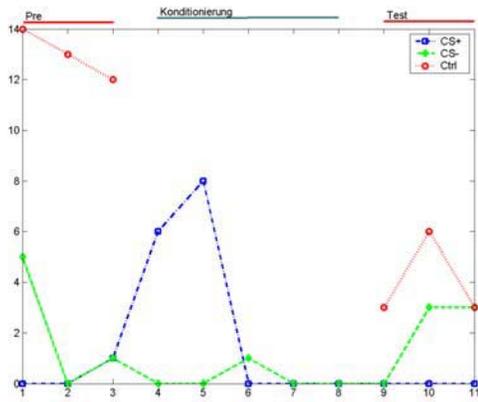


**Abbildung 47: 2 Beispiele einer klaren M17-Aktivität bei CS+-Applikation (a und b). Dargestellt ist die Anzahl der registrierten M17-Aktionspotentiale über alle Trials der 3 Düfte in den 3 Experimentphasen in einem Zeitfenster von 1s. Man sieht deutlich, dass die M17 Antwort in der Konditionierung für den CS+ stärker wird und auch im Test eindeutig spezifisch für den CS+ ist**

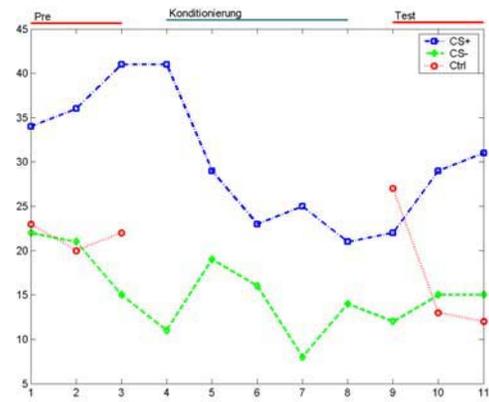
In allen anderen Fällen (18 von 23) überstieg die M17-Aktivität während der CS+ Applikation in der Testphase entweder nicht das Niveau der Spontanaktivität oder es zeigte sich eine unspezifische Antwort auf alle 3 Düfte. In 4 Fällen gab es dabei zumindest in der Konditionierungsphase während der ersten Sekunde der Duftgabe eine klare Antwort auf den CS+. Auf den US reagierte der M17 in allen Tieren stark.

### 5.3 Ratenveränderungen in Einzeltieren

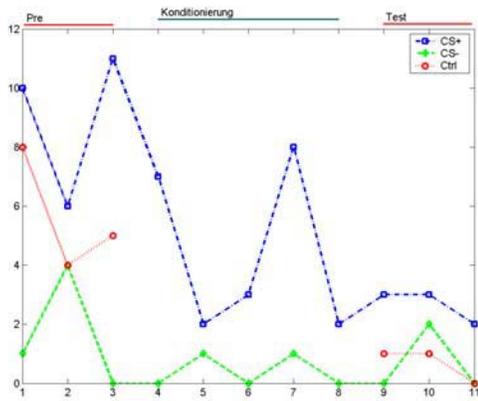
Das folgende Beispiel veranschaulicht das heterogene und MUA-spezifische Antwortverhalten während der differentiellen Konditionierung, das in dieser Form bei allen Tieren anzutreffen war. Es handelt sich um ein Tier, das anhand der M17-Ableitung klar den CS+ gelernt hat (siehe M17-Diagramm Abb. 47 (a) im vorherigen Kapitel: gleiches Tier). Dargestellt ist die Anzahl von Aktionspotentialen in einem Zeitfenster der ersten 500 ms nach Beginn der Duftstimulation für alle extrahierten 7 MUAs und jeden Trial in Prekonditionierung, Konditionierung und Test. In Einzeltieren ist kein eindeutiger Trend zu erkennen.



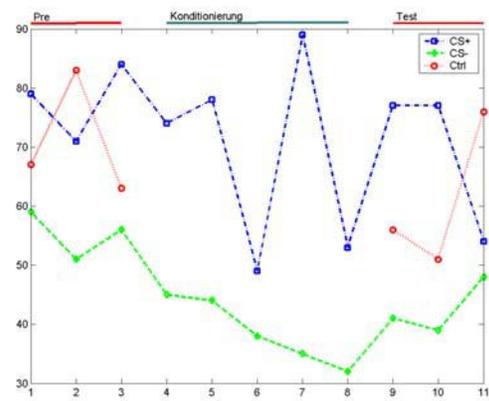
MUA 1



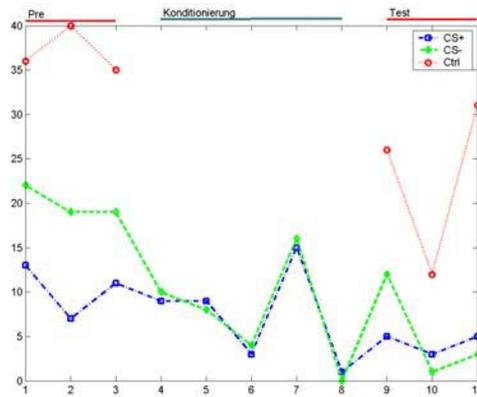
MUA 2



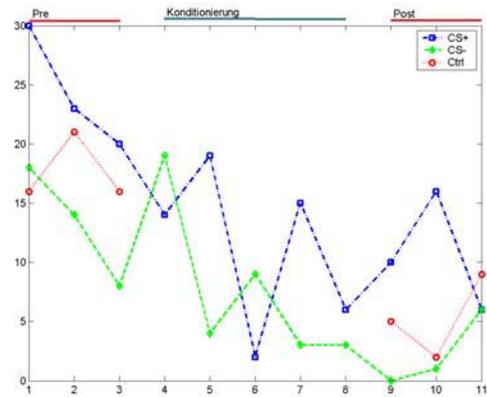
MUA 3



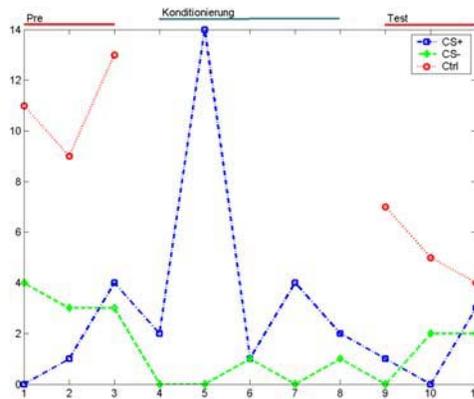
MUA 4



MUA 5



MUA 6



MUA 7

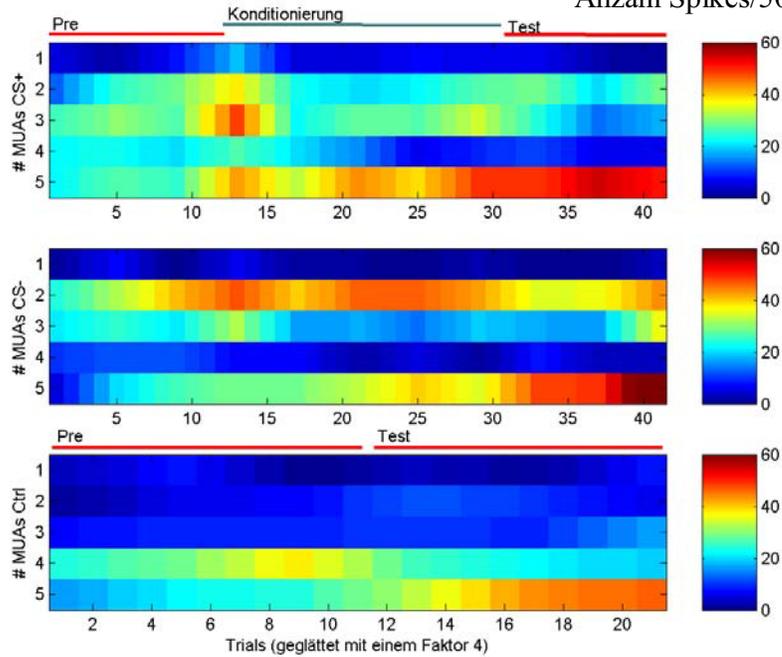
**Abbildung 48:** Als typisches Beispiel für die zeitliche Entwicklung der Antwortstärken von MUAs im AL sind für ein Tier und alle extrahierten MUAs die Anzahl der Spikes (y-Achse) in einem Zeitfenster der ersten 500 ms nach Stimulusbeginn über alle Trials des Experiments (x-Achse) aufgetragen. Besonders in der Konditionierungsphase ist ein komplexes, sehr variables Verhalten der Antwortstärken zu beobachten. Dieses Tier gehört zur Gruppe der Tiere, die anhand der M 17-Antwort als „gelernt“ klassifiziert wurden. Dennoch ist keine CS+ - spezifische Änderung in der Testphase zu beobachten

Das stark heterogene Verhalten war auch für andere Zeitfenster innerhalb der Zeitdauer der Duftapplikation zu beobachten. Sowohl CS+ als auch CS- zeigen ein komplexes Verhalten besonders in der Konditionierungsphase. Auffällig ist die Variabilität der

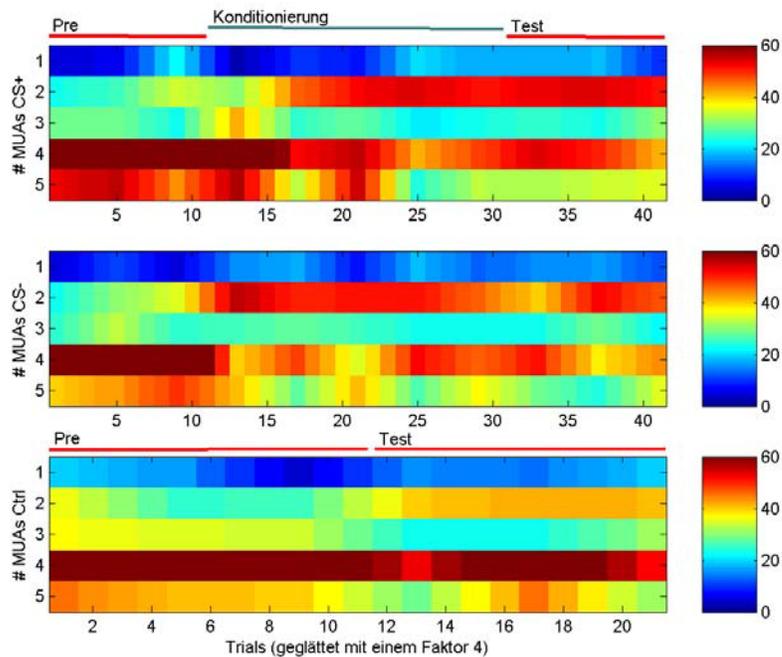
Antwortstärken in Prekonditionierung und Test. Die nächsten 4 Abbildungen zeigen 4 weitere Einzeltiere. Die Anzahl der Spikes pro Zeitfenster und über alle Trials sind farbcodiert dargestellt und geglättet, um Änderungen besser sichtbar zu machen (Interpolationsfaktor 4). Dafür wurden zwischen jeweils 2 Datenwerten, also 2 aufeinander folgenden Trials, 4 linear interpolierte Zwischenwerte eingefügt..

Farbskala y-Achse:  
Anzahl Spikes/500 ms

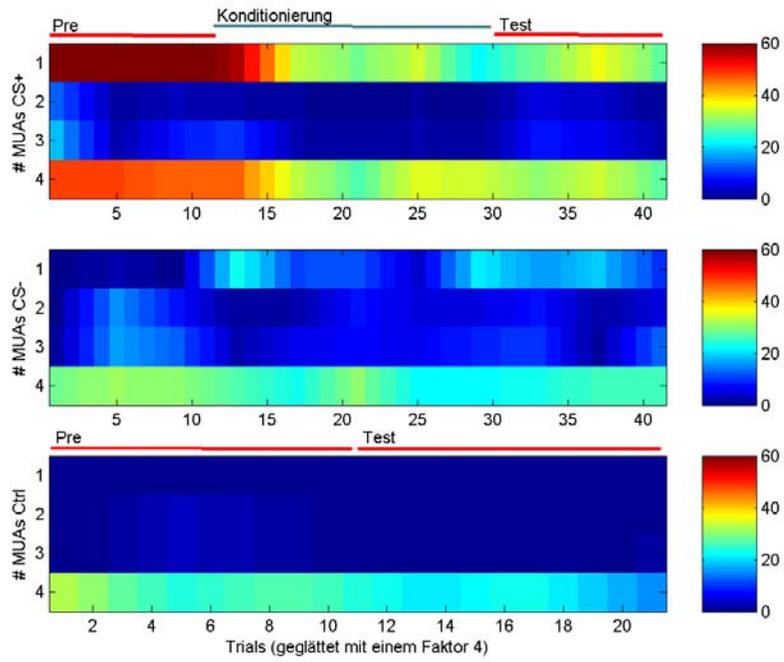
a)



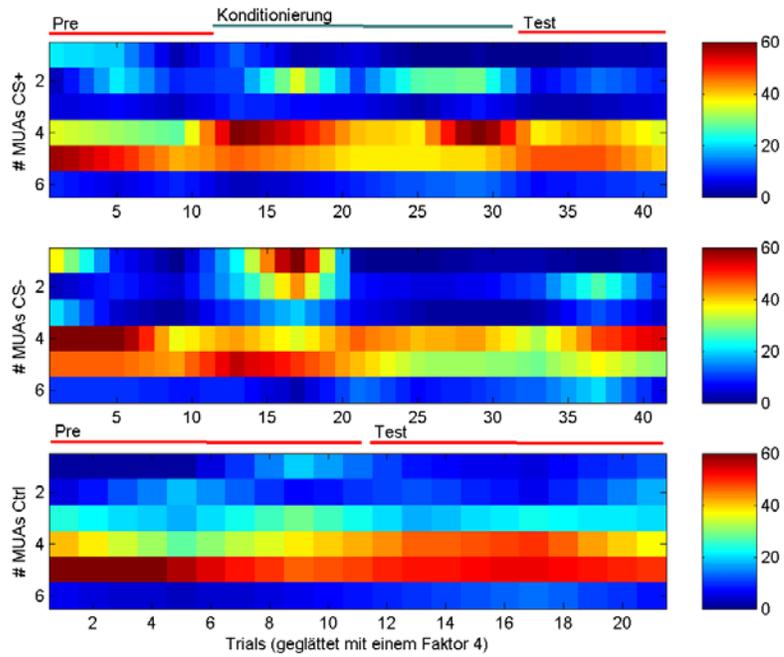
b)



c)



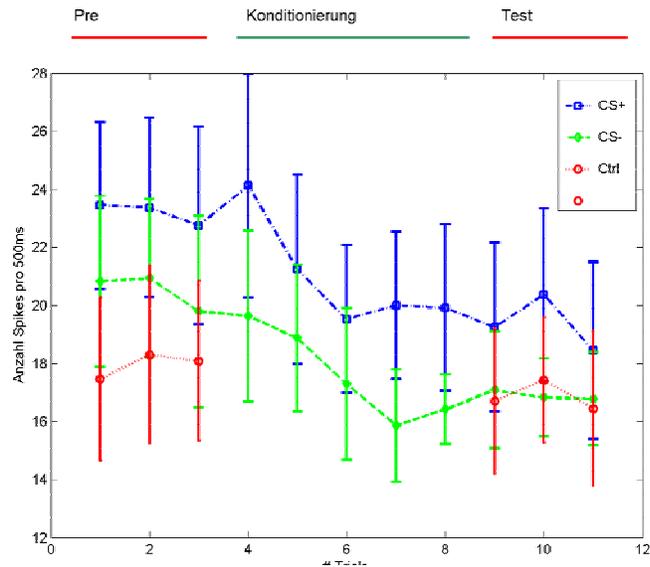
d)



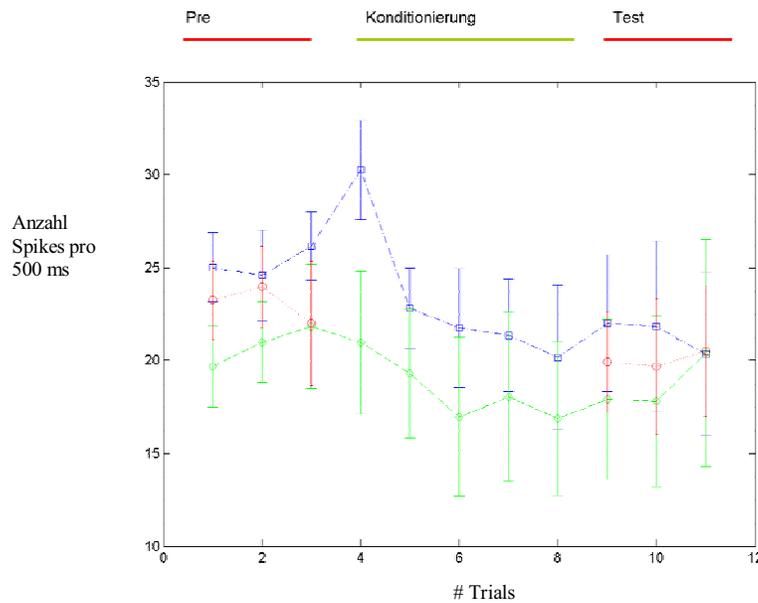
**Abbildung 49: Farbcodierte Darstellung der Ratenveränderungen über alle Trials der differentiellen Konditionierung in 4 Tieren (a-d). Die Zeilen entsprechen den MUAs. Farbcodiert dargestellt sind die Anzahl von Spikes pro 1. 500 ms-Zeitfenster nach Stimulusbeginn. Die Daten wurden geglättet, um Änderungen deutlicher sichtbar zu machen. Zwischen jeweils 2 Datenwerten sind dabei 4 linear interpolierte Zwischenwerte**

## **5.4 Trends in den Ratenveränderungen**

In einzelnen Tieren konnte kein eindeutiger Trend in den Ratenveränderungen gefunden werden, was bei nur ca. 4 MUAs pro Tier auch nicht unbedingt überrascht. Deswegen wurde als nächster Schritt versucht, Gruppen von Tieren zusammenzufassen. In jedem Experiment wurde von einem anderen neuronalen Subensemble abgeleitet, da es wegen der Größe der Multielektroden nicht möglich war, an exakt derselben Stelle in den AL einzustechen. Geht man davon aus, dass sich die Tiere hinsichtlich ihrer Anatomie im Wesentlichen gleichen, kann man eine Zusammenfassung mehrerer Tiere auch als die parallele Ableitung von *vielen* Subensembles in *einem hypothetischen* Tier auffassen (Stopfer, 2003). Der Verlauf der Mittelwerte der Raten über alle Trials des Experiments für alle N=23 Tiere und für ein Zeitfenster der ersten 500 ms nach Stimulusbeginn ist in Abb.50 zusammengefasst. Für CS+ und CS- ist ein Abfall der Mittelwerte während der Konditionierung zu beobachten, der jedoch nicht signifikant ist, während sich das Niveau des Kontrollstimulus nicht sichtbar verändert. Der Rückgang der Antwortstärke wird geringer für ein Zeitfenster, welches später als 500 ms nach Beginn der Stimulation beginnt. Auffällig ist, dass sich die Niveaus von CS+, CS- und Ctrl bereits in der Prekonditionierungsphase voneinander unterscheiden, wenn auch nicht signifikant. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass es generell schwierig war, im AL an derselben Ableitposition neuronale Antworten auf 3 verschiedene Düfte zu bekommen. Eine unbewusste Vorauswahl, die die deutlichsten und stärksten Duftantworten dem späteren CS+ zuordnete, kann dazu geführt haben, dass bei den MUAs für den CS+ leicht größere Antwortstärken vorhanden sind.



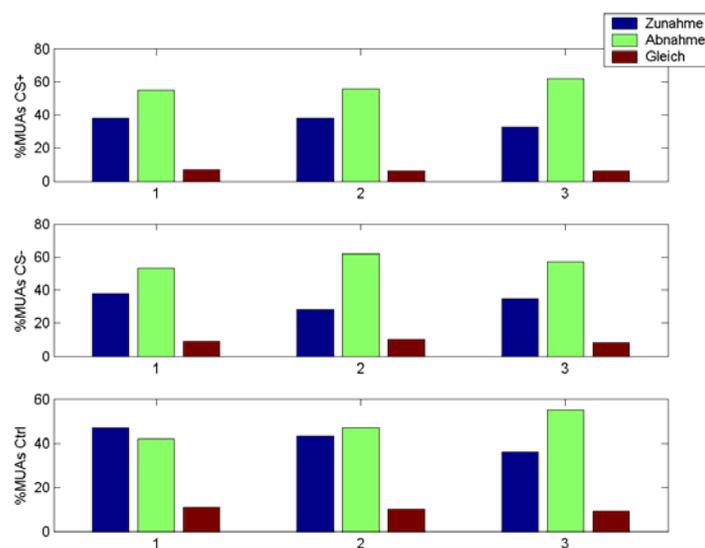
**Abbildung 50: Mittelwerte der Raten für alle MUAs aus N=23 Tieren über alle Trials der differentiellen Konditionierung. Zeitfenster: 0-500ms nach Beginn der Stimulation**



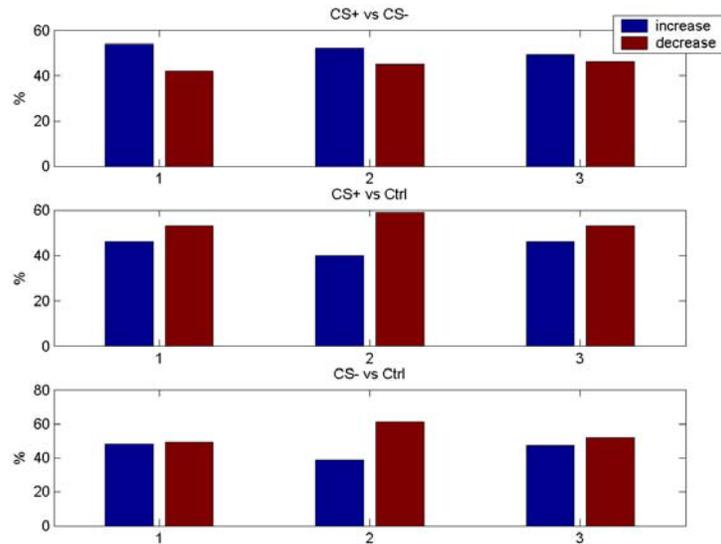
**Abbildung 51: Mittelwerte der Raten für alle MUAs aus den N=5 Tieren, die anhand der M 17- Reaktion als „gelernt“ eingestuft wurden. Zeitfenster: 0-500ms nach Beginn der Stimulation**

Keiner der Trials, weder für CS+ noch für CS- oder Ctrl, ergab einen signifikanten Unterschied zu den anderen Trials im Experiment. Auch die Unterteilung der Tiere in verschiedene Gruppen zeigte keine Signifikanz. Als Gruppen wurden sowohl die Tiere definiert, die anhand der M17-Ableitung eindeutig den CS+ gelernt hatten, als auch die Tiere, die als CS+ jeweils denselben Duft appliziert bekamen.

Ein Vergleich von MUAs, die ihre Antwortstärke in der Testphase gegenüber der Prekonditionierungsphase reduzierten mit MUAs, die ihre Antwortstärke erhöhten bzw. nicht veränderten, ist in Abb.52 dargestellt. Für CS+, CS- und Kontrollstimulus wurden die Änderungen der Antwortstärken zwischen 1. Trial Prekonditionierung und 1. Trial Test, 2. Trial Prekonditionierung und 2. Trial Test und 3. Trial Prekonditionierung und 3. Trial Test berechnet und der prozentuale Anteil an der Gesamtpopulation aufgetragen. Eine Ratenveränderung von weniger als 10% wurde als nicht verändert angesehen.



**Abbildung 52: Prozentualer Anteil von MUAs für alle N=23 Tiere, die ihre Antwortstärke von Prekonditionierung zu Test erhöhten, absenkten oder beibehielten. Zeitfenster 0-500ms nach Stimulusbeginn. Für CS+, CS- und Kontrollstimulus wurden die Änderungen der Antwortstärken zwischen 1. Trial Prekonditionierung und 1. Trial Test (1), 2. Trial Prekonditionierung und 2. Trial Test (2) und 3. Trial Prekonditionierung und 3. Trial Test (3) berechnet und der prozentuale Anteil an der Gesamtpopulation aufgetragen. Eine Ratenveränderung von weniger als 10% wurde als nicht verändert angesehen**

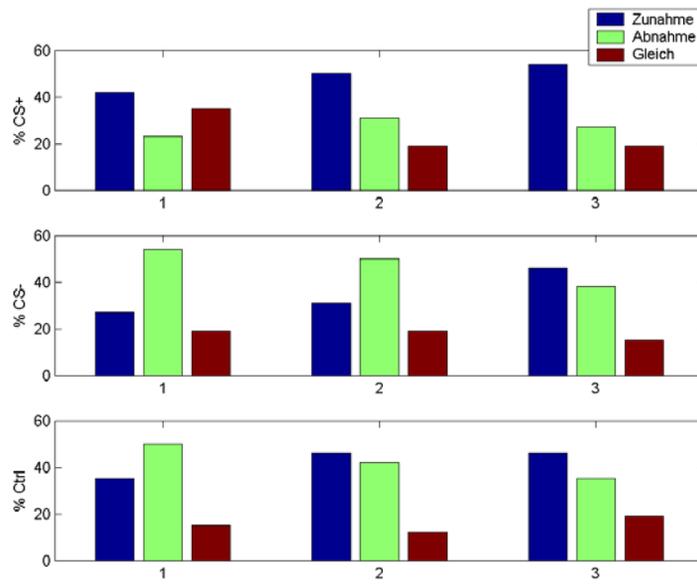


**Abbildung 53: Relatives Verhältnis der Änderungen für N=23 Tiere. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Für CS+, CS- und Kontrollstimulus wurden wieder die Änderungen der Antwortstärken zwischen 1. Trial Prekonditionierung und 1. Trial Test (1), 2. Trial Prekonditionierung und 2. Trial Test (2) und 3. Trial Prekonditionierung und 3. Trial Test (3) berechnet. Diesmal bezeichnet der blaue Balken den Prozentsatz von MUAs, der seine Antwortstärke sich *relativ stärker* für den CS+ als für den CS- (1. Zeile) bzw. für den CS+ als für Ctrl (2. Zeile) bzw. für den CS- als für Ctrl (3. Zeile) vergrößert hat. Der braune Balken kennzeichnet den Prozentsatz von MUAs, die umgekehrt ihre Antwortstärke *relativ stärker* verringert haben**

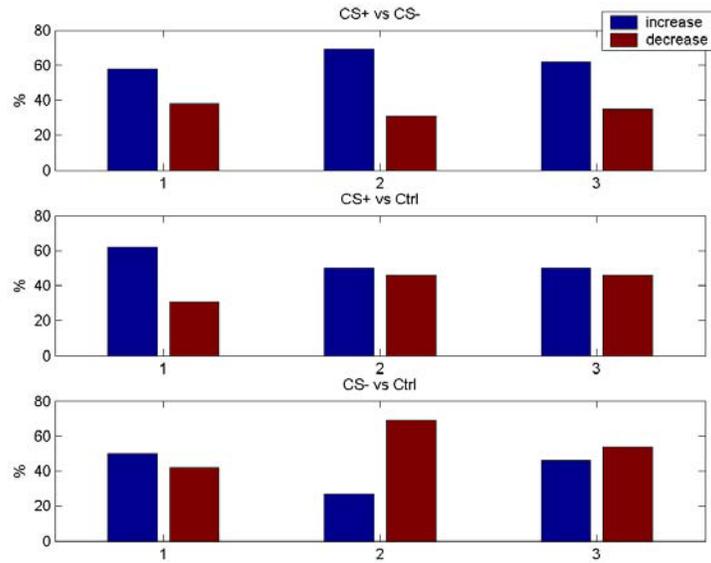
Sowohl im ersten als auch im zweiten 500ms-Zeitfenster der Duftgabe verringert die Mehrzahl der MUAs für CS+ und CS- ihre Antwortstärke. Bemerkenswert ist, dass auch fast die Hälfte der MUAs für den Kontrollstimulus ihre Antwortstärken entweder erhöhen oder verringern, jedoch ohne deutliche Gewichtung zu einer Seite.

Abb.53 zeigt das *Verhältnis* der Ratenänderungen der 3 verschiedenen Stimuli, wieder jeweils im direkten Vergleich aller 3 Trials, um einen relativen Unterschied der Änderungen aufzuzeigen. Die blauen Balken zeigen dabei den Prozentsatz der MUAs, die beispielsweise in der Antwortstärke relativ stärker für den CS+ *zugenommen* haben als für den CS-, während die braunen Balken in diesem Beispiel den Prozentsatz an MUAs darstellen, die ihre Antwortstärke für den CS+ stärker als für den CS- *reduziert* haben. Für Zeitfenster während der Duftgabe nehmen geringfügig mehr MUAs stärker für den CS+ zu als für den CS-.

Für die Gruppe von N=5 Tieren, die anhand der M17-Ableitung den CS+ *eindeutig* gelernt haben und im Zeitfenster der ersten 500 ms *nach Ende* der Stimulation ergibt sich eine qualitative Änderung des Gesamtbildes. Der prozentuale Anteil der MUAs, die ihre Antwortstärke auf den CS+ gegenüber der Prekonditionierung erhöht haben, ist stärker als derjenige der Abnahme der Antwortstärke. Im Verhältnis der Änderung der Antwortstärken ist zu sehen, dass ein höherer Anteil an MUAs relativ stärker auf den CS+ als auf den CS- und den Kontrollstimulus antwortet, und zwar deutlicher als bei Zeitfenstern während der Stimulation.

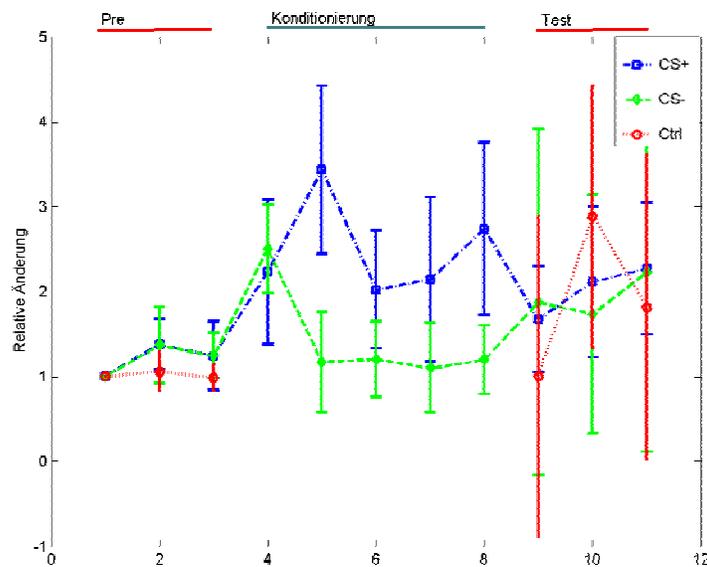


**Abbildung 54: prozentualer Anteil von MUA-Antwortveränderungen für N=5 Tiere mit deutlicher M17-Reaktion auf den US im Test. Zeitfenster 1000-1500 ms**



**Abbildung 55: Relatives Verhältnis der Antwortstärkeänderungen für N=5 Tiere mit deutlicher M17-Reaktion auf den US im Test. Zeitfenster 1000-1500 ms**

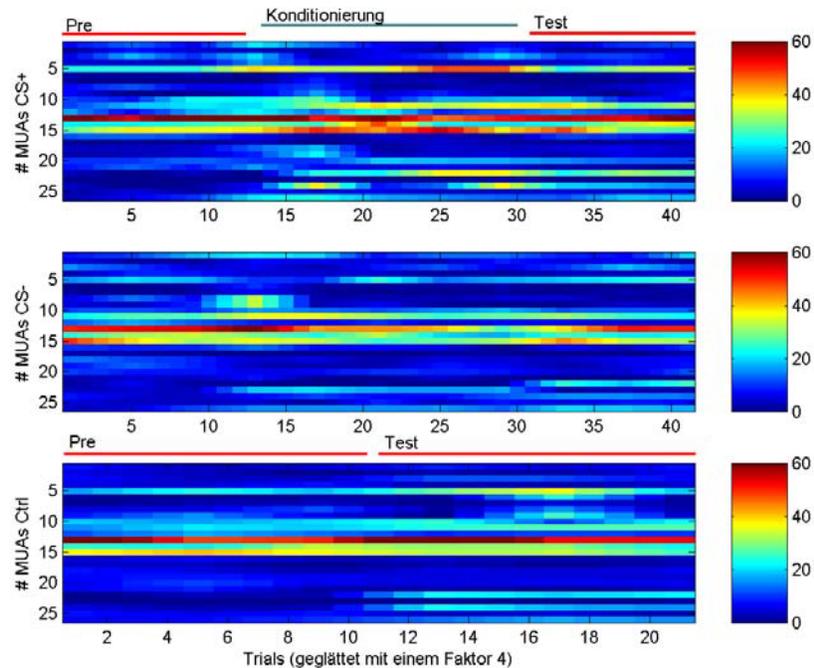
Trägt man für dieselbe Gruppe jeweils das Verhältnis der Ratenänderung jedes Trials im Experiment gegen den auf 1 genormten 1. Trial in der Prekonditionierung auf, so ergibt sich im selben Zeitfenster 1000-1500 ms nach Beginn des Stimulus (was in Prekonditionierung und Testphase dem Bereich 0-500 ms *nach* Stimulusende entspricht) ein signifikanter Unterschied des 2. Konditionierungstrials für den CS+ zu den Konditionierungstrials 2-5 für den CS- (Kruskal-Wallis;  $p=0.001$ ). Die Signifikanz verschwindet wieder für spätere Zeitfenster, so dass ein Anstieg der Antwortstärke, die z.B. ungewollt durch eine Handbewegung zum Tier hin während der US- Applikation ausgelöst worden sein könnte, auszuschließen ist. In einer farbcodierten Darstellung der Anzahl der Spikes pro Trial und Zeitfenster ist ebenfalls für diese Gruppe eine Zunahme



**Abbildung 56: Relative Ratenänderungen für CS+, CS- und Kontrollstimulus gegenüber dem auf 1 normierten 1. Trial in der Prekonditionierung. N=5 Tiere mit eindeutiger M17-Reaktion auf den CS+ in der Testphase. Zeitfenster 1000-1500 ms nach Stimulusbeginn**

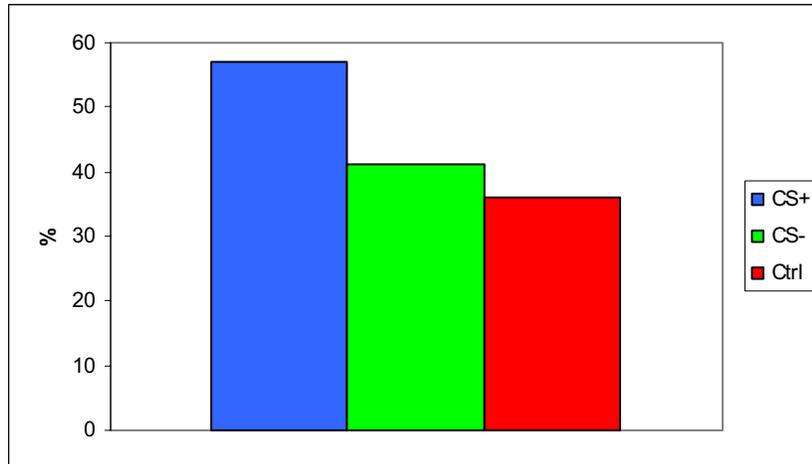
der Antwortstärke auf den CS+ zu erkennen.

Eine Schwierigkeit der Auswertung lag in der Variabilität der Antwortstärken zwischen den Trials einer Experimentphase. Dies gilt vor allem für die Konditionierung. Um ein Maß für die Änderung gegenüber der Prekonditionierungsphase zu haben, wurde der Mittelwert der Antwortstärken in der Prekonditionierung gebildet und die *absolute* Änderung aller Trials in Konditionierung und Test gegenüber diesem Wert zuzüglich der zweifachen Standardabweichung berechnet (95% Konfidenzintervall). Änderte sich die Antwortstärke in der Konditionierung in mindestens 3 von 5 Trials und im Test in mindestens 2 von 3 Trials *unabhängig vom Vorzeichen* gegenüber der Prekonditionierung, wurde dies als Änderung klassifiziert.

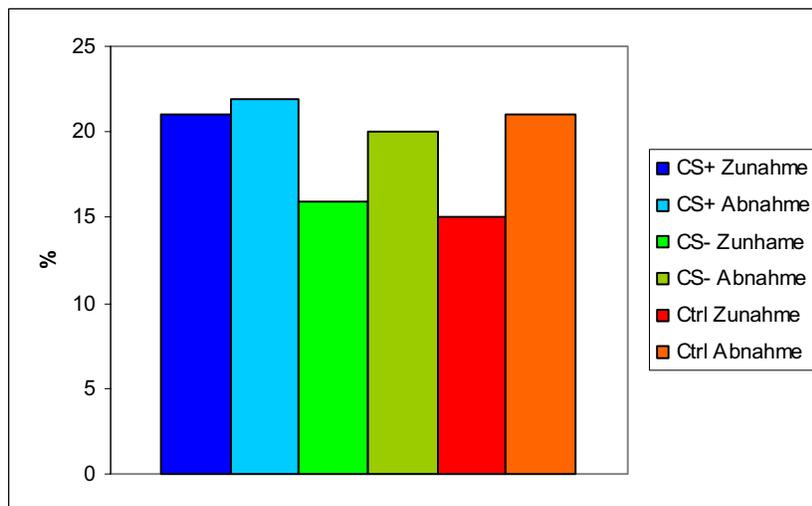


**Abbildung 57:** Farbcodierte Darstellung der Ratenveränderungen über alle Trials der differentiellen Konditionierung derselben Gruppe und desselben Zeitfensters. Die Zeilen entsprechen den MUAs. Die Daten wurden mit einem Interpolationsfaktor 4 geglättet

Für die 3 Zeitfenster 0-500 ms, 500-1000 ms und 1000-1500 ms nach Stimulusbeginn ergab sich das folgende Bild (für alle MUAs und alle N=23 Tiere). Einbezogen sind alle MUAs, die sich entweder in der Konditionierungsphase und/oder im Test gegenüber der Prekonditionierung geändert haben. Im Zeitfenster 0-500 ms hat sich ein Anteil von 57% für den CS+ gegenüber 42% für den CS- und 36% für den Kontrollstimulus gegenüber der Prekonditionierung geändert. Damit haben sich signifikant mehr MUAs für den CS+ als für den CS- (Log-Likelihood-Ratio Test,  $p=0.02$ ) und signifikant mehr MUAs für den CS+ als für den Kontrollstimulus geändert ( $p=0.003$ ). Berücksichtigt man die MUAs nicht, die sich nur in der *Konditionierungsphase* geändert haben, nicht aber im Test, ist die Veränderung beim CS+ immer noch signifikant verschieden vom CS- (46% gegenüber 31%), jedoch nicht mehr vom Kontrollstimulus (46% gegenüber 36%). Sieht man wieder auf das Vorzeichen der Änderungen, so gibt es für alle 3 Stimuli etwa gleich viele Zunahmen wie Abnahmen.



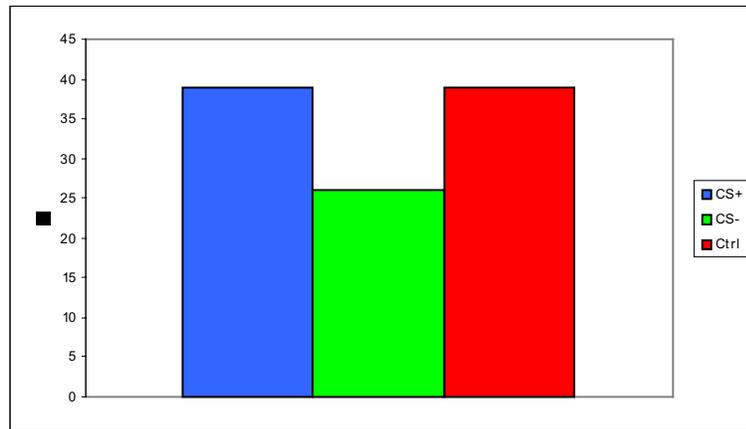
**Abbildung 58: Prozentsatz der absoluten Änderungen von MUAs für CS+, CS- und Kontrollstimulus gegenüber der Prekonditionierung für das Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Es haben sich signifikant mehr MUAs für den CS+ als für den CS- (Log-Likelihood-Ratio Test,  $p=0.02$ ) und signifikant mehr MUAs für den CS+ als für den Kontrollstimulus geändert ( $p=0.003$ ). Zusammengefasst sind alle  $N=23$  Tiere**



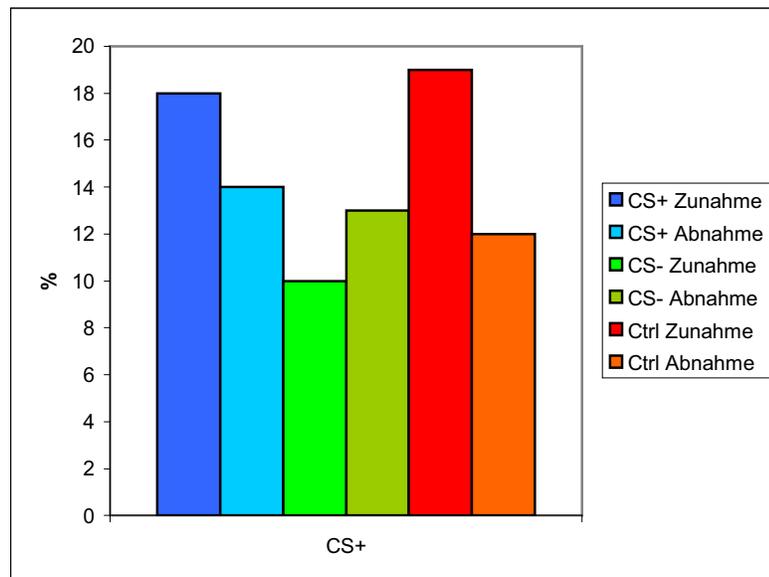
**Abbildung 59: Anteil der Zunahmen und Abnahmen an der Änderung gegenüber der Prekonditionierung für dasselbe Zeitfenster**

Im Zeitfenster 500-1000 ms hat sich ein Anteil von 39% für den CS+ gegenüber 26% für den CS- und 39% für Ctrl gegenüber der Prekonditionierung geändert. Damit haben sich knapp signifikant mehr MUAs für den CS+ als für den CS- geändert (Log-Likelihood-

Ratio Test,  $p=0.049$ ) Berücksichtigt man die MUAs nicht, die sich nur in der *Konditionierungsphase* geändert haben, nicht aber im Test, ist kein signifikanter Unterschied mehr vorhanden.

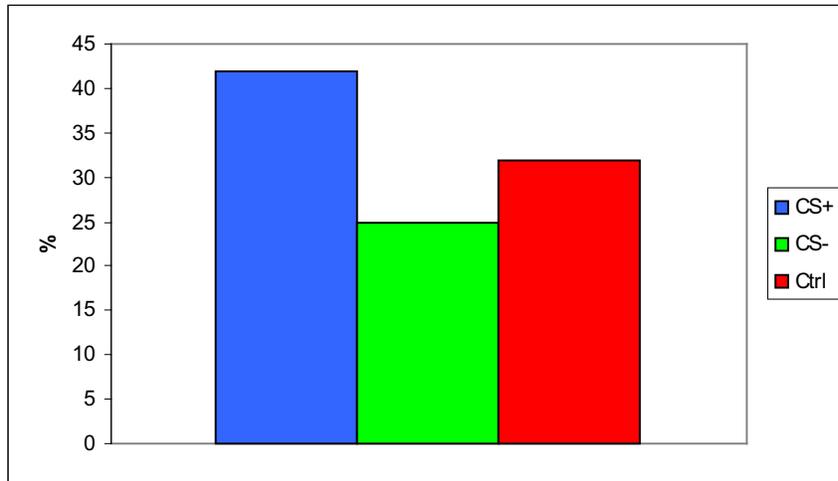


**Abbildung 60: Prozentsatz der absoluten Änderungen von MUAs für CS+, CS- und Kontrollstimulus gegenüber der Prekonditionierung für das Zeitfenster 500-1000 ms nach Stimulusbeginn. Es haben sich knapp signifikant mehr MUAs für den CS+ als für den CS- geändert (Log-Likelihood-Ratio Test,  $p=0.049$ ). Zusammengefasst sind alle  $N=23$  Tiere**

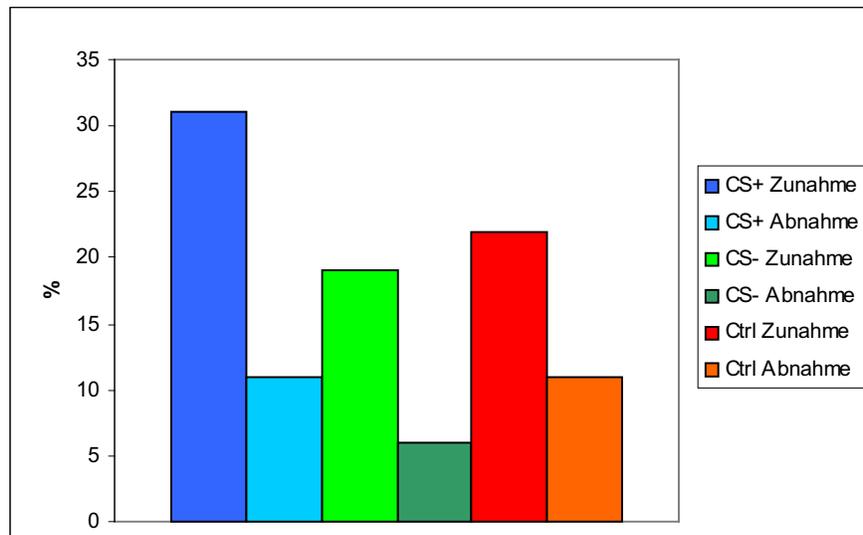


**Abbildung 61: Anteil der Zunahmen und Abnahmen an der Änderung gegenüber der Prekonditionierung für dasselbe Zeitfenster**

Im Zeitfenster 1000-1500 ms hat sich ein Anteil von 42% für den CS+ gegenüber 25% für den CS- und 32% für den Kontrollstimulus gegenüber der Prekonditionierung geändert. Damit haben sich signifikant mehr MUAs für den CS+ als für den CS- (Log-Likelihood-Ratio Test,  $p=0.02$ ) gegenüber der Prekonditionierung verändert. Es wurden nur Veränderungen in Betracht gezogen, die zwischen Prekonditionierung und Test auftraten, da die Duftgabe in der Konditionierung länger war als in den beiden anderen Phasen und die Antworten in diesem Zeitfenster daher nicht miteinander vergleichbar waren.

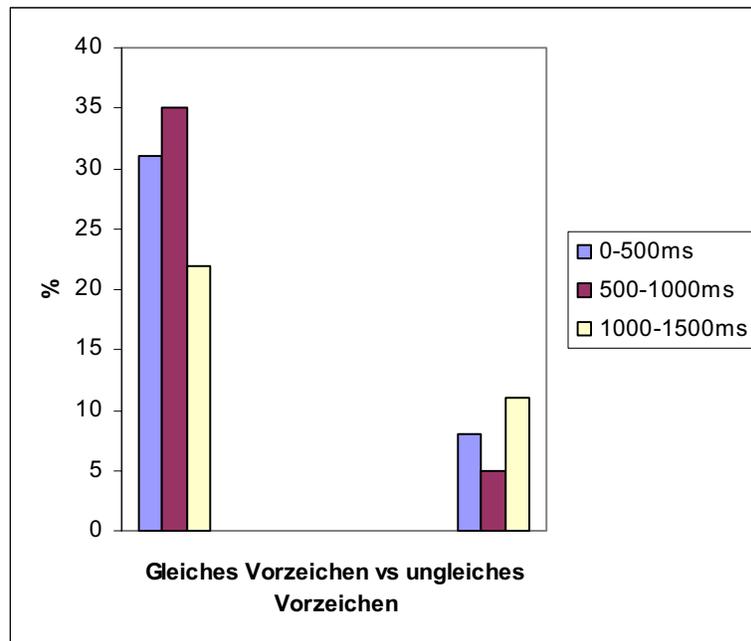


**Abbildung 62: Prozentsatz der absoluten Änderungen von MUAs für CS+, CS- und Kontrollstimulus gegenüber der Prekonditionierung für das Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusende. Es haben sich signifikant mehr MUAs für den CS+ als für den CS- (Log-Likelihood-Ratio Test,  $p=0.02$ ) gegenüber der Prekonditionierung verändert. Zusammengefaßt sind alle  $N=23$  Tiere**



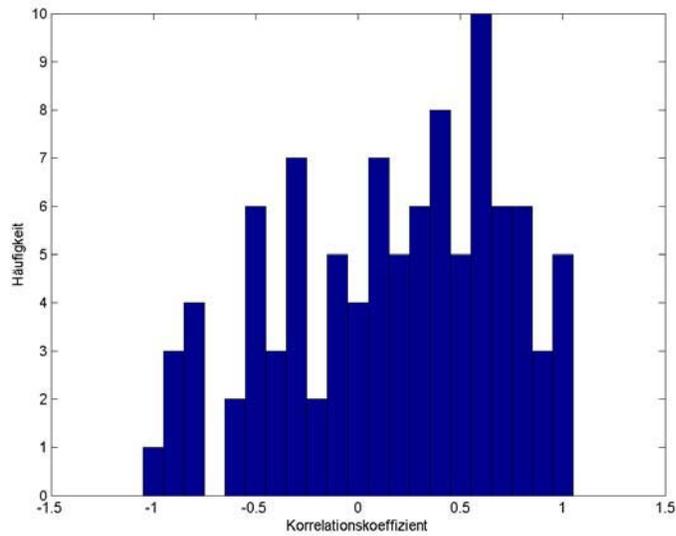
**Abbildung 63: Anteil der Zunahmen und Abnahmen an der Änderung gegenüber der Prekonditionierung für dasselbe Zeitfenster**

In allen Zeitfenstern war zu beobachten, dass sich die MUAs, wenn sie für mindestens 2 der 3 Stimuli gleichzeitig eine Änderung im Test gegenüber der Prekonditionierung zeigten, in der Mehrheit unter demselben Vorzeichen veränderten, d.h. z.B. ein Anstieg der Antwortstärke beim CS+ beinhaltete auch einen Anstieg beim CS- und/oder Kontrollstimulus.

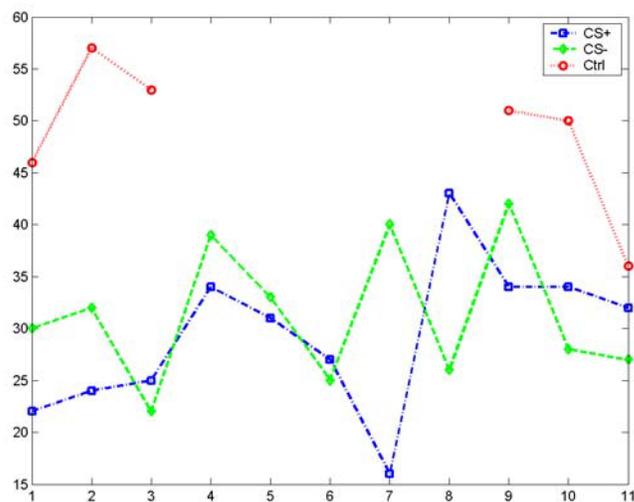


**Abbildung 64: Vorzeichen der Antwortstärkeänderung im Test für MUAs, die sich für mindestens 2 der 3 Stimuli geändert haben. Auf der linken Seite ist für die 3 Zeitfenster der Prozentanteil der MUAs zu sehen, der sich für alle Stimuli unter demselben Vorzeichen geändert hat, während sich auf der rechten Seite der Prozentanteil befindet, der sich für den CS+ gegenüber CS- und/oder Ctrl mit umgekehrtem Vorzeichen geändert hat: Zusammengefaßt sind alle N=23 Tiere**

Die Antwortstärke der Trials in der Konditionierungsphase ist gekennzeichnet durch starke Schwankungen. Dennoch besteht eine Korrelation zwischen den Trials für CS+ und CS- und damit zwischen der Schwankung der Antwortstärken der Trials, wie es aus dem Korrelogramm ersichtlich ist. Das Maximum ist deutlich im positiven Bereich. Bemerkenswert ist hier auch der antiphasische Anteil, d.h. MUAs, die „gegenphasisch“ in der Antwortstärke schwanken.

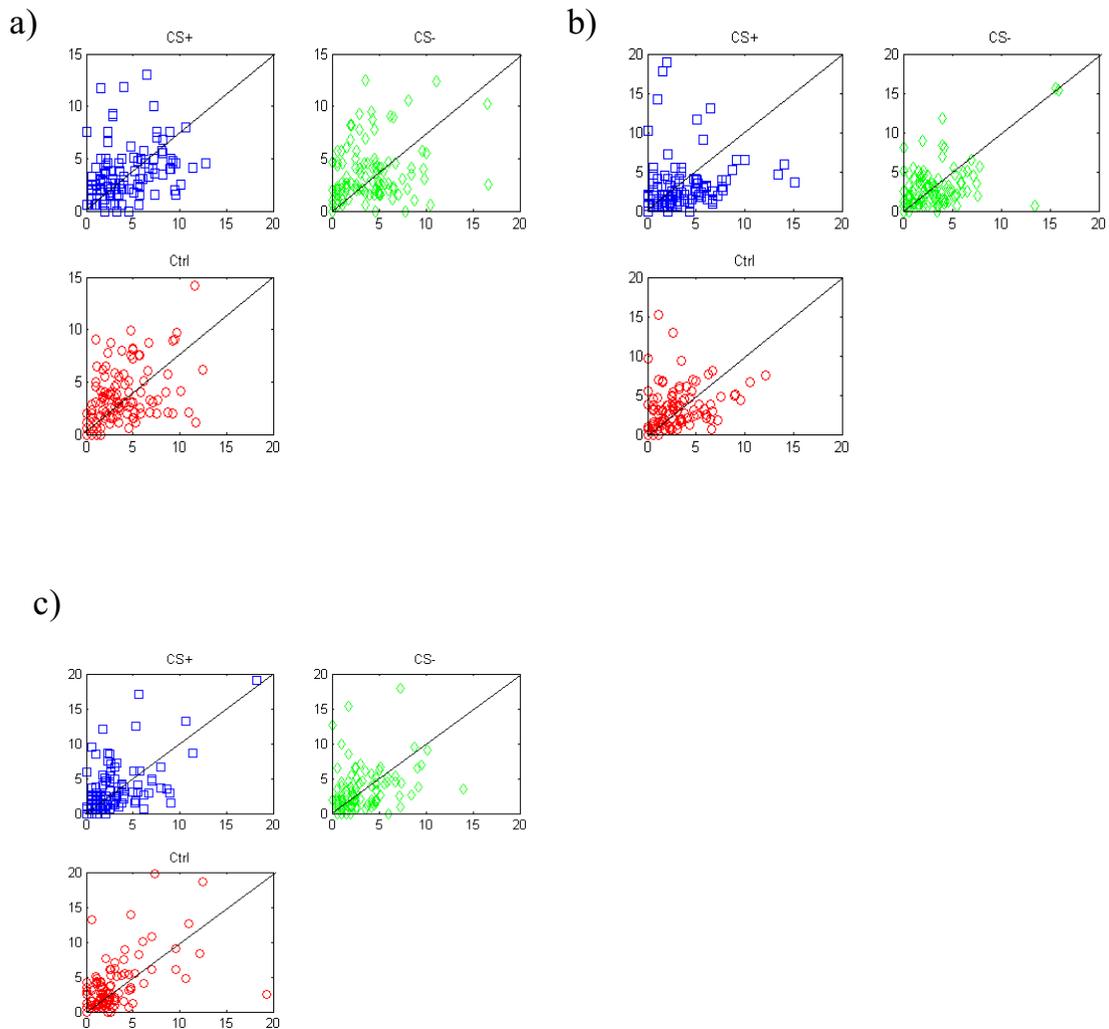


**Abbildung 65:** Korrelogramm der Antwortstärken für CS+ und CS- für alle Trials in der Konditionierung. Für jede MUA wurde die Antwortstärke auf den CS+ mit der Antwortstärke auf den CS- korreliert. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Zusammengefaßt sind alle N=23 Tiere



**Abbildung 66:** Beispiel für ein gegenphasisches Verhalten der Konditionierungstrials für CS+ und CS- für dieselbe MUA in der Konditionierung. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn

Eine weitere Möglichkeit lernbedingter Veränderung könnte die Änderung der Variabilität der Duftantworten von Prekonditionierung zu Test sein. Zu diesem Zweck wurde für CS+, CS- und Ctrl die Standardabweichung der 3 Trials in der Prekonditionierung gegen die Standardabweichung im Test aufgetragen. Es konnte aber keine eindeutige Änderung festgestellt werden (Abb.67).



**Abbildung 67:** Aufgetragen ist für alle MUAs und alle Tiere die Standardabweichung der 3 Trials in der Prekonditionierung (x-Achse) gegen die Standardabweichung der 3 Trials im Test. (a): Zeitfenster 0-500ms nach Stimulusbeginn. (b): 500-1000 ms nach Stimulusbeginn. (c):0-500 ms nach Stimulusende

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in Einzeltieren kein eindeutig erkennbarer Trend in der Entwicklung der Antwortstärken zu erkennen ist. Das Zusammenfassen aller Tiere ergibt, dass die Mehrzahl der MUAs für CS+ und CS- im Test gegenüber der Prekonditionierung ihre Antwortstärke während der Duftgabe verringern, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen CS+ und CS- gefunden werden konnte. Dies ist für den Kontrollstimulus nicht zu erkennen. Fasst man die Tiere zu einer Gruppe zusammen, die anhand der M17-Ableitung als „gelernt“ eingestuft wurden, so ist im Zeitfenster bis 500 ms *nach* Stimulusende ein Unterschied zu erkennen. Für den CS+ erhöhten hier die Mehrzahl der MUAs im Test gegenüber der Prekonditionierung ihre Antwortstärke. Innerhalb der Konditionierungsphase ist die Antwortstärke auf den CS+ im 2. Konditionierungstrial signifikant stärker als für alle Trials des CS-. Wird nach der *absoluten* Änderung in Konditionierung und/oder Test unabhängig vom Vorzeichen gefragt, ist in allen 3 Zeitfenstern zu sehen, dass signifikant mehr MUAs ihre Antwortstärke auf den CS+ als auf den CS- im Test gegenüber der Prekonditionierung geändert haben. Ein wichtiger Punkt ist weiterhin die starke Variabilität der Duftantworten bereits in der Prekonditionierung. MUAs, die sich im Test gegenüber der Prekonditionierung für mindestens 2 der 3 Stimuli in ihrer Antwortstärke ändern, tun dies in den meisten Fällen unter demselben Vorzeichen.

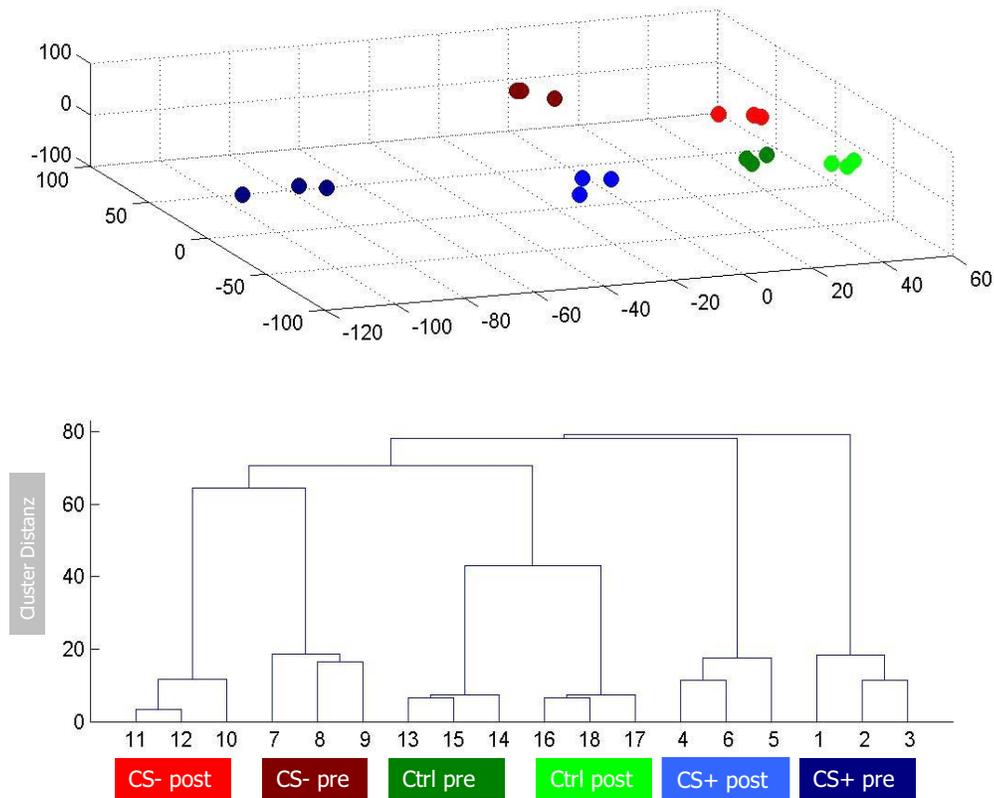
## **5.5 Visualisierung der Ratenveränderungen durch eine Hauptkomponentenanalyse**

### **5.5.1 Die ersten 500 ms nach Stimulusbeginn**

Um einen allgemeinen Trend in der Ratenveränderung in der *Gesamtpopulation* der MUAs über alle Tiere zu finden, kann alternativ auch eine Hauptkomponentenanalyse

durchgeführt werden. Innerhalb eines variablen Zeitfensters wurde wieder die Anzahl der Aktionspotentiale jeder MUA über alle Tiere bestimmt. Die Anzahlen der Aktionspotentiale aller MUAs für CS+, CS- und Kontrollduft für die 3 Trials der Prekonditionierungs- und der Testphase bildeten dann hochdimensionale Repräsentationen der jeweiligen Stimuli. Aus Gründen der Übersichtlichkeit ist zunächst die Konditionierungsphase ausgelassen worden. Das Resultat der Analyse ist in Abb.68 zu sehen.

Die ersten 3 Hauptkomponenten deckten in dieser Analyse mehr als 80% der Gesamtvarianz in den Daten ab.



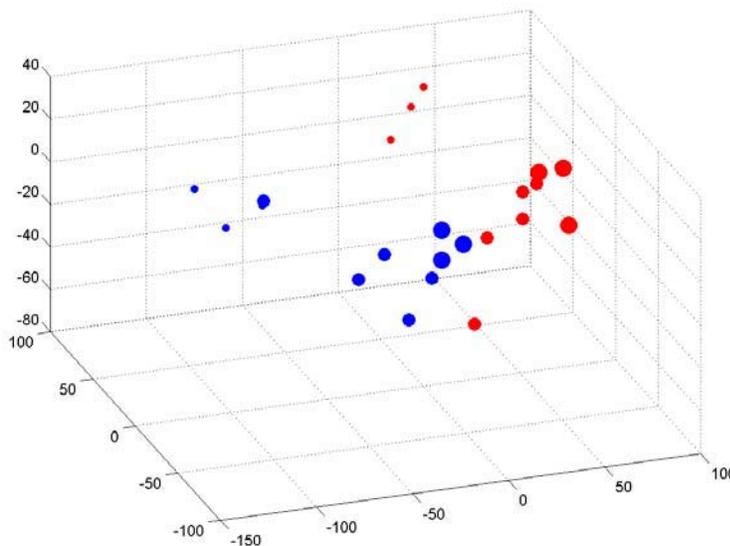
**Abbildung 68: Repräsentation von CS+, CS- und Ctrl für N=23 Tiere im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten. Dargestellt sind jeweils die 3 Trials der Prekonditionierungs- und Testphase. Zeitfenster entspricht 0-500 ms nach Beginn der Stimulation. Das Baumdiagramm zeigt die euklidischen Abstände der Trials untereinander**

Die Abbildung zeigt eine deutliche Gruppierung der Repräsentationen der 3 Duftstimulationen der jeweiligen Stimuli in Prekonditionierungs- und Testphase zu Clustern. Eine solche Clusterbildung ist bereits für ein Zeitfenster der ersten 200 ms nach Beginn der Duftstimulation zu beobachten und während der gesamten Phase der Stimulation, nicht jedoch für die Spontanaktivität der MUAs. Die Eindeutigkeit der Cluster nimmt für Zeitfenster nach den ersten 500 ms ab (siehe extra Kapitel).

Desweiteren ist zu erkennen, dass der Abstand zwischen den Repräsentationen der Prekonditionierungs- und Testphase die Variabilität innerhalb der einzelnen Phasen eindeutig übersteigt. Dies ist auch aus dem Baumdiagramm zu erkennen. Dabei ist der Abstand zwischen den beiden Phasen für CS+ und CS- größer als für den Kontrollstimulus. Bemerkenswert ist ebenso, dass CS+, CS- und Kontrollstimulus stets aus mehreren Düften zusammengesetzt sind, da ja 23 Tiere in die Analyse aufgenommen worden sind. Damit übersteigt der durch die Konditionierung hervorgerufene Unterschied der Repräsentation der Stimuli in den beiden Phasen ebenso die durch verschiedene Düfte hervorgerufene Variabilität.

Abb.69 zeigt die Entwicklung der Repräsentationen für CS+ (blau) und CS- (rot) über *alle* 3 Phasen der differentiellen Konditionierung im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten für dieselbe Analyse, wieder für das Zeitfenster 0-500 ms. Dabei kennzeichnet die ansteigende Größe der Punkte die aufeinanderfolgenden Phasen. Es ist ein deutlicher Unterschied zwischen Prekonditionierungsphase und den beiden anderen Phasen zu erkennen, wobei die Repräsentation des ersten Konditionierungstrials des CS+ eher dem Cluster der Prekonditionierung zuzuordnen ist.

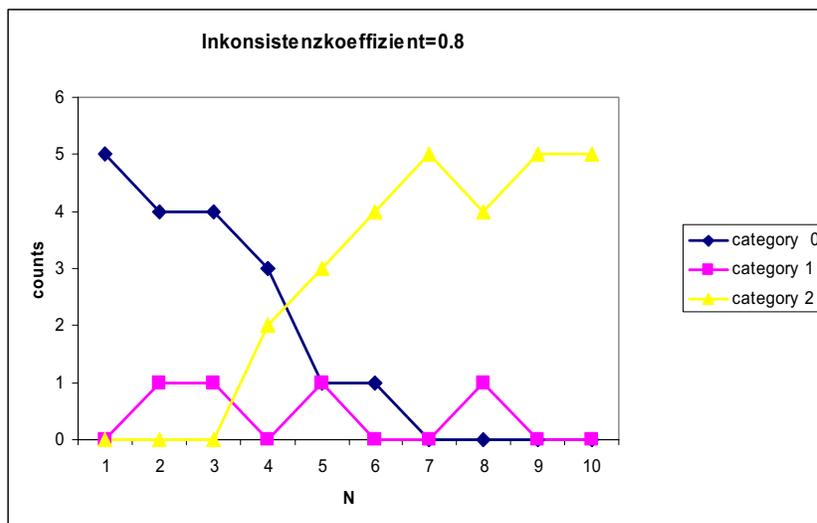
Die Hauptkomponentenanalyse ergibt einen stärkeren Unterschied zwischen Prekonditionierungs- und Testphase für CS+ und CS- als für den Kontrollstimulus. Aus Abb.68 und Abb.69 ergeben sich nun 2 Fragen. Die erste betrifft die Zusammenlegung mehrerer Tiere für die Analyse. Es zeigte sich, dass die aus den Abbildungen ersichtliche Gruppierung zu Clustern am deutlichsten für die



**Abbildung 69: Repräsentation aller Trials aller 3 Phasen der differentiellen Konditionierung für CS+ und CS-. N=23 Tiere, gleiches Zeitfenster wie in der vorherigen Abbildung. Dabei kennzeichnet die ansteigende Größe der Punkte die aufeinanderfolgenden Phasen**

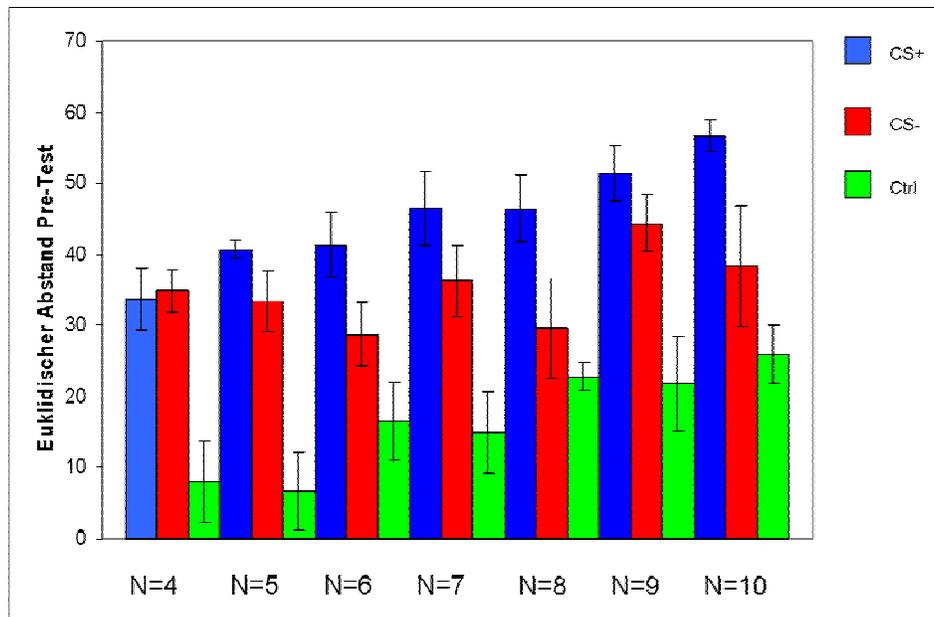
Zusammenlegung aller Tiere war, während die Eindeutigkeit der Gruppierungen für Subensembles von Tieren zurückging. Dies kann unter anderem auch darauf zurückzuführen sein, dass sich ein oder eine kleine Anzahl von Tieren besonders stark

auf das Gesamtergebnis als „Ausreißer“ auswirken. Um diese Möglichkeit auszuschließen, wurden verschiedene Subgruppen mit jeweils verschiedenen Kombinationen von Tieren gebildet und daraufhin ebenfalls eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Als Maß für die Qualität der Gruppierungen der Repräsentation der Experimentphasen zu Clustern galt hierbei der Inkonsistenzkoeffizient. Jeder Vektorpunkt im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten bildet einen bestimmten euklidischen Abstand zu anderen Vektorpunkten bzw. zu Gruppierungen von Punkten. Der Inkonsistenzkoeffizient vergleicht nun den Abstand eines Punktes zu einem bestimmten Cluster mit dem mittleren Abstand zu anderen benachbarten Punkte bzw. Gruppierungen und definiert damit ein Kriterium für die Zugehörigkeit eines einzelnen Vektorpunktes zu einem Cluster. Er kann Werte zwischen 0 und 2 einnehmen. Ein niedriger Inkonsistenzkoeffizient bedeutet dabei eine hohe Zugehörigkeit des Punktes zum Cluster. Als Referenz wurde der Wert 0.8 gewählt, der sich aus der Analyse für die Zusammenlegung aller Tiere und damit der deutlichsten Gruppierung der Experimentphasen zu Clustern ergab. Anhand dieses Referenzwertes konnten nun 3 verschiedene Kategorien für die Qualität der Gruppierung zu Clustern für verschiedene Subensembles von Tieren gebildet werden. Eine Kategorie 0, bei der keine Clusterbildung beobachtet werden konnte; eine Kategorie 1, bei der sich einzelne Phasen oder Stimuli zu Clustern gruppieren, jedoch nicht alle; und eine Kategorie 2, bei der sich alle Experimentphasen zu Clustern gruppieren. Die nachfolgende Graphik zeigt die Verteilung der Kategorien über verschiedene Subensembles von Tieren mit ansteigender Anzahl N. Für jedes feste N wurden hierbei 5 verschiedene Tierkombinationen zusammengefasst, was auf der y-Achse mit „counts“ vermerkt ist. Das Ergebnis zeigt eine deutliche Zunahme der Clusterqualität ab einem N=5, ungeachtet der verschiedenen Kombinationen.



**Abbildung 70: Clusterqualität der Hauptkomponentenanalyse für verschiedene Subensembles von zusammengefaßte Tieren. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Kategorie 0 bezeichnet Subensembles, bei denen keine Clusterbildung zu beobachten war, Kategorie 2 solche, bei denen einzelne-aber nicht alle-Phasen Cluster bildeten, und Kategorie 2 bezeichnet Subensembles, bei denen sich alle Phasen und stimuli zu Clustern formierten**

Abb.71 zeigt die Mittelwerte der euklidischen Abstände im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten zwischen den eindeutig zu Clustern gruppierten Repräsentationen von Prekonditionierungs- und Testphase, jeweils für CS+, CS- und Kontrollstimulus und für verschiedene Subgruppen. Diese variieren hierbei von N=4 bis N=10.



**Abbildung 71: Mittelwerte der euklidischen Abstände zwischen Prekonditionierungs- und Testphase jeweils für die Cluster von CS+, Cs- und Ctrl für verschiedene Subgruppierungen von Tieren. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Die Anzahl der zusammengefassten Tiere variierte von N=4 bis N=10**

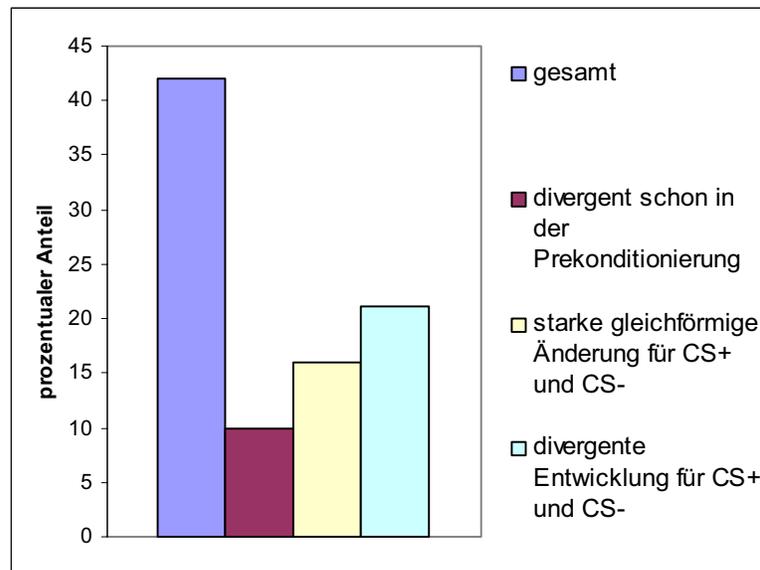
Aus den beiden letzten Abbildungen wird ersichtlich, dass sich das Ergebnis der Hauptkomponentenanalyse qualitativ für verschiedene Kombinationen von Tieren nicht ändert und die Clusterqualität von einer Mindestanzahl von zusammengefassten Tieren, nicht aber vom Einfluss einzelner „Ausreißer“ bestimmt wird. Ebenfalls wurde ein möglicher Einfluss bestimmter Düfte ausgeschlossen.

Die 2. Frage, die sich bei einer Hauptkomponentenanalyse stellt, ist die Frage danach, was genau den Unterschied zwischen Prekonditionierungs- und Testphase ausmacht. Da eine Hauptkomponentenanalyse hochdimensionale Information auf einen niedrigdimensionalen Raum abbildet (hier dreidimensional), ist die ursprüngliche Information, die aus den Raten der MUAs besteht, nicht mehr anschaulich. Eine Antwort findet sich, wenn man die Gewichtung der einzelnen MUAs auf die Repräsentation der Daten im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten untersucht. Dazu wurden alle MUAs aufgrund ihrer Gewichtung auf die ersten 3 Hauptkomponenten sortiert und die Identität

derjenigen MUAs ermittelt, welche einen von Null deutlich verschiedenen Gewichtungsfaktor aufwiesen, woraufhin 38 MUAs (35% der Gesamtpopulation) extrahiert werden konnten die sich gleichwertig über die Gesamtpopulation der Tiere verteilen. Diese Subpopulation konnte daraufhin je nach Antwortcharakteristik in 3 weitere Gruppen unterteilt werden. Zu Gruppe 1 (10 MUAs) gehören MUAs, die sich in ihren Antwortstärken auf CS+, CS- und Kontrollstimulus bereits in der Prekonditionierungsphase stark voneinander unterscheiden, sich in ihrem Verhalten während der Konditionierung aber ähneln. Gruppe 2 (11 MUAs) zeigt für CS+ und CS- ähnliche Antwortstärken und ändert sich im Lauf der Konditionierungsphase besonders stark (mehr als 100%). Dabei sinken die Antwortstärken in 9 Fällen, während sie in 2 Fällen größer werden. Gruppe 3 (17 MUAs) zeigt für die 3 Stimuli ein ähnliches Verhalten in der Prekonditionierung, divergiert jedoch in der Konditionierungsphase und/oder in der Testphase stark auseinander.

Ein Charakteristikum, das allen Subgruppen gemein ist, ist die vergleichsweise hohe Antwortstärke ab etwa 50-60 Hz entweder von Anfang an oder im Verlauf der Konditionierung. MUAs mit geringeren Antwortstärken fallen bei der Hauptkomponentenanalyse weniger ins Gewicht. Um nicht absolute Unterschiede der Raten anzuzeigen, sondern relative, bei denen auch MUAs mit geringeren Antwortstärken in der Analyse berücksichtigt werden, wurden für jede MUA und jeden Trial die relativen Ratenänderungen zum auf 1 genormten 1. Trial in der Prekonditionierungsphase gebildet und ebenfalls einer Hauptkomponentenanalyse unterzogen. Zusätzlich zu den 38 bereits gefundenen MUAs mit starkem Einfluss auf die Hauptkomponenten konnten 8 weitere MUAs bestimmt werden, die sich den 3 Gruppen ebenfalls zuordnen ließen.

Damit haben 42% der MUAs im Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn einen starken Anteil an den Abständen der einzelnen Cluster bei einer Hauptkomponentenanalyse. Sie sind gleichmäßig über alle Tiere verteilt.



**Abbildung 72: Subgruppen von MUAs mit hohem Gewichtungsfaktor auf die ersten 3 Hauptkomponenten. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Zusammengefaßt sind alle N=23 Tiere**

## 5.5.2 Subgruppen aus der Hauptkomponentenanalyse

Die Hauptkomponentenanalyse zeigte bereits, dass sich das Antwortverhalten der MUAs während des Experiments in mehrere Gruppen unterteilen lässt. Die 1. Gruppe zeigt dabei bereits in der Prekonditionierung sehr verschiedene Antwortstärken und hat deswegen einen hohen Anteil am Clusterabstand der Prekonditionierungstrials. Der Verlauf der Ratenänderungen über Konditionierungs- und Testphase ist aber für CS+ und CS- ein ähnlicher.

Gruppen 2 und 3 zeigen ähnliche Antwortstärken in der Prekonditionierung. Besonders interessant ist hier natürlich Gruppe 3, da sich CS+ und CS- während der Konditionierung und/oder in der Testphase voneinander unterscheiden.

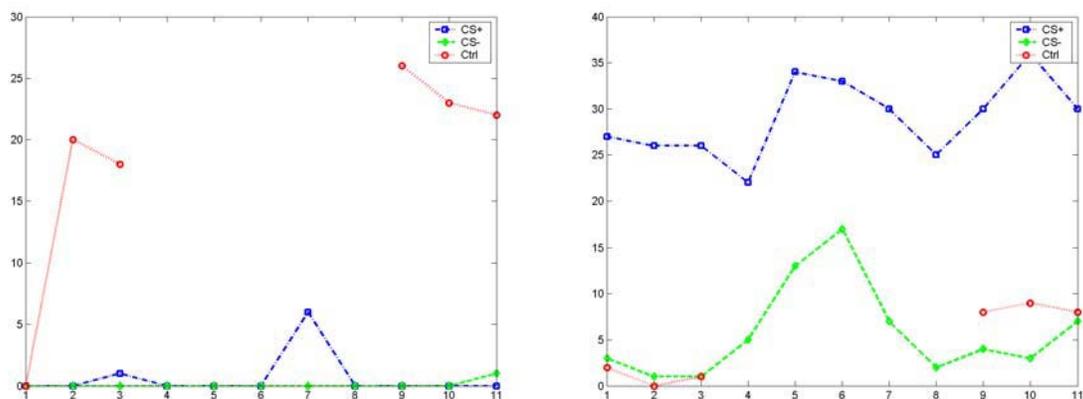
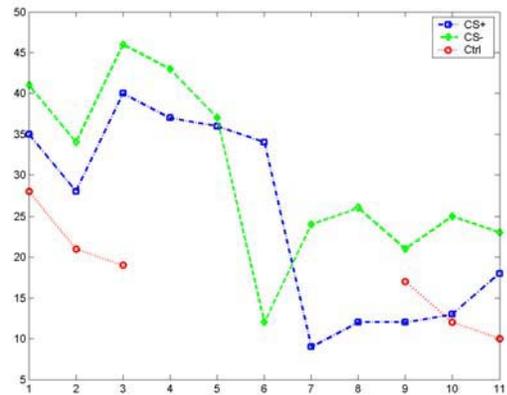
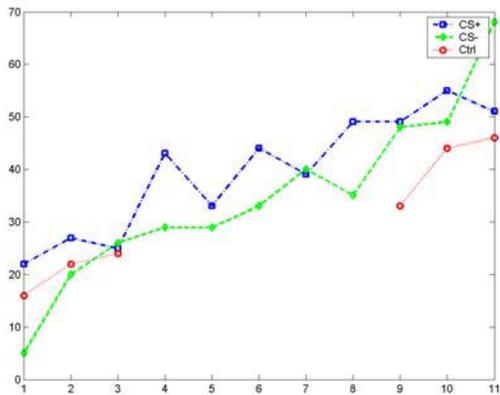
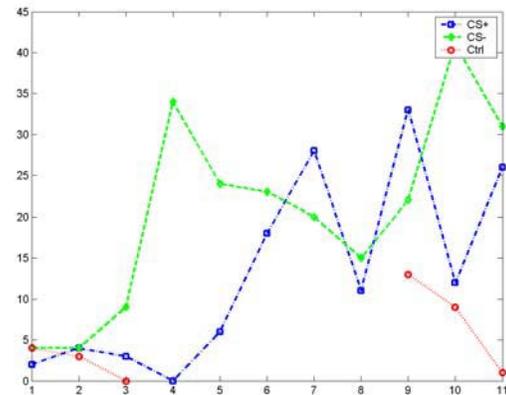
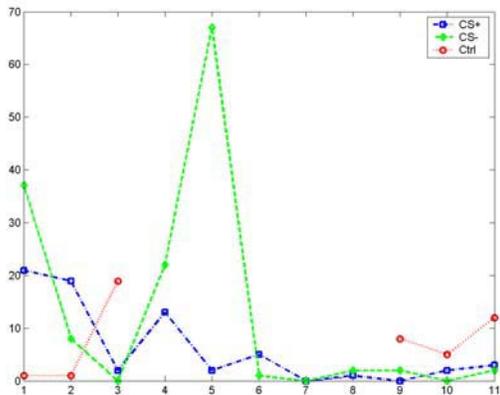


Abbildung 73: 2 Beispiele für Gruppe 1. Zu sehen sind die Antwortstärken zweier MUAs aus 2 verschiedenen Tieren in den ersten 500 ms der Duftgabe über alle Trials des Experiments



**Abbildung 74: 2 Beispiele für Gruppe 2. Zu sehen sind die Antwortstärken zweier MUAs aus 2 verschiedenen Tieren in den ersten 500 ms der Duftgabe über alle Trials des Experiments**



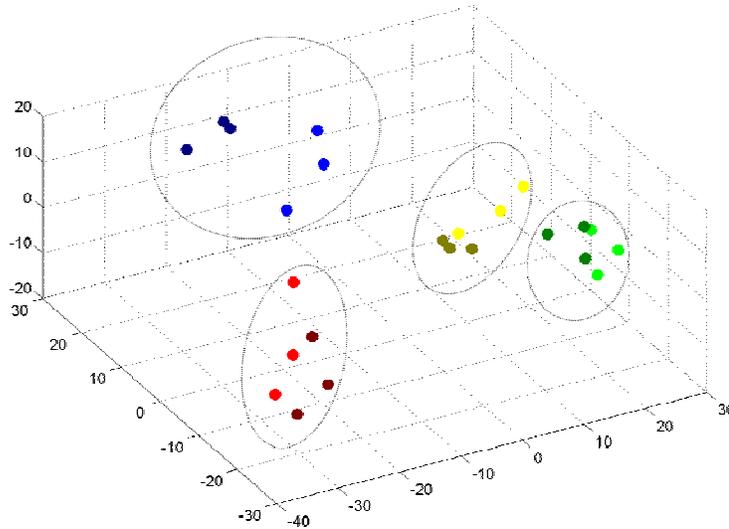
**Abbildung 75: 2 Beispiele für Gruppe 3. Zu sehen sind die Antwortstärken zweier MUAs aus 2 verschiedenen Tieren in den ersten 500 ms der Duftgabe über alle Trials des Experiments**

Wie bereits bei Einzeltieren, kann auch für Gruppe 3 kein genereller Trend in der Entwicklung von CS+ und CS- vorgefunden werden. Alle Varianten sind vorhanden. Es gibt MUAs, die sich in nur einem Trial innerhalb der Konditionierungsphase deutlich voneinander unterscheiden als solche, die eine Zunahme der Antwortstärke auf den CS+ bei gleichzeitigem Rückgang für den CS- zeigen bzw. genau umgekehrt. Die

Antwortstärke in den 5 Trials der Konditionierungsphase zeigt in Gruppe 3 starke Sprünge.

Sämtliche MUAs aus den Gruppen 2 und 3 gehören zu den MUAs, die sich anhand des Kriteriums des vorherigen Kapitels (Abstand zum Mittelwert der Prekonditionierung zuzüglich der zweifachen Standardabweichung) von der Prekonditionierung unterscheiden. Das qualitativ gleiche Ergebnis war auch für das Zeitfenster 500-1000 ms nach Stimulusbeginn zu beobachten.

Eine wichtige Frage ist die nach der Stabilität der Duftrepräsentationen im AL. Die beobachteten Änderungen der Antwortstärke sollten nicht die Eindeutigkeit der Repräsentation beeinflussen. Um darüber eine Aussage machen zu können, wurden die Repräsentationen der Düfte in der Prekonditionierung und im Test über mehrere Tiere einer Hauptkomponentenanalyse unterzogen. Wieder entsprechen drei Punkte im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten den 3 Trials einer der beiden Experimentphasen. Diesmal sind jedoch nicht die Antworten über mehrere Tiere hinweg zu CS+, CS- oder Kontrollstimulus zusammengefasst, sondern über mehrere Tiere hinweg duftspezifisch. Das bedeutet, dass im Test ein Duft in seiner multidimensionalen Repräsentation sowohl CS+ als auch CS- oder Kontrolle gewesen sein kann, je nach Kombination der Tiere. In Abb.76 ist stellvertretend für 4 Düfte und jeweils 4 Tiere pro Duft zu sehen, dass die Repräsentationen von Prekonditionierung und Test für jeden Duft Cluster bilden und sich von den Repräsentationen der anderen Düfte trennen lassen. Dies ist zumindest ein Hinweis dafür, dass trotz der durch die Konditionierung bedingten Antwortstärkveränderungen die Identität der Düfte erhalten bleibt.



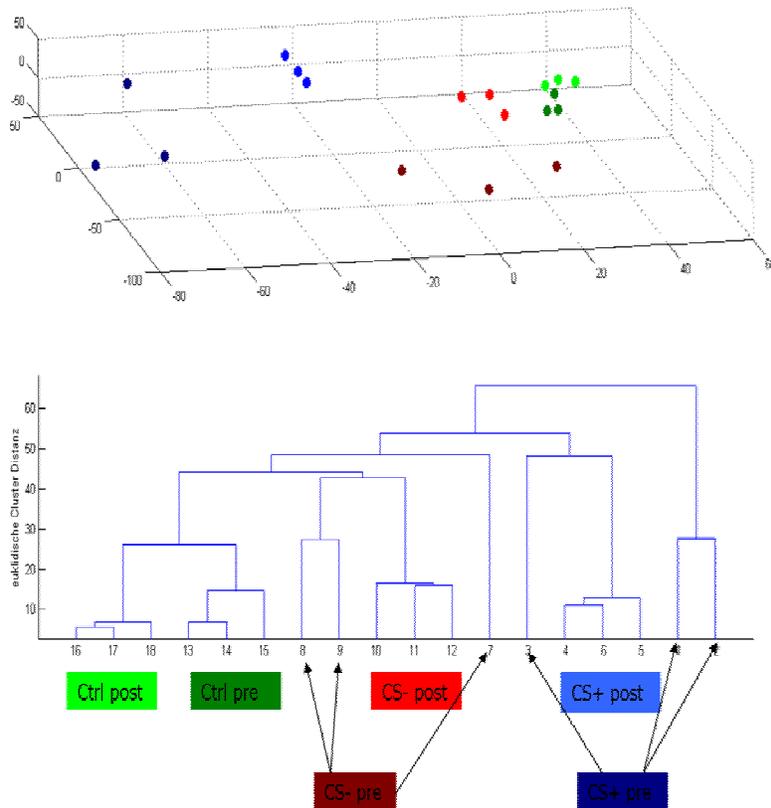
**Abbildung 76: Repräsentation der Düfte 1-Heptanol (blau), 1-Octanol (grün), 2-Heptanon (rot) und 1-Hexanal (gelb) in Prekonditionierung und Test. Pro Duft wurden 4 verschiedene Tiere zusammengefasst. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. trotz der durch die Konditionierung bedingten Antwortstärkveränderungen bleibt die Identität der Düfte erhalten**

### **5.5.3 Die Zeitfenster 500-1000 ms und 1000-1500 ms nach Stimulusbeginn**

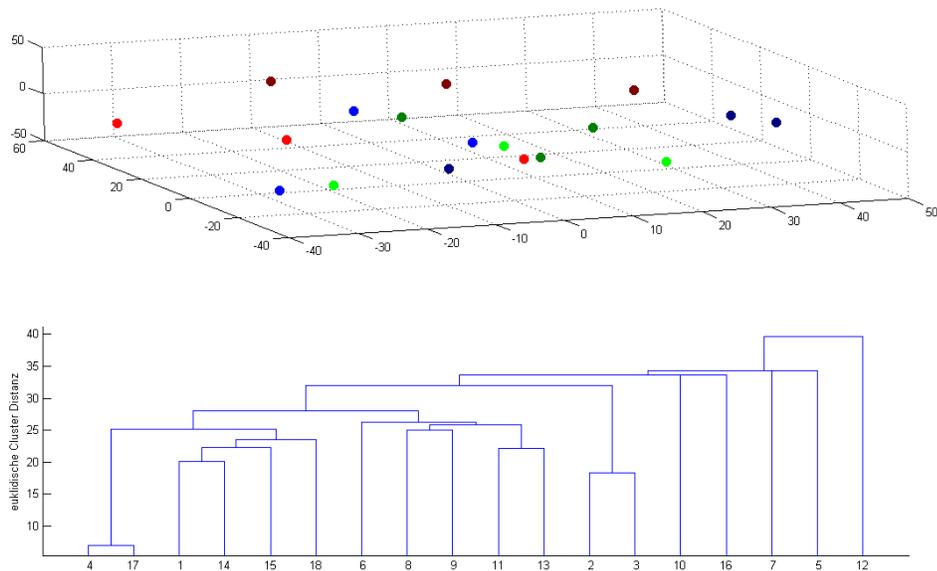
Abb.68 zeigte für das Zeitfenster der ersten 500 ms nach Stimulusbeginn, dass sich die Trials der Stimuli in den Experimentphasen bei einer Hauptkomponentenanalyse deutlich zu Clustern gruppieren. Die MUAs mit starker Gewichtung auf die 1. Hauptkomponenten ließen sich dabei in Subgruppen einordnen, von denen die 2. und 3. Gruppe zu den MUAs gehört, die sich anhand des Kriteriums der Einzelanalyse (Abstand zum Mittelwert der Prekonditionierung zuzüglich der zweifachen Standardabweichung) von der Prekonditionierung unterscheiden.

Das qualitativ gleiche Ergebnis war auch für das Zeitfenster 500-1000 ms nach Stimulusbeginn zu beobachten. Wie erwähnt, nahm aber die Qualität der Gruppierung zu

Clustern für Zeitfenster später als 0-500 ms nach Stimulusbeginn ab. Für das 3. untersuchte Zeitfenster von 500 ms nach Stimulusende können bereits keine deutlichen Cluster mehr beobachtet werden. Da die Antwortstärke der meisten MUAs auf einen Duft nach Stimulusende wieder auf das Niveau der Spontanaktivität zurückfiel, ist dies auch nicht zu erwarten. Aus diesem Grund kann mit der Hauptkomponentenanalyse für diesen Zeitbereich keine weitere Aussage gemacht werden.



**Abbildung 77: Repräsentation von CS+, CS- und Ctrl für N=23 Tiere im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten. Dargestellt sind jeweils die 3 Trials der Prekonditionierungs- und Testphase. Zeitfenster entspricht 500-1000 ms nach Beginn der Stimulation**



**Abbildung 78: Repräsentation von CS+, CS- und Ctrl für N=23 Tiere im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten. Dargestellt sind jeweils die 3 Trials der Prekonditionierungs- und Testphase. Zeitfenster entspricht 0-500 ms nach Stimulusende. Es ist keine Clusterbildung mehr zu erkennen**

Dies gilt auch für die Gruppe der N=5 gelernten Tiere.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich mit einer Hauptkomponentenanalyse für zusammengefasste Gruppen von Tieren die 3 Experimentphasen für CS+, CS- und Kontrollstimulus während der Stimulusdauer zu Clustern gruppieren, wenn als Parameter die Spikeanzahl gewählt wird. Dafür ist eine „kritische Menge“ von Tieren notwendig. Die Distanz zwischen Prekonditionierung und Test ist dabei für den CS+ größer als für CS- und Ctrl. Dieses Ergebnis bestätigt somit das Ergebnis der Auswertung der einzelnen MUAs. Eine genauere Untersuchung der MUAs mit starkem Einfluss auf die ersten 3 Hauptkomponenten ergibt 3 Subgruppen. Die erste zeigt bereits in der Prekonditionierung für die verschiedenen Stimuli stark unterschiedliche Antwortstärken. Die 2. Gruppe ändert ihre Antwortstärke während der Konditionierungsphase und im Test in gleicher Weise für CS+ *und* CS-, während die 3. Gruppe eine Divergenz in der Änderung der Antwortstärke zwischen CS+ und CS- ab der Konditionierung aufweist. Die 2. und die 3. Gruppe gehört dabei zu den MUAs, die sich anhand des Kriteriums für die Einzelanalyse im vorherigen Kapitel in der Konditionierung und/oder im Test deutlich von der Prekonditionierungsphase unterscheiden.