

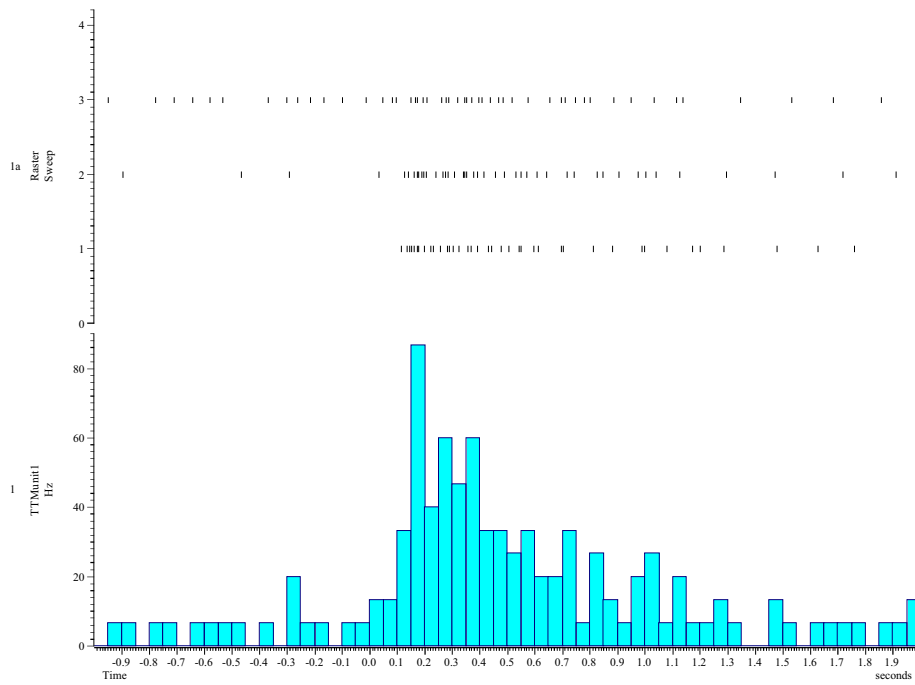
## 10 Ergebnisse: Differentielle Konditionierung und MUA im $\alpha$ -L

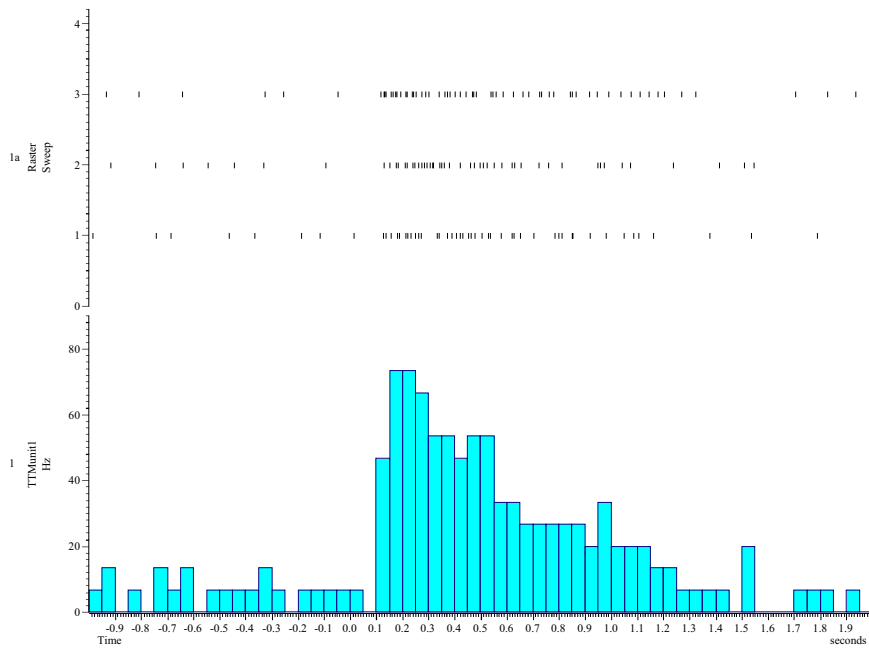
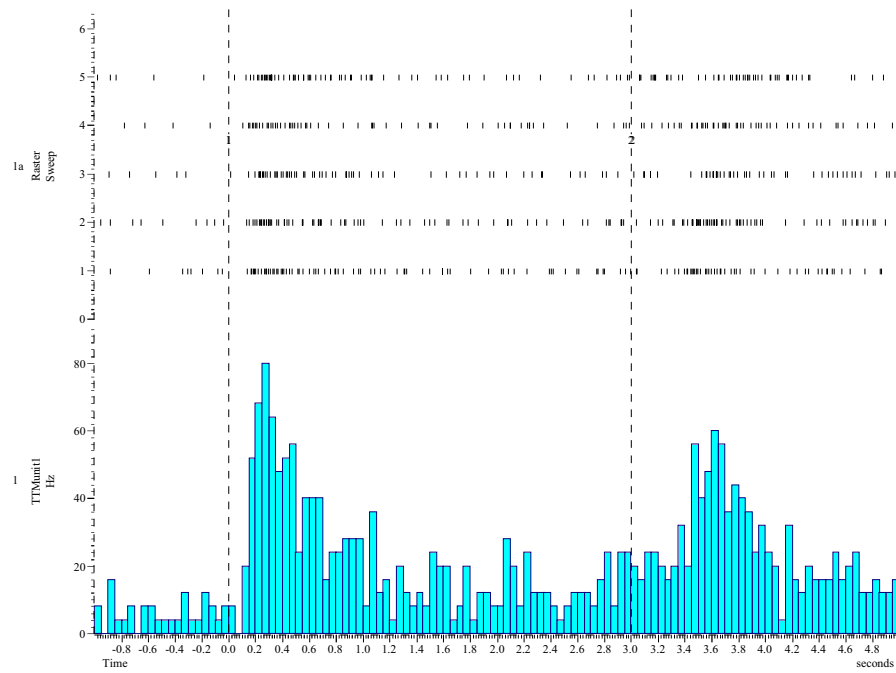
Analog zum AL wurde auch hier die Fragestellung untersucht, ob und wie sich die Konditionierung auf die Antwortstärken der MUAs auswirkt.

2 Fälle für eine deutliche Änderung bzw. Umstrukturierung im Antwortverhalten wurden gefunden. Es handelt sich um jeweils 2 MUAs in 2 verschiedenen Tieren, die in der Prekonditionierung nicht auftraten und erst in der Konditionierungsphase erschienen (aber auf alle 3 Stimuli antworteten). Eine weitere Einschränkung ist, dass von den 18 untersuchten Tieren nur eines eine klare CS+-spezifische M17-Antwort in der Testphase zeigte. Auch hier soll zunächst untersucht werden, ob es MUAs gab, die in der Konditionierungsphase sowohl auf den CS+ als auch auf den US geantwortet haben, und ob sich diese MUAs gegenüber anderen unterschieden. Im Unterschied zum Antennallobus waren bei den  $\alpha$ -L-Experimenten die Reihenfolgen der Stimuli ausbalanciert, d.h. CS+ war gleich häufig erster. Duft in Prekonditionierung, Konditionierung und Test wie CS- und Ctrl.

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

Im Vergleich zum AL zeigten *alle* MUAs eine exzitatorische Antwort während der US-Applikation in der Konditionierungsphase. Dies ist in Übereinstimmung mit der Funktion der Pilzkörper als Integratoren verschiedener sensorischer Modalitäten.

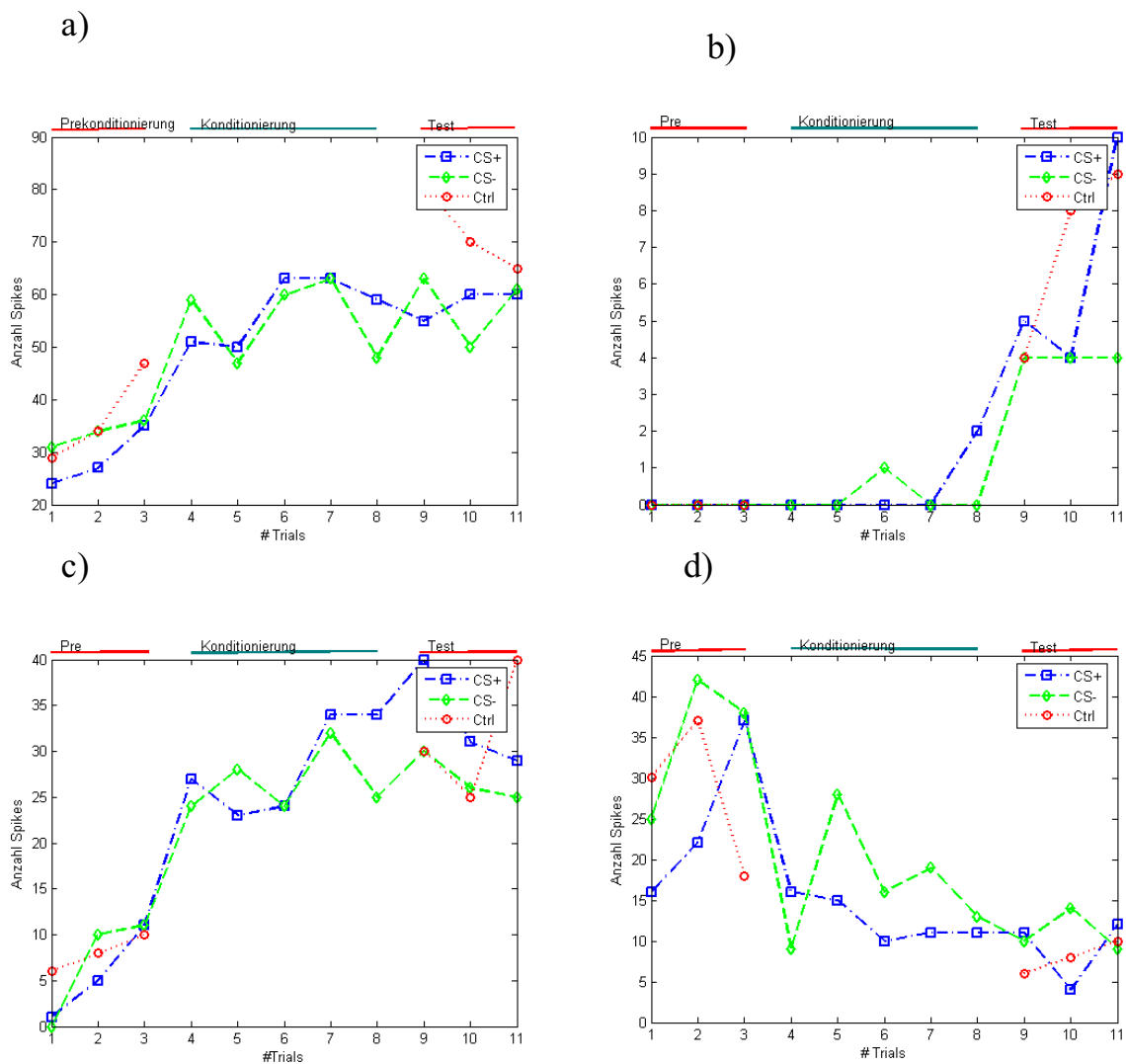




**Abbildung 126: Beispiel einer MUA-Antwort auf CS+ und US in der Konditionierungsphase (b), die Linien markieren jeweils den Anfang von CS+ und US). Dargestellt sind die Antworten in den 3 Experimentphasen (a) Pre, (b) Konditionierung, (c) Test.**

## 10.2 Ratenveränderungen in Einzeltieren

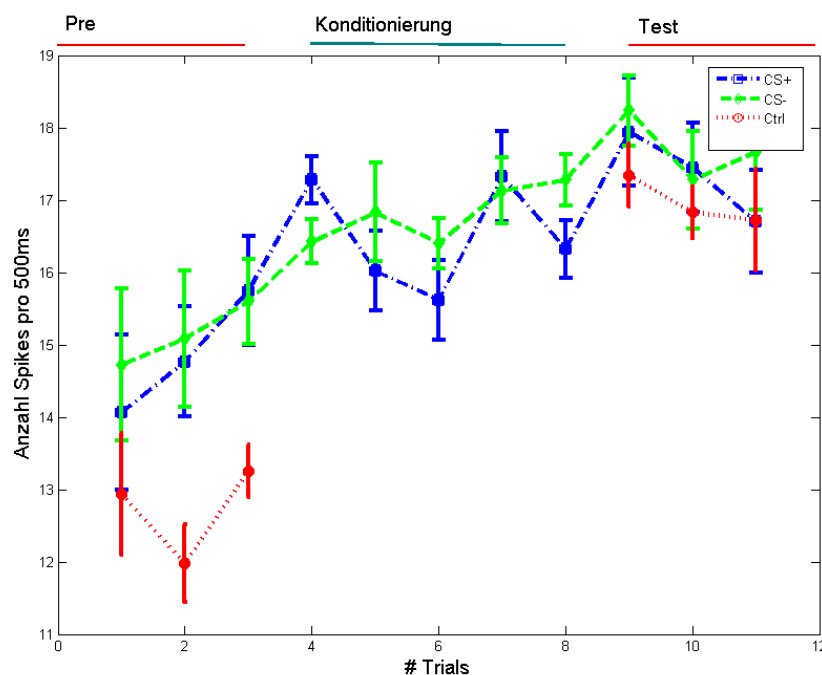
Das folgende Beispiel veranschaulicht die Entwicklung der Antwortstärke der MUAs über alle Trials der differentiellen Konditionierung in einem Tier für die ersten 500 ms der Duftgabe. Der allgemeine Eindruck über alle Tiere hinweg im  $\alpha$ -L war, dass insgesamt weniger starke Schwankungen in den Antwortstärken auftraten. Entweder blieb das Niveau der Antwortstärke konstant, oder die MUAs änderten ihre Antwort in gleicher Weise für CS+, CS- und Ctrl.



**Abbildung 127: Zeitliche Entwicklung der Antwortstärken von 4 MUAs (a-d) im  $\alpha$ -L in einem Tier. Aufgetragen sind die Anzahl der Spikes in einem Zeitfenster der ersten 500 ms nach Stimulusbeginn über alle Trials des Experiments. Abb. a-c zeigen einen deutlichen Anstieg der Antwortstärke, in b erscheint die Antwort erst im Test. Die Entwicklung ist nicht stimuluspezifisch**

### 10.3 Trends in den Ratenveränderungen

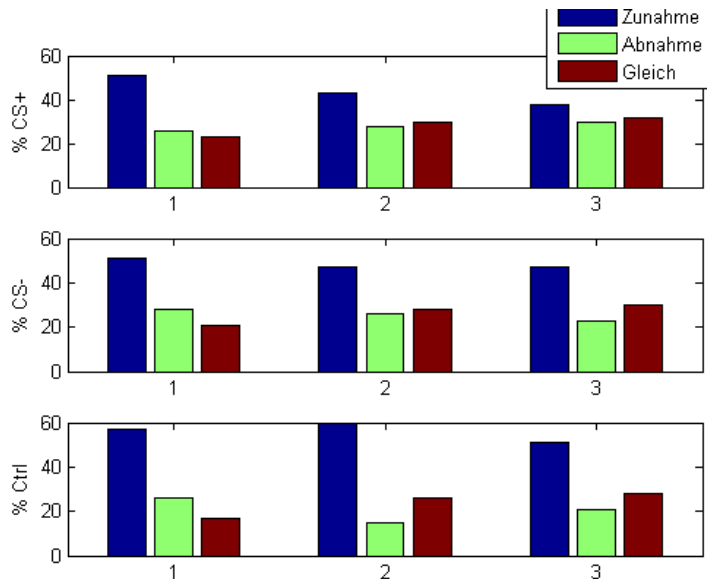
Um einen Überblick über allgemeine Trends in der Entwicklung der Antwortstärke zu erhalten, wurden wieder alle Tiere zusammengefasst und der Verlauf der Mittelwerte der Raten über alle Trials des Experiments dargestellt (Abb.128).



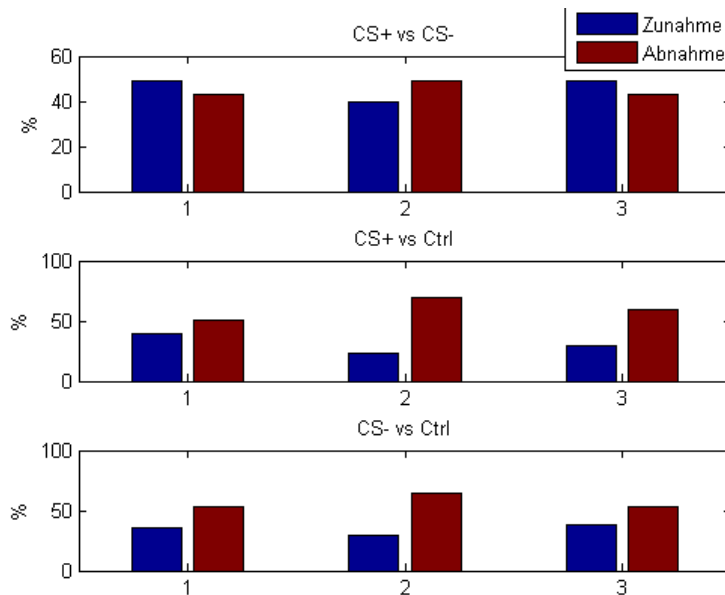
**Abbildung 128: Mittelwerte der Raten für alle MUAs aus N=18 Tieren über alle Trials der differentiellen Konditionierung. Zeitfenster: 0-500ms nach Beginn der Stimulation**

Für alle 3 Stimuli ist ein Anstieg der Antwortstärken zu beobachten, im Gegensatz zum Rückgang im AL bei CS+ und CS-. Auch liegen die Mittelwerte für den Kontrollstimulus in der Prekonditionierung niedriger, was in der Testphase aber nicht mehr der Fall ist. Eine mögliche Erklärung für die Differenz in der Prekonditionierung ist auch hier wieder eine unbewusste Vorselektierung der Stimuli.

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.129 dargestellt. Für CS+, CS- und Kontrollstimulus wurden wieder 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 129:** Prozentualer Anteil von MUAs für alle N=18 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

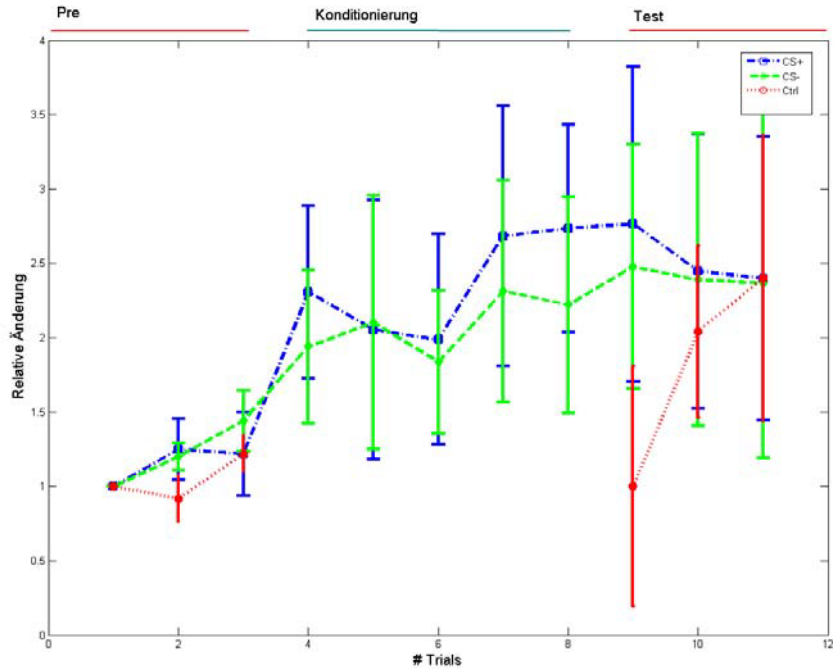


**Abbildung 130:** Relatives Verhältnis der Änderungen für N=18 Tiere. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Für CS+, CS- und Kontrollstimulus wurden wieder die Änderungen der Antwortstärken zwischen 1. Trial Prekonditionierung und 1. Trial Test (1), 2. Trial Prekonditionierung und 2. Trial Test (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

Abb.129 zeigt, dass im Gegensatz zum AL für alle 3 Stimuli die Mehrzahl der MUAs ihre Antwortstärke erhöht haben. Ein deutlicher Unterschied zwischen CS+ und CS- war hier nicht festzustellen. Der allgemeine Anstieg blieb auch für die zweiten 500 ms der Duftstimulation und die ersten 500 ms nach Stimulusende erhalten.

In Abb.128 ist ein gradueller Anstieg der Mittelwerte für CS+ und CS- während Prekonditionierung zu beobachten. Trägt man als Mittelung über alle Tiere das *Verhältnis* der Ratenänderungen jedes Trials gegen den auf 1 normierten 1. Trial der Prekonditionierung auf, so ist ein stärkerer Anstieg vor allem ab dem 1. Trial in der Konditionierung zu erkennen (nicht signifikant). Es ist dabei jedoch nicht möglich zu entscheiden, ob dieser Anstieg bedingt ist durch die 1. CS/US-Paarung. Für die Hälfte der Tiere, war der CS- der 1. Stimulus in der Konditionierung. Dieselbe Auftragung der relativen Änderung für diese Subgruppe führt zum selben Ergebnis.

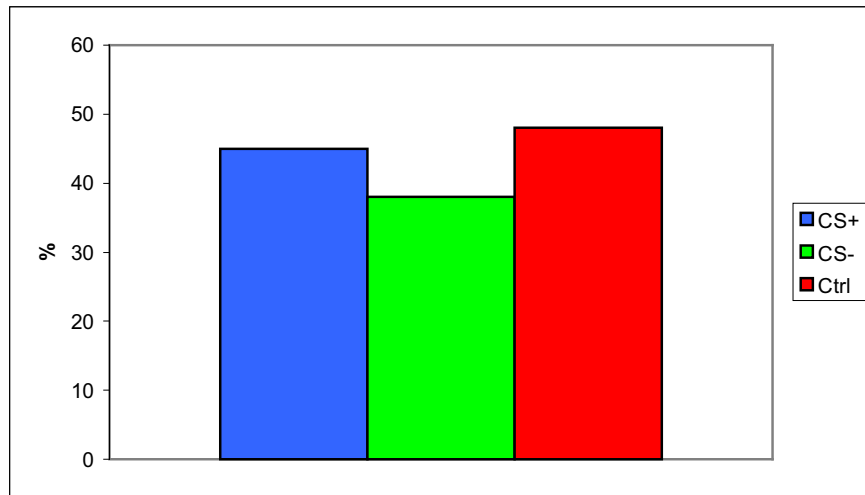
Anders als im AL (Subgruppe der gelernten Tiere) ist kein Unterschied zwischen den Mittelwerten von CS+ und CS- in der Konditionierung zu erkennen.



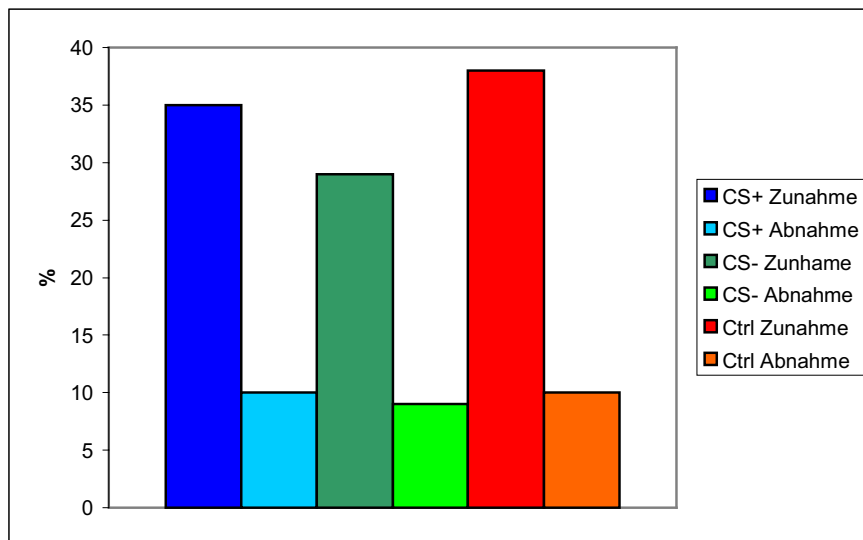
**Abbildung 131: Relative Ratenänderungen für CS+, CS- und Kontrollstimulus gegenüber dem auf 1 normierten 1. Trial in der Prekonditionierung. N=18 Tiere. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn**

Um ein Maß für die Änderung gegenüber der Prekonditionierungsphase zu haben, wurde analog zur Auswertung der AL-Daten 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.



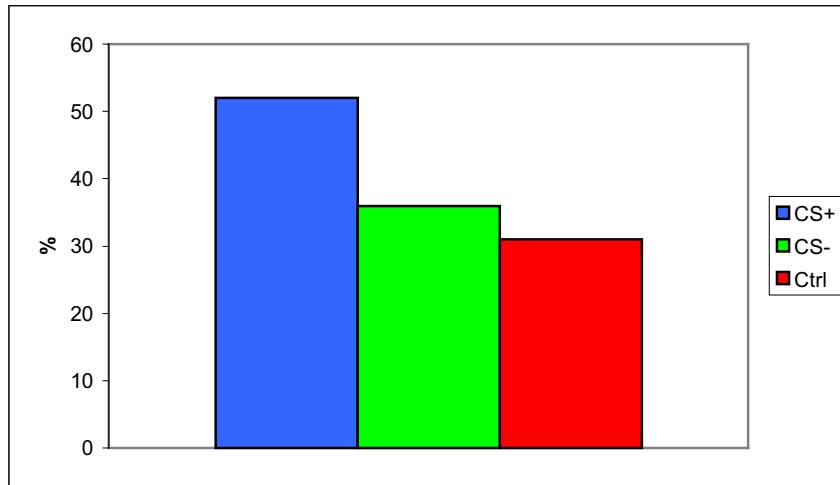
**Abbildung 132: Prozentsatz der absoluten Änderungen von MUAs für CS+, CS- und Kontrollstimulus gegenüber der Prekonditionierung für das Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Zusammengefasst sind alle N=18 Tiere. Zwischen den Gruppen war kein signifikanter Unterschied festzustellen**



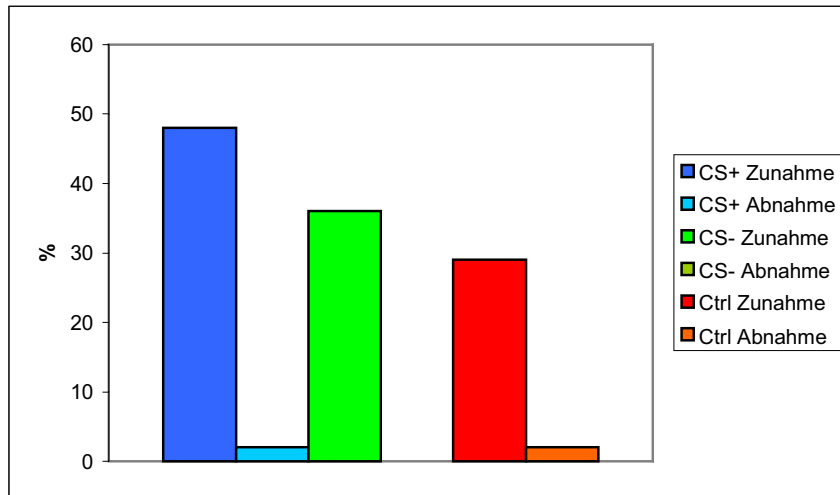
**Abbildung 133: Anteil der Zunahmen und Abnahmen an der Änderung gegenüber der Prekonditionierung für dasselbe Zeitfenster**

Anders als im AL gibt es im Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn keinen signifikanten Unterschied zwischen CS+ und CS-. Aus Abb.133 wird ebenfalls noch

einmal deutlich, dass die Mehrzahl der Änderungen in einer stärkeren Antwort gegenüber der Prekonditionierung bestand.



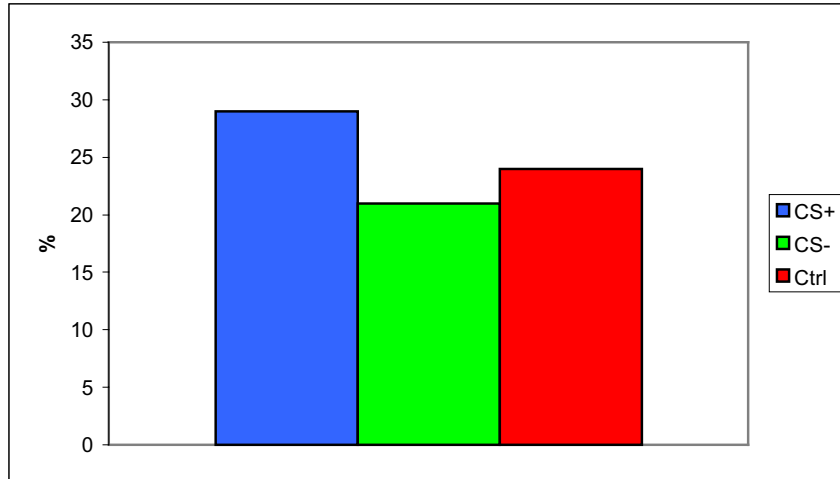
**Abbildung 134:** Prozentsatz der absoluten Änderungen von MUAs für CS+, CS- und Kontrollstimulus gegenüber der Prekonditionierung für das Zeitfenster 500-1000 ms nach Stimulusbeginn. Es haben sich signifikant mehr MUAs für den CS+ als für den CS- (Log-Likelihood-Ratio Test,  $p=0.03$ ) und signifikant mehr MUAs für den CS+ als für Ctrl geändert (Log-Likelihood-Ratio Test,  $p=0.002$ ). Zusammengefaßt sind alle  $N=18$  Tiere



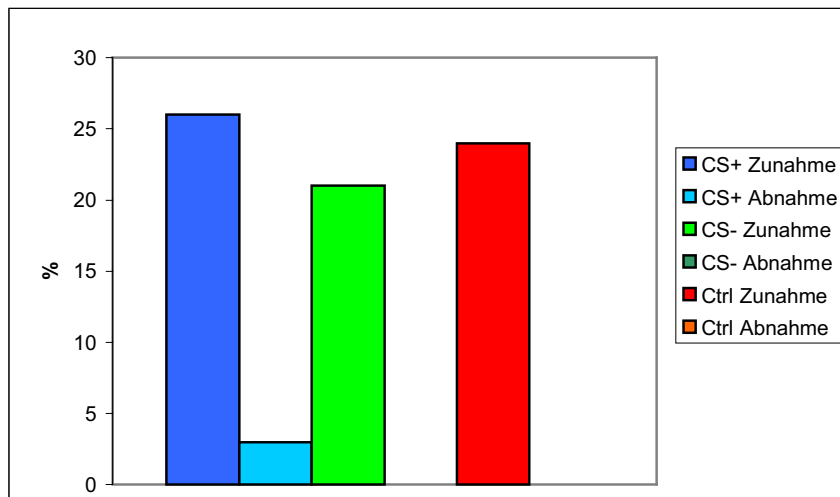
**Abbildung 135:** Anteil der Zunahmen und Abnahmen an der Änderung gegenüber der Prekonditionierung für dasselbe Zeitfenster



Im Zeitfenster 500-1000 ms nach Stimulusbeginn ist zu erkennen, dass sich signifikant mehr MUAs für CS+ als für CS- (Log-Likelihood-Ratio Test,  $p=0.03$ ) und signifikant mehr MUAs für CS+ als für Ctrl (Log-Likelihood-Ratio Test,  $p=0.002$ ) verändert haben (Abb.124). Auch hier besteht die Änderung in fast allen Fällen in einer Zunahme der Antwortstärke (Abb.125). In allen Fällen war die Änderung der MUAs für den CS+ sowohl während der Konditionierungsphase als auch im Test vorhanden.



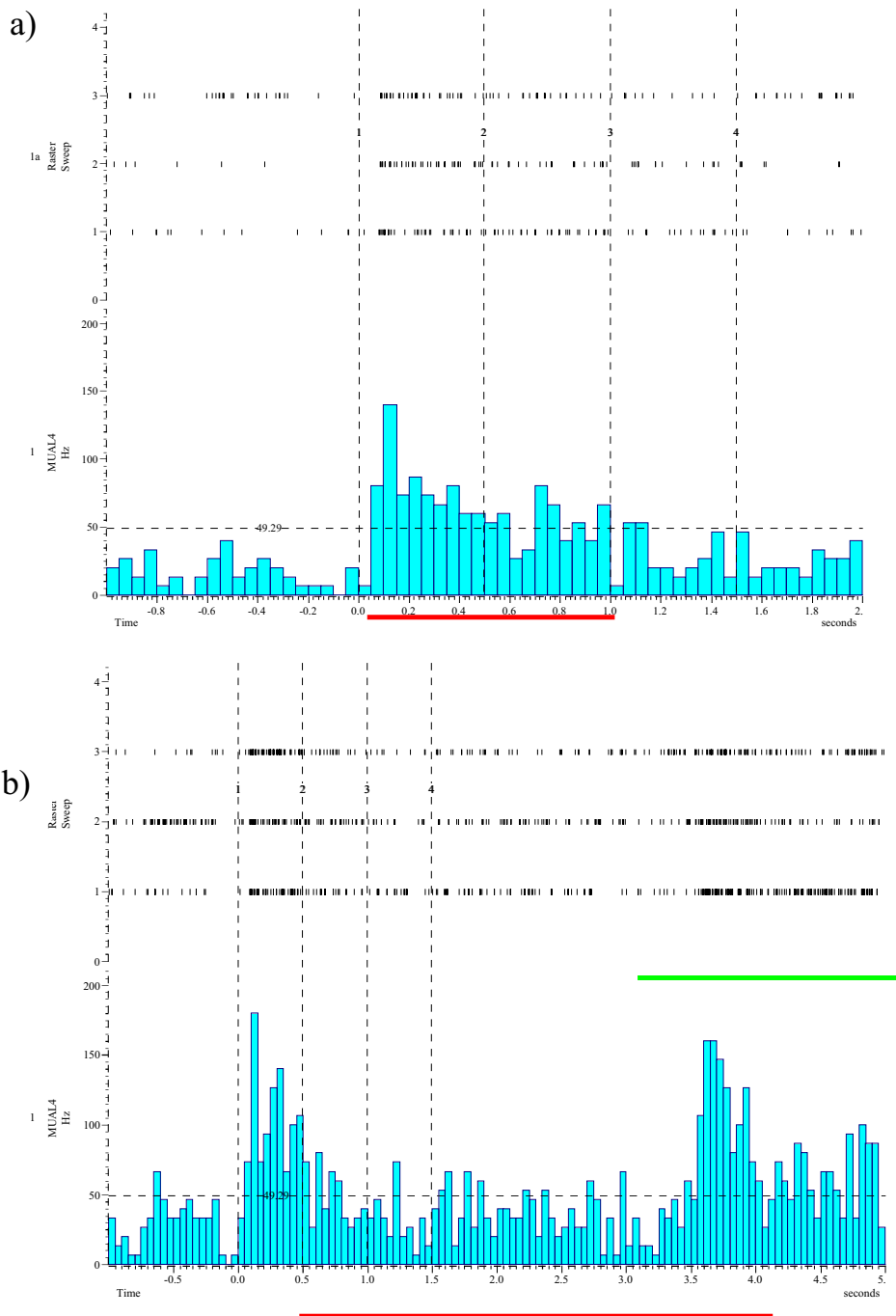
**Abbildung 136: Prozentsatz der absoluten Änderungen von MUAs für CS+, CS- und Kontrollstimulus gegenüber der Prekonditionierung für das Zeitfenster 1000-1500 ms nach Stimulusbeginn. Zusammengefasst sind alle N=18 Tiere**

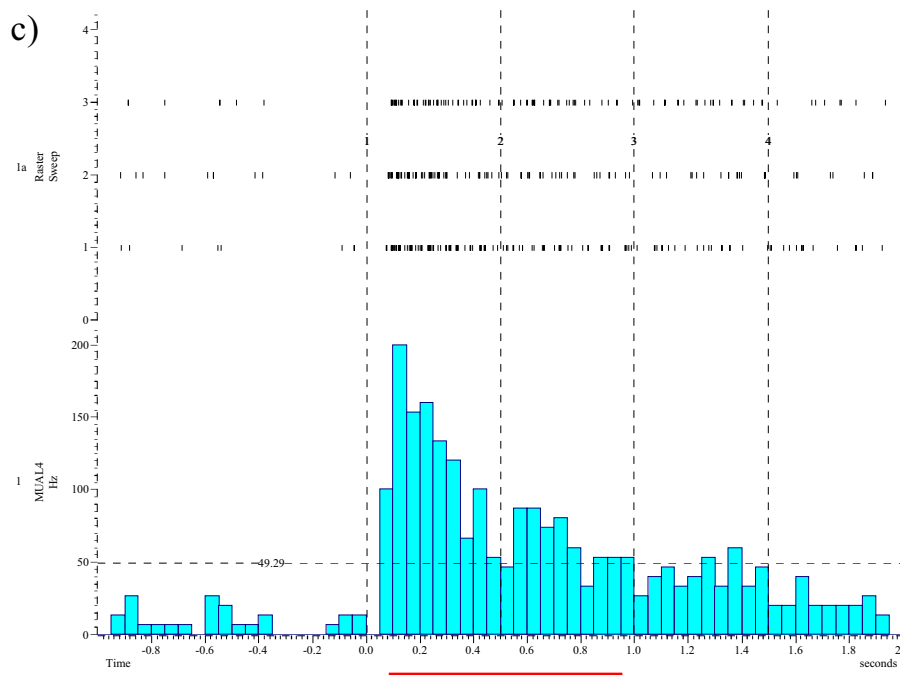


**Abbildung 137: Anteil der Zunahmen und Abnahmen an der Änderung gegenüber der Prekonditionierung für dasselbe Zeitfenster**

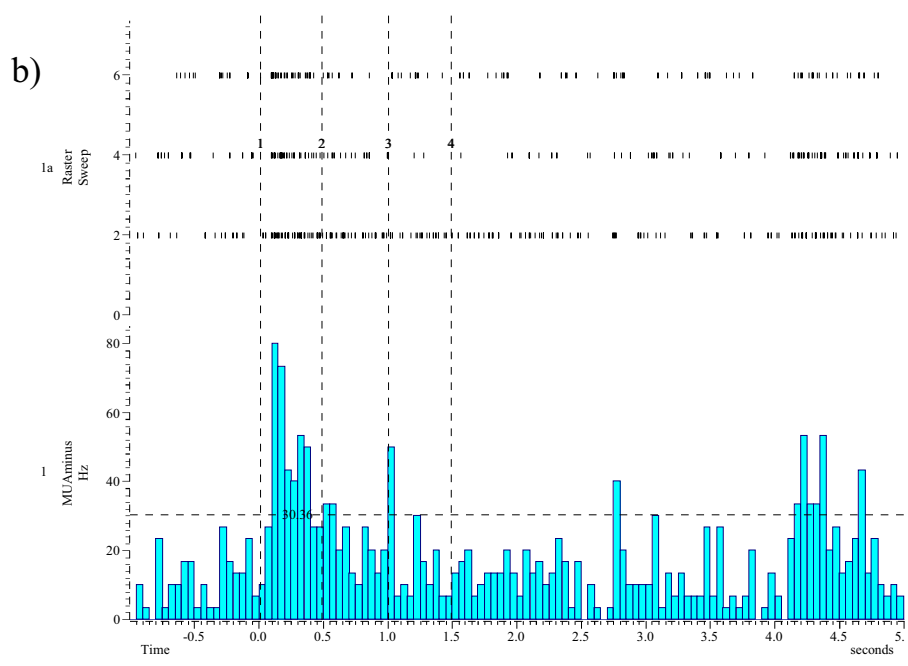
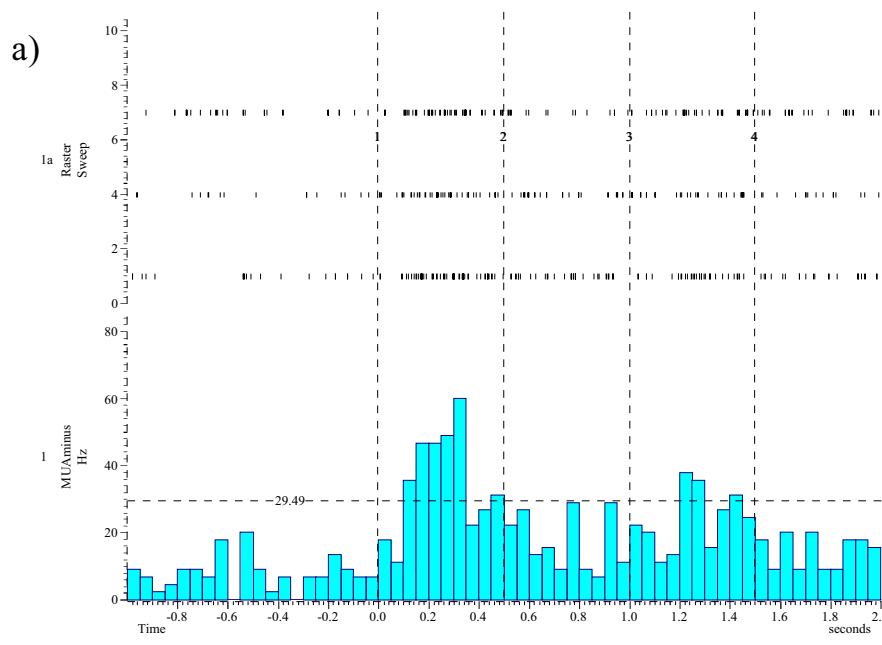
Im Zeitfenster der ersten 500 ms nach Stimulusende ist kein signifikanter Unterschied zwischen CS+, CS- und Kontrollstimulus mehr vorhanden. Die Anzahl der MUAs, die sich gegenüber der Prekonditionierung in ihrer Antwortstärke geändert haben, hat ebenfalls abgenommen, dennoch überwiegen immer noch deutlich die Zunahmen der Antwortstärke bei den Änderungen.

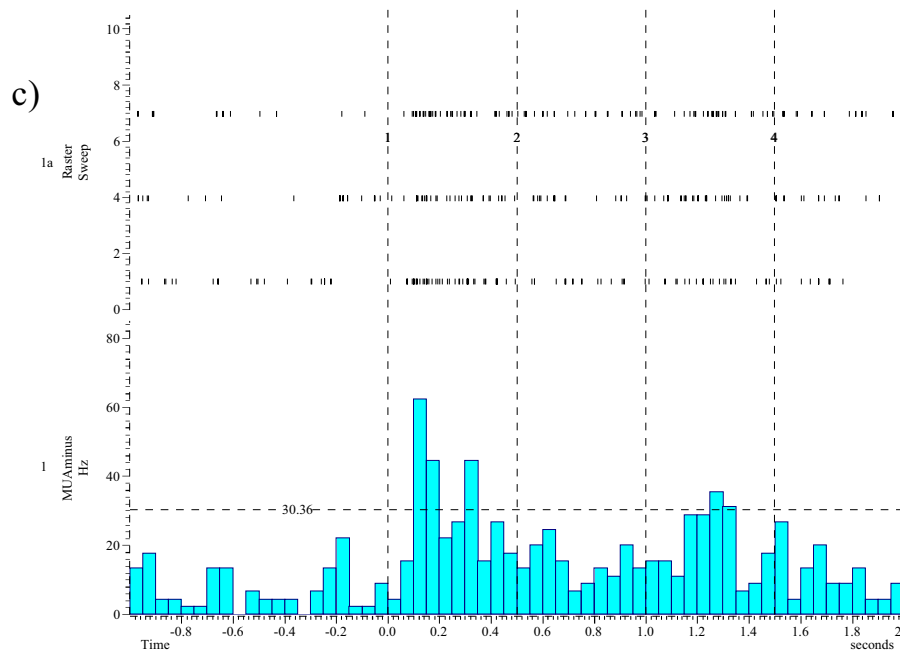
Im Unterschied zum AL lässt sich also zusammenfassend sagen, dass das Vorzeichen der Änderungen eindeutig positiv ist, und zwar in allen 3 Zeitfenstern und für CS+, CS- und Kontrollstimulus. Ein signifikanter Unterschied zwischen CS+ und CS- tritt in den 2. 500 ms der Duftgabe auf.



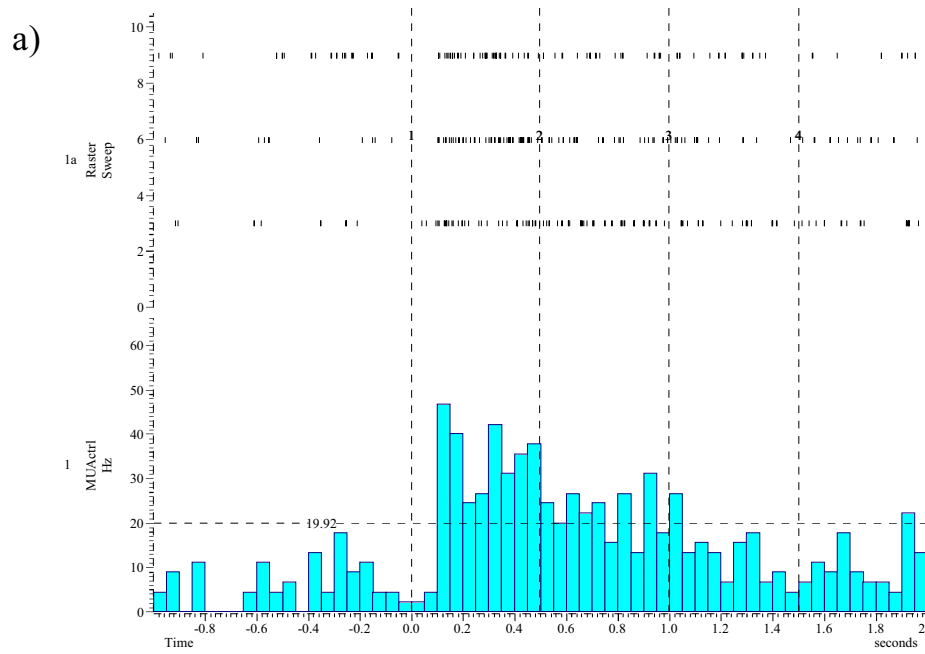


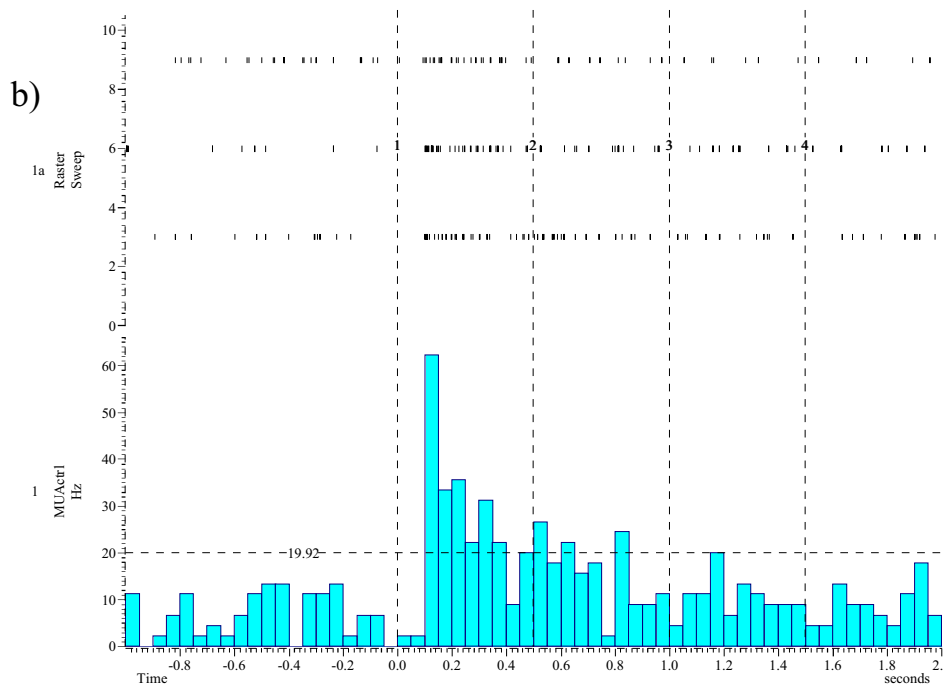
**Abbildung 138: PSTH einer MUA mit CS+ -spezifischer Antwortstärkeänderung im Test. (a): PSTH für die Prekonditionierungsphase. Die senkrechten Linien 1-4 entsprechen den untersuchten Zeitfenstern 0-500ms, 500-1000ms und 1000-1500ms nach Stimulusbeginn. Die rote Linie markiert die Stimulusgabe. Die waagerechte Linie markiert zum Vergleich eine 50 Hz-Marke. (b): PSTH für die Konditionierungsphase. Die grüne Linie markiert die US-Applikation. In diesem Beispiel sind nur 3 Konditionierungstrials gegeben worden. Es ist deutlich die exzitatorische Antwort auf den US zu erkennen. (c): PSTH für die Testphase. Man erkennt eine Vergrößerung der Antwortstärke in allen 3 Zeitfenstern.**





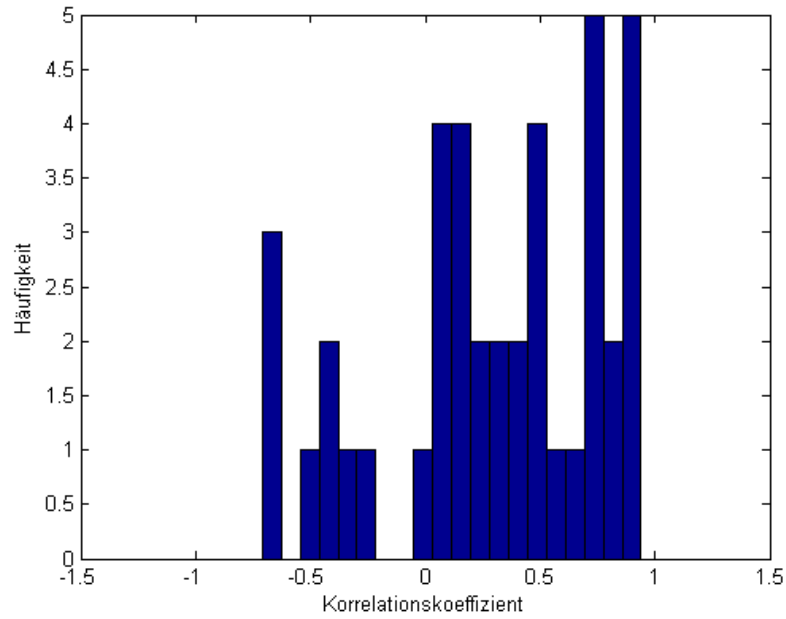
**Abbildung 139: PSTH derselben MUA aus Abb. 138 für den CS-. (a): Prekonditionierung, (b): Konditionierung, (c): Test. Hier ist kein deutlicher Anstieg der Antwortstärke im Test zu erkennen**





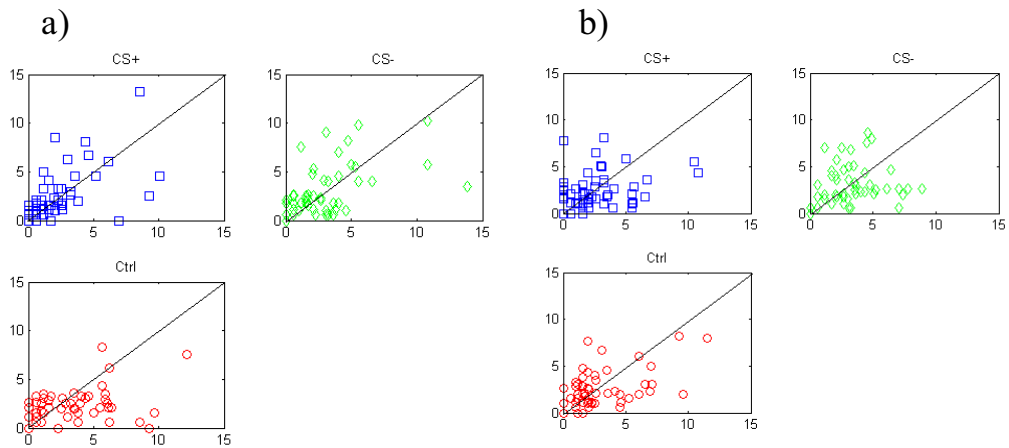
**Abbildung 140: PSTH derselben MUA aus Abb. 138 für den Kontrollstimulus. (a): Prekonditionierung, (b): Test Hier ist kein deutlicher Anstieg der**

Ähnlich wie beim AL bestand 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 im positiven Bereich, jedoch weniger ausgeprägt. Auch der antiphasische Anteil weist weniger hohe Korrelationskoeffizienten auf.

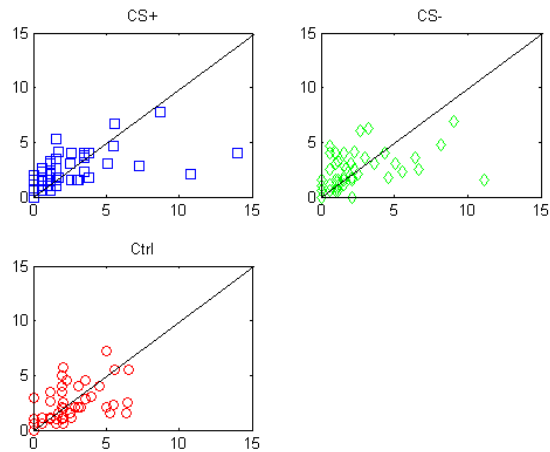


**Abbildung 141: Korrelogramm der Antwortstärken für CS+ und CS- für alle Trials in der Konditionierung. Für jede MUA wurde die Antwortstärke auf den CS+ mit der Antwortstärke auf den CS- korreliert. Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Zusammengefasst sind alle N=18 Tiere**

Analog zum AL ergab sich auch hier die Frage, ob die Konditionierung eine Änderung der Variabilität der Antwortstärken im Test bewirkt haben könnte. Ähnlich wie dort konnte aber auch hier keine deutliche Änderung festgestellt werden (Abb.142).



c)



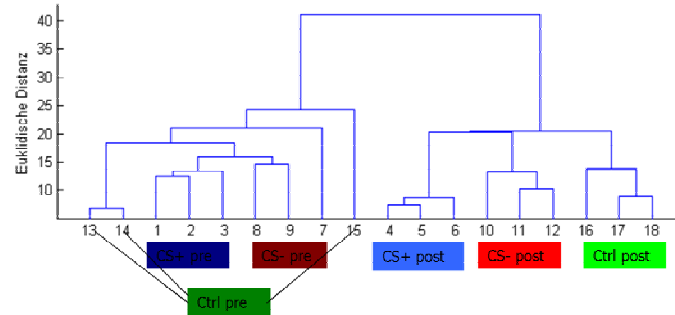
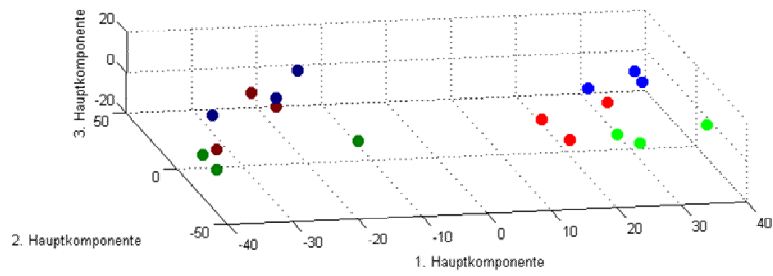
**Abbildung 142:** Aufgetragen ist für alle MUAs und alle Tiere die Standardabweichung der 3 Trials in der Prekonditionierung (x-Achse) gegen die Standardabweichung der 3 Trials im Test. (a): Zeitfenster 0-500ms nach Stimulusbeginn. (b): 500-1000 ms nach Stimulusbeginn. (c):0-500 ms nach Stimulusende

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

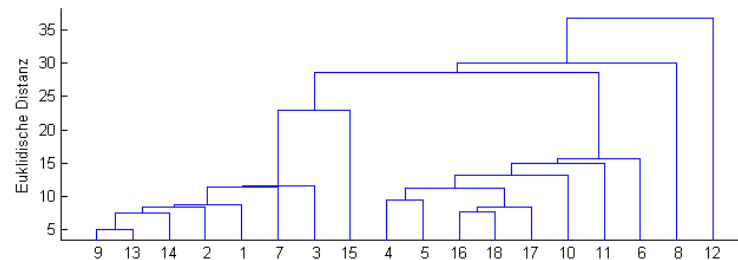
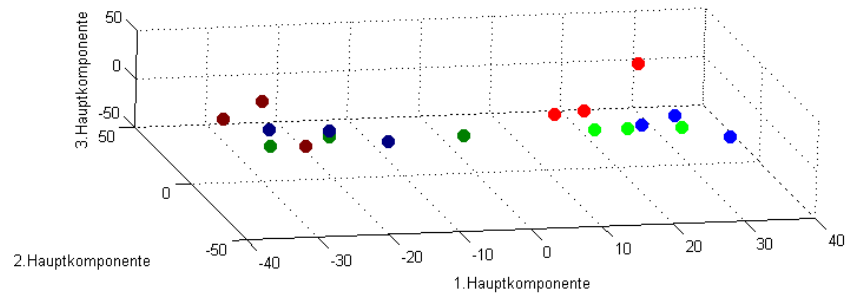
Analog zur Auswertung der MUA-Antworten im AL wurde eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Innerhalb der Zeitfenster 0-500 ms, 500-1000 ms und 1000-1500 ms nach Stimulusbeginn wurde wieder die Anzahl der Aktionspotentiale jeder MUA über alle Tiere bestimmt. Die Anzahlen der Aktionspotentiale aller MUAs für CS+, CS- und Kontrollduft für die 3 Trials der Prekonditionierungs- und der Testphase bildeten dann hochdimensionale Repräsentationen der jeweiligen Stimuli.

Abb.143-145 zeigen das Resultat im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten für alle Tiere zusammengefasst und alle 3 Zeitfenster.

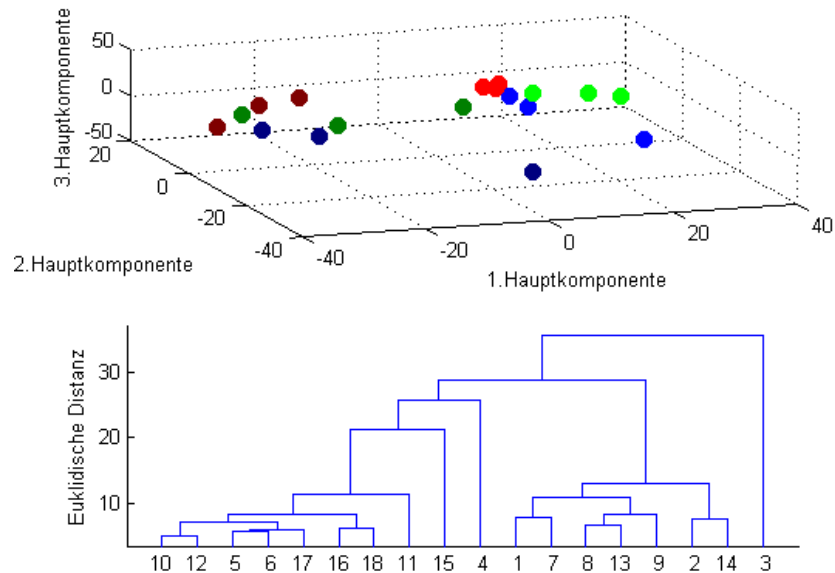




**Abbildung 143: Repräsentation von CS+, CS- und Ctrl für N=18 Tiere im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten. Dargestellt sind jeweils die 3 Trials der Prekonditionierungs- und Testphase. Zeitfenster entspricht 0-500 ms nach Beginn der Stimulation**



**Abbildung 144: Repräsentation von CS+, CS- und Ctrl für N=18 Tiere im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten. Dargestellt sind jeweils die 3 Trials der Prekonditionierungs- und Testphase. Zeitfenster entspricht 500-1000ms nach Beginn der Stimulation**



**Abbildung 145: Repräsentation von CS+, CS- und Ctrl für N=18 Tiere im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten. Dargestellt sind jeweils die 3 Trials der Prekonditionierungs- und Testphase. Zeitfenster entspricht 0-500 ms nach Stimulusende**

Im Zeitfenster der 1. 500 ms nach Stimulusbeginn bilden CS+, CS- und Kontrollstimulus Cluster, wenngleich die Gruppierungen in der Prekonditionierung nicht eindeutig sind. Im Unterschied zum selben Zeitfenster im AL ist eine gleichförmige Verschiebung der Testphase gegenüber der Prekonditionierung für alle 3 Stimuli zu beobachten. Deutliche Unterschiede in den Distanzen sind nicht festzustellen. Abb.143 reflektiert damit das Ergebnis der MUA-Einzelanalyse, in der sowohl für CS+ als auch für CS- und Ctrl eine gleichförmige Vergrößerung der Antwortstärke gefunden wurde. Eine Untersuchung der MUAs mit besonders starkem Einfluss auf die ersten 3 Hauptkomponenten bestätigt diesen Sachverhalt.

Ähnlich wie beim AL nimmt die Clusterqualität in den beiden darauf folgenden Zeitfenstern deutlich ab. Es ist aber immer noch die gleichförmige Verschiebung in der Testphase für alle 3 Stimuli zu erkennen.

Die im Vergleich zum AL geringere Clusterqualität kann zum einen darauf zurückzuführen sein, dass weniger MUAs in die Analyse eingegangen sind, zum anderen kann dies die Gleichförmigkeit der Änderungen reflektieren. Es war im  $\alpha$ -L nicht möglich, eine vergleichbare „kritische Masse“ von Tieren zu finden, oberhalb der eine eindeutige Clusterbildung auftrat. Zumindest aber zeigte sich bei der Zusammenlegung von jeweils mindestens 4 Tieren qualitativ derselbe Unterschied zwischen den Repräsentationen der Prekonditionierungsphase und der Testphase von CS+, CS- und Ctrl ( Abb.146 und 147).

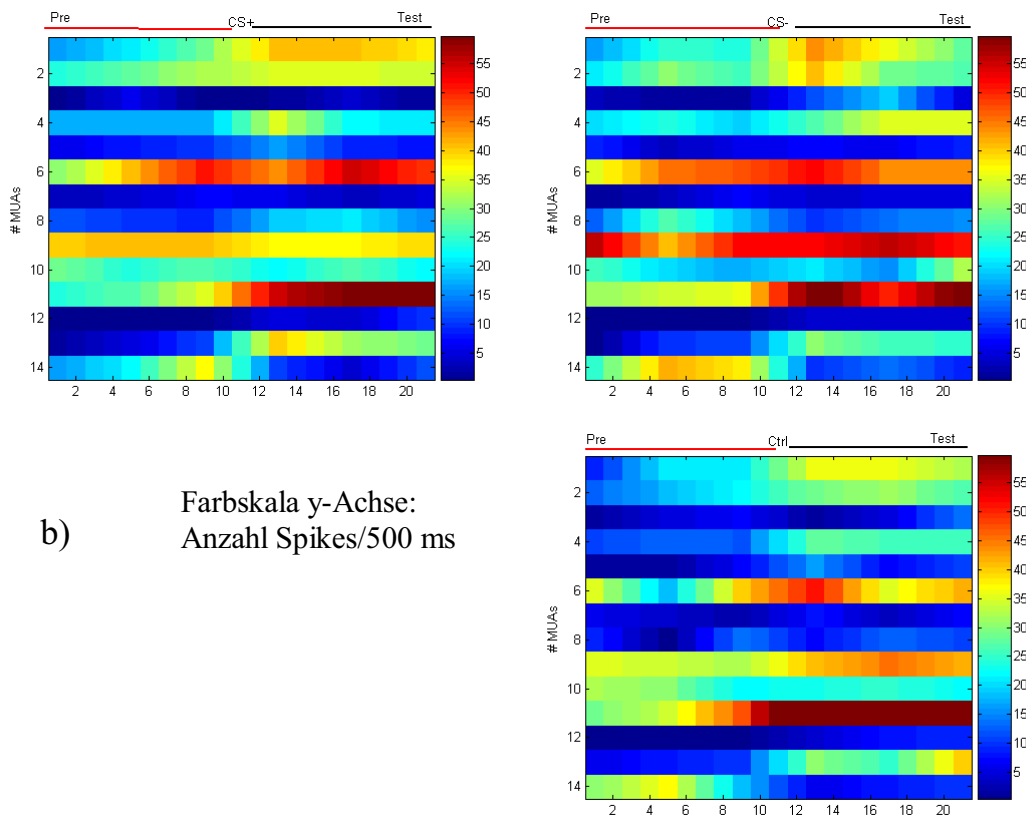
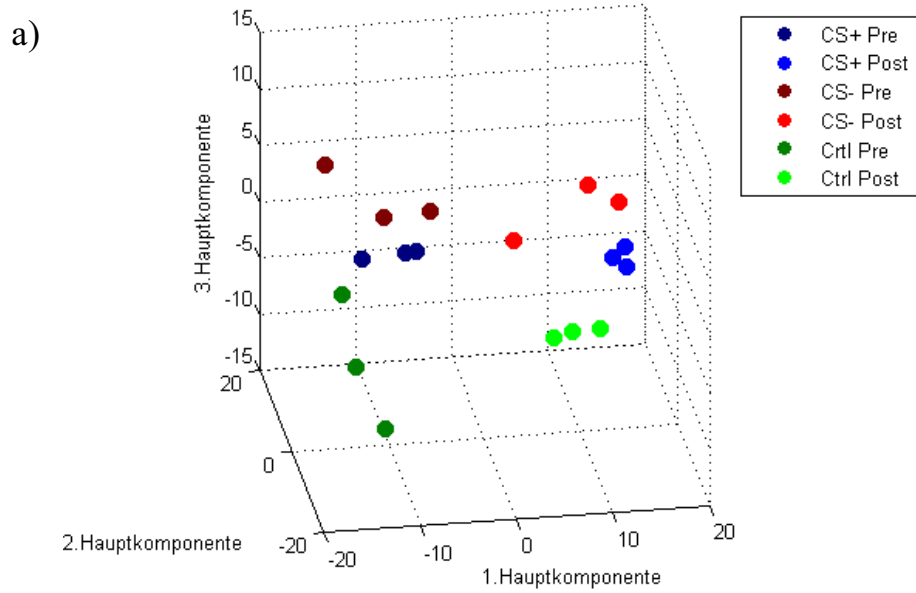
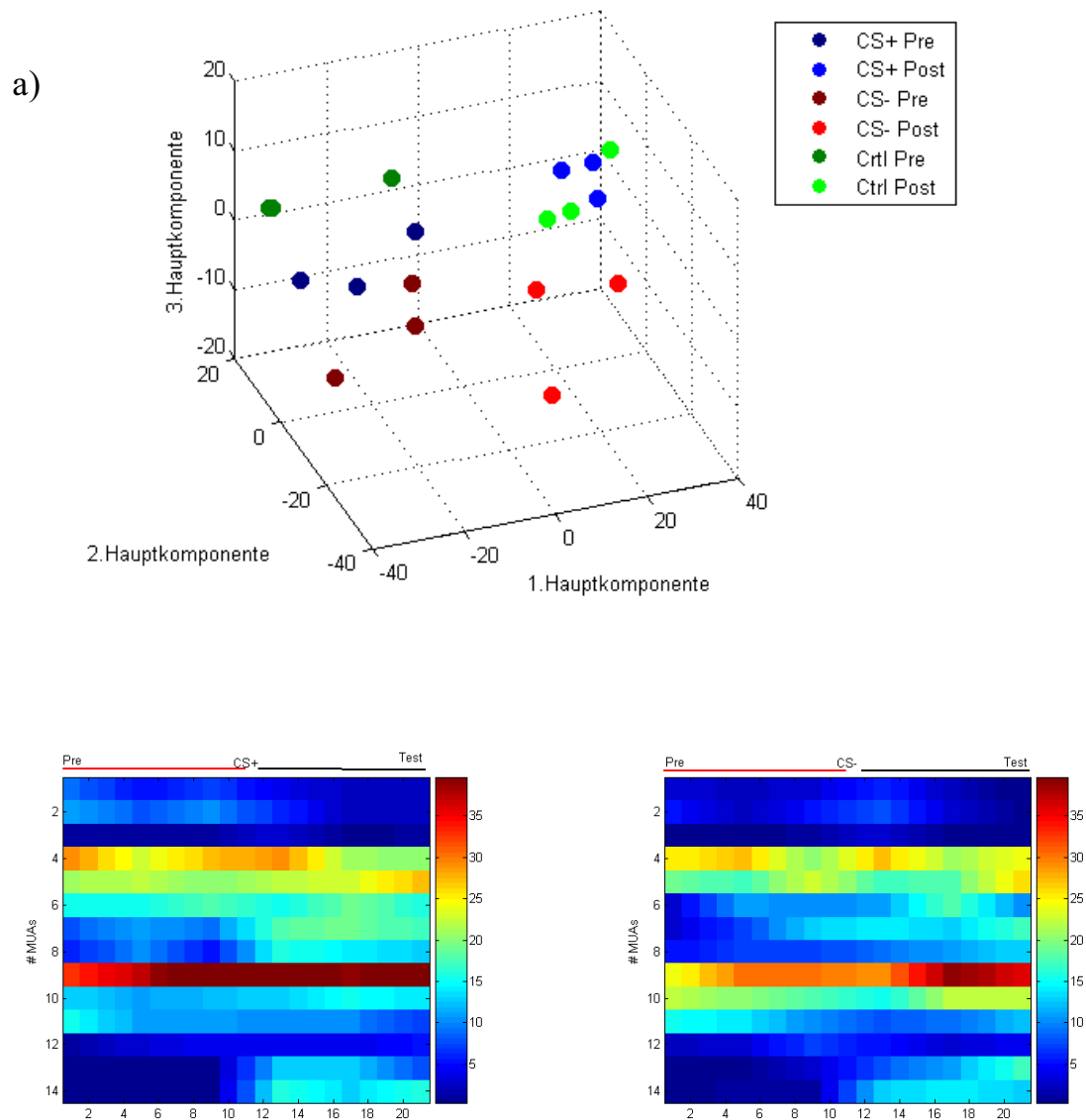
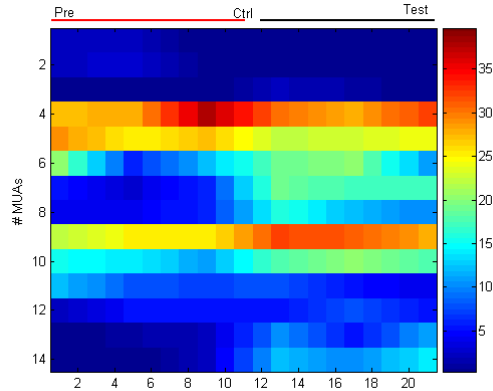


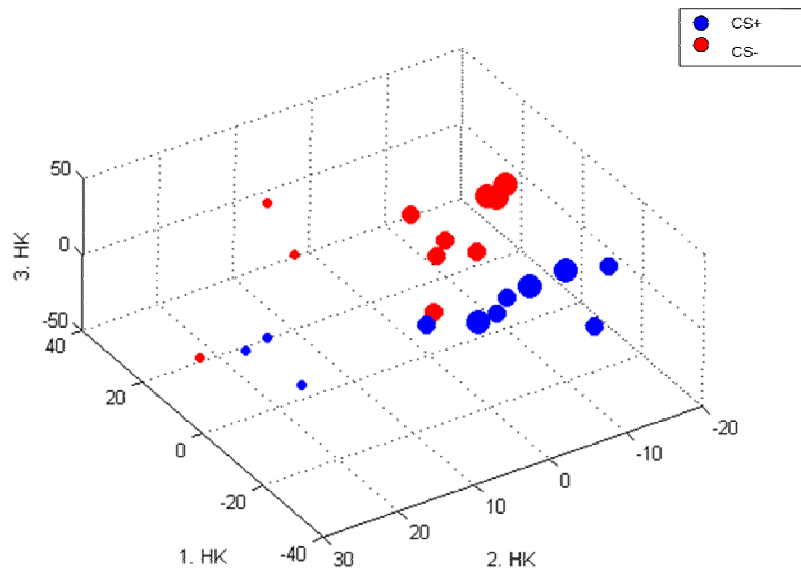
Abbildung 146: (a): Repräsentation von CS+, CS- und Ctrl für eine Subgruppe von N=4 Tieren im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten. Dargestellt sind wieder Prekonditionierung und Testphase im Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Es ist dieselbe gleichförmige Verschiebung zu erkennen wie für alle N=18 Tiere. (b): Farbcodierte Darstellung der Ratenveränderungen über alle Trials von Prekonditionierung (Einheiten der Farbskala ist die Anzahl der Spikes/500 ms) und Test derselben Gruppe und desselben Zeitfensters. Die Zeilen entsprechen den MUAs. Die Daten wurden mit einem Interpolationsfaktor 4 geglättet. Für CS+, CS- und Ctrl ist für die Mehrzahl der MUAs ein Anstieg der Antwortstärke zu sehen



b) Farbskala y-Achse:  
Anzahl Spikes/500 ms



**Abbildung 147: Repräsentation von CS+, CS- und Ctrl für eine weitere Subgruppe von N=4 Tieren im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten im Zeitfenster 0-500 ms nach Stimulusbeginn. Es ist dieselbe gleichförmige Verschiebung zu erkennen wie für alle N=18 Tiere. (b): Farbcodierte Darstellung der Ratenveränderungen über alle Trials von Prekonditionierung (Einheiten der Farbskala ist die Anzahl der Spikes/500 ms) und Test derselben Gruppe und desselben Zeitfensters. Die Zeilen entsprechen den MUAs. Die Daten wurden mit einem Interpolationsfaktor 4 geglättet. Für CS+, CS- und Ctrl ist für die Mehrzahl der MUAs ein Anstieg der Antwortstärke zu sehen**



**Abbildung 148: : Repräsentation aller Trials aller 3 Phasen der differentiellen Konditionierung für CS+ und CS-. N=18 Tiere, gleiches Zeitfenster wie in der vorherigen Abbildung. Dabei kennzeichnet die ansteigende Größe der Punkte die aufeinander folgenden Phasen**

In Abb.148 wird noch einmal deutlich, dass bereits mit dem 1. Konditionierungstrial eine deutliche Verschiebung der Ensemblerepräsentationen für CS+ und CS- einsetzt.

Zusammenfassend lässt sich für die Auswertung der MUA-Antwortstärken sagen, dass für CS+, CS- und Ctrl die Mehrzahl der MUAs im Test ihre Antwortstärke auf die Düfte im Vergleich zur Prekonditionierung erhöht haben. In den ersten 500 ms nach Stimulusbeginn war dabei kein Unterschied zwischen CS+, CS- und Ctrl festzustellen. In den zweiten 500 ms nach Stimulusbeginn antworteten signifikant mehr MUAs auf den CS+ stärker als in der Prekonditionierung. Im Zeitfenster der ersten 500 ms *nach Stimulusende* war immer noch eine Erhöhung der Spikeaktivität im Vergleich zur Prekonditionierung zu beobachten, allerdings wieder in gleicher Weise für CS+, CS- und Ctrl.

Eine Hauptkomponentenanalyse zeigte ebenfalls eine für CS+, CS- und Ctrl gleichmäßige Verschiebung von Prekonditionierung zu Test im Raum der ersten 3 Hauptkomponenten. Im Vergleich zum AL war für die ersten 500 ms nach Stimulusbeginn dabei eine weniger eindeutige Gruppierung der Repräsentationen zu Clustern zu beobachten, welche für die beiden späteren Zeitfenstern völlig verschwand. Eine Betrachtung der MUAs mit starker Gewichtung auf die ersten 3 Hauptkomponenten ergab eine Erhöhung der Antwortstärke und damit eine Übereinstimmung mit der Analyse der Einzel-MUAs.