

**Etablierung eines Mausmodells zur Identifizierung  
Tinnitus-spezifischer Aktivierungsmuster  
nach Schalltrauma**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades des  
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Florian Theden

aus Berlin

2013

1. Gutachter: Prof. Dr. Dietmar Kuhl

2. Gutachterin: Prof. Dr. Ursula Koch

Disputation am: 22.11.2013

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Anleitung von

**Herrn Prof. Dr. Dietmar Kuhl**

am Institut für Molekulare und Zelluläre Kognition  
des Zentrums für Molekulare Neurobiologie Hamburg angefertigt.

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. Dietmar Kuhl danke ich für die Vergabe des interessanten Promotionsthemas und für die Möglichkeit in seinem Institut diese Arbeit durchführen zu können.

Frau Dr. Claudia Mahlke danke ich für die Ermöglichung dieser Arbeit. Ohne ihren selbstlosen Einsatz und ihre zurückhaltende, vertrauensvolle und zielgerichtete Betreuung während der letzten fünf Jahre hätte ich diese Arbeit nicht anfangen, nicht weitermachen und nicht abschliessen können.

Frau Prof. Dr. Dorothea Eisenhardt danke ich für die Begutachtung und ihr Interesse an der Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Sara Euteneuer für die Bereitstellung des ABR-Setups und die Analyse der audiometrischen Messungen.

Für den Aufbau und die gemeinsame Entwicklung des Startlegeräts danke ich Fritz Kutschera. Ohne seinen Anteil gäbe es keine Mäuse mit Pfeifen im Ohr.

Für den Bau der Verhaltensarena und die allzeit schnellen Lösungen bei Infrastrukturproblemen möchte ich Torsten Renz herzlich danken.

Vielen Dank auch an Ulrike Wolters und Dr. Irm Hermans-Borgmeyer für die Pflege der Tiere und die Hilfe bei der Mauszucht.

Dr. Mareike Huetten und Dr. Henning Voigt danke ich für die Lehre der otologischen Methoden bei Nagern und das spannende Kooperationsprojekt in Hannover.

Dr. Marcus Meinzer und Dr. Tobias Sommer-Blöchl danke ich für ihre Ratschläge zur SPM Software.

Dr. Guido Hermey, Jakob Gutzmann und Thiemo Marquarding danke ich für ihre jederzeit zuvorkommende Hilfe und Unterstützung bei allen Fragen des Laborlebens, sowie für die wissenschaftlichen und privaten Gespräche nebenbei, die geholfen haben manche Durststrecke zu überstehen.

Des Weiteren danke ich Dagmar Boshold und dem gesamten Institut von Dietmar Kuhl für die organisatorische und logistische Hilfe im Labor.

Meiner Großmutter und meiner Mutter danke ich herzlich für ihre Unterstützung und ihren Glauben an mich.

Meiner Lebensgefährtin Sabrina Josten danke ich von ganzem Herzen für ihre unermüdliche Unterstützung, Motivation, Geduld und Liebe.

## Inhalt

1	Einleitung.....	1
1.1	Tinnitus.....	1
1.2	Auditorisches System.....	2
1.3	Limbisches System.....	9
1.4	Untersuchungen am Tinnituspatienten.....	12
1.5	Tinnitus im Tiermodell.....	16
1.6	Periphere und zentrale Effekte nach Schalltrauma.....	18
1.7	Einfluss synaptischer Plastizität auf die Tinnituserstehung.....	22
1.8	Entstehung und neurophysiologische Korrelate von Tinnitus.....	24
1.9	Fragestellungen und Ziele der Arbeit.....	29
2	Methoden.....	31
2.1	Versuchsgruppen.....	32
2.2	Unilaterales schmalbandiges Schalltrauma.....	34
2.3	Frequenzspezifische Hörschwellenbestimmung mittels akustisch evozierter Hirnstammaudiometrie (ABR).....	35
2.4	Akustische Schreckreaktion , Vorpulsinhibition (PPI) und Lückenwahrnehmung (gap-PPI).....	37
2.5	Messung der sozialen Interaktion.....	41
2.6	2-Desoxyglukosemethode.....	42
2.7	Bildverarbeitung.....	43
2.8	Statistische Analyse.....	45
3	Ergebnisse.....	46
3.1	Frequenzspezifische Hörschwellenbestimmung mittels akustisch evozierter Hirnstammaudiometrie (ABR).....	46
3.2	2-DG Bildgebung.....	51
3.3	Unterschiede zwischen den Genotypen in der 2-DG Bildgebung.....	54
3.4	2-DG Bildgebung zwei Stunden nach Schalltrauma.....	57
3.5	2-DG Bildgebung zwei Wochen nach Schalltrauma.....	61
3.6	Vorpulsinhibition und Lückendetektion zum Nachweis einer subjektiven Tinnituswahrnehmung.....	70
3.7	2-DG Bildgebung der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit Verhaltensanzeichen einer Tinnituswahrnehmung.....	78
3.8	Soziale Interaktion.....	88
3.9	Interregionale und multimodale Korrelationsanalyse.....	91

4 Diskussion.....	95
4.1 Methodendiskussion: 2-DG Bildgebung.....	96
4.2 Schallinduzierter Hörschaden.....	97
4.3 Untersuchung der konditionalen arg3.1-Knockout-Mäuse.....	99
4.4 Veränderter Glukosemetabolismus nach Schalltrauma.....	103
4.5 Lückendetektion.....	108
4.6 Soziale Interaktion.....	111
4.7 Änderungen des Glukosemetabolismus bei Tinnituswahrnehmung.....	113
4.8 Auditorisch-limbische Interaktionen bei der Tinnituserstehung.....	122
4.9 Ausblick.....	130
5 Zusammenfassung.....	132
6 Literaturverzeichnis.....	136
7 Abkürzungsverzeichnis.....	173

# Einleitung

## 1.1 Tinnitus

Tinnitus bezeichnet Hörwahrnehmungen aller Art, die nicht durch externe Signale verursacht werden. Unterschieden wird grundsätzlich zwischen einem seltenen objektiven und einem subjektiven Tinnitus. Bei einem objektiven Tinnitus ist das Ohrgeräusch auch für den Untersucher nachweisbar und der Schall wird meist im Körper des Patienten generiert. Wenn die zugrunde liegende Erkrankung beseitigt wird verschwindet auch der Tinnitus.

Häufiger tritt der subjektive Tinnitus auf, bei dem sich die Ohrgeräusche nicht extern erfassen lassen und nur vom Betroffenen selbst wahrgenommen werden. Charakterisieren lässt sich ein subjektiver Tinnitus durch sensorische Komponenten, wie Lautstärke, Lateralisation und Frequenzwahrnehmung, sowie emotionale Komponenten, wie Konzentrationsveränderungen und Leidenserfahrungen durch das Geräusch. Tinnitus wird häufig bilateral wahrgenommen (39%), wobei eine Seite dominanter sein kann. Insgesamt überwiegt jedoch eine lateralisierte Wahrnehmung bei Betroffenen (rechts 22%, links 37%, Pilgramm et al., 1999). Die Frequenzwahrnehmung reicht von oft hohen Sinustönen über Rauschen, bis hin zu Klickgeräuschen. Die Lautstärke kann auch intraindividuell stark variieren. Für die Therapie ist die zeitliche Einteilung entscheidend. In den ersten 3 Monaten nach erstem Auftreten, der sogenannten akuten Phase, wird Tinnitus meist wie ein Hörsturz behandelt. Der Zeitraum bis zu 6 Monaten wird als die subakute Phase bezeichnet, in der eine Fokussierung auf das Ohrgeräusch eintritt. Im chronischen Stadium ist die Beeinträchtigung durch den Tinnitus sehr unterschiedlich. Bei der kompensierten Form kommt es zu keinen Beeinträchtigungen durch das Ohrgeräusch. Beim sogenannten dekompenzierten Tinnitus treten jedoch Begleiterscheinungen psychischer und physischer Art auf (z.B. Schlafstörungen, Depressionen, Konzentrationsstörungen und Angstzustände), die häufig die Lebensqualität einschränken. Die Heilungsaussichten sind im chronischen Stadium sehr schlecht und die Therapie konzentriert sich meist auf die Behandlung der psychischen Begleitsymptome.

## **Einleitung**

---

Die auslösenden Faktoren für Tinnitus sind vielfältig. Bei zwei Dritteln der Tinnituspatienten ist audiometrisch ein Hörverlust nachweisbar, der in vielen Fällen im Frequenzbereich des Tinnitus liegt (Norena et al., 2002; Roberts et al., 2006; König et al., 2006). Neuere Untersuchungen zeigen, dass auch bei Patienten ohne nachweisbaren Hörverlust in Standard audiometrischen Verfahren eine Störung der peripheren auditorischen Verarbeitung und ein Haarzellverlust nachgewiesen werden kann (Weisz et al., 2006). Oft kommt es zu einem ersten Auftreten der Geräusche nach Stresssituationen (Feldmann, 1998). Es wird davon ausgegangen, dass Tinnitus im auditorischen System generiert wird und die auslösenden Faktoren Prozesse in Gang bringen, die letztendlich eine dauerhafte Geräuschwahrnehmung entstehen lassen. Zahlreiche Studien an Menschen und in Tiermodellen zeigen die Beteiligung auditorischer und limbischer Gehirnregionen. Obwohl bis heute einige Behandlungsformen vorgeschlagen wurden, gibt es aktuell keine zuverlässige Therapieform. Für die Entwicklung neuer, kausaler Behandlungsmethoden ist die Etablierung von zuverlässigen Tiermodellen daher von großer Bedeutung.

### **1.2 Auditorisches System**

Das zentrale auditorische System ist für die Wahrnehmung und Verarbeitung akustischer Signale verantwortlich und umfasst verschiedene Kerne der Hörbahn, die meist bilateral und symmetrisch angelegt sind (Abb. 1).

Der spezifische Stimulus für das Ohr sind Druckwellen in einem bestimmten Frequenzbereich, der zwischen verschiedenen Spezies variiert. Der gesamte Hörbereich der Maus reicht von 2 kHz bis 79 kHz (Ehret und Moffat, 1984), der des Menschen von 0.02 bis 20 kHz. Die Schallwellen werden über das äußere Ohr und das Trommelfell aufgenommen und mechanisch über die Hörknöchelchen im Mittelohr weitergeleitet. Zwei der drei Kanäle der Cochlea, die Scala vestibuli und die Scala tympani, sind mit Perilymphe gefüllt und gehen am Helikotrema ineinander über. Zwischen diesen beiden Schläuchen befindet sich die Scala media, ein mit Endolymphe gefüllter Schlauch, der durch die Reissner-Membran und Basilarmembran gegen die Scala vestibuli und die Scala tympani abgegrenzt ist (Slepecky, 1996). Eine Druckeinwirkung auf das ovale Fenster führt zu einer



## **Einleitung**

---

Volumenverschiebung der Perilymphe in der Scala vestibuli und Scala tympani bis hin zum runden Fenster. Dadurch kommt es zu Verformungen, die eine zur Spitze der Cochlea laufende Bewegung der Basilarmembran zur Folge haben, wobei der Ort der maximalen Ablenkung für die Frequenz des Tons charakteristisch ist. Hohe Frequenzen erzeugen ihre maximale Auslenkung nahe dem ovalen Fenster, tiefe Frequenzen haben ihr Maximum an der Spitze der Cochlea. Durch Bewegung des Endolymphschlauchs kommt es zu einer Verschiebung der Basilarmembran gegenüber der Tektorialmembran wodurch eine Scherung der Stereozilien der Haarzellen verursacht wird. Dadurch kommt es zur Freisetzung von Glutamat, was zur Auslösung von Aktionspotentialen in den afferenten Fasern des Hörnervs führt. Eine höhere Lautstärke führt zu mehr Aktionspotentialen (Zenner, 1994). Der auditorische Nerv ist Teil des achten Hirnnervs und besitzt beim Menschen ungefähr 30000 Fasern (Rasmussen, 1940). Bei der Maus sind es aufgrund der geringeren Länge der Basilarmembran (32mm Homo sapiens, 6,8mm Mus musculus) nur 13000 Fasern (Ehret, 1979).

Die ortsabhängige neuronale Repräsentation tonaler Frequenzen, die tonotope Organisation, ist das bestimmende Organisationsprinzip des auditorischen Systems und ist in allen primären auditorischen Strukturen vorhanden. Die tonotope Organisation beginnt ursprünglich in der Cochlea, wo die beste Antwortfrequenz der Neurone sich kontinuierlich entlang der Basilarmembran verändert. Jede Hörnervenfasern wird dabei von einer inneren Haarzelle mit charakteristischer Frequenz innerviert. Mit steigender Intensität des Signals werden vermehrt benachbarte innere Haarzellen innerviert, da der Schwellenwert der Aktivierung öfter überschritten wird (Evans, 1972). Die Vielfalt der Frequenzselektivität und die Breite der Antwortkurven der Neurone des aufsteigenden auditorischen Systems nimmt mit Entfernung der Kerne von der Cochlea zu (Moller, 2006).

Über den Hörnerv erreichen die Signale den Nucleus cochlearis (CN). Von dort führen die Hauptprojektionen in drei Fasertrakten mit unterschiedlichem Verlauf in die gegenüberliegende Hemisphäre und konvergieren im auditorischen Mittelhirn, dem Colliculus inferior (IC). Dieser projiziert zum thalamischen Corpus geniculatum mediale (MGB), der wiederum auf den primären auditorischen Kortex (AC) verschaltet, von wo aus direkte Verbindungen zu den sekundären auditorischen

## **Einleitung**

---

Bereichen bestehen. Ebenso projiziert der primäre AC zu anderen kortikalen Arealen und einigen mesenzephalen und rhombenzephalen Kernen. Interhemisphärische Projektionen sind fast auf allen Ebenen des auditorischen Systems vorhanden. Jeder der auditorischen Kerne besitzt mehrere Unterkerne, von denen mindestens einer eine tonotope Organisation aufweist. Verbindungen zwischen den tonotop organisierten Unterkernen bilden die lemniscale Bahn. Die nicht streng tonotop organisierten Unterkerne und deren Verknüpfungen, die neben auditorischen Eingängen zahlreiche multimodale Afferenzen erhalten, bilden die extralemniscale Bahn (Ehret und Romand, 1997). Im Gegensatz zum visuellen oder somatosensorischen System, gibt es im lemniscalen auditorischen System insgesamt mindestens drei Schaltstationen bis zum AC, mit mindestens sieben Kreuzungspunkten und deutlich mehr Stufen der Konvergenz und Divergenz als in den anderen sensorischen Systemen (Moller, 2006).

Der Nucleus cochlearis (CN) im Hirnstamm ist die erste zentrale Schaltstelle in der afferenten Hörbahn. Hier werden die Signale des auditorischen Nervs zu einer Reihe von verschiedenen Zelltypen verschaltet, die verschiedene Aspekte des akustischen Stimulus (Frequenz, Intensität, Zeitmuster) aufnehmen, modifizieren und über Fasertrakte an unterschiedliche höhere Kerne der Hörbahn weiterleiten (Abb. 1, Hirnstamm). Es treten bereits Variationen der Antworttypen auf, z.B. besitzen einzelne Neurone mehrere charakteristische Frequenzen (Moller, 1983; Moller, 2006). Die Modifikation der Signale wird beeinflusst durch die Membraneigenschaften der Neurone, die Organisation presynaptischer Elemente des Hörnerven, Rückprojektionen von höheren Strukturen und innere Fasertrakte, sowie durch kommissurale Verbindungen (Babalian et al., 2003; Cant, 1993; Osen, 1988; Rhode and Greenberg, 1992). In Säugetieren setzt sich der CN aus drei Untereinheiten zusammen. Der anteriore und posteriore ventrale Nucleus cochlearis (VCN) und der dorsale Nucleus cochlearis (DCN). In allen drei Unterkernen kommen exzitatorische und inhibitorische Neurone vor (Rhode and Greenberg, 1992). Der ventrale Kern des CN erhält fast ausschließlich Afferenzen aus dem Hörnerv, während der dorsale Kern auch Projektionen anderer Sinnesmodalitäten aus höheren Zentren und des Kortex empfängt (Ferragamo und Oertel, 2001; Hirsch, 1988). Direkte interhemisphärische Projektionen vermitteln schon auf Stufe des CN

## **Einleitung**

---

bilaterale Interaktionen, weshalb inhibitorische und exzitatorische Antworten nach kontralateraler Stimulation auftreten (Sumner et al., 2005). Die Ausgänge des CN projizieren zu verschiedenen Regionen, vorwiegend aber tonotopisch zu den ipsilateralen oberen Oliven (SOC) und über den lateralen Lemniscus zum kontralateralen IC. Einige Fasern aller drei Kerne projizieren direkt zum ipsilateralen IC, ohne die Hemisphären zu kreuzen. Außerdem bestehen Projektionen zu motorischen Kernen. Diese lösen den Mittelohrreflex aus, der die Schallübertragung im Mittelohr dämpft (Margolis, 1993). Einige Axone des posterioren ventralen Kerns gelangen auch über den kontralateralen dorsalen Lemniscuskern zum ipsilateralen Colliculus inferior (Abb. 1, Hirnstamm).

Der SOC ist das nächste Kerngebiet der aufsteigenden Hörbahn und wird in einen medialen und lateralen Kern unterteilt, die bilaterale Afferenzen von den Nuclei cochleares erhalten. Weiterhin wird zu diesem auditorischen Kerngebiet noch der mediale Nucleus des Trapezoidkörpers gezählt. Der mediale Kern des SOC spielt eine Rolle beim zeitlichen Vergleich auditorischer Signale, der laterale Kern wurde außerdem in Zusammenhang mit der Verarbeitung von Intensitätsunterschieden gebracht (Moore, 1987). Der laterale Kern antwortet auf ein breites Frequenzspektrum, während der mediale Kern hauptsächlich bei Stimulation mit tieferen Frequenzen reagiert (Frisina and Walton, 2001; Abb. 1, Hirnstamm).

Der Lemniscus lateralis (LL) ist ein Fasertrakt, der seine Projektionen aus allen Kernen des CN und dem SOC erhält und die Hörbahn auf die kontralaterale Hemisphäre zum IC führt. Zum Fasertrakt dazugehörig bestehen auch zwei Kerngebiete. Der dorsale Nucleus erhält Projektionen beider Ohren. Er wird deshalb dem binauralen System zugeordnet und dient der Geräuschlokalisierung (Kelly et al., 1998). Der ventrale Kern des LL erhält seine Eingänge hauptsächlich vom kontralateralen Ohr (Abb. 1, Hirnstamm).

Der Colliculus inferior (IC) im Mittelhirn besitzt eine Schlüsselstellung in der Hörbahn, da er eine Schaltstelle für fast alle aufsteigenden Trakte bildet. Es werden drei Unterkerne unterschieden. Im Zentrum befindet sich der streng tonotop organisierte zentrale Kern, lateral und dorsal der externe und dorsale Kortex (Ehret und Stiebler, 1985; Ehret und Romand, 1997; Malmierca, 2004). Die tonotope Organisation folgt im zentralen IC einer dorsoventralen Achse mit der Repräsentation von tieferen

## **Einleitung**

---

Frequenzen im dorsalen und höheren Frequenzen im ventralen Bereich.

Die Frequenzschärfe beim Antwortverhalten der meisten Neurone nimmt im IC stark zu und wird vermutlich durch laterale GABAerge Inhibition verbessert. Einzelne Neurone erhalten konvergente exzitatorische und inhibitorische Eingänge, weshalb die Komplexität der Verarbeitung auditorischer Information im IC stark zunimmt (Basta et al., 2003; Moller et al., 1992; Suga, 1995). Des Weiteren empfängt der IC viele Rückprojektionen von höheren auditorischen Kerngebieten und nicht auditorischen Strukturen. Absteigende Bahnen des auditorischen Systems aus dem Kortex und kommissurale Eingänge enden eher in den dorsalen Bereichen. Aufsteigende Bahnen aus dem LL projizieren öfter in die ventralen Regionen (Faye-Lund, 1985; Herbert et al., 1991). Neurone des IC projizieren aufsteigend zum MGB und absteigend zum oberen Olivenkomplex und CN (Peruzzi et al., 1997). Es bestehen außerdem Projektionen zum ipsilateralen Colliculus superior (SC) aus den externen und dorsalen Kortexbereichen (Druga und Syka, 1984; Abb. 1, Mittelhirn).

Die vom IC ankommenden auditorischen Informationen werden auf dem Weg zum Kortex im Thalamus durch den MGB verschaltet. Zytoarchitektonisch können ein ventraler, dorsaler und medialer Unterkern unterschieden werden. Dem ventralen Kern wird eine rein akustische Funktion zugeordnet. Der dorsale Kern wird in Zusammenhang mit akustischer Aufmerksamkeit gebracht, während der extralemniscale, mediale Kern multisensorische Informationen integriert und eine Rolle beim emotionalen auditorischen Lernen spielt (LeDoux, 1994; Maren et al., 2001; Weinberger, 2012). Der tonotop organisierte, ventrale Kern erhält seine Projektionen aus dem zentralen Kern des IC. Medialer und dorsaler Kern bekommen Eingänge aus den nicht tonotopen Bereichen des IC, der mediale Kern erhält zusätzlich noch eine Reihe multimodaler Eingänge aus dem somatosensorischen und visuellen System. Direkte Verbindungen zwischen beiden Hemisphären sind auf Höhe des MGB nicht nachgewiesen. Der MGB erhält zudem Eingänge des thalamischen Nucleus reticularis (TRN), der die Erregbarkeit der MGB-Neurone inhibitorisch steuern kann (Bartlett und Smith, 1999). Afferenzen laufen hauptsächlich zum ipsilateralen AC, aber auch zur Amygdala und zum Striatum (LeDoux et al., 1986; Abb. 1, Thalamus).

Im Temporallappen befindet sich der auditorische Kortex, der zwischen

## **Einleitung**

---

verschiedenen Säugetierarten sehr unterschiedlich strukturiert sein kann. Beim Menschen liegt er verdeckt im Temporallappen, weshalb er nicht so umfassend untersucht ist, wie der von Ratte oder Maus (Moller, 2006). In den meisten Nagetieren liegt er an der Oberfläche und es konnten je nach Spezies mittels der Stimulation mit Sinustönen elektrophysiologisch drei bis fünf Gebiete unterschieden werden. In der Maus sind fünf Gebiete aufgrund der Frequenzkarten nach Reintonstimulation und Antworteigenschaften der Neurone unterscheidbar: der primäre auditorische Kortex (A1), das anteriore auditorische Feld (AAF), das sekundäre auditorische Feld (A2), das dorsoposteriore Feld und das ultrasonische Feld (Stiebler et al., 1997). Die Größe des gesamten AC ist bei Mäusen relativ variabel, so dass auch die Ausbreitung der einzelnen auditorischen Felder stark variieren kann. Die Lage der Felder zueinander bleibt allerdings erhalten. In A1 und dem ventral angrenzenden AAF ist eine streng tonotope Frequenzorganisation vorhanden. Die charakteristischen Frequenzen der Neurone in A1 steigen von caudal nach rostral und fallen in AAF von caudal nach rostral ab. Die elektrophysiologisch charakterisierten Neurone in beiden Feldern zeigen schmale Frequenzantwortkurven mit spezifischen Frequenzen zwischen ungefähr 3 kHz und 42kHz. Frequenzen über 45 kHz sind in einem speziellen Ultraschallfeld dorsal des AAF zu finden. A2 liegt ventral von AAF und weist Repräsentationen für alle Frequenzen des Hörbereichs auf. Dorsocaudal von A1 befindet sich das dorsoposteriore Feld, das über eine konzentrische Tonotopie verfügt (Stiebler et al., 1997).

Der primäre auditorische Kortex und die posterioren Felder erhalten tonotope Eingänge vom ventralen Kern des MGB, die hauptsächlich in Kortexschicht 4 enden und weniger stark in Schicht 3. Von A1 führen Fasertrakte zu den anderen sekundären Feldern und angrenzenden kortikalen Regionen, in denen verschiedene sensorische Information integriert wird und Verschaltungen mit nichtsensorischen Strukturen vorliegen (Winguth und Winer, 1986; Abb. 1, Kortex ). Innerhalb des AC breitet sich nach Stimulation die Erregung erst in A1 und AAF in ventrodorsaler Richtung aus, gefolgt von einer rostrokaudalen Bewegung über die sekundären Felder (Reimer et al., 2010). Rostral zum AC wurde in Bereichen des Insula Kortex ein ebenfalls tonotop organisiertes auditorisches Gebiet identifiziert, das eine Rolle

## **Einleitung**

---

bei der schnellen Verarbeitung tiefer Frequenzanteile spielen könnte (Sawatari et al., 2011). Die Neurone in Schicht 4 und 5 bilden einen Teil der ipsilateralen kortikofugalen Projektionen zum Thalamus. Neurone aus Schicht 5 projizieren bilateral zu den subthalamischen auditorischen Kernen und dem kontralateralen AC über das Corpus callosum (Herbert et al., 1991; Games und Winer, 1988; Hefti und Smith, 2000). Die kortikofugalen Verbindungen sind meist inhibitorisch und führen durch Veränderungen im AC, ausgelöst durch einen veränderten Eingang, zu einer Regulierung der neuronalen Eigenschaften untergeordneter Kerngebiete. Dadurch können die Eingangssignale zum auditorischen Kortex entsprechend ihrer Verhaltensrelevanz verändert werden (Imig und Durham, 2005; Suga et al., 2002; Suga, 2008). Diese Modulation reicht vom externen und dorsalen Kortex des IC, über Projektionen in den DCN und SOC, bis zur efferenten Innervation der Haarzellen (Warr, 1992).

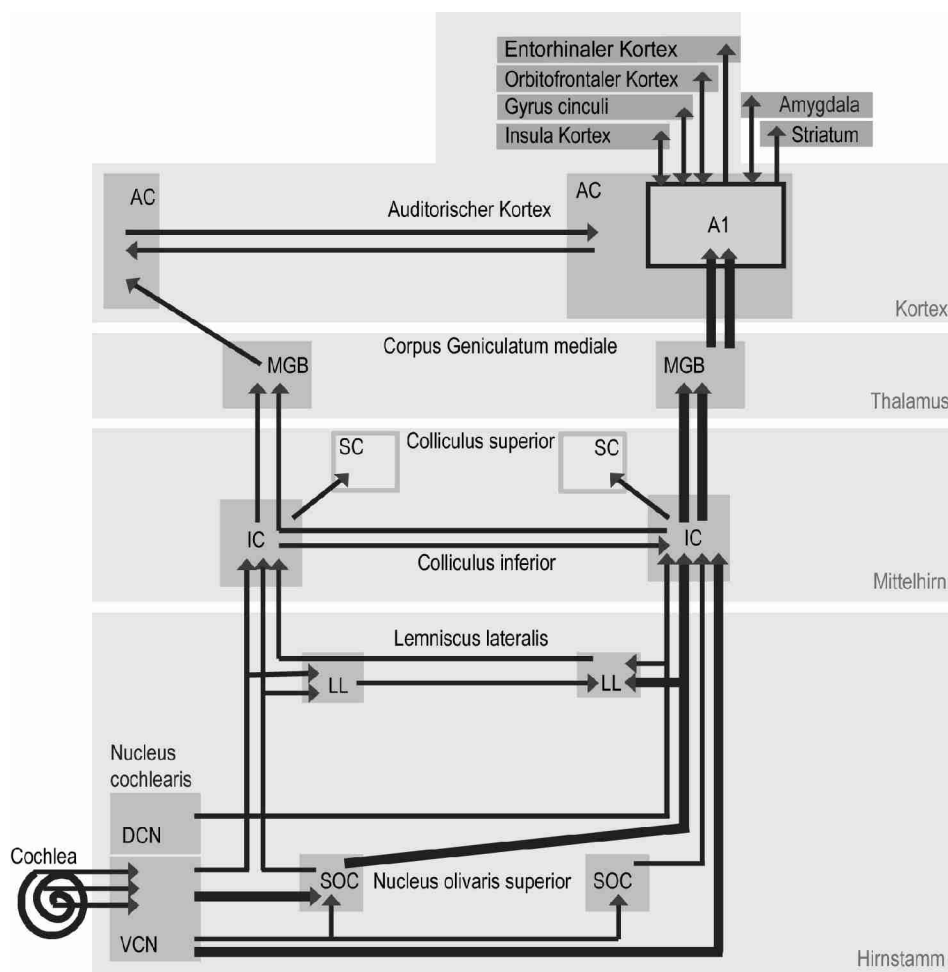


Abb. 1: Schematische Darstellung des afferenten auditorischen Systems mit seinen wichtigsten Projektionen (nach Moller 2006). Einige Projektionen des primären auditorischen Kortex zu assoziativen und limbischen Regionen wurden hinzugefügt (nach Weinberger 2004).

### 1.3 Limbisches System

Das limbische System ist eine zweckmäßige, aber bisher nicht klar abgrenzbare Beschreibung funktionell und anatomisch verbundener Kerne und Kortextbereiche, die hauptsächlich im Zwischen- und Großhirn lokalisiert sind. Innerhalb des Systems gibt es Netzwerke, die emotionale, kognitive und motivationale Prozesse, wie Stress, Sucht, Leiden, Aufmerksamkeit, sowie Lernen und Gedächtnis vermitteln. Zu den wichtigsten interagierenden Strukturen des limbischen Systems gehören der präfrontale Kortex, die Amygdala, der Hippocampus, der Nucleus accumbens, der

## Einleitung

---

limbische Thalamus, der anteriore Thalamus und das ventrale Tegmentum. Eine Reihe von Neurotransmittersystemen (Dopamin, Serotonin, Acetylcholin) moduliert dabei das Zusammenspiel und die Pfade zwischen diesen Strukturen.

Der heterogene präfrontale Kortex setzt sich zusammen aus dem prelimbischen und infralimbischen Kortex, dem anterioren Gyrus cinguli (CG), der Insula und den orbitofrontalen Regionen (Guldin et al., 1981; Uylings et al., 2003). Die verschiedenen Areale des präfrontalen Kortex sind an komplexen Funktionen wie Arbeitsgedächtnis, Aufmerksamkeit, Emotionen, Entscheidungsfindung und der Visceromotorik beteiligt (Morgane et al., 2005; Yamasaki et al., 2002). Eingänge erhält diese Region aus allen sensorischen Kortextbereichen, dem Hippocampus, dem Thalamus und der Amygdala. Speziell der mediale präfrontale Kortex, der den anterioren CG beinhaltet, ist ein wichtiger Teil eines Netzwerks, das die Aufmerksamkeit reguliert und bei der Verarbeitung emotional relevanter Stimuli beteiligt ist (Bryden et al., 2011; Etkin et al., 2011; Neafsey et al., 1993; Posner und Petersen, 1990; Posner, 1994; Petersen und Posner, 2012; Vogt et al., 1992). Afferenzen erreichen den medialen präfrontalen Kortex aus sensorischen und motorischen Kortextbereichen eher im dorsalen Bereich, während ventrale Regionen, wie der infra- und prelimbische Kortex, vorwiegend limbische Eingänge erhält (Hoover und Vertes, 2007; Vertes, 2004). Der anteriore CG projiziert unter anderem über glutaminerge Projektionen zum Nucleus accumbens. Außerdem bestehen absteigende Projektionen zur Amygdala und anderen limbischen Regionen, sowie zu Kernen des Thalamus (u.a. TRN) und Mittelhirns, zu den sensorischen Kortices und zum Striatum (Sesack et al., 1989; Groenewegen et al., 1990; Groenewegen et al., 1997).

Die Amygdala setzt sich aus drei Hauptkernen zusammen, der lateralen, basolateralen und der zentralen Amygdala. Sie spielt eine wesentliche Rolle bei der Emotionsverarbeitung und der Ausbildung des emotionalen Gedächtnisses (Cardinal et al., 2002). Im Hippocampus verursacht sie eine Modulation bei *Long Term Potentiation* (LTP) und der Konsolidierung von Gedächtnisinhalten (McGaugh, 2002). Eingänge erhält die Amygdala hauptsächlich über den lateralen Kern von den sensorischen Haupt- und Nebenkernen des Thalamus. Auditorische Eingänge erreichen den lateralen und basolateralen Kern vom ventralen MGB und primären



## **Einleitung**

---

AC (Doron und LeDoux, 1999; Romanski und LeDoux, 1992). Die lateralen und dorsalen Bereiche scheinen eine wichtige Konvergenzstelle für auditorische und somatosensorische Reize zu sein (Romanski et al., 1993a). Eingänge erhält die laterale und basolaterale Amygdala auch vom präfrontalen Kortex. Diese Afferenzen gelangen hauptsächlich vom prälimbischen und infralimbischen Kortex sowie Teilen der Insula zur lateralen Amygdala (McDonald et al., 1996). Die Vernetzung innerhalb der Amygdala ist sehr komplex. Wesentliche Verbindungen bestehen von der lateralen und basolateralen zur zentralen Amygdala. Die zentrale Amygdala projiziert zu Kernen des Hirnstamms, des Hypothalamus, zum Nucleus basalis und dem TRN (Cardinal et al., 2002; Jolkkonen und Pitkanen, 1998; Pitkanen et al., 1997). Die basolaterale Amygdala besitzt Ausgänge zum ventralen Striatum und reziprok zu den präfrontalen Regionen und sekundären polysensorischen Kortices (Everitt und Robbins, 1992), sowie zum IC (Marsh et al., 2002). Die Amygdala kann somit die Informationsverarbeitung und Plastizität im auditorischen Kortex beeinflussen, entweder indirekt über das cholinerge Vorderhirn und den Hippocampus, oder direkt über amygdalokortikale Projektionen (Cahill und McGaugh, 1998; Weinberger, 1998; Yukie, 2002).

Die Hippocampusformation (HPC) befindet sich im Temporallappen und spielt eine wesentliche Rolle bei der Abspeicherung von Gedächtnisinhalten, der räumlichen Navigation und der Aufmerksamkeitskontrolle. Sie umfasst den Gyrus dentatus (DG), den Hippocampus proper (Cornu ammonis, CA1-3) und das Subiculum (SUB), sowie ferner auch den entorhinalen Kortex (ENT) und das Pre- und Parasubiculum (Anderson et al., 2007; Rowland und Kentros, 2008). Eingänge erhält der Hippocampus aus den sensorischen Kortexarealen über den ENT. Im Hippocampus wird die eingehende Information über einen trisynaptischen Kreislauf (DG zu CA3 zu CA1) prozessiert. CA1 projiziert hauptsächlich zurück über das SUB zum ENT. Es gibt aber auch eine Reihe direkter Projektionen des ENT nach CA1. CA1 könnte deshalb beim Abgleich der aktuellen sensorischen Realität mit der in CA3 gespeicherten Information eine Rolle spielen (Vinogradova, 2001). Diese Vergleichsfunktion konnte für Neurone in der CA1 und CA3 Region bei der Verarbeitung von akustischen Zeit- und Frequenzinformationen nachgewiesen werden (Sakurai, 2002). Beim Vergleich einfacher und komplexer auditorischer

## **Einleitung**

---

Informationen mit bekannten auditorischen Gedächtnisinhalten ist außerdem das SUB involviert (Milner, 1972; Naber et al., 2000). Die Aktivität im Hippocampus wird durch mehrere subkortikale Gebiete moduliert. Dopaminerge Projektionen stammen aus dem ventralen Tegmentum, cholinerge aus dem medialen Septum und adrenerge aus dem Locus coeruleus (Amaral und Witter, 1995; Gasbarri et al., 1994). Reziproke Verknüpfungen bestehen mit der Amygdala und weiteren Kernen des Thalamus (McKenna und Vertes, 2004). In Interaktion mit dem medialen präfrontalen Kortex hat der Hippocampus eine wesentliche Rolle bei der Bildung deklarativen Gedächtnisses (Chun und Turk-Browne, 2007). Der Hippocampus projiziert direkt in den medialen präfrontalen Kortex (Sesack et al., 1989), wo über Interneurone die Informationen aus dem Hippocampus integriert wird (Tierney et al., 2004). Informationen aus dem präfrontalen Kortex erreichen den Hippocampus jedoch größtenteils indirekt über den medialen Thalamus und das Claustrum (Amaral und Witter, 1995; Jones und Wilson, 2005), weshalb angenommen werden kann, dass die Aktivität im präfrontalen Kortex durch den Hippocampus verändert wird, umgekehrt aber ein wesentlich geringerer Einfluss besteht (Siapas et al., 2005).

### **1.4 Untersuchungen am Tinnituspatienten**

Es wird geschätzt, dass in den westlichen Industrienationen 5-15% der Bevölkerung einen subjektiven Tinnitus wahrnehmen. Bis zu 40% der Betroffenen klagen neben dem Tinnitus über Hyperacusis oder Intoleranz gegenüber Umweltgeräuschen (Baguley, 2003). Bei 1-3% der Bevölkerung treten Begleitsymptome auf, die eine Leidenserfahrung verursachen oder der Tinnitus selbst wird als störend empfunden (Henry et al., 2005; Dobie, 2003). Bei 78% der leidenden Patienten zählen Schlafstörungen zu den häufigsten Problemen, was auch ein Grund dafür sein könnte, dass Aufmerksamkeits- und Konzentrationsschwierigkeiten bestehen (Meikle et al., 2003). Die kognitive Leistungsfähigkeit und Reaktionszeit kann sich durch den Tinnitus verschlechtern (Rossiter et al., 2006; Dornhoffer et al., 2006). Außerdem besteht ein Zusammenhang zwischen Tinnitus und psychiatrischen Erkrankungen (Langguth, 2011), z.B. zeigten in einer Studie 74% der Patienten mit schwerem Tinnitus irgendwann eine leichte Depression. 52% litten während ihrer

## **Einleitung**

---

Krankengeschichte bereits an einer schweren Depression und 49% litten unter Angststörungen (Zöger, 2006). Somit zeigen Tinnituspatienten eine höhere Inzidenz für Depressionen (Holmes and Padgham, 2011). Andere Probleme, die mit einer Tinnituswahrnehmung einhergehen beinhalten Verstimmungen, Drogenabhängigkeit, Kopfschmerzen und verringertes Sprachverständnis (Langguth, 2011).

Die wissenschaftlichen Studien am Menschen wurden fast ausschließlich Jahre nach dem ersten Auftreten der Tinnituswahrnehmung, im chronischen Stadium durchgeführt. Zuerst wird meist ein möglicher Hörschaden durch Reintonaudiogramm bestimmt, gefolgt von einer Ermittlung der Tinnitusfrequenzen und Lautstärke. Der Grad der subjektiven Leidenserfahrung eines dekompenzierten Tinnitus kann durch einen psychologischen Test ermittelt werden, das sogenannte Tinnitus Questionnaire (Goebel und Hiller, 1994). Die Untersuchungsmethoden zur Aufklärung des Generierungsmechanismus und dem neuronalen Korrelat der Tinnituswahrnehmung beschränken sich auf funktionelle bildgebende Verfahren wie Positronenemissions- und Magnetresonanztomographie (PET, MRT), sowie Elektro- und Magnetenzephalographie (EEG, MEG). Viele der Erkenntnisse aus diesen Studien sprechen neben der Beteiligung des auditorischen Systems auch für eine Beeinflussung des Tinnitus durch das limbische System.

In einer PET Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass die Aktivität im auditorischen Kortex mit der Intensität des Tinnitus korreliert. Bei einigen Patienten nahm durch Kaubewegungen die Tinnituswahrnehmung ab, woraufhin der cerebrale Blutfluss im AC und im Hippocampus erniedrigt wurde (Lockwood et al., 1998; Lockwood et al., 2002). Eine funktionelle MRT Studie zeigte erhöhte Aktivierung im IC (Melcher et al., 2009). Korrelierte strukturelle und funktionelle Veränderungen konnten bei Tinnituspatienten auch in der Amygdala und dem Hippocampus gezeigt werden (DeRidder et al., 2006; Landgrebe et al., 2009).

Einige EEG-Studien weisen auf eine Änderung der Netzwerksynchronisation bei Tinnituspatienten hin. Durch die Messung der Spannungsschwankungen an der Kopfoberfläche lassen sich Aussagen über die Aktivität und Synchronisation bestimmter Areale treffen. Verschiedene Aktivitätsgrade werden von Frequenzänderungen der EEG-Signale begleitet. Theta-Wellen (4-8Hz) entstehen verstärkt bei Schläfrigkeit und leichtem Schlaf. Alpha-Wellen (8-13 Hz) treten bei

## **Einleitung**

---

Entspannungszuständen auf und Gamma-Wellen (>30Hz) sind ein Anzeichen für Lernprozesse und das Ausüben anspruchsvoller Tätigkeiten. Weiterhin spielen sie eine Rolle bei der Synchronisation von entfernten Hirnarealen und der multimodalen Intergration (Doesburg et al., 2012; Kisley und Cornwell, 2006; Vidal et al., 2012). In einer frühen EEG-Studie wurde herausgefunden, dass Tinnituspatienten verstärkte Thetaaktivität im medialen Thalamus besitzen (Jeanmonod et al., 1996). Magnetenzephalographische Aufnahmen weisen ebenfalls verstärkte Aktivität im Thetawellenbereich von 4-8 kHz auf. Wenn den Patienten Stimuli präsentiert wurden, die den Tinnitus maskieren, nimmt die Thetawellenaktivität ab (Llinas et al., 2005). Deshalb wird angenommen, dass beim Menschen thalamokortikale Dysrhythmien im Thetabereich zu einer intrakortikalen Gammasynchronisation beitragen, wodurch die Tinnituswahrnehmung verstärkt wird (Llinas et al., 1999; Middleton et al., 2012). Tinnituspatienten zeigen außerdem eine verstärkte Gammaaktivität, die mit der funktionellen Verknüpfung entfernter Neuronenpopulationen in Zusammenhang gebracht wird und deshalb das neuronale Substrat für eine bewusste Wahrnehmung darstellen könnte (Fries et al., 2007; Womelsdorf et al., 2007).

Aktuelle magnetenzephalografische Patientenstudien unterstützen die Sicht einer Beteiligung eines weitverzweigten Netzwerks auditorischer und nicht auditorischer Gehirnregionen bei der Tinnituswahrnehmung. Die Arbeiten von Schlee und Weisz zeigten eine Reihe von funktionellen Veränderungen zwischen entfernten Gehirnregionen bei Tinnituspatienten im Ruhezustand. Dabei konnte ein funktionelles Netzwerk aus frontotemporalen Verbindungen offengelegt werden, das hauptsächlich die rechte Hemisphäre betrifft (Schlee et al., 2008). Tinnituspatienten besitzen zudem einen verstärkten Informationseingang von präfrontalen und parietookzipitalen Regionen in den Temporallappen im Gammabereich, dessen Stärke positiv korreliert ist mit der subjektiven Leidenserfahrung der Patienten (Schlee et al., 2009). In einer kürzlich publizierten EEG Studie wurden erstmals Tinnituspatienten im frühen Stadium der Pathogenese mit Patienten im fortgeschrittenen chronischen Stadium verglichen. Mit zunehmender Dauer der Tinnituswahrnehmung zeigte sich hier eine Zunahme der Gammaaktivität im AC, in sekundären motorischen Arealen, dem dorsalen anterioren CG und der Insula, die

## **Einleitung**

---

einhergehend mit einer Abnahme der Konnektivitäten im Alpha-, Beta- und Thetaband. Die Steigerung der Gammaaktivität wurde zwischen dem primären und sekundären auditorischen Kortex und der linken Insula einerseits und beiden auditorischen Kortexhemisphären mit dem rechten dorsolateralen prefrontalen Kortex andererseits beobachtet. Diese beiden Netzwerke erhöhter Gammaaktivität waren funktionell mit dem linken Parahippocampus verknüpft (Vanneste et al., 2011a). Unterschiede zwischen uni- und bilateraler Tinnituswahrnehmung finden sich ebenfalls im Gamma-, aber auch Betaband im kontralateralen Parahippocampus. Die Stärke der Alphabandaktivität ist hier außerdem korreliert mit der Leidenserfahrung der Patienten. Hingegen finden sich keine Unterschiede in allen Frequenzbändern zwischen den auditorischen Kortices beider Hemisphären bei einer unilateralen Wahrnehmung (Vanneste et al., 2011b+c).

Trotz weitreichender Fortschritte in der Aufklärung der zugrundeliegenden Pathophysiologie und der beteiligten Strukturen gibt es bisher weder ein objektives diagnostisches Verfahren zum Nachweis eines subjektiven Tinnitus beim Patienten, noch eine allgemein wirksame oder ursächliche Therapie. Nach Ausschluss eines objektiven Tinnitus und je nach Schwere der Begleitsymptome (Depression, Konzentrations- und Schlafstörungen, Leidenserfahrung) beschränkt sich eine Behandlung häufig auf eine Psychotherapie, die helfen soll die negativen Begleitsymptome zu verringern. Akustische Therapieformen zeigen bei einigen Patienten eine positive Wirkung und es kommt zur Verringerung der Wahrnehmung bis hin zum Verschwinden des Phantomgeräuschs. Ein Tinnitus-Masker sendet zum Beispiel ein definiertes Rauschen aus, das deutlich lauter als der Tinnitus ist und deshalb das quälende Tinnitusgeräusch überdeckt. Der Tinnitus-Noiser erzeugt ein dem Tinnitus gleichwertiges Rauschen. Die dominierende Position des Tinnitus soll dadurch geschwächt, nicht aber wie beim Masking überstört werden (Vernon und Meikle, 2003). Die natürliche Filterfunktion des Ohres und des zentralen auditorischen Systems sollen dann helfen den Tinnitus zu verringern. In der Regel werden akustische und Psychotherapie kombiniert in der sogenannten „Tinnitus-Retraining-Therapie“ (Henry et al., 2006; Jastreboff, 2007). Seit kurzem ist bei tonalem Tinnitus eine weitere Therapie in mehreren Ländern zugelassen, die durch gezielte akustische Stimulation das überaktive, hochsynchrone Tinnitusnetzwerk

## **Einleitung**

---

stören soll (Adamchic et al., 2012; Tass und Popovych, 2012). Weiterhin wird zur Zeit intensiv versucht mit transkranieller Magnetstimulation den Tinnitus zu behandeln (Langguth et al., 2012; Mennemeier et al., 2012; Smith et al., 2007; Weisz et al., 2012), was bei einem Teil der Patienten auch Erfolg hat (Meng et al., 2012). Außerdem gelang es vor kurzem in einem Tiermodell mit Hilfe einer Vagusnervstimulation die Verhaltensanzeichen eines schallinduzierten Tinnitus zu eliminieren (Engineer et al., 2011).

### **1.5 Tinnitus im Tiermodell**

Die bildgebenden Studien am Menschen haben sich als sehr wertvoll erwiesen um Regionen zu identifizieren, die bei der Tinnitusgenerierung eine Rolle spielen. Jedoch sind die anatomischen, biochemischen, neurophysiologischen und neuropharmakologischen Mechanismen der Tinnituserstehung schlecht im Menschen zu untersuchen und es wurden daher im letzten Jahrzehnt große Anstrengungen unternommen verlässliche Tiermodelle zu entwickeln. In den nächsten Kapiteln soll dargestellt werden, wie Tinnitus in Tiermodellen induziert werden kann, welche Nachweismethoden der Tinnituswahrnehmung zur Verfügung stehen und welche neurophysiologischen Erkenntnisse und Modelle zur Pathogenese daraus resultierten.

In Tierversuchen werden in der Regel Nagetierarten der Spezies *Meriones unguiculatus* (mongolische Wüstenrennmaus), *Rattus norvegicus* (Ratte), *Mus musculus* (Maus), *Cavia porcellus* (Meerschweinchen) und *Mustela putorius furo* (Frettchen) verwendet. Am häufigsten kommen aktuell zur experimentellen Tinnitusauslösung akustische Signale mit hohen Schalldruckpegeln (>90 dB SPL) zum Einsatz, wobei sowohl unilateral, als auch bilateral beschallt werden kann. Die Signale werden in der Regel kontinuierlich unter Narkose präsentiert. Neben der Präsentation mit kontinuierlicher Signalstärke kommen auch kurze Impulse zum Einsatz, die ein sogenanntes Knalltrauma verursachen (Mao et al., 2012). Dabei werden sehr hohe Pegelstärken (>130 dB SPL) und sehr kurze (<500ms) impulsartige Schallsignale benutzt. Neben breitbandigen Signalen, die weite Bereiche der Cochlea schädigen, werden in der Mehrzahl der Studien jedoch

## **Einleitung**

---

definierte Reintöne oder Rauschsignale verwendet, wobei oft darauf geachtet wird, dass die Traumafrequenzen im besten Hörbereich der Tiere liegen. Aufgrund des Aufbaus der Cochlea sind die Frequenzen oberhalb der Traumafrequenz ähnlich stark betroffen, wie im eigentlich beschallten Frequenzbereich. Der maximale Hörverlust ist etwa eine halbe Oktave oberhalb der Traumafrequenz zu erwarten. In Studien, die ein Schalltrauma zur Tinnitusinduktion verwenden, zeigen mehr als die Hälfte der Tiere Verhaltensanzeichen für einen Tinnitus (Longenecker und Galazyuk, 2011; Middleton et al., 2011; Wang et al., 2009). Zur Auslösung von Tinnitus wurde in Tiermodellen neben Schalltraumen auch häufig Salicylat verwendet (u.a. Mahlke und Wallhäuser-Franke, 2004; Paul et al., 2008; Turner und Parrish, 2008), weil die Gabe einer hohen Dosis Salicylat zuverlässig eine Tinnituswahrnehmung auslöst. Da diese aber nach Ende der Gabe, wie auch im Menschen, komplett verschwindet, liegt wahrscheinlich ein anderer Mechanismus der Tinnituserzeugung zugrunde. Weiterhin können mit Hilfe des Salicylatmodells keine anhaltenden chronischen Veränderungen bei der Tinnituserzeugung untersucht werden. In der vorliegenden Arbeit wurde davon ausgegangen, dass nach zwei Wochen das Schalltrauma einen permanenten Hörverlust auf dem exponierten Ohr verursacht und bei einem Teil der Tiere die Tinnituserzeugung eingesetzt hat. Im folgenden wird deshalb dieser Zeitpunkt als das chronische Stadium bezeichnet. Wir gehen aber nicht zwangsläufig davon aus, dass der Zustand der Mäuse mit der chronischen Phase im Menschen vergleichbar oder identisch ist, oder der Zustand nach 2 Wochen bereits das Endstadium darstellt.

Um nachzuweisen, dass im Tiermodell eine anhaltende Geräuschwahrnehmung ausgelöst werden kann wurden verschiedene Verhaltensversuche etabliert. In allen Verhaltensparadigmen wird das Tier trainiert Stille wahrzunehmen und darauf entsprechend zu reagieren. Zeigt das Tier eine veränderte Verhaltensantwort, die vermuten lässt, dass die Stille schlechter erkannt wurde, wird davon ausgegangen, dass es einen Tinnitus wahrnimmt. Eines der ersten Modelle benutzt die konditionierte Unterdrückung der Trinkrate bei Stille zum Nachweis einer Tinnituswahrnehmung (Jastreboff et al., 1986; Jastreboff et al., 1988). Spätere Modelle verwendeten weitere Paradigmen der konditionierten Verhaltensunterdrückung (Bauer und Brozoski, 1999; Bauer und Brozoski, 2001) und

## **Einleitung**

---

Vermeidung (Guitton et al., 2003; Lobarinas et al., 2004), sowie *forced choice* (Heffner und Harrington, 2002). Bei dem mittlerweile am häufigsten angewandten Verhaltensmodell zum Tinnitusnachweis wurde die Vorpulsinhibition bei akustischer Schreckreaktion ausgenutzt und für die Tinnitusforschung adaptiert (Abb. 5). Wird einem lauten Knall ein leiserer akustischer Vorpuls vorangestellt, so wird die folgende Kontraktion der Skelettmuskulatur inhibiert. Bei der Kontraktion handelt es sich um einen Hirnstammreflex, der aber durch höhere Gebiete und kortikale Areale modifiziert werden kann. Die Inhibition findet nur statt, wenn der Vorpuls eine maximale zeitliche Distanz von 200 ms zum Knall hat, weshalb der Vorpuls auch nur unbewusst wahrgenommen wird. Bei der Adaption für die Tinnitus-Tiermodellforschung ist der Vorpuls ersetzt durch eine akustische Lücke in einem sonst kontinuierlichen Hintergrundgeräusch (Turner et al., 2006). Wenn die Frequenz des Hintergrundgeräusches gleich oder ähnlich der Frequenzen des wahrgenommenen Tinnitus ist, dann wird die Lücke schlechter wahrgenommen, worauf die Inhibition der Muskelkontraktion reduziert ist. Die Stärke der aufgenommenen Beschleunigung wird wieder größer und nähert sich der Verhaltensantwort ohne vorausgehende Lücke im Hintergrundgeräusch an. Bisher wurde das Modell in Ratten, Wüstenrennmäusen, Mäusen und Meerschweinchen eingesetzt (Turner et al., 2006; Middleton et al., 2011; Nowotny et al., 2011; Dehmel et al., 2012). Aktuelle Studien benutzen dieses Verhaltensparadigma um zwischen Tieren mit und ohne Tinnituswahrnehmung zu unterscheiden. Im Gegensatz zu früheren Studien kann dadurch die spezifische Aktivierung eines schallinduzierten Tinnitus untersucht werden. Dazu gibt es aber bisher wenige Arbeiten (Middleton et al., 2011, Wang et al., 2009). Die Lückendetektionsmethode diente auch in der vorliegenden Arbeit zur Unterscheidung von Mäusen mit und ohne Tinnituswahrnehmung, wobei danach mit Hilfe der 2-DG Methode erstmals die Aktivität im gesamten Gehirn untersucht wurde.

### **1.6 Periphere und zentrale Effekte nach Schalltrauma**

Während einer Lärmexposition mit Schallpegeln über 100 dB SPL kommt es zu einem lärminduzierten temporären Hörverlust, der nach Ende der Exposition meist



## **Einleitung**

---

wieder abnimmt. Je nach Lautstärke und Expositionsdauer kann sich das Hörvermögen auch wieder vollständig regenerieren. Oft stellt sich aber eine permanente Hörschwellenverschiebung ein, deren Höhe meist abhängig ist vom initialen Schaden (Moller, 2006; Nordmann et al., 2000).

Durch zu große Druckveränderungen bei einer Schallexposition kommt es in der Scala media des Innenohrs mechanisch zur strukturellen Schädigung der äusseren Haarzellen (Tsuprun et al., 2003). Im akuten Stadium deuten die Beschädigungen von Stereocilien und ein Anschwellen der Zellkörper bereits auf nekrotische Vorgänge hin (Saunders et al., 1985). Außerdem wurden apoptotische Prozesse beobachtet, die aufgrund von Dysfunktionen in den Mitochondrien, einer Schädigung der Zellmembran und einer Glutamatintoxikation initiiert werden (Hu, 2007; Hu und Zheng, 2008). Bei verstärkter Lärmexposition können auch die inneren Haarzellen und die Hörnervenfasern beschädigt werden (Bohne et al., 1976). Hier wird der Hörverlust vor allem auf eine Glutamatintoxikation zurückgeführt, nachdem Glutamat aufgrund starker Aktivierung in zu großen Mengen in den synaptischen Spalt gelangt und nur unvollständig in die Zellen zurück transportiert werden kann. Dadurch kommt es zu einem vermehrten Kalziumeinstrom, der die Funktion der Mitochondrien kollabieren lässt und einen Anstieg von freien Radikalen erzeugt (Greenwood und Connolly, 2007; Salinska et al., 2005). Je nach Stärke und Dauer der Exposition kann es sogar vorkommen, dass akute Schädigungen afferenter Nerven terminalen auftreten, die die verspätete Degeneration des Hörnervs zur Folge haben, obwohl die Haarzellen später wieder weitgehend intakt sind (Kujawa et al., 2009). Bei Schallpegeln über 115 dB SPL kommt es zu direkten mechanischen Schädigungen der Cochlea mit Abriss des Cortiorgans von der Basilarmembran, Zerstörung von Stützzellen und Schädigung der Stereozilien der Haarzellen, die meist nicht vollständig regeneriert werden können. Außerdem führt eine starke Lärmexposition durch Anschwellen der Stria vascularis zu Zellverlust und Schädigung der Blutgefäße, wodurch das endocochleäre Potential zusammenbricht. Durch die resultierende energetische Mangelversorgung entstehen dann vermehrt freie Radikale, die nekrotische Prozesse in Gang bringen (Hirose und Liberman, 2003; Henderson et al., 2006; Nakashima et al., 2003; Ohlemiller, 2006). In den Tagen danach kommt es zu fortschreitenden Läsionen, wobei die Apoptose am

## **Einleitung**

---

Anfang gegenüber der Nekrose überwiegt (Yang et al., 2004). Sind die Regenerationsprozesse nicht ausreichend, kann sich ein permanenter Hörschwellenanstieg manifestieren, der aber nicht zwangsläufig durch die Stärke des temporären Schadens festgelegt ist (Nordmann et al., 2000).

Einige der zentralen audiologischen Symptome einer schallinduzierten Cochleaschädigung lassen sich nicht mit der peripheren Pathologie erklären. Das auslösende periphere Ereignis ist die Schädigung des Innenohrs, bzw. der Haarzellen. Diese bilden die Afferenzen zu den höheren auditorischen Arealen. Die entsprechenden Neurone sind deshalb durch die Schädigung in primären auditorischen Arealen deafferenziert. Das zentrale Nervensystem versucht daraufhin den Wegfall peripherer Eingänge zu kompensieren, wodurch Symptome wie Tinnitus oder Hyperacusis entstehen können. Das bei der Tinnituserstehung zentrale Prozesse für die Symptome verantwortlich sind, wurde unter anderem daraus gefolgert, dass ein Durchtrennen des Hörnervs nicht zur Besserung des Tinnitusempfindens führt, sondern dieses oft noch verstärkt (Wazen et al., 1997). Deshalb sind die akuten und langfristigen Veränderungen in der zentralen Hörbahn, die sich anatomisch und funktionell manifestieren können, höchstwahrscheinlich durch den Wegfall der Eingangsaktivität induziert.

Nach Schädigung der Cochlea kommt es zu einer Vielzahl neurodegenerativer Prozesse im zentralen Nervensystem. In den ersten Tagen nach Schalltrauma wurde eine Reduktion der Übertragung an den Synapsen des Hörnervs beobachtet (Liberman und Kiang, 1978; Müller et al., 1997; Patuzzi, 2002). Dadurch verringert sich die synaptische Übertragung innerhalb der ersten Tage nach der Schädigung, kann sich aber über einen Zeitraum von einigen Monaten wieder regenerieren. Im ventralen CN finden bereits innerhalb der ersten Stunden degenerative Prozesse statt, die über Tage bis zu mehreren Wochen bestehen bleiben (Gil-Loyzaga et al., 2009). Unter anderem degenerieren die Axone und verringern ihre Anzahl an Verbindungen (Kim et al., 1997, Kim et al., 2004a+b). Im MGB und der Schicht 4 und 5 im AC kommt es nach Schalltrauma zur Reduktion der Zelldichte (Basta et al., 2005) und im Menschen konnte gezeigt werden, dass Hörbeeinträchtigungen mit Volumenabnahmen der grauen Substanz in auditorischen Kortexarealen und anderen Kernen zusammenhängen (Harris et al., 2009). In verschiedenen Kernen

## Einleitung

---

des auditorischen Systems wurden außerdem Veränderungen der Spontanaktivität, der burst-Aktivität, der evozierten Potentiale und Veränderungen der tonotopen Repräsentationen gefunden (siehe Kap. 1.7)

Neben den neurodegenerativen Veränderungen wurden nach peripherer Schädigung sowohl Beispiele für Hebb'sche, als auch homöostatische Plastizität in Tiermodellen gefunden (Scholl und Wehr, 2008; Yang et al., 2011). Funktionell kommt es nach einigen Stunden zur Änderung der Erregbarkeit in den auditorischen Kernen, die unter anderem durch eine Umverteilung der Rezeptordichte vermittelt wird, z.B. reduziert sich die Anzahl von Glutamaterezeptoren an zuvor auditorisch innervierten Synapsen im VCN, während sich die Anzahl glutamaterger Eingänge, unter anderem auch aus somatosensorischen Kerngebieten, im DCN erhöht (Rubio, 2006; Zeng et al., 2009). Dies könnte dort eine Verstärkung synaptischer Übertragung zur Folge haben. Stimulation oder Deprivation führen im AC direkt zur Veränderung der synaptischen Aktivität und damit zu LTP oder *Long Term Depression* (LTD) und neuronaler Plastizität in Form von neuen synaptischen Verknüpfungen (Keuroghlian und Knudson, 2007). Die Antworteigenschaften der Neurone werden durch diese Vorgänge langfristig verändert, um an Veränderungen in Anzahl und Stärke synaptischer Eingänge zu adaptieren (Popelar et al., 1994; Turrigiano, 1998; Salvi et al., 2000). Um den verminderten Eingang aus der Peripherie auszugleichen kommt es nach einem Schalltrauma zu plastischen Veränderungen die eine tonotop begrenzte Verstärkung der Aktivität zur Folge hat. Diese homöostatischen Mechanismen werden sowohl im AC, als auch in den unteren Kernen der Hörbahn beobachtet (Kotak et al., 2005; Syka und Rybalko, 2000). Plastische Veränderungen im AC werden jedoch nicht nur durch die aufsteigende Hörbahn induziert, sondern können zusätzlich durch die Aktivierung anderer Regionen, wie z.B. dem basalen Vorderhirn, moduliert werden (Engineer et al., 2004; Kilgard und Merzenich, 1998; Yan und Zhang, 2005). Die länger anhaltenden, plastischen Veränderungen von Nervenzellen erfordern die Umorganisation und Bildung synaptischer Verknüpfungen, die durch eine Reihe von Effektorgenen vermittelt werden (Loeblich und Nedivi, 2009; Okuno 2011). Deren Expression wird nach ausreichender Erregung induziert. An Synapsen im dorsalen und ventralen CN, SOC und IC konnten kurz- und langfristig nach unilateraler Cochleaablation

## **Einleitung**

---

Expressionsänderungen von Neutrophinen nachgewiesen werden, die sowohl ipsi- als auch kontralateral zur Seite der Ablation auftraten (Suneja et al., 2005). Außerdem verändert sich akut die Expression von Aktivitäts- und Plastizitätsmarkern. Zwei der am besten untersuchten Proteine dieser Gruppe sind c-fos und arg3.1 (Link et al., 1995; Lyford et al., 1995, Morgan et al., 1987; Smeyne et al., 1992). Im akuten Zustand nach Lärmschädigung wird c-fos im AC, dem dorsalen CN, dem IC und der zentralen Amygdala verstärkt exprimiert (Wallhäusser-Franke et al., 2003), während nach Salicylatgabe c-fos und der Plastizitätsmarker arg3.1 in bestimmten Bereichen des primären auditorischen Kortex und der zentralen Amygdala erhöht ist (Mahlke und Wallhäusser-Franke, 2004)

### **1.7 Einfluss synaptischer Plastizität auf die Tinnitusentstehung**

Arg3.1 ist notwendig für die Konsolidierung synaptischer Plastizität und die langanhaltende Abspeicherung von Gedächtnisinhalten (Plath et al., 2006). Es wird nach synaptischer Aktivierung über NMDA-Rezeptor abhängige Prozesse exprimiert. Die Transskription der arg3.1 mRNA wird induziert durch den MAP Kinase Transduktionsweg (Waltereit et al., 2001), der über eine ganze Reihe von extrazellulären Signalmolekülen aktiviert werden kann (Giorgi et al., 2007; Granado et al., 2008; Bloomer et al., 2008). Nach der Transskription wird die arg3.1 mRNA aus dem Zellkern teilweise in die Dendriten und aktivierte Synapsen transportiert (Link et al., 1995; Lyford et al., 1995; Steward et al., 1998). Das in den Postsynapsen lokal translatierte arg3.1 Protein interagiert mit Dynamin und Endophilin, zwei Proteine, die eine Rolle bei der Clathrin vermittelten Endozytose spielen (Chowdhury et al., 2006). Arg3.1 könnte deshalb direkt den Umsatz von AMPA -Rezeptoren an der Postsynapse beeinflussen. Dementsprechend führt eine Konzentrationssteigerung von arg3.1 zur Reduktion von AMPA Strömen und hippocampale Neurone konstitutiver Knockout-Mäuse zeigen in Primärkultur eine Anreicherung membranständiger AMPA-Rezeptoren an der Postsynapse (Rial Verde et al., 2006; Shepherd et al., 2006). In einer Reihe von Verhaltensversuchen mit konstitutiven Knockout-Mäusen wurde deutlich, dass arg3.1 eine Schlüsselstellung bei der Bildung des Langzeitgedächtnisses besitzt (Plath et al., 2006). Bei Ratten führt die Exposition mit einer neuen komplexen Umgebung außerdem zu einer

## **Einleitung**

---

verstärkten Expression im Vorderhirn (Pinaud et al., 2001). Die Expression von *arg3.1* erhöht wahrscheinlich die Erregbarkeit kortikaler Pyramidenzellen, während das Fehlen von *arg3.1* die Fähigkeit zur Bildung dendritischer Spines verringert (Goel und Lee, 2007; Peebles et al., 2010). Obwohl die funktionelle Bedeutung der *arg3.1* mRNA und des entsprechenden Proteins noch nicht abschließend geklärt wurde, weisen doch alle Beobachtungen darauf hin, dass *arg3.1* aufgrund der dendritischen Lokalisation einen direkten Einfluss auf plastische Veränderungen der postsynaptischen Membran als Antwort auf eine Aktivierung eines Neurons besitzt.

Die Expression von *arg3.1* lässt sich auch durch akustische Stimulation mit schmalbandigen Rauschsignalen und Reintönen im auditorischen Kortex induzieren (Mahlke und Wallhäusser-Franke, 2004). Dabei zeigt sich nach Reintonstimulation ein tonotop organisiertes Muster verstärkter Expression in Mäusen (Carpenter-Hyland et al., 2010; eigene Daten). Da die Expression von *arg3.1* mit anhaltenden plastischen Veränderungen im Nervensystem in Zusammenhang gebracht werden konnte und notwendig ist für das langanhaltende Abspeichern von Informationen (Plath et al., 2006), ist anzunehmen, dass es in Bereichen, in denen *arg3.1* nach intensiver akustischer Stimulation oder nach Lärmschädigung exprimiert wird, zu anhaltenden plastischen Veränderungen im auditorischen Kortex kommt. *Arg3.1* spielt außerdem eine Rolle bei der Ausbildung der Orientierungsselektivität von Neuronen im visuellen Kortex (Wang et al., 2006) und es kann vermutet werden, dass *arg3.1*-abhängige Prozesse auch im auditorischen Kortex bei Veränderungen der Frequenzrepräsentation beteiligt sind. Die Änderung der Frequenzrepräsentation im auditorischen Kortex konnte sowohl bei Tinnituspatienten, als auch im Tiermodell beobachtet werden und wird als eine mögliche Ursache von Tinnitus angesehen (Komiya und Eggermont, 2000; Muhlnickel et al., 1998, Weisz et al., 2005).

Konstitutive *Arg3.1*-Knockout-Mäuse besitzen außerdem Defizite bei der auditorischen Furchtkonditionierung (Plath et al., 2006). Dabei konvergieren auditorische Signale aus dem Thalamus und dem auditorischen Kortex mit den nozizeptiven Informationen in der Amygdala (LeDoux, 2003; Maren et al., 2001). Weiterhin kann über die Unterdrückung der *arg3.1* Expression in der Amygdala die Ausbildung des Furchtgedächtnisses unterdrückt werden (Maddox und Schafe, 2011). Nach Salicylatgabe zur Tinnitusinduktion konnte im Tiermodell in der

## **Einleitung**

---

Amygdala eine verstärkte *arg3.1* Expression beobachtet werden (Mahlke und Wallhäusser-Franke, 2004). Es könnte deshalb sein, dass die Amygdala eine wichtige Rolle bei der Tinnitusentstehung spielt.

Da *arg3.1* sowohl in der Amygdala als auch bei plastischen Veränderungen im auditorischen Kortex eine Rolle spielt (Carpenter-Hyland et al., 2010; Sun et al., 2005) und plastische Veränderungen bei der Entstehung von Tinnitus bereits beobachtet wurden, wurde in der vorliegenden Arbeit postuliert, dass das Fehlen von *arg3.1* in den Pyramidenzellen des Vorderhirns die Ausbildung einer Tinnituswahrnehmung beeinträchtigt. Es wurde daher eine konditionale Knockout-Linie verwendet, bei der *arg3.1* spezifisch in den Pyramidenzellen des Vorderhirns deletiert wurde (Abb. 2). Die untersuchte Knockout-Linie exprimiert die Cre Rekombinase unter der Kontrolle des *CamKII $\alpha$* -Promotors (Casanova et al., 2001). Ähnlich wie konstitutive *Arg3.1*-Knockout-Mäuse (Plath et al., 2006) zeigen die Tiere Defizite bei Hippocampus und Amygdala abhängigem Lernen (Mahlke, unveröffentlicht).

### **1.8 Entstehung und neurophysiologische Korrelate von Tinnitus**

Wie in Kapitel 1.7 erwähnt gehen aktuelle Modelle zur Tinnitusentstehung davon aus, dass die Tinnituswahrnehmung durch kompensatorische Mechanismen im zentralen auditorischen System in Reaktion auf eine reduzierte Eingangsaktivität generiert wird. Negative Emotionen, Stress oder traumatische Lebenssituationen führen zu einer Aktivierung des limbischen Systems, wodurch eine Verstärkung und Manifestation des Phantomsignals und eine ausgeprägte subjektive Leidensempfindung ausgelöst werden kann, die letztendlich in einem chronischen dekompenzierten Tinnitus mündet. Die zentralen Mechanismen, die mit der Generierung der Phantomwahrnehmung in Zusammenhang gebracht werden, sollen im folgenden näher erläutert werden. Die verringerte Eingangsaktivität induziert neurodegenerative und plastische Prozesse, reduzierte laterale Inhibition, und die Reorganisation der tonotopen Repräsentation, was zur Generierung von Hyper- und Spontanaktivität im auditorischen System beiträgt, die als Tinnitus wahrgenommen werden kann. Die verschiedenen Prozesse sind abhängig voneinander und

## **Einleitung**

---

beeinflussen sich gegenseitig, können zeitlich aber getrennt ablaufen (Eggermont und Roberts, 2004; Weisz et al., 2005).

Ein Mechanismus, der bei der Tinnitusentstehung einen Beitrag leisten könnte, gründet auf der Reorganisation der tonotopen sensorischen Karte in den Kernen des auditorischen Systems nach dem Wegfall der Eingangsaktivität (Muhlnickel et al., 1998). Nach einem induzierten Hörverlust kommt es zur Verbreiterung des Frequenztunings von Neuronen und zur tonotopen Reorganisation im IC (Izquierdo et al., 2008; Irvine et al., 2003), im MGB (Kamke et al., 2003) und besonders im AC (Irvine et al., 2007; Komiya und Eggermont, 2000; Seki et al., 2002, Weisz et al., 2005), während die Befunde im CN, die hauptsächlich den dorsalen Kern betreffen, inkonsistent sind (Rajan et al., 1993; Sumner et al., 2005; Rajan und Irvine, 1998). Die Neurone verschieben dabei ihr rezeptives Feld in Richtung benachbarter Areale, die nach wie vor ausreichend afferente Eingänge erhalten (Rajan und Irvine, 1998). Eine Überrepräsentation der Grenzfrequenzen nach der Reorganisation zusammen mit verringerter Inhibition könnten so zu tonotop begrenzter Tinnitusaktivität führen (Rauschecker, 1999; Eggermont und Roberts, 2004). Im Einklang damit liegt die Tinnitusfrequenz sowohl bei Menschen, als auch im Tiermodell meist neben, oder im Bereich des größten Hörverlusts (König et al., 2006; Norena et al., 2002; Schaette et al., 2009; Turner et al., 2006). In einer MEG Patientenstudie konnte gezeigt werden, dass die Signale bei Stimulation mit der Tinnitusfrequenz größere Areale entlang der tonotopen Achse des A1 beanspruchen (Muhlnickel et al., 1998), während eine aktuelle funktionelle MRT Studie keine tonotopen Repräsentationsverschiebungen aufzeigte (Langers et al., 2012). Deshalb besteht nach wie vor eine Kontroverse, ob eine tonotope Überrepräsentation der Tinnitusfrequenz zwingend notwendig ist für die Wahrnehmung eines Tinnitus, oder ob veränderte neuronale Synchronizität in nur kleinen Arealen für den Tinnitus verantwortlich sein könnte.

Die Unabhängigkeit des Tinnitus von der akustischen Umgebung bildet die Grundlage für das neurophysiologische Tinnitusmodell von Jastreboff (Jastreboff, 1990; Jastreboff, 1999). Die starken emotionalen Reaktionen, Angstgefühle und psychosomatischen Probleme bei Tinnituspatienten veranlassten Jastreboff zu vermuten, dass das limbische und autonome System bei der Entstehung eines

## **Einleitung**

---

dekompensierten Tinnitus ein essentielle Rolle spielt. Dabei wird postuliert, dass der Tinnitus aufgrund mangelnder Habituation entsteht. Im Normalfall sollte das auditorische System die nichtrelevante auditorische Spontanaktivität und deren Wahrnehmung unterdrücken. Da die sensorische Information im Falle des Tinnitus aber mit negativen Emotionen und Stress assoziiert werden oder einhergehen, kommt es zur Aktivierung des limbischen Systems, dass die Aufmerksamkeit auf den Tinnitus richtet und dadurch zu einer positiven Rückkopplungsschleife führt, die die Tinnituswahrnehmung und die einhergehenden Emotionen verstärkt. Die Aktivierung des limbischen und autonomen Systems durch die neuronale Tinnitusaktivität folgt dabei dem Prinzip der Konditionierung. Die ursprüngliche Signalstärke und Relevanz ist dabei eher unwichtig, da eine Verstärkung durch das limbische System erfolgt, was die Modifizierung synaptischer Verbindungen veranlasst. Bei der Entstehung könnten alle Kerne des auditorischen Systems ihren Beitrag bei der Generierung der Spontanaktivität leisten, durch die Fokussierung auf psychologische Lernaspekte könnte die Beteiligung des unteren auditorischen Systems und die weitreichenden plastischen Veränderungen in den betreffenden Kernen aber unterschätzt werden.

Ein Modell, dass die Rolle der Plastizität in den unteren Kernen des auditorischen Systems hervorhebt wurde von Gerken 1996 vorgeschlagen (Gerken, 1996). Dieses sieht den Verlust lateraler Inhibition im IC als Ursache für einen tonalen Tinnitus an. Durch laterale Inhibition kommt es normalerweise zu einer Kontrastverstärkung zwischen benachbarten Einheiten in neuronalen Anordnungen, wie sie die tonotop organisierten Bereiche der primären auditorischen Kerne darstellen (Rhode und Greenberg, 1994). Das Auftreten lateraler Inhibition führt dort zu extremen Aktivitätszuständen weniger Neurone, während die direkte Umgebung inhibiert ist. Der Prozess kann deshalb erklären, warum breite spektrale Kontraste akustischer Stimuli zu eng begrenzten Erhöhungen und Reduktionen im auditorischen System führen, die eventuell eine der Grundlagen für tonale Sinneseindrücke bilden. Es wird daher angenommen, dass der reduzierte Eingang aufgrund der Cochleaschädigung zum Wegfall der lateralen Inhibition und einer Erregung der Neurone in den Randbereichen des Hörschadens im IC führt (Gerken, 1996; Norena et al., 2000). Dementsprechend konnte im IC beobachtet werden, dass eine Verringerung der inhibitorischen Aktivität mit einhergehender Verstärkung der Exzitation stattfindet



## **Einleitung**

---

(Holt et al., 2005; Vale et al., 2004). Für eine Beteiligung GABAerger Inhibition, wie sie im IC vorherrscht (Merchan et al., 2005), spricht auch, dass die Verabreichung von GABA-Agonisten wie Gabapentin und Vigabatrin Anzeichen von Tinnitus im Tiermodell unterdrücken konnten (Brozoski et al., 2007a). Der Wegfall lateraler Inhibition als Tinnitusursache lässt sich auch auf die anderen primären auditorischen Kerne anwenden, denn eine Änderung der Transmitterausschüttung konnte für GABA und Glycin auch im CN und dem SOC gezeigt werden, wobei es über einige Tage zu einer Reduktion inhibitorischer Aktivität kam (Buras et al., 2006; Mossop et al., 2000; Yan et al., 2007). Für A1 wurde ein auf lateraler Inhibition basierendes Modell durch Langner und Wallhäusser-Franke vorgeschlagen (Langner und Wallhäuser-Franke, 1999). Das Modell postuliert zusätzlich einen Beitrag nichtlinearer Rückkopplungen zwischen Thalamus und Kortex, die beeinflusst werden können durch aufmerksamkeits- und emotionssteuernde Strukturen des limbischen Systems. Eine Aktivierung des limbischen Systems durch Stress und später durch die Tinnituswahrnehmung selbst, hätte dann eine Verstärkung des intrinsisch generierten Signals zur Folge und resultiert in der Stabilisierung der Tinnitusaktivität.

Eine weitere Hypothese für die neuronale Basis der Tinnituswahrnehmung beschreibt in ähnlicher Weise, dass die periphere Deafferenzierung zur Störung thalamokortikaler Oszillationen führt. Der Mangel an Inhibition lässt Neurone der auditorischen Kerne des Thalamus hyperpolarisieren. Dies führt zur Generierung von *burst*-Potentialen, die zur Bildung einer Rückkopplungsschleife mit dem AC führen können. Die Ursache für die Wahrnehmung eines Tinnitus ist demnach die andauernde Dysrhythmie mit tonotop eng begrenzter Synchronizität (Jeanmonod et al., 1996; Llinas et al., 1999; Llinas et al., 2001). Die erhöhte Synchronizität neuronaler Aktivität im auditorischen System nach einem Lärm-induzierten Hörverlust deutet auf plastische Prozesse hin (Norena und Eggermont, 2003; Seki und Eggermont, 2003) und die Oszillationen werden mit der Gedächtnisbildung in Zusammenhang gebracht (Buzsaki und Draguhn, 2004).

Die beschriebenen Mechanismen, die untereinander interagieren können, führen nach Schädigung der Cochlea zur Generierung spontaner Aktivität in Kernen der Hörbahn, die als Tinnitus wahrgenommen werden kann. Tierexperimentell konnten

## Einleitung

---

mehrere Arten veränderter neuronaler Aktivität in verschiedenen Kernen der Hörbahn zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Schädigung nachgewiesen werden: Gesteigerte Feuerrate (Eggermont und Kenmochi, 1998; Komiya und Eggermont, 2000; Brozoski et al., 2002), erhöhte *burst*-Aktivität (Jeanmonod et al., 1996; Norena und Eggermont, 2003; Seki und Eggermont, 2003) und veränderte synchrone Aktivität (Cazals et al., 1998; Eggermont und Norena, 2003). Außerdem kommt es nach Schalltrauma zur Steigerung von akustisch evozierten Feldpotentialanstiegen im IC und AC (Salvi et al., 1990; Norena et al., 2010). Gleichzeitig wurde eine Reduktion der neuronalen Aktivität im Hörnerv nachgewiesen (Stypulkowski, 1990; Liberman und Dodds, 1984). Die erhöhte Spontanaktivität in auditorischen kortikalen Arealen ist bereits nach einigen Stunden vorhanden und betrifft insbesondere Regionen, in denen nach Beschallung eine Reorganisation der Tonotopie stattfindet (Komiya und Eggermont, 2000). Weiterhin wurde herausgefunden, dass die erhöhte Spontanaktivität im dorsalen Kern des CN bei Ratten positiv mit Verhaltensanzeichen von Tinnitus korreliert (Brozoski et al., 2002).

Die Beteiligung limbischer Strukturen bei der Tinnituswahrnehmung konnte zunächst beim Menschen gezeigt werden (Lockwood et al., 2001; Mühlau et al., 2006). Im Tiermodell wurde bisher nach experimenteller Tinnitusauslösung nur die Aktivierung der Amygdala beobachtet (Wallhäusser- Franke et al., 2003). Die Amygdala besitzt eine wesentliche Rolle beim assoziativen Lernen und der Konditionierung mit akustischen Reizen bei der Furchtreaktion (Armony et al., 1998; LeDoux, 2003; Maren et al., 2001), weshalb diese die negativen Emotionen als Reaktion auf den Tinnitus vermitteln und zur Verstärkung des Tinnitusempfindens beitragen könnte. Die Verbindungen zwischen dem limbischen System, insbesondere der Amygdala, und dem auditorischen System, insbesondere der multimodalen extralemniscalen Hörbahn, wurde auch schon früh von Moller mit Bezug auf die Tinnituserzeugung erörtert (Moller et al., 1992), denn die affektiven Komponenten der Tinnituswahrnehmung könnten durch eine Aktivierung der Amygdala erklärt werden. Eine Beteiligung des limbischen Systems bei der Aufrechterhaltung der Tinnituswahrnehmung wurde kürzlich von Schlee und Weisz gezeigt. Insbesondere Regionen die eine Rolle bei der Aufmerksamkeitsregulation besitzen und im präfrontalen und frontalen Regionen des Gehirns lokalisiert sind wurden bei

## **Einleitung**

---

Patienten als möglicher Teil des neuronalen Korrelats von Tinnitus identifiziert (Schlee et al., 2008; Schlee et al., 2009; Vanneste et al., 2011a).

Die neuronalen Mechanismen, die final in der Generierung des Tinnitusgeräusches enden, schließen sich gegenseitig nicht aus, sondern sind zeitlich wie auch funktionell voneinander abhängig. Zusammengefasst haben die Beobachtungen zu der Ansicht geführt, dass Tinnitus durch periphere und zentrale Mechanismen verursacht wird. Der peripheren Schädigung folgt die Reorganisation des auditorischen Systems, das die sensorische Wahrnehmung generiert. Das limbische System führt eine emotionale Beurteilung des sensorischen Inhalts durch und fokussiert die Aufmerksamkeit auf die sensorische Komponente. Das kann zu einer gegenseitigen Verstärkung führen, wodurch der Tinnitus im Bewusstsein erhalten bleibt. Die genauen Entstehungsmechanismen von Tinnitus sind dennoch immer noch weitgehend ungeklärt. Welche zentralen Strukturen an der Generierung beteiligt sind wird nach wie vor kontrovers diskutiert und die Befunde sind sowohl beim Menschen, als auch in Tiermodellen nicht eindeutig. Weil Untersuchungen an Patienten nur im begrenzten Maß durchführbar sind, werden Tiermodelle benötigt, um die Entstehungsmechanismen von Tinnitus zu klären und neue Behandlungskonzepte entwickeln zu können.

### **1.9 Fragestellungen und Ziele der Arbeit**

Ziel der Arbeit war es Tinnitus-spezifische Aktivierungsmuster mit Hilfe der 2-Desoxy-[14C]-D-glukose (2-DG) Methode nach Schalltrauma im Mausmodell zu untersuchen und den Einfluss plastischer Veränderungen auf die Tinnituserstehung mit Hilfe einer konditionalen Arg3.1-Knockout-Mauslinie zu bestimmen.

Zur experimentellen Tinnitusinduktion wurde ein unilaterales Schalltrauma in einem schmalbandigen Frequenzbereich verwendet (Abb. 4). Da Patientenstudien darauf hinweisen, dass ein weitverzweigtes Netzwerk an der Entstehung von Tinnitus beteiligt ist, sollten im Tiermodell Tinnitus-spezifische Änderungen im Gehirnmetabolismus identifiziert werden. Dazu wurde die Aufnahme der radioaktiv markierten Desoxyglukose zwei Stunden und zwei Wochen nach Schalltrauma untersucht. Die Auswertung der Autoradiogramme erfolgte mit einer voxelbasierten

## **Einleitung**

---

Analyse in SPM, die es ermöglichte die Gruppenunterschiede im gesamten Gehirn zu untersuchen, da die Regionen nicht im Vorfeld bestimmt werden müssen. Um eine mögliche Tinnituswahrnehmung nachzuweisen, wurden die schallexponierten Tiere mit Hilfe eines auf einem Startle-Reflex beruhenden Verhaltensparadigmas in potentiell Tinnitus-wahrnehmende und nicht wahrnehmende Tiere eingeteilt. Ein Verhaltenstest zur sozialen Interaktion wurde durchgeführt, um zu überprüfen, ob im Tiermodell Anzeichen für die im Patienten häufig auftretenden emotionalen Belastungen durch die anhaltende Geräuschwahrnehmung gefunden werden können. Da in vielen Studien gezeigt werden konnte, dass plastische Veränderungen an der Tinnitusgenese beteiligt sind und vermutlich eine Manifestation der Tinnitusaktivität begünstigen, wurde in der vorliegenden Arbeit eine konditionale Knockout-Linie untersucht, bei der das plastizitätsrelevante Gen *arg3.1* Vorderhirn-spezifisch und postnatal in Pyramidenzellen deletiert ist. Die Annahme war, dass sich in diesen Tieren keine anhaltende Phantomwahrnehmung entwickeln würde. Das hier entwickelte Mausmodell erlaubt erstmalig eine Analyse der Tinnitus-spezifischen Aktivitätsmuster des Gesamtgehirns im nicht narkotisierten Tier.

## Methoden

### 2.1 Versuchsgruppen

Die männlichen Mäuse des Stamms C57BL/6 stammten aus der Versuchstierhaltung des ZMNH. Zu Beginn der Experimente waren sie 4-7 Wochen alt und wogen 23-31g. Die Tiere wurden 5 Tage vor dem Schalltrauma in Einzelkäfige getrennt. Der Tag-Nacht-Rhythmus wurde 2 Wochen vor Beginn der Experimente invertiert, wobei diese Untersuchungen stets innerhalb der 12 Stunden dauernden Dunkelphase stattfanden. Freier Zugang zu Futter und Wasser wurde gewährt.

Insgesamt sind in der Arbeit die Daten von 86 Tieren enthalten. 15 Tiere entfallen auf die Analyse der 2-Desoxyglukoseaktivität zwei Stunden nach Schallexposition, 15 weitere dienten als Kontrollen. Von den 56 Tieren der Experimente zum chronischen Tinnitus wurden 32 mit Schall traumatisiert und 24 waren in der Kontrollgruppe. 48 der 56 Tiere waren in der 2-DG Analyse enthalten. Von 7 Tieren waren nur die Daten der Hörschwellenmessungen, der sozialen Interaktion und der Schreckreaktion vorhanden. Von den insgesamt 86 Tieren waren 35 konditionale Arg3.1-Knockout-Mäuse, die postnatal Cre Rekombinase unter der Kontrolle des CamKII $\alpha$  (Calcium/calmodulin-abhängige Kinase II $\alpha$ ) Promoters in Pyramidenzellen des Vorderhirns exprimieren. Zur Herstellung des *targeting*-Konstrukts wurden genomische Fragmente, die das komplette arg3.1 Gen abdecken, aus einer  $\lambda$  phage Genbank isoliert. Die Genbank wurde aus 129/Sv(ev) Stammzellen präpariert. An Position +2690 wurde eine gefloxt Neomycinkassette eingesetzt. Der ORF von arg3.1 wurde an Position -1720 flankiert (Dammermann, 1999; Abb. 2A, Mitte). Nach Linearisierung wurde das Konstrukt elektroporatorisch in R1 ES Zellen und positive Klone danach mit Cre Rekombinase transfiziert (Plath et al., 2006). Ein Klon, dem ausschließlich die Neomycinkassette fehlte und dessen arg3.1 ORF an Position -1720 und +2690 gefloxt war, wurde in C57BL/6J Blastozysten injiziert (Abb. 2A unten). Männliche Chimären wurden mindestens über zehn Generationen in den C57BL/6J Hintergrund rückgekreuzt, bevor eine Kreuzung mit BAC transgenen Mäusen erfolgte, die *improved Cre recombinase* unter der Kontrolle der regulatorischen Elemente des CamKII $\alpha$  Gens der Maus exprimieren (Casanova et al., 2001). Heterozygote Mäuse (arg3.1<sup>+/loxP,cre+</sup>) der folgenden Generation wurden

## Methoden

---

untereinander verpaart um die größtenteils in den Versuchen verwendeten konditionalen Knockout- ( $\text{arg3.1}^{\text{loxp/loxp,cre+}}$ ) und Wildtyp-Mäuse ( $\text{arg3.1}^{+/+, \text{cre+}}$ ) zu generieren. In der 3-4 Lebenswoche wurde jedem Tier für die PCR-basierte Genotypisierung eine Schwanzbiopsie entnommen. Nach Isolation der DNA wurde ein getrennter Nachweis von Cre Rekombinase und  $\text{arg3.1}$  durchgeführt. Ein geringer Teil der Versuche wurde mit Wildtyp-Mäusen des  $\text{arg3.1}^{+/+}$ -Genotyps durchgeführt, wobei 6 der insgesamt 11 Tiere in der 2-DG Analyse enthalten waren. Die Cre Expression beginnt in den Tieren an P0, aber erst an P6 ist  $\text{arg3.1}$  im Immunoblot nachweisbar reduziert (Abb. 2B). An P12 ist  $\text{arg3.1}$  im Vorderhirn immunhistochemisch nicht mehr nachweisbar (Abb. 2C, Reihe 4, oben). Ebenso wie konstitutive  $\text{Arg3.1}$ -Knockout-Mäuse (Plath et al., 2006) zeigen die Tiere phänotypisch Defizite bei Hippocampus und Amygdala abhängigem Lernen, was durch Kontext-abhängige Konditionierung und konditionierte Geschmacksaversion gezeigt wurde (Mahlke, unveröffentlicht). Einen Überblick über die Untersuchungsgruppen gibt Tab.1. Das experimentelle Protokoll ist in Abb. 3 beschrieben. Die finale 2-DG Bildgebung fand entweder zwei Stunden (akut, Abb. 3, A) oder zwei Wochen (chronisch, Abb. 3, B) nach der Schallexposition statt. Bei dem Protokoll zur Untersuchung des chronischen Tinnitus (Abb. 3, B) wurden die Tiere zwölf Tage nach dem Trauma auf Verhaltensanzeichen von Tinnitus untersucht, während temporärer und permanenter Hörschaden einen und 13 Tage danach ermittelt wurden. Die vortraumatischen Messungen dienten als individuelle Referenzwerte. Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8 Abs. 1 des Deutschen Tierschutzgesetzes unter der Registrierungsnummer G008\_Tinnitus durch die Behörde für Gesundheit und Verbraucherschutz in Hamburg genehmigt.

## Methoden

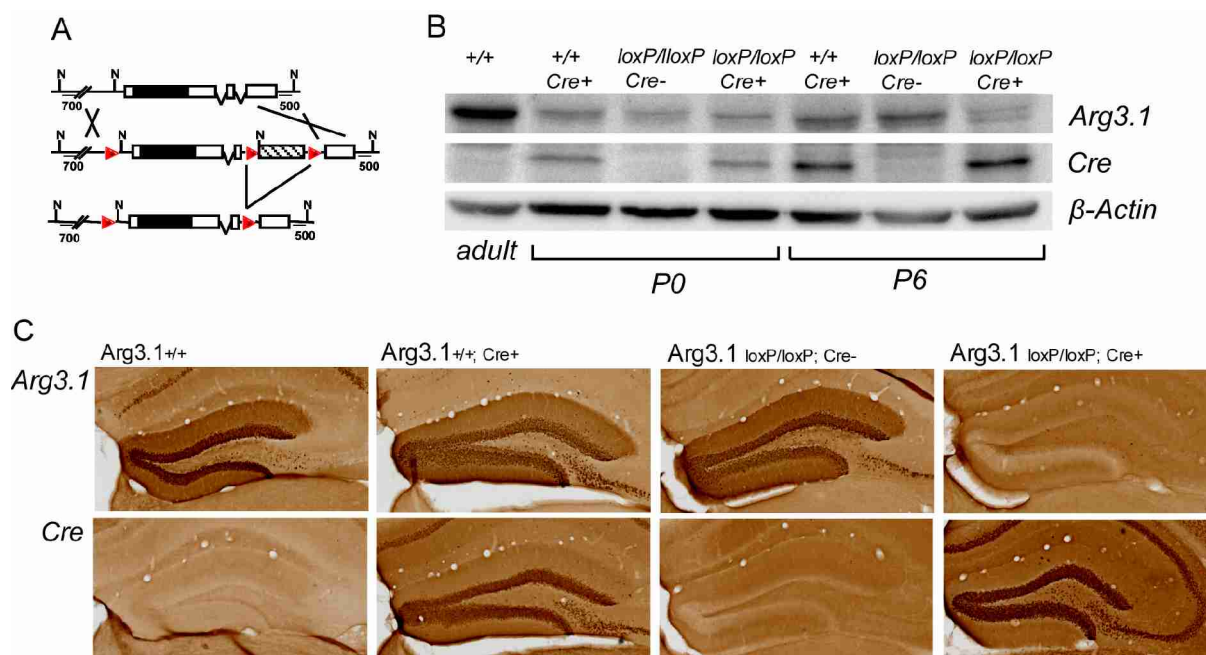


Abb. 2: Gen-Targeting Ansatz (A): Oben ist der *arg3.1* Genlocus, in der Mitte der geflochte Locus und unten die *arg3.1 loxP* Mutation nach Cre-vermittelter Typ II Rekombination gezeigt (N, NheI Restriktionsstellen; weiße Rechtecke zeigen die Exons; schwarze Rechtecke den ORF; rote Dreiecke die loxP-Sites; schraffierte Rechtecke die Neomycinkassette. Postnatale Immunoblot-Analyse (B): *Arg3.1* und Cre Rekombinase in Gehirnen unterschiedlicher Genotypen an P0 und P6, sowie einem erwachsenen Wildtyp-Tier. Das *arg 3.1*-Protein ist an P6 in den konditionalen Knockout- (*arg3.1loxP/loxP, cre+*)- Tieren stark reduziert. Die Expression von *arg3.1* (oben) und Cre Rekombinase (unten) im Hippocampus 4h nach Kainat-induzierten Anfällen (C): *Arg3.1* ist in der konditionalen Knockout-Maus an P12 nicht mehr immunhistochemisch nachweisbar (C, Reihe 4, oben). Die *arg3.1* Expression der Cre Rekombinase exprimierenden Wildtyp-Mäuse (C, Reihe 2, oben) zeigt keine Unterschiede zu Wildtyp-Mäusen (C, Reihe 1, oben; Die Bilder wurden von Frau Dr. Claudia Mahlke zur Verfügung gestellt).

Tab.1: Experimentelle Gruppen, akut: 2-DG Bildgebung zwei Stunden nach Schalltrauma, chronisch: Audiometrie, Lückendetektion, soziale Interaktion und 2-DG Bildgebung zwei Wochen nach Schalltrauma, in Klammern steht die Anzahl der Tiere in der 2-DG Analyse.

Genotyp	Behandlung	Akut	Chronisch
Wildtyp	Kontrolle	8 (8)	14 (13)
Wildtyp	Schallexposition	8 (8)	21 (17)
Knockout	Kontrolle	7 (7)	10 (10)
Knockout	Schallexposition	7 (7)	11 (8)

## Methoden

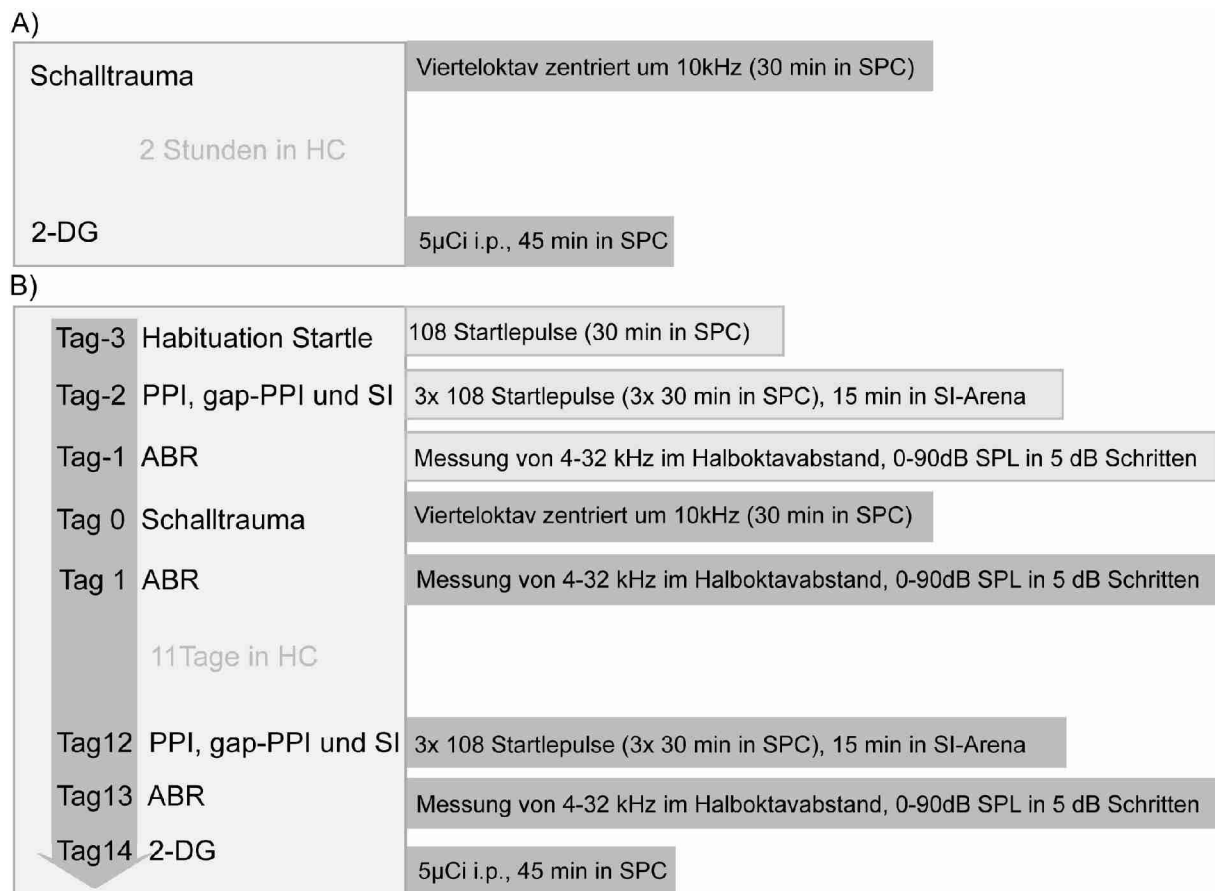


Abb. 3: Zeitlicher Verlauf des Versuchsprotokolls. Die 2-DG Methode wurde entweder zwei Stunden (akut, A) oder zwei Wochen (chronisch, B) nach der Schallexposition durchgeführt. (SPC: schallisolierte Kammer, HC: *Homecage*, SI: Soziale Interaktion, ABR: *Auditory brainstem response* (Hörschwellenbestimmung), 2-DG: 2-Desoxyglukosemethode, PPI: *prepulse inhibition* (Vorpulsinhibition), gap-PPI: *gap-detection* (Lückendetektion))

## 2.2 Unilaterales schmalbandiges Schalltrauma

Die Tiere wurden initial mit 4VOL% Isofluran (Forene, Abbot, Wiesbaden, Germany) narkotisiert. Nach Verstopfung des linken äußeren Ohres mit Wachs, wurde die Isofluranzufuhr auf 1-1.4 VOL% gedrosselt und der Kopf des Tieres mit Schaumstoff ummantelt, wobei eine Öffnung für das exponierte Ohr offen blieb. Dies geschah um den Schalldruck auf dem kontralateralen Ohr weitestgehend zu verringern. Die Tiere wurden in einer Akustikkammer über einen 42 cm über dem Kopf des Tieres



## Methoden

---

installierten Lautsprecher (BMS 4544) eine halbe Stunde mit einem Vierteloktavbandrauschen beschallt, das um 10 kHz zentriert war. Der Schalldruckpegel auf Höhe des Ohres war 122 dB SPL. Die Pegelmessung und folgende Kalibrierung erfolgte mit Hilfe eines Kondensatormikrofons (Bruel und Kjaer 3949, Vorverstärker 2670) und eines Schallkalibrators (SC1, IBF-Akustik) am Spannungseingang der Soundkarte (RME Hammerfall DSP 9632, 192 kHz Samplingrate) eines Computers mit der Messsoftware TrueRTA (TrueAudio) vor jeder Exposition. Ein Spektrum des akustischen Stimulus zeigt Abb. 4. Traumatische Pegelwerte fanden sich im Frequenzband von 9 kHz bis 11 kHz. Bei 20 kHz, 30 kHz und 40 kHz waren Harmonien vorhanden, deren Energie bei 20 kHz cochleotraumatisches Potential besitzen könnte.

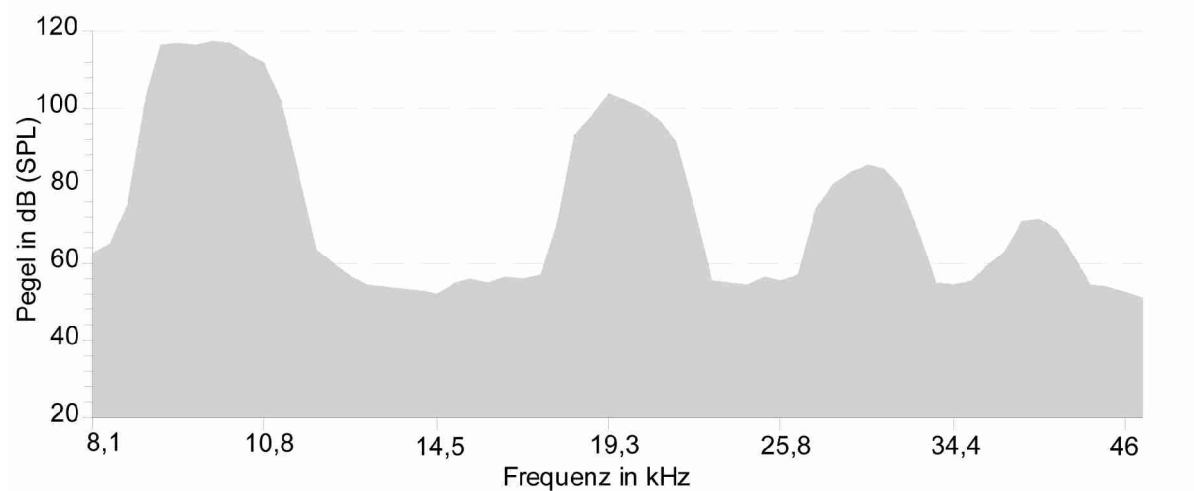


Abb. 4: Frequenzspektrum des Vierteloktavbandes zentriert um 10kHz mit 116 dB SPL im Frequenzintervall von 8,8 kHz-11,2 kHz (RMS 1/24 octave, 122 dB Peak). Bei 20, 30 und 40 kHz waren Harmonien vorhanden, die bei 20 kHz 100 dB SPL übersteigen. Die Exposition erfolgte 30 Minuten lang unter Isoflurannarkose unilateral auf dem rechten Ohr.

### 2.3 Frequenzspezifische Hörschwellenbestimmung mittels akustisch evozierter Hirnstammaudiometrie (ABR)

Die auditorische Hirnstammantwort ist eine akustisch evozierte Potentialänderung des unteren auditorischen Systems vom auditorischen Nerv bis zum IC und kann bei Mäusen durch subkutan am Kopf platzierte Elektroden aufgenommen werden. Für

## Methoden

---

die Präsentation der Stimuli und die Aufnahme der Potentiale wurde ein vom Neurophysiologen Markus Müller ([www.otoconsult.de](http://www.otoconsult.de)) zusammengestelltes System verwendet, dessen Hardwarekomponenten von National Instruments waren. Das System wurde dem Institut für molekulare und zelluläre Kognition als Leihgabe von Frau Dr. Sara Euteneuer und Prof. Dr. Mark Praetorius (Hals-Nasen-Ohrenklinik Universitätsklinikum Heidelberg) zur Verfügung gestellt. Die Tiere wurden initial mit Ketamin (WDT, 55mg/kg BW) und Xylazin (2mg/kg BW, Sedaxylan, WDT) i.p. narkotisiert. Bei Bedarf wurde einmal die halbe Dosis nachinjiziert. Die Präsentation der Stimuli erfolgte durch einen Lautsprecher (Beyer DT660), dessen Membran 2 cm vom Ohr des Tieres entfernt war. Stimuliert wurde mit Sinustönen mit einer Dauer von 10 ms und Frequenzen von 4 kHz bis 32 kHz in Halboktavschritten, aufsteigend von 0 bis 90 dB SPL in 5 dB SPL Intervallen. Abgeleitet wurden die Potentialantworten beider Ohren in einem 10 ms Intervall nach Stimulusbeginn mit subkutan an Pinna und paramedianem Vertex liegenden Silberfadenelektroden. Die Differenzelektrode lag im hinteren Rückenbereich. Je Pegel und Frequenz wurden 512 Einzelmessungen gemittelt, die über 200 Hz und unter 5 kHz gefiltert wurden. Steuerung, Visualisierung und Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programms Audiology Lab 26 (Otoconsult). Um die Hörschwelle zu definieren wurde für abnehmende Schalldruckpegel das Amplitudenmaximum im Bereich von 1-3 ms nach Stimuluspräsentation für abnehmende Schalldruckpegel verfolgt, bis der niedrigste Druckpegel gefunden wurde, bei dem zweifelsfrei eine für das Individuum typische Antwort gemessen werden konnte. Eine geringe Latenzzunahme von maximal 1 ms wurde bei der visuellen Auswahl für abnehmende Stimulationspegel berücksichtigt. Die Auswertung erfolgte ohne Wissen der Gruppenzugehörigkeit und wurde von Dr. Sara Euteneuer und Florian Theden getrennt durchgeführt. Die Ergebnisse der getrennten Auswertung wurden verglichen, wobei keine Unterschiede in der Bestimmung der Hörschwellen vorhanden waren.

### **2.4 Akustische Schreckreaktion (*startle response*), Vorpulsinhibition (*prepulse inhibition*, PPI) und Lückenwahrnehmung (*gap-detection*, gap-PPI)**

Als akustische Schreckreaktion (*auditory startle response*, ASR) wird die plötzliche Kontraktion der Skelettmuskulatur auf einen lauten Knall (Startlepuls) bezeichnet. Die Muskelkontraktion des Tieres lässt sich mit Hilfe von Beschleunigungssensoren quantifizieren. Der Versuch zur Vorpulsinhibition (*prepulse inhibition*, PPI) und Lückendwahrnehmung (*gap-detection*, gap-PPI) basiert auf der Befähigung einen akustisch ausgelösten Schreckreflex durch einen vorausgehenden Stimulus zu inhibieren. Bei der Vorpulsinhibition wird dabei die durch einen lauten Knall resultierende Muskelkontraktion des Tieres durch einen kurz vorher präsentierten und weniger lauten Vorpuls verringert (Abb. 5, oben). Die Zeit zwischen Vorpuls und Startlepuls ist dabei so gering (<200ms), dass der Vorpuls nicht bewusst wahrgenommen wird. Bei der Adaption für die Tinnitusstudienforschung ist der vorausgehende Stimulus eine Lücke eingebettet in einem Hintergrundrauschen (gap-PPI, Turner et al., 2006). Für Tiere die einen Tinnitus wahrnehmen, dessen Frequenzen nahe den Frequenzen des Hintergrundrauschen liegt, ist die Lücke wahrscheinlich nur eingeschränkt erkennbar, wodurch die Inhibition der Muskelkontraktion absinkt. Deshalb dienten die Versuche zur akustischen Lückendetektion dazu, schallexponierte Tiere in Tinnitus-wahrnehmende und nicht wahrnehmende Tiere aufzuteilen.

Das System, das zum Einsatz kam, wurde in Zusammenarbeit mit Fritz Kutschera (wissenschaftliche Werkstatt, ZMNH) entwickelt und orientierte sich an den Vorgaben von M. Geyer (Geyer und Swerdlow, 2001; Geyer et al., 2002; Geyer und Dulawa, 2003). Das *Setup* zur Aufnahme der Reaktion bestand aus einer Plattform mit Piezoelektroden zur Messung der auf die Plattform übertragenen Beschleunigungskraft des Tieres und einem Steuerungschip, der mit einem in Visual Basic geschriebenen Steuerungsprogramm über die serielle RSR32 Schnittstelle kommuniziert. Die drei Piezoelektroden für die Beschleunigungsaufnahme in drei Raumrichtungen waren additiv geschaltet, der Verstärkungsfaktor des Beschleunigungssignals war im Intervall von 20-400 mV frei einstellbar und wurde drei Tage vor Schallexposition in einer Habituations- und Trainingseinheit (108

## Methoden

---

Breitbandimpulse, BBN) bestimmt um ein möglichst kontrastreiches, aber nicht übersteuertes individuelles Signal zu erhalten. Die über den Chip gesteuerte Präsentation der Stimuli erfolgte mit einem Piezolausprecher mit besonders geradem Frequenzverlauf im Bereich der getesteten Frequenzen (HIVI RT2H-A2690-A-0S1). Die Schallkalibrierung erfolgte wie bei der Traumaexposition.

Die Versuche wurden zwei Tage vor und zwölf Tage nach dem Schalltrauma durchgeführt. Die vortraumatische Messung diente der Bestimmung eines individuellen Referenzwerts für jedes Tier. Die Differenz aus vor- und nachtraumatischer Messung wurde als Kriterium für eine mögliche Tinnituswahrnehmung verwendet.

Jedes Tier wurde mit drei unterschiedlichen Frequenzparadigmen im Abstand von zwei Stunden getestet. Im ersten Durchlauf waren Vorpuls und Hintergrundrauschen ein weißes Breitbandrauschen von 0,5 - 22 kHz, im Zweiten ein Oktavband von 11,3 - 22,6 kHz (Abb. 5, unten rechts) und im Dritten ein Halboktavband von 6,9 – 9,3 kHz (Abb. 5, unten links), jeweils mit einem Lautstärkepegel von 70 dB SPL. Pro Durchlauf wurden 108 Einzelaufnahmen (*Trials*) aufgenommen. Nach einer vier Minuten andauernden Stille, die der Habituation der Tiere an die Umgebung diente, wurden zuerst acht *Trials* unter Hintergrundrauschen ohne Lücke präsentiert, die nicht gewertet wurden. Diese waren nötig, um die individuelle Reaktionsamplitude zu stabilisieren, da die Kontraktionsreaktion innerhalb der ersten *Trials* deutlich abnahm. Dann wurden die Reaktionen auf 50 Startlepulse mit 115 dB SPL und 20 ms Dauer unter Hintergrundrauschen aufgenommen, wovon 25 eine 50 ms dauernde Lücke 100 ms vor dem Puls aufwiesen (gap-PPI). Danach erfolgten noch 50 Pulse in Stille, von denen 25 einen Vorimpuls hatten (PPI). 50 ms nach dem Startlepulse wurde die Beschleunigung für ein 250 ms dauerndes Intervall mit einer Frequenz von 2 kHz und einer Bittiefe von 8-bit detektiert. Das zeitliche Intervall zwischen den einzelnen Startletrials betrug 12-18 s. Als Startleaktivität wurde die Spannungsänderung der Piezoelektroden gemessen. Der Wert der Startleaktivität waren die addierten Extrema der Periode mit maximalen Ausschlag abzüglich des Mittelwerts der Grundaktivität im Aufnahmeintervall von 0-20ms. Es wurden nur *Trials* berücksichtigt, in denen die Aktivität sechs mal höher war als die Grundaktivität, was bis auf wenige Ausnahmen der Fall war. Aus den Mittelwerten der gültigen Startlereaktionen von

## Methoden

---

ASR- und PPI-*Trials* wurde die Vorpulsinhibition in % des ASR berechnet ( $PPI = 100 * (MW_{PPI} + MW_{ASR} / MW_{ASR})$ ). Ein Tier wurde als Tinnitus-wahrnehmend klassifiziert, wenn die Absenkung relativer Inhibition von Tag -2 zu Tag 12 für den gap-PPI bei mehr als 4% lag. Die Versuche zur sozialen Interaktion und zur Lückenwahrnehmung fanden an den Tagen vor der Hörschwellenbestimmung statt, um eine mögliche Belastung durch eine Narkose am Vortag zu vermeiden.

## Methoden

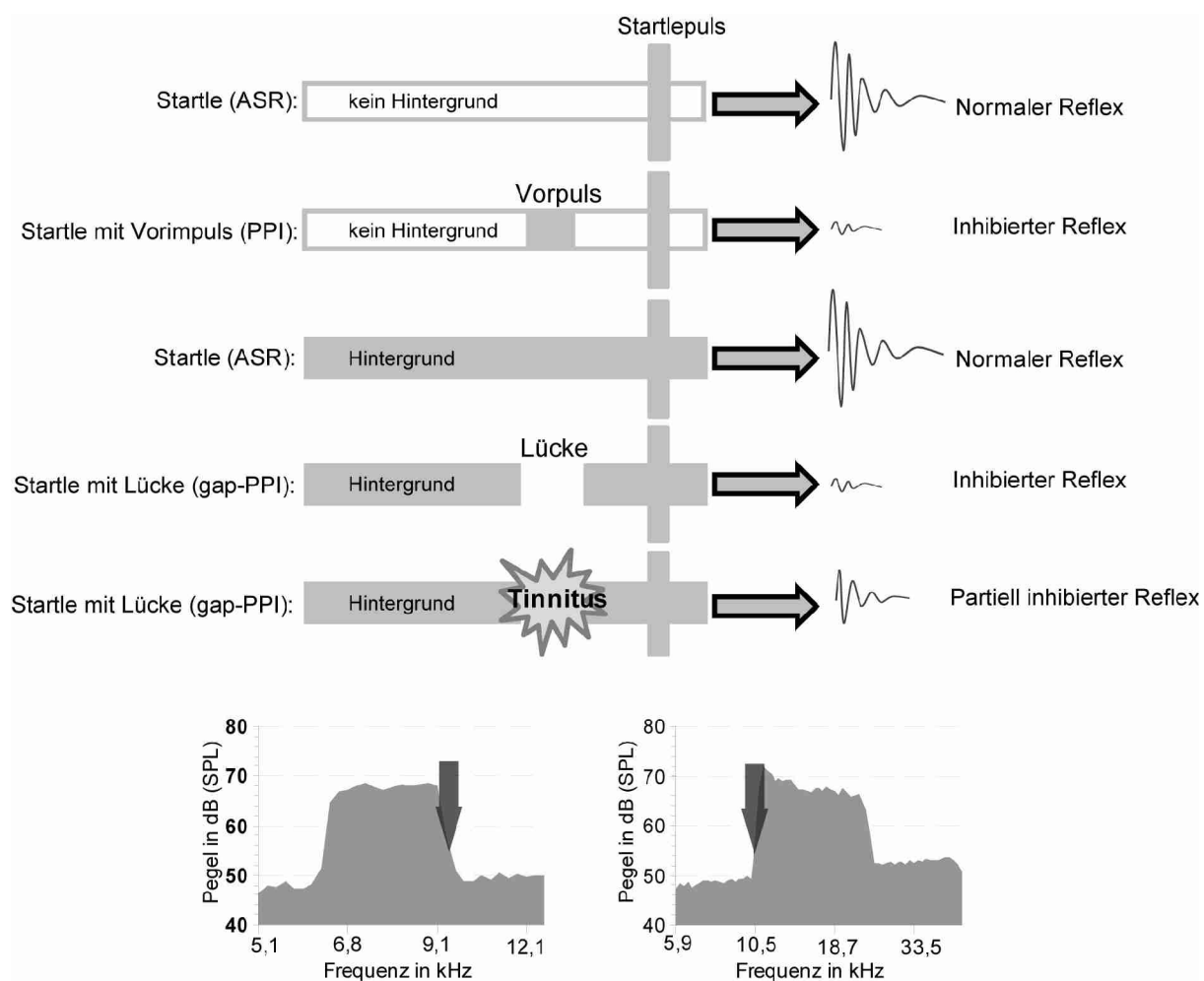


Abb. 5: Schema des Startle Versuchs (oben, nach Turner et al., 2006) und aufgezeichnetes Spektrum des tief- und (unten links) hochfrequenten (unten rechts) Hintergrundrauschens beim gap-PP. Die Maus reagiert auf einem Startle-Puls (20ms, 112 dB SPL) mit einer Muskelkontraktion. Wenn vorher ein Vorimpuls gegeben wird (50 ms, 70 dB SPL) wird die Muskelkontraktion teilweise inhibiert. Statt durch einen Vorimpuls kann auch eine akustische Lücke in einem Hintergrundrauschen die Muskelkontraktion inhibieren. Bei der Wahrnehmung eines Tinnitus wird die Lücke schlechter wahrgenommen, da sie durch den Tinnitus maskiert wird. Deshalb ist die Inhibition der Muskelkontraktion reduziert (oben). Das tieffrequente Hintergrundrauschen entspricht einem Halboktavband dessen obere Grenzfrequenz die untere Grenzfrequenz des Schalltraumabands ist (grauer Pfeil, unten links). Bei dem hochfrequenten Oktavband ist die untere Grenzfrequenz die obere Grenzfrequenz des Traumabands (grauer Pfeil, unten rechts).

### 2.5 Messung der sozialen Interaktion

Um zu untersuchen, ob eine Subpopulation der schallexponierten und Tinnitus-wahrnehmenden Tiere unter einem Tinnitus leidet, wurde die soziale Interaktion und generelle Mobilität zwei Tage vor und zehn Tage nach der Schallexposition getestet. Dazu wurde ein Versuchsaufbau adaptiert, der bisher in der Autismustiermodellforschung zum Einsatz kam (Nadler et al., 2004; Moy et al., 2004). Die Arena war in drei Kammern untergliedert, die durch zwei Tore miteinander verbunden waren (weißer Kunststoff, 100x 80x 40 cm, Abb. 6). In einer der beiden seitlichen Kammern war in einem runden Käfig mit 12 cm Durchmesser eine fremde männliche Maus platziert. Der Abstand der Gitterstäbe machte direkte Kontakte möglich, verhinderte aber ein Durchkommen der Tiere. Nach einer fünf Minuten dauernden Habituationsperiode in der mittleren Kammer wurden die Tore zu den seitlichen Kammern geöffnet, so dass die Mäuse die gesamte Arena für zehn Minuten frei erkunden konnten. Zur Auswertung wurde die Kameratrackingsoftware von EthoVisionXT (Noldus) benutzt. Als Indikator für einen als störend empfundenen Tinnitus, der ein Leiden verursacht, wurden Parameter zur sozialen Interaktion herangezogen. Insgesamt wurden die Anzahl und Dauer der Aufenthalte in den Kammern, sowie in bestimmten Bereichen um den Interaktionspartner herum, die Zahl der Kammerüberschreitungen und die Anzahl der sozialen Kontakte analysiert. Als sozialer Kontakt wurde ein Näherkommen der Nase des Versuchstieres an den Interaktionspartner unter 1 cm gewertet. Des Weiteren wurde die zurückgelegte Distanz gemessen um mögliche Änderungen der allgemeinen Aktivität beobachten zu können.

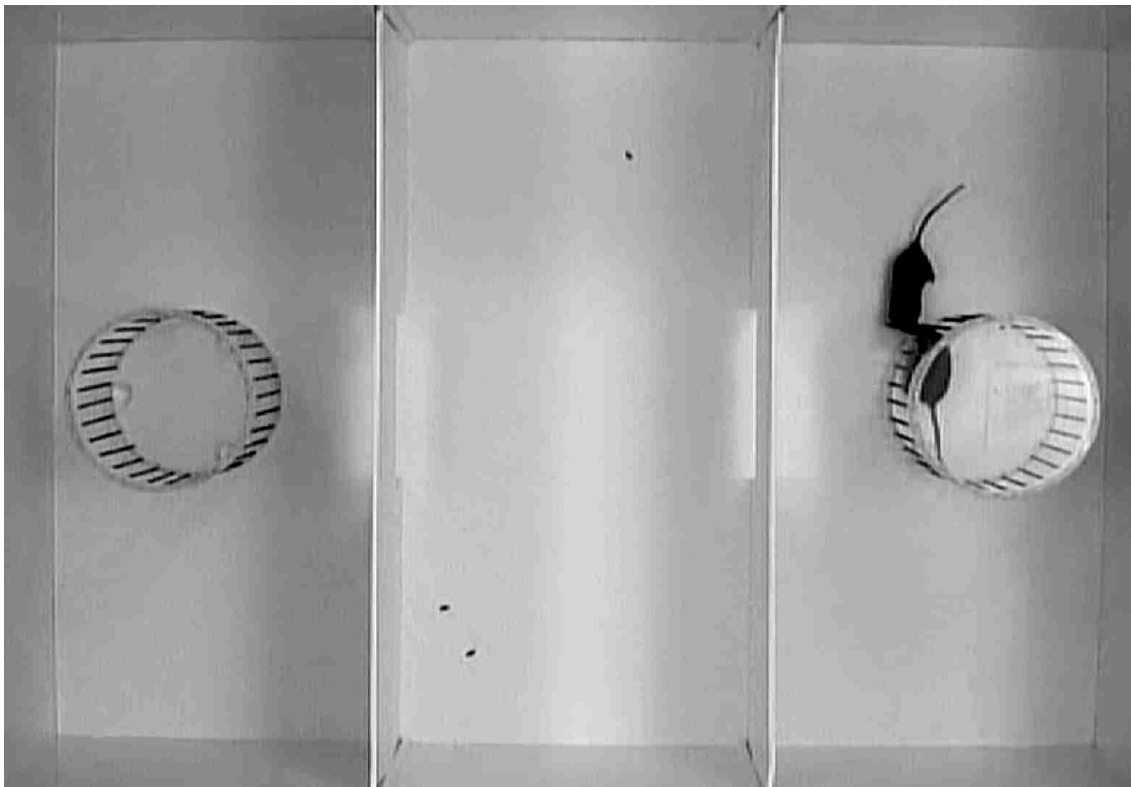


Abb. 6: Aufbau des Versuchs zur Messung der sozialen Interaktion.

### 2.6 2-Desoxyglukosemethode

Die 2-Desoxyglukosemethode (2-DG) ermöglicht eine quantitative Messung der Glukoseaufnahme des Gehirns und wurde 1977 von Sokoloff entwickelt (Sokoloff et al., 1977). Nach der Phosphorylierung kann 2-Fluoro-2-deoxy-[ $^{14}\text{C}$ ]-D-glukose nicht durch die Phosphohexoisomerase isomerisiert werden und akkumuliert in Neuronen und Gliazellen. Mit Hilfe der quantitativen Autoradiographie kann dadurch auf die Höhe der neuronalen Aktivität in einzelnen Strukturen des Gehirns gefolgert werden. Es wird angenommen, dass Glukose im wesentlichen von exzitatorischen Neuronen und Gliazellen verbraucht wird (<90%), wobei über deren Anteile am Gesamtverbrauch keine Einigkeit besteht (Attwell und Laughlin, 2001; Nehlig et al., 2004; Duelli und Kuschinsky, 2001). Die durch die Glukose bereitgestellte Energie wird aber im Wesentlichen zur Generierung von Aktionspotentialen (47%) und an den postsynaptischen Rezeptoren verbraucht, wo sie für das Recycling von Glutamat verwendet wird (Attwell und Laughlin 2001).



## Methoden

---

Mit Hilfe der 2-DG Methode wurde der Glukosemetabolismus 2 Stunden und 2 Wochen nach dem Schalltrauma untersucht. Bevor die Tiere in eine 16x22x12 cm große Plastikbox gesetzt wurden, die oben mit einem Drahtgitter verschlossen wurde, wurde 5 $\mu$ Ci 2-Fluoro-2-deoxy-[<sup>14</sup>C]-D-glukose (Biotrend, ARC-0114A-250) in 50 $\mu$ l Kochsalzlösung i.p. injiziert. Die Plastikbox wurde in eine schallisolierte Kammer gestellt (Innenraum 80x60x60 cm), wo das Tier für 45 Minuten im Dunkeln verblieb. Der Hintergrundgeräuschpegel war geringer als 36 dB SPL, die Eigengeräusche des Tieres erreichten selten Werte über 45 dB SPL und waren generell geringer als 60 dB SPL. Die Dekapitation erfolgte nach 45 Minuten und die Gehirne wurden mit Hilfe flüssigen Stickstoffs schockgefroren. Nach einer maximalen Lagerungsdauer von zehn Tagen bei -80°C wurden die ganzen Gehirne horizontal mit einer Schnittdicke von 25  $\mu$ m an einem Kryostaten geschnitten (Micron Hyrax C60). Die Schnitte wurden auf einen 20°C warmen Objektträger gebracht und auf einer Wärmeplatte bei 50°C schnell getrocknet. Mit den Schnitten und radioaktiven <sup>14</sup>C-Standards (GE Healthcare, Amershan, RPA 504) wurden autoradiographische Filme (Kodak Ectascan B/RA 24x16cm) exponiert. Die Entwicklung der Filme erfolgte nach zwei Wochen mit einer automatischen Entwicklermaschine (Entwickler AGFA G153, Fixierer AGFA G354). Die Autoradiogramme wurden mit einer Zeiss Axiocam Mrm Kamera (mit Zeiss AxioVision 4), einem Leuchttisch (Deitenbach) und einem Binocular (Zeiss Stemi 2000C) mit einem Vergrößerungsfaktor von vier und einer Auflösung von 1388 x 1040 Bildpunkten digitalisiert.

### 2.7 Bildverarbeitung

Zuerst wurden die Grauwerte der Einzelbilder mit Hilfe der radioaktiven <sup>14</sup>C-Standards durch eine Polynomfunktion 3.Grades in  $\mu$ Ci/g kalibriert. Von den digitalisierten Autoradiogrammen wurde visuell pro 100  $\mu$ m Schichtdicke ein Schnitt ausgewählt, so dass die Voxeldimension nach Verkleinerung in der Horizontalebene (Faktor 0,25) im Bildstapel 64 x 64 x 100  $\mu$ m und die Auflösung 347x260x47 Bildpunkte betrug. Durch eine Rigid Body Registrierung (Translation, Rotation) wurden die Einzelbilder im Bildstapel räumlich angeglichen. Die Vorverarbeitung erfolgte in ImageJ Version 1.44p.

## Methoden

---

Die weitere Analyse erfolgte in SPM5. Bei SPM5 (Statistical Parametric Mapping; Wellcome Trust Center for Neuroimaging, London; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm5/>) handelt es sich um eine Modulsuite für MATLAB (The MathWorks, Inc.) zur statistischen Analyse von Daten der funktionellen Bildgebung (fMRT, PET, SPECT, EEG, MEG). Das Programm MATLAB kam in der Version 7.10.0 R2010a zum Einsatz. Für darüber hinausgehende Informationen hinsichtlich zugrundeliegender Algorithmen und Funktionen von SPM wird auf die weiterführende Literatur verwiesen (Ashburner and Friston, 1997; 1999; 2000; 2007, Mechelli et al., 2005). Zur Anpassung von SPM5 an das 2-DG markierte Mausgehirn aus Gefrierschnitten wurde das *Plugin* spmmouse (Sawiak et al., 2009) benutzt. Räumliche Normalisierung auf ein Template aus 14-Wildtyp-Kontrollen wurde mit einer 16-fachen affinen Transformation erreicht (Dubois et al., 2008). Intensitäten auf nichtlinearen Deformationen wurden hierbei mit einer dreidimensionalen diskreten Cosinusfunktion geschätzt. Die Glättung erfolgte mit einem Gaussischen Glättungskernel mit FWHM = 0.192 (Nguyen et al., 2004; Hohlschneider et al., 2006). Globale Unterschiede in der 2-DG Gesamtaufnahme wurden durch proportionale Skalierung angeglichen, bevor ein dreifaktorielles Modell für die Gruppenvergleiche in SPM5 moduliert wurde. Ein Signifikanzwert von  $p < 0.01$  (unkorrigiert für multiple Vergleiche) wurde als ausreichend zur Anzeige statistisch signifikanter Unterschiede innerhalb eines Clusters erachtet, da in den vergleichbaren Arbeiten ebenfalls diese Schwelle gewählt wurde (Nguyen et al., 2004; Lee et al., 2005). Die minimale Clustergröße wurde auf 100 Voxel festgelegt, was ungefähr einem Gewebivolumen von  $0.04\text{mm}^3$  entspricht. Nur Cluster, die sich in der Dorsal-Ventral-Richtung über mindestens zwei Einzelbilder ausdehnen wurden in der Analyse berücksichtigt.

Die Korrelationsanalyse wurde mit ROI-Mittelwerten (Mittelwerte der Region of Interest) durchgeführt. Dazu wurden die gesamten Strukturvolumen anhand von Paxinos (Paxinos und Franklin, 2004) mit dem Programm micron (<http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mr/micro/mricon/>) segmentiert und Mittelwerte der ROIs für jedes Tier berechnet. Dabei wurde ebenfalls proportional skaliert, um interindividuelle Unterschiede in der 2-DG Aufnahme auszugleichen.

### 2.8 Statistische Analyse

Die statistischen Analysen der 2-DG Experimente basieren auf dem Allgemeinen Linearen Modell und wurden mit SPM5 durchgeführt. Die untersuchten t-Kontraste gingen in die Gruppenanalyse ein. Um über alle Tiere hinweg die Voxel zu identifizieren, deren 2-DG Aufnahme sich abhängig von der Faktorausprägung verändert, bzw. die Gruppen diesbezüglich zu vergleichen, wurde ein *full factorial* Design genutzt. Die Faktoren waren der Zeitpunkt nach Beginn des Experiments (zwei Stunden oder zwei Wochen), der Genotyp (Wildtyp- oder arg3.1 konditionale Knockout-Maus) und die Schallexposition. Für die Vergleiche nach der Klassifizierung in Tinnitus-wahrnehmende und nicht wahrnehmende Wildtyp-Tiere wurden t-Tests benutzt.

Die Auswertung der Ergebnisse aus den Hörschwellenmessungen, den Versuchen zur sozialen Interaktion und zur Lückenwahrnehmung, sowie die Korrelationsanalyse wurden mit SPSS 14.0 durchgeführt. Für Zeitvergleiche innerhalb der Gruppe wurde der t-Test für gepaarte Stichproben verwendet. Ansonsten kamen zwei- bzw. dreifaktorielle Modelle zum Einsatz (Schalltrauma, Genotyp bzw. Zeitpunkt (2 Stunden oder 2 Tage); Genotyp, Schalltrauma). Die Werte der Referenzmessungen von Tag-2 wurden als Kovariate benutzt.

Die Korrelationsanalyse basiert auf 2-DG ROI Mittelwerten für die gesamten Regionen. Es wurden interregionale Pearson und multimodale Spearman Korrelationskoeffizienten mit  $p < 0.05$ , bzw.  $p < 0.01$  berechnet. Um die Verlässlichkeit der interregionalen Koeffizienten zu erhöhen wurde ein iteratives Ausschlussverfahren durchgeführt. Nur Koeffizienten, die nach sequenziellem Ausschluss eines Individuums und Neuberechnung stets  $p < 0.05$  waren, wurden als echt gewertet. Um signifikante Gruppenunterschiede ( $p < 0.05$ ) bei den interregionalen Korrelationen zu ermitteln wurden die Koeffizienten beider Gruppen zuerst z-transformiert. Dann wurde die Differenz beider standardisierter z-Werte gebildet und der t-Wert berechnet, dessen p-Wert in der t-Statistik abgelesen wurde.

### Ergebnisse

Um die Auswirkungen eines schmalbandigen Schalltraumas auf die Entwicklung eines chronischen, subjektiven Tinnitus im Tiermodell zu bestimmen wurden insgesamt 86 Mäuse mit verschiedenen Methoden untersucht. Im akuten Zustand zwei Stunden nach dem Schalltrauma wurde bei 15 Tieren in einem Finalversuch der Glukosemetabolismus des Gehirns mit Hilfe der 2-DG Methode analysiert. 15 weitere Tiere dienten als Kontrollen. In diesen akuten Experimenten war bei sieben der 15 Kontrolltiere und bei sieben der 15 schallexponierten Tiere das plastizitätsrelevante Gen *arg3.1* im Vorderhirn ausgeschnitten (Tab.1).

Zu den chronischen Gruppen gehörten insgesamt 56 Tiere. Mit Hilfe akustisch evozierter Hirnstammaudiometrie wurde bei 32 Tieren der schallinduzierte akute und permanente Hörverlust bestimmt. Bei 25 dieser schallexponierten Tiere wurden die Effekte des Traumas auf den Glukosemetabolismus im chronischen Zustand postraumatisch nach zwei Wochen untersucht. Bei 11 der 32 beschallten Tiere fehlte *arg3.1* im Vorderhirn. Zur Kontrollgruppe gehörten 24 Tiere, bei denen bei 23 Tieren die 2-DG Bildgebung gelang. 11 der 24 Kontrolltiere waren *Arg3.1*-Knockout-Mäuse (Tab.1). Aufgrund der Daten der Lückendetektionsversuche wurden die schallexponierten Tiere in zwei Untergruppen eingeteilt. Danach wurde der Glukosemetabolismus der Wildtyp-Tiere mit und ohne Anzeichen einer Tinnituswahrnehmung erneut untereinander und mit den Kontrollen verglichen. Die Versuche zur sozialen Interaktion sollten eine mögliche Leidenserfahrung durch den Tinnitus aufdecken.

#### **3.1 Frequenzspezifische Hörschwellenbestimmung mittels akustisch evozierter Hirnstammaudiometrie (ABR)**

Um den Einfluss des Schalltraumas auf die Hörschwellen zu bestimmen werden zunächst die Ergebnisse der Hirnstammaudiometrie gezeigt. Einen Tag vor dem Schalltrauma wurde die Hörschwelle für alle Tiere im Frequenzbereich zwischen 4 kHz und 32 kHz im Abstand von einer halben Oktave bestimmt, um einen Vergleichswert für die folgenden Messungen nach dem Trauma zu erhalten. Um die

## Ergebnisse

---

temporäre Schwellenanhebung zu ermitteln wurden die Hörschwellen einen Tag nach der Schallexposition gemessen. Der permanente Hörschaden wurde 13 Tage nach Trauma bestimmt. Die jeweilige Änderung der Hörschwelle ist relativ zu den vorigen Messzeitpunkten angegeben (Abb. 8). Verglichen wurden die Hörschwellen der schallexponierten Gruppen mit den Kontrolltieren (Abb. 8) und der zeitliche Verlauf innerhalb der Gruppe (Abb. 7). Die Messung vor dem Schalltrauma zeigte keine Unterschiede zwischen den Genotypen und den Behandlungsgruppen. Die Kontrollgruppen beider Genotypen besitzen keinen Schwellenanstieg im zeitlichen Verlauf der Messungen. Ein möglicher altersbedingter Hörverlust, der für Mäuse aus dem C57BL/6 Hintergrund ab dem 4 Monat beschrieben ist, kann somit während der Testphase ausgeschlossen werden. Auch die Versuche zur Vorpulsinhibition und Lückendetektion haben demnach keinen Einfluss auf das Hörvermögen (verwendeter Schallpegel des Startlepulses 112 dB SPL mit 20 ms Dauer, Abb. 7).

Der temporäre Hörverlust betrug im Vergleich zur Messung vor dem Schalltrauma für das ipsilaterale Ohr in den Wildtyp-Tieren 10 dB bei 4 kHz ( $p=0,001$ ), 12 dB bei 5,6 kHz ( $p=0,001$ ), 22 dB bei 8 kHz ( $p=0,003$ ), 38 dB bei 11,3 kHz ( $p=0,001$ ), 33 dB bei 16 kHz ( $p=0,001$ ), 28 dB bei 22,6 kHz ( $p=0,24$ ) und mindestens 17 dB bei 32 kHz ( $p=0,752$ , Abb. 7). Neben den signifikanten Unterschieden im Vergleich zum Zeitpunkt vor dem Trauma, bestand auch ein Unterschied über das gesamte Messspektrum im Vergleich zu den nicht schallexponierten Gruppen (Abb. 8).

Nach zwölf-tägiger Regenerationsphase blieb bei den Wildtyp-Tieren ein permanenter Hörverlust von 7 dB bei 4 kHz ( $p=0,23$ ), 7 dB bei 5,6 kHz ( $p=0,011$ ), 17 dB bei 8 kHz ( $p=0,001$ ), 26 dB bei 11,3 kHz ( $p=0,001$ ), 24 dB bei 16 kHz ( $p=0,001$ ), 23 dB bei 22,6 kHz ( $p=0,001$ ) und 14 dB bei 32 kHz ( $p=0,001$ ) auf dem exponierten Ohr bestehen, der für alle Frequenzen unterschiedlich war zur vortraumatischen Messung und für Frequenzen oberhalb von 8 kHz ebenso zu den Kontrollgruppen (Abb. 8). Auf dem nicht exponierten, kontralateralen Ohr ist nach einem Tag ein maximaler Hörverlust von 20 dB bei 11,3 kHz gemessen worden, der sich nach zwei Wochen wieder regeneriert hat. Nur bei 16 kHz und 22,6 kHz ist die Regeneration nicht vollständig (Abb. 7). Gegenüber der Kontrolle zeigt sich jedoch kein Hörverlust auf dem kontralateralen Ohr (Abb. 8).

Die Knockout-Tiere zeigten einen temporären Hörverlust von 4 dB bei 4 kHz

## Ergebnisse

---

( $p=0,257$ ), 11 dB bei 5,6 kHz ( $p=0,005$ ), 17 dB bei 8 kHz ( $p=0,001$ ), 28 dB bei 11,3 kHz ( $p=0,001$ ), 26 dB bei 16 kHz ( $p=0,001$ ), 19 dB bei 22,6 kHz ( $p=0,002$ ) und mindestens 10 dB bei 32 kHz ( $p=0,004$ ) auf dem exponierten Ohr. Nach zwei Wochen blieb ein permanenter Verlust von 10 dB bei 5,6 kHz ( $p=0,142$ ), 17 dB bei 8 kHz ( $p=0,045$ ), 20 dB bei 11,3 kHz ( $p=0,001$ ), 27 dB bei 16 kHz ( $p=0,001$ ), 17 dB bei 22,6 kHz ( $p=0,001$ ) und 10 dB bei 32 kHz ( $p=0,001$ ). Die Regeneration der Hörschwelle bei 16 kHz war im Vergleich zu den schallexponierten Wildtyp-Tieren signifikant niedriger. Das linke, kontralaterale Ohr zeigte akut einen Hörverlust von maximal 12 dB bei 16 kHz, der sich wie auf der exponierten Seite auch bei anderen Frequenzen kaum regenerierte. Das Hörvermögen bei 11,3 kHz, 16 kHz und 22,6 kHz erholte sich gegenüber dem vortraumatischen Zustand nicht vollständig. Zur korrespondierenden Kontrollgruppe war jedoch bei diesen Frequenzen nach zwei Wochen kein Unterschied mehr zu sehen. Hier war nur ein leichter Hörverlust bei 5,6 kHz zu beobachten (Abb. 8).

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass nach unilateraler schmalbandiger Schallexposition bei den Wildtyp- und Knockout-Mäusen ein starker temporärer Hörverlust über das gesamte Hörspektrum eintrat, der besonders bei Frequenzen oberhalb der Expositionsfrequenz von 10 kHz durchschnittlich etwa 30 dB SPL betrug. Nach zweiwöchiger Regenerationsphase reduzierte sich der Verlust nur um 10 dB SPL, so dass im hochfrequenten Hörbereich ein nachhaltiger Hörverlust zurückblieb. Der Hörverlust auf dem kontralateralen Ohr regenerierte sich bei den Wildtyp-Tieren innerhalb von zwei Wochen fast vollständig, so dass zur Kontrollgruppe kein Unterschied mehr bestand.

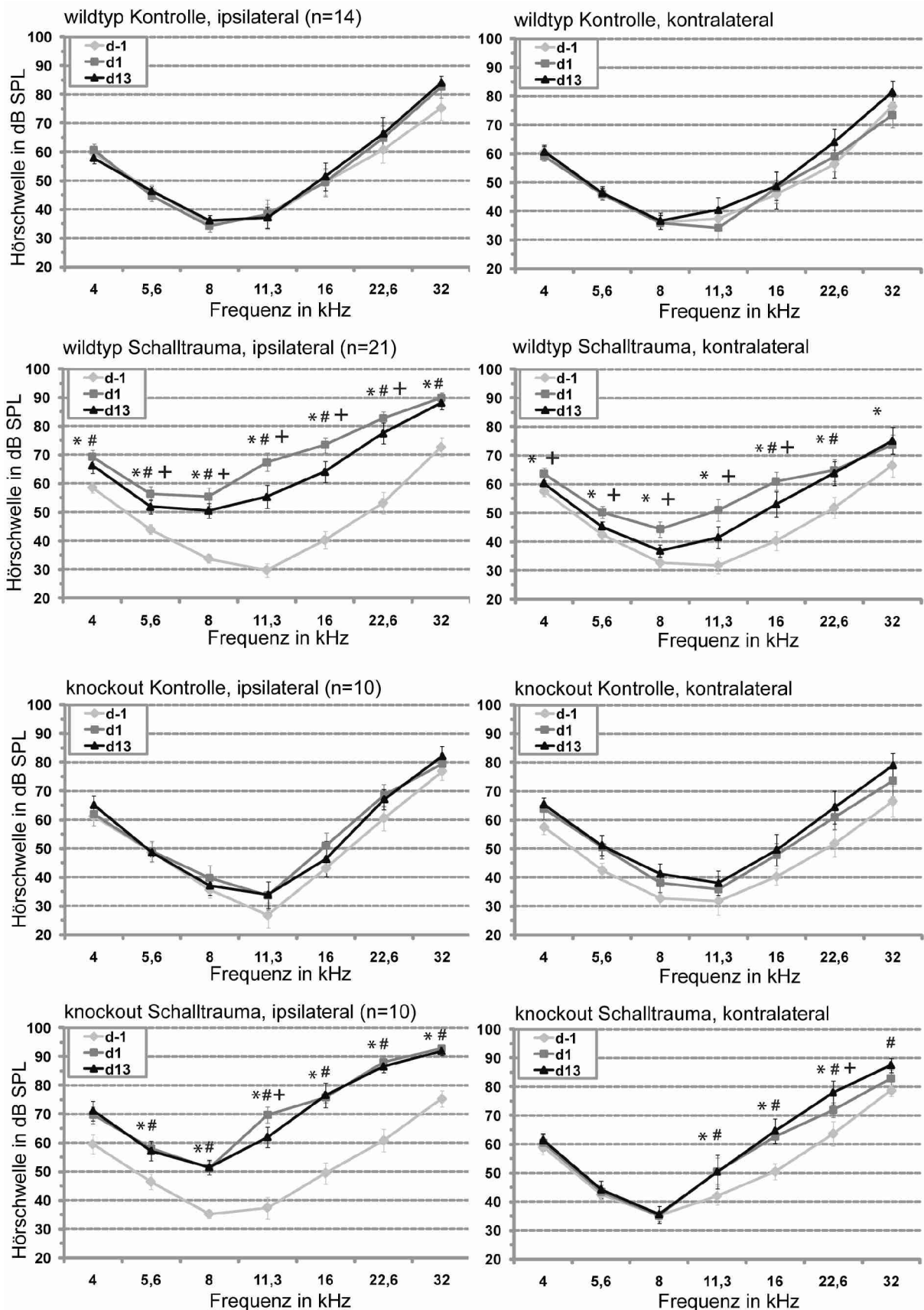


Abb. 7: Die Hörschwellen für Gruppen und Hemisphären getrennt im zeitlichen Verlauf. Die schallexponierten Tiere zeigten auf beiden Ohren bei fast allen Frequenzen einen akuten Hörverlust. Auf dem kontralateralen Ohr regenerierte sich der Hörverlust bei den Wildtyp-Tieren fast vollständig. Die Kontrollen zeigten keine Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten. (d-1: einen Tag vor Schalltrauma, d1: einen Tag nach Schalltrauma, d13: zwölf Tage nach Schalltrauma, \* signifikant d-1 vs d1, # signifikant d-1 vs d13, + signifikant d1 vs d13, t-test für gepaarte Stichproben,  $p < 0.05$ , Fehlerbalken SEM)

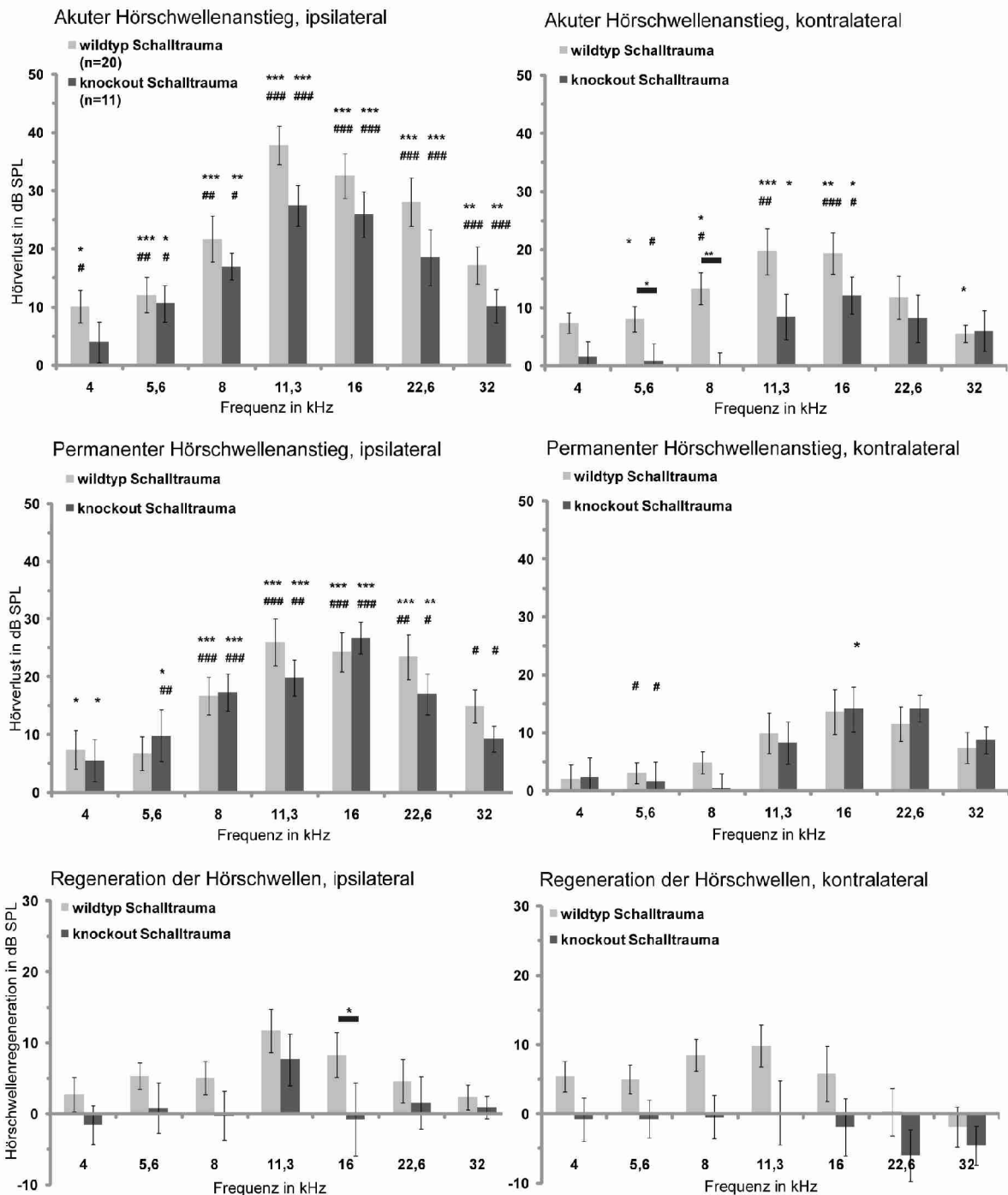


Abb. 8: Der akute und permanente Hörverlust (Oben und Mitte) und die Regeneration (Unten) der schallexponierten Gruppen. Oberhalb und im Frequenzbereich der Traumafrequenz (9-11 kHz) ist ein akuter und permanenter Hörverlust auf dem exponierten Ohr vorhanden, aber auch Frequenzen unterhalb der Traumafrequenz waren betroffen. Die schallexponierten Knockout Tiere zeigten bei 5,6 kHz und 8 kHz auf dem kontralateralen Ohr einen verringerten akuten Hörverlust im Vergleich zu den schallexponierten Wildtyp-Tieren. Auf dem kontralateralen Ohr regenerierte der Hörverlust fast vollständig. Die Regeneration bei den Knockout Tieren war auf dem ipsilateralen, exponierten Ohr bei 16 kHz verringert (\* signifikant gegen Wildtyp-Kontrolle, # signifikant gegen Knockout Kontrolle,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ).



### 3.2 2-DG Bildgebung

Zwei Stunden und zwei Wochen nach dem Schalltrauma wurde den Tieren 5 $\mu$ Ci 2-DG i.p. verabreicht und die 45 minütige Akkumulation der radioaktiv markierten Glukose autoradiographisch analysiert. Insgesamt waren in der 2-DG Analyse 78 Tiere enthalten. Bei 15 schallexponierten Tieren und 15 Kontrolltieren Tieren wurde 2h nach Schalltrauma, bzw. nach einer identischen Behandlung ohne Schallexposition, die 2-DG Aufnahme untersucht. Bei 25 weiteren Tieren wurde, innerhalb eines 17 tägigen Versuchsablaufes, Hörschwellenmessungen, Lückendetektion und ein sozialer Interaktionstest durchgeführt, bevor die Untersuchung der 2-DG Aufnahme zwei Wochen nach Schalltrauma erfolgte. Auch hier wurden die 23 Kontrolltiere bis auf die Schallexposition identisch behandelt. Die Ergebnisse der mit SPM durchgeführten 2-DG Analyse wiesen eine Vielzahl von Arealen mit unterschiedlicher Aktivität zu beiden Zeitpunkten auf. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 zusammengefasst. Es werden generell bei allen Analysen nur Areale gezeigt, die ein  $p < 0.01$  (unkorrigiert für multiple Vergleiche) und ein Mindestvolumen von 0.04 mm<sup>3</sup> (Clustergröße 100 Voxel) aufwiesen und eine dorsoventrale Ausdehnung über mindestens zwei Schnitte bestand. In den folgenden Abbildungen zeigen Blaufärbungen signifikante Abnahmen in der Glukoseaufnahme an, während Rotfärbungen eine Zunahme darstellen. Je heller die Färbung ist, desto höher ist der entsprechende t-Wert des Voxels, bzw. desto geringer der p-Wert. In den folgenden Vergleichen werden zehn Cluster nicht gezeigt, da die Clusterform unzureichend regelmäßig erscheint und eine genaue anatomische Zuordnung deshalb nicht durchführbar war. Anhand eines Atlas für das Mausgehirn von Paxinos erfolgte die anatomische Bestimmung der Kerne (Paxinos und Franklin, 2004). Strukturgrenzen wurden in den 2-DG Bildstapeln aufgrund von Koordinaten, Intensitätsunterschieden und Texturwechsel bestimmt.

## Ergebnisse

Tab.2: Areale mit Clustern unterschiedlicher Aktivität (blau: Abnahme, rot: Zunahme). Wichtige Vergleiche und Areale sind fett gedruckt. Die Voxelschwellenwerte sind generell  $p < 0.001$  (unkorrigiert) und die Clusterschwellenwerte  $p < 0.01$  (unkorrigiert; i: ipsilateral; c: kontralateral in Klammern).

Vergleich	Areal	Clustergrösse	t-Wert	Kapitel	Abb.
Knockout-Kontrollgruppen gegen Wildtyp-Kontrollgruppen	Gyrus cinguli (i,c)	799	5.02	3.3	9A
	Orbitofrontaler Kortex (i,c)	305 (157)	4.72 (4.64)	3.3	9B
	Somatosensorischer Kortex (i)	1148	6.03	3.3	9C
	Striatum (i,c)	2708 (694)	5.33 (5.22)	3.3	9D
	Hippocampus (c)	132	4.52	3.3	10A
	Cerebellum (i,c)	819 (483)	4.65(3.75)	3.3	10B
	Colliculus inferior (i,c)	1223 (892)	4.68 (3.97)	3.3	10C
	Colliculus superior (i,c)	339 (482)	4.67 (5.35)	3.3	10C
	Corpus geniculatum mediale (i,c)	541 (633)	4.45 (4.7)	3.3	10D
<b>Akute Schalleexposition gegen Kontrollgruppen</b>	<b>Nucleus cochlearis (i)</b>	139	4.47	3.4	11A
	<b>Colliculus inferior (c)</b>	1314	4.51	3.4	11B
	<b>Corpus geniculatum mediale (i,c)</b>	247	3.97	3.4	11C
	<b>Auditorischer Kortex (i,c)</b>	956	5.68	3.4	11D
Akute Schalleexposition bei Wildtypen-Tieren gegen Kontrollen	Somatosensorischer Kortex (c)	124	4.68	3.4	12A
	Insula Kortex (c)	144	3.47	3.4	12B
	Auditorischer Kortex (i)	127	3.53	3.4	12C
	Striatum (i)	188	4.67	3.4	12D
Akute Schalleexposition bei Knockout-Tieren gegen Kontrollen	Colliculus inferior (i,c)	167 (1660)	3.57 (5.00)	3.4	13A
	Auditorischer Kortex (i,c)	495 (1320)	4.40 (5.81)	3.4	13B
	Gyrus cinguli (c)	123	4.94	3.4	13C
Akute Schalleexposition bei Knockout-gegenüber Wildtyp-Tieren	Gyrus cinguli und sekundärer motorischer Kortex (c)	134	2.99	3.4	14A
	Striatum (i,c)	860 (1628)	4.79 (4.79)	3.4	14B
Chronische Schalleexposition gegen Kontrollgruppen	Colliculus inferior (c)	1433	4.67	3.5	15A
	Corpus geniculatum mediale (c)	232	3.67	3.5	15B
	Auditorischer Kortex (c)	723	4.29	3.5	15C
	Insula Kortex (c)	132	3.34	3.5	15D
	Orbitofrontaler Kortex (i)	214	3.75	3.5	16A
	Somatosensorischer Kortex (c)	1892	4.29	3.5	16B
	Striatum (i,c)	608 (227)	4.90 (4.43)	3.5	16C
	Colliculus superior (i)	324	4.07	3.5	16D
<b>Chronische Schalleexposition bei Wildtyp-Tieren gegen Kontrollen</b>	<b>Colliculus inferior (c)</b>	101	4.15	3.5	17A
	<b>Auditorischer Kortex (c)</b>	272	3.76	3.5	17B
	Cerebellum (i)	133	3.95	3.5	17C
	<b>Gyrus cinguli (i,c)</b>	471 (357)	4.27 (3.64)	3.5	18A
	Somatosensorischer Kortex (i,c)	183 (113)	3.93 (3.25)	3.5	18B
	<b>Colliculus superior (i,c)</b>	647 (282)	3.95 (3.58)	3.5	18C

## Ergebnisse

Chronische Schallexposition bei Knockout-Tieren gegen Kontrollen	Colliculus inferior (i,c)	114 (1090)	3.83 (4.91)	3.5	19A
	Corpus geniculatum mediale (c)	261	3.87	3.5	19B
	Somatosensorischer Kortex (i,c)	551 (861)	3.85 (4.41)	3.5	20A
	Insula (c)	248	3.69	3.5	20B
	Orbitofrontaler Kortex (i)	276	3.83	3.5	20C
	Cerebellum (i,c)	816 (599)	4.91 (4.25)	3.5	20D
Chronisches Schallexposition bei Knockout- gegenüber Wildtyp-Tieren	Prelimbischer Kortex (i,c)	1459	5.67	3.5	21A
	Gyrus cinguli (i,c)	2385	4.57	3.5	21B
	Striatum (i,c)	3063 (3140)	5.73 (6.30)	3.5	21C
	Entorhinaler Kortex (i)	405	4.20	3.5	21D
	Post- und ventrolateraler thalamischer Nucleus (i,c)	317 (455)	5.12 (4.94)	3.5	22A
	Hirnstammareale (i,c)	u.a. 735 (633)	u.a. 5.57 (5.17)	3.5	22B
Tinnituswahrnehmung bei Wildtyp-Tieren gegen Kontrollen	Auditorischer Kortex (c)	754	4.85	3.7	26A
	Mediales Striatum (c)	204	4.45	3.7	26B
	Amygdala (i)	152	3.71	3.7	26C
	Gyrus cinguli (i,c)	351 (191)	3.95 (3.87)	3.7	27A
	Colliculus superior (i,c)	146 (859)	3.91 (4.96)	3.7	27B
	Globus pallidus und Nucleus accumbens (i)	261	4.69	3.7	27C
	Thalamischer Nucleus reticularis (c)	718	4.63	3.7	27D
Tinnitus bei Wildtyp-Tieren mit hoch- oder tieffrequenter Wahrnehmung gegen Kontrollen	Auditorischer Kortex (c)	128 und 166	4.40 und 3.85	3.7	28A
	Mediales Striatum (c)	153	4.48	3.7	28B
	Amygdala (i)	102	3.53	3.7	28C
	Olfaktorischer Bulbus (i,c)	164 (149)	4.01 (3.83)	3.7	28D
	Gyrus cinguli (i,c)	419 (249)	5.00 (4.02)	3.7	29A
	Striatum (i,c)	461 (184)	5.29 (4.26)	3.7	29B
	Colliculus superior (i,c)	721 (784)	4.68 (5.25)	3.7	29C
	Auditorischer Kortex (i)	137	4.18	3.7	29D
	Hippocampus (c)	113	4.41	3.7	30A
	Nucleus accumbens (i)	216	4.06	3.7	30B
	Thalamischer Nucleus reticularis (c)	139	3.65	3.7	30C
Schallexposition ohne Tinnitus bei Wildtypen gegen Kontrollen	Auditorischer und Insula Kortex (i)	296	5.46	3.7	31A
	Striatum (i,c)	700 (515)	6.59 (6.31)	3.7	31B
	Motorischer Kortex (i)	504	5.17	3.7	31C
	Somatosensorischer Kortex (i)	178	4.76	3.7	31C
	Orbitofrontaler Kortex (c)	157	4.23	3.7	31D
Schallexposition bei Tieren mit gegen ohne	Striatum (i)	122	5.63	3.7	32A
	Gyrus cinguli und sekundärer motorischer Kortex (i)	319	6.71	3.7	32B
	Nucleus cochlearis (c)	107	5.79	3.7	33A
	Globus pallidus (i)	216	4.79	3.7	33B
	Colliculus superior (i)	104	4.21	3.7	33C
	Thalamischer Nucleus reticularis (c)	134	4.53	3.7	33D

### 3.3 Unterschiede zwischen den Genotypen in der 2-DG Bildgebung

Um die Unterschiede in der 2-DG Aufnahme zwischen den Genotypen zu ermitteln wurden die Kontrollgruppen der akuten und der chronischen Experimente zusammengelegt um bei diesen Vergleichen die Tierzahl zu erhöhen. Bei zeitlich getrennter Analyse der Kontrollgruppen ist das Muster der Kartierung hinreichend ähnlich, oft aber weniger kontraststark. Allgemein zeigt sich eine verringerte 2-DG Aufnahme in kortikalen Arealen, während Hirnstamm, Mittelhirn und Thalamus eine erhöhte 2-DG Akkumulation aufwiesen. Kortikale Aktivitätsabnahmen fanden sich bilateral in Arealen des frontalen und präfrontalen Kortex, sowie in Bereichen des kontralateralen somatosensorischen Kortex. Bilateral waren weite Bereiche des Striatums reduziert (Abb. 9). Die Reduktionen im rechten Hippocampus und im Cerebellum waren regional begrenzt (Abb. 10).

Aktivitätssteigerungen bei den konditionalen Arg3.1-Knockout-Mäusen fanden sich unter anderem in Bereichen des Colliculus inferior und superior (IC und SC) und dem Corpus geniculatum mediale (MGB, Abb. 10). Insgesamt wurden die Unterschiede zwischen den Genotypen in den Kontrollen jedoch als so gravierend beurteilt, dass in der weiteren Analyse weitestgehend auf Vergleiche mit den Knockout-Gruppen verzichtet wurde. Auch die Unterschiede im Glukosemetabolismus zwischen Tieren mit und ohne Verhaltensanzeichen für Tinnitus wurden aus diesem Grund nicht durchgeführt. Für die Beurteilung der akuten und chronischen Wirkung des Schalltraumas auf das auditorische System war die Zusammenlegung der beiden Genotypen jedoch legitim, da ähnlich große korrespondierende Kontrollgruppen vorhanden waren.

## Ergebnisse

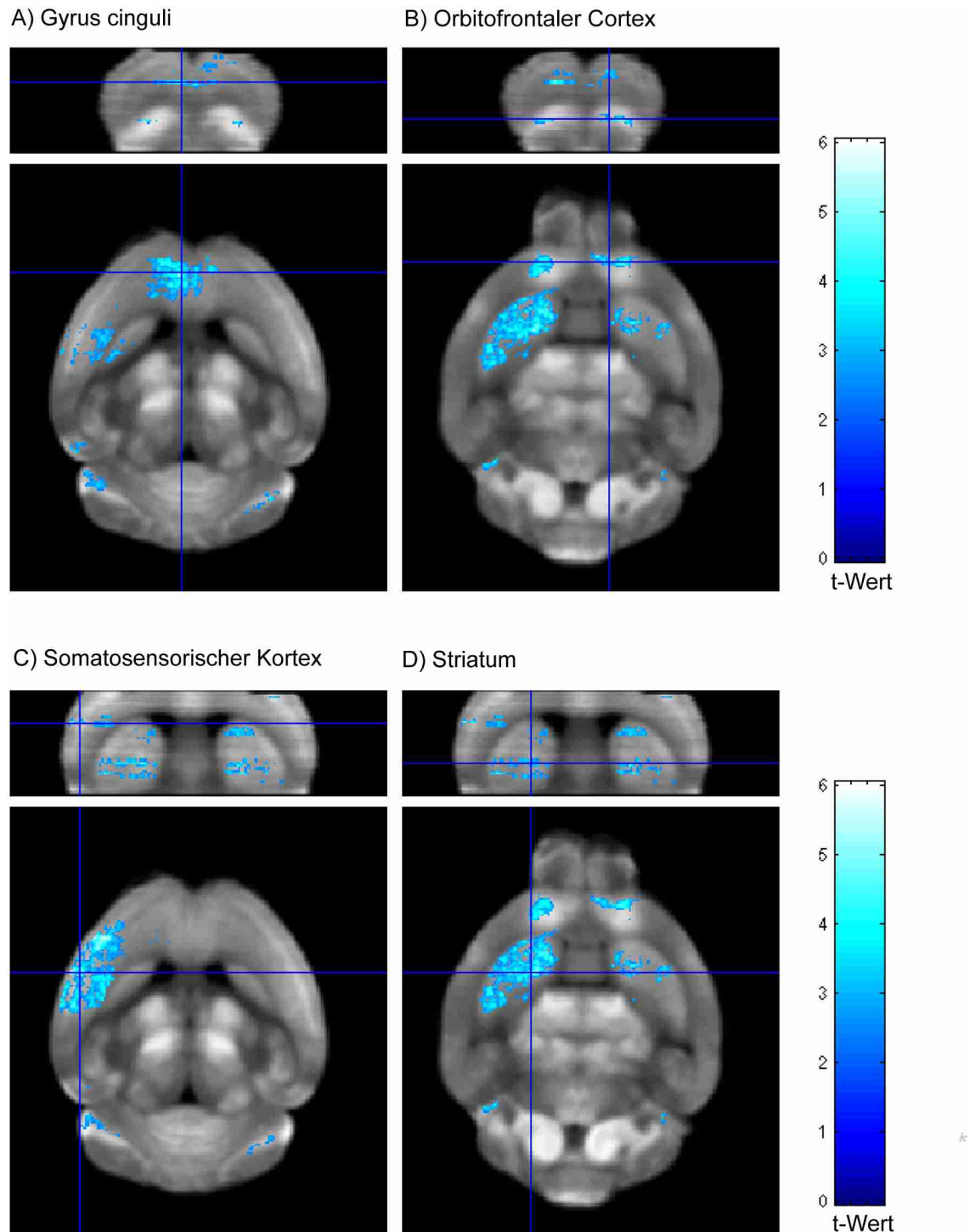


Abb. 9: Aktivitätsänderungen der Knockout Kontrollen (n=17) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=21, blau: Abnahme), bilaterale Abnahme im Gyrus cinguli (A), bilaterale Abnahme im orbitofrontalen Kortex (B), unilaterale Abnahme im linken somatosensorischen Kortex (C), bilaterale Abnahme im Striatum (D).

## Ergebnisse

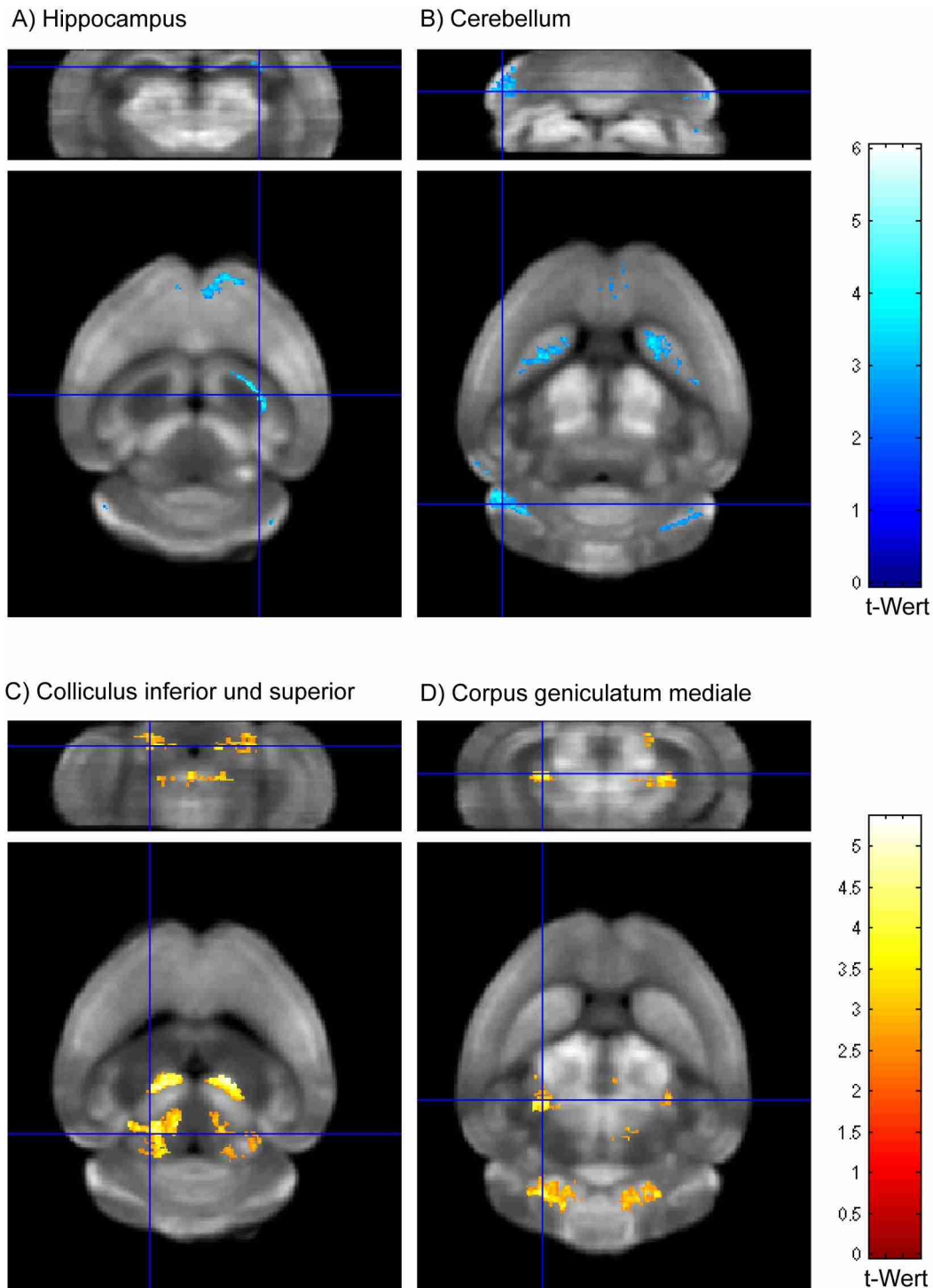


Abb. 10: Aktivitätsänderungen der Knockout Kontrollen (n=17) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=21, rot: Zunahme, blau: Abnahme), unilaterale Abnahme im rechten Hippocampus (CA1, A), bilaterale Abnahme im Cerebellum (B), bilaterale Zunahme im Colliculus inferior und superior (C), bilaterale Zunahme im Corpus geniculatum mediale und anderen thalamischen Bereichen (D).

### 3.4 2-DG Bildgebung zwei Stunden nach Schalltrauma

Insgesamt wurden 30 Tiere verwendet, von denen 15 Tiere schallexponiert wurden und 15 Tiere als Kontrollen dienten. 7 der jeweils 15 Tiere waren arg3.1 konditionale Knockout-Mäuse. Um die alleinige, akute Wirkung des Schalltraumas auf das auditorische System beurteilen zu können werden zuerst die Genotypen zusammengelegt und schallexponierte Tiere mit den nicht exponierten Tieren verglichen. Die auditorischen Kerne zeigten eine mit der Lateralität des Traumas nuancierte Aktivitätsabnahme entlang der aufsteigenden Hörbahn. Die Aktivität des Nucleus cochlearis (CN) und des IC war fast ausschließlich ipsi-, bzw. kontralateral erniedrigt. Der MGB zeigte jedoch bilateral eine Abnahme, die in beiden Hemisphären ähnliche Größe besaß. Das in der 2-DG Aufnahme reduzierte Volumen im AC war kontralateral zur Schallexposition wesentlich größer, aber auch auf der ipsilateralen Seite war eine Reduktion vorhanden (Abb. 11).

Bei der Betrachtung der schallexponierten Wildtyp-Tiere im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen war die Aktivität im kontralateralen somatosensorischen Kortex und in der dorsalen Insula erniedrigt (Abb. 12).

Die Aktivität im AC und im Striatum war ipsilateral erhöht. Die Erhöhung im ipsilateralen AC war wahrscheinlich im anterioren auditorischen Feld an der Grenze zu A1 lokalisiert. Hier befinden sich neuronale Repräsentationen hoher Frequenzen (Abb. 13).

Die schallexponierten Knockout-Tiere zeigten zwei Stunden posttraumatisch im Vergleich zur korrespondierenden Kontrollgruppe eine besonders kontralateral ausgeprägte Aktivitätsabnahme im IC und im AC. Die Aktivität war in frontalen und präfrontalen Kortextbereichen kontralateral zur Expositionsseite verringert (Abb. 13).

Der Genotypenvergleich der schallexponierten Tiere zwei Stunden nach Trauma zeigte eine Aktivitätsabnahme im kontralateralen frontalen Regionen bei den Knockout-Tieren, die etwas ventraler lagen als die Aktivitätszunahme im vorigen Kontrast zur Knockout-Kontrollgruppe. Die Aktivität war außerdem bilateral in einem großen Volumen innerhalb des zentralen Striatums erniedrigt (Abb. 14). Wie beim Vergleich der Genotypen zwischen den Kontrollgruppen fanden sich auch beim Vergleich der schallexponierten Tiere Verringerungen der Aktivität im Vorderhirn bei den Knockout-Tieren.

## Ergebnisse

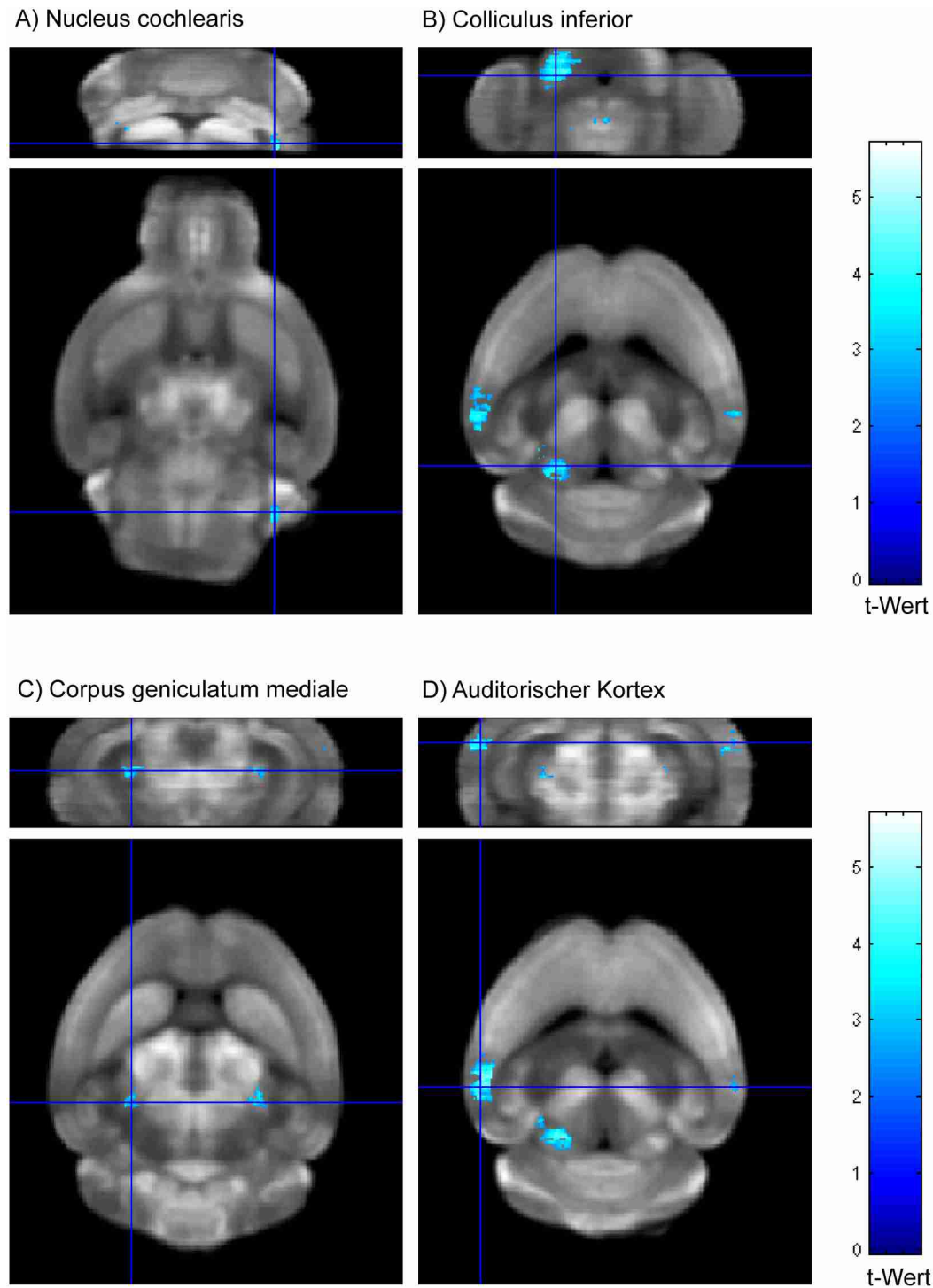


Abb. 11: Akute Aktivitätsänderungen der schallexponierten Tiere (n=15) im Vergleich zu den Kontrollen (n=15, blau: Abnahme), Abnahme im ipsilateralen Nucleus cochlearis (A), Abnahme im kontralateralen Colliculus inferior (B), Bilaterale Abnahme im Corpus geniculatum mediale (C), Bilaterale Abnahme im auditorischen Kortex (D).



## Ergebnisse

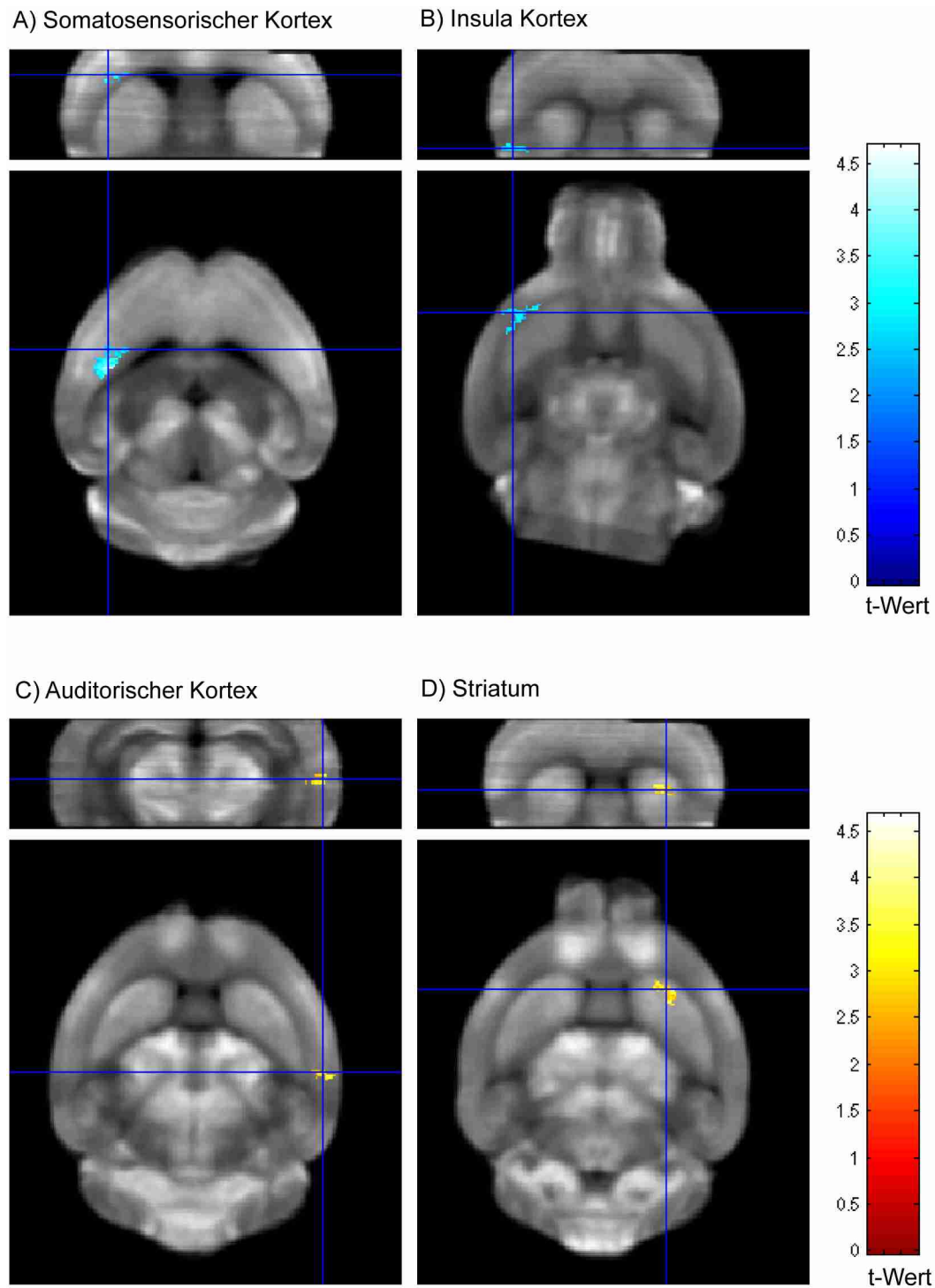


Abb. 12: Akute Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere (n=8) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=8, rot: Zunahme, blau: Abnahme), Abnahme im kontralateralen somatosensorischen Kortex (A), Abnahme im kontralateralen Insula Kortex (B), Zunahme im ipsilateralen auditorischen Kortex (C), Zunahme im ipsilateralen Striatum (D).

## Ergebnisse

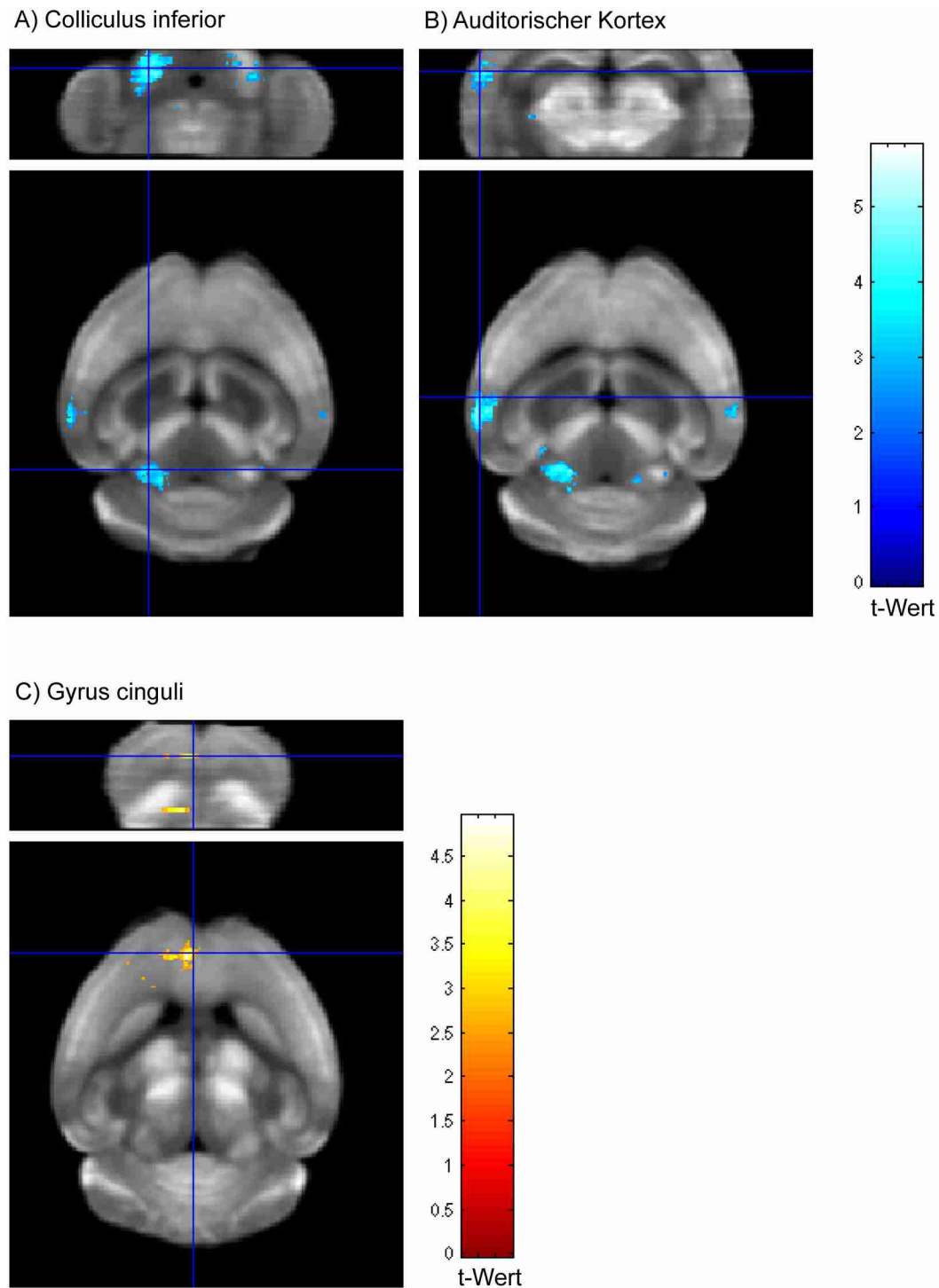


Abb. 13: Akute Aktivitätsänderungen der schallexponierten Knockout Tiere (n=7) im Vergleich zu den Knockout Kontrollen (n=7, rot: Zunahme, blau: Abnahme), Abnahme im kontralateralen (weniger ipsilateralen) Colliculus inferior (A), Abnahme im kontralateralen (weniger ipsilateralen) auditorischen Kortex (B), Zunahme im kontralateralen Gyrus cinguli (C).

## Ergebnisse

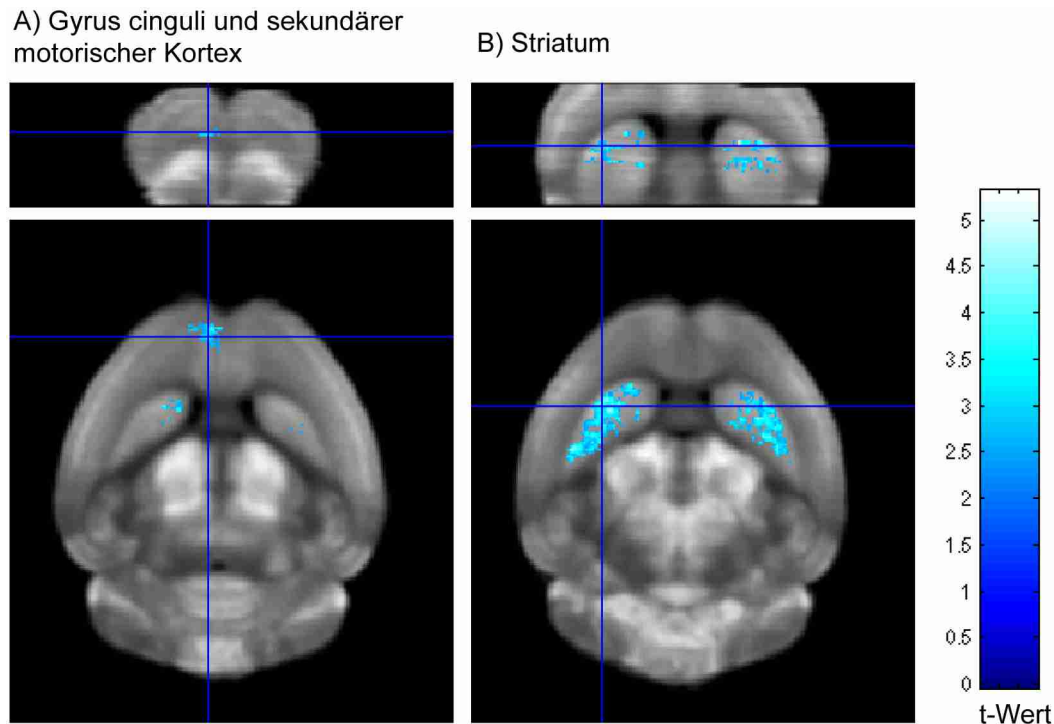


Abb. 14: Akute Aktivitätsänderungen der schallexponierten Knockout Tiere (n=7) im Vergleich zu den schallexponierten Wildtyp-Tieren (n=7, blau: Abnahme), kontralaterale Abnahme im Gyrus cinguli und sekundären motorischen Kortex (A), bilaterale Abnahme im Striatum (B).

### 3.5 2-DG Bildgebung zwei Wochen nach Schalltrauma

Um die chronische Wirkung des Schalltraumas auf das gesamte Gehirn nach zwei Wochen beurteilen zu können wurden zunächst, wie nach zwei Stunden, die Genotypen zusammen betrachtet. Hier zeigte sich wie im akuten Zustand eine Verringerung der 2-DG Aufnahme im IC. Der MGB und der AC war, verglichen mit dem akuten Zustand, nur noch in der kontralateralen Hemisphäre erniedrigt (Abb. 15). Aktivitätszunahmen fanden sich bei den schallexponierten Tieren in der kontralateralen ventralen Insula, dem ipsilateralen ventralen orbitofrontalen Kortex, bilateral in einem großen Volumen im somatosensorischen Kortex, auch an der Grenze zu motorischen Arealen und in Bereichen des Striatum. Im Mittelhirn war der Colliculus superior (SC) ipsilateral erhöht (Abb. 15 und Abb. 16).

Die Schallexposition hatte im chronisch posttraumatischen Zustand bei den Wildtyp-

## **Ergebnisse**

---

Tieren eine Aktivitätsabnahme im kontralateralen IC und im AC, sowie im ipsilateralen Cerebellum zur Folge (Abb. 17). Frontale und präfrontale Kortexareale wiesen eine Zunahme auf. Aktivitätszunahmen fanden sich ebenfalls im kontralateralen somatosensorischen Kortex und bilateral im SC (Abb. 18).

Die schallexponierten Knockout-Tiere zeigten chronisch im Vergleich zu den Knockout-Kontrollen eine Aktivitätsreduktion bilateral im IC und kontralateral im MGB (Abb. 19). Aktivitätssteigerungen waren bilateral im somatosensorischen Kortex lokalisiert. Kontralateral waren Bereiche in der Insula stärker aktiviert und ipsilateral war der ventrale orbitofrontale Kortex (OFC) in der 2-DG Aufnahme erhöht. Auch das Cerebellum zeigte regional begrenzt eine bilaterale Zunahme (Abb. 20).

Beim Genotypenvergleich der schallexponierten Tiere im chronischen Zustand nach zwei Wochen fanden sich Abnahmen wieder in frontalen und präfrontalen Bereichen, sowie im Striatum. Ipsilateral zur Expositionsseite war die Aktivität des rechten ENT verringert (Abb. 21). Eine bilaterale Aktivitätssteigerung zeigte sich in thalamischen Arealen, Rautenhirn und Mittelhirn, sowie Hirnstamm, ähnlich dem Muster des Genotypenvergleichs der nicht exponierten Tiere. Die thalamische Aktivitätszunahme lag im Bereich des Nucleus posterior ventralis, rhombenzephal und mesencephale Regionen umfassten wahrscheinlich die Vestibulariskerne und weitere Kerne des Hirnstamms (Abb. 22).

## Ergebnisse

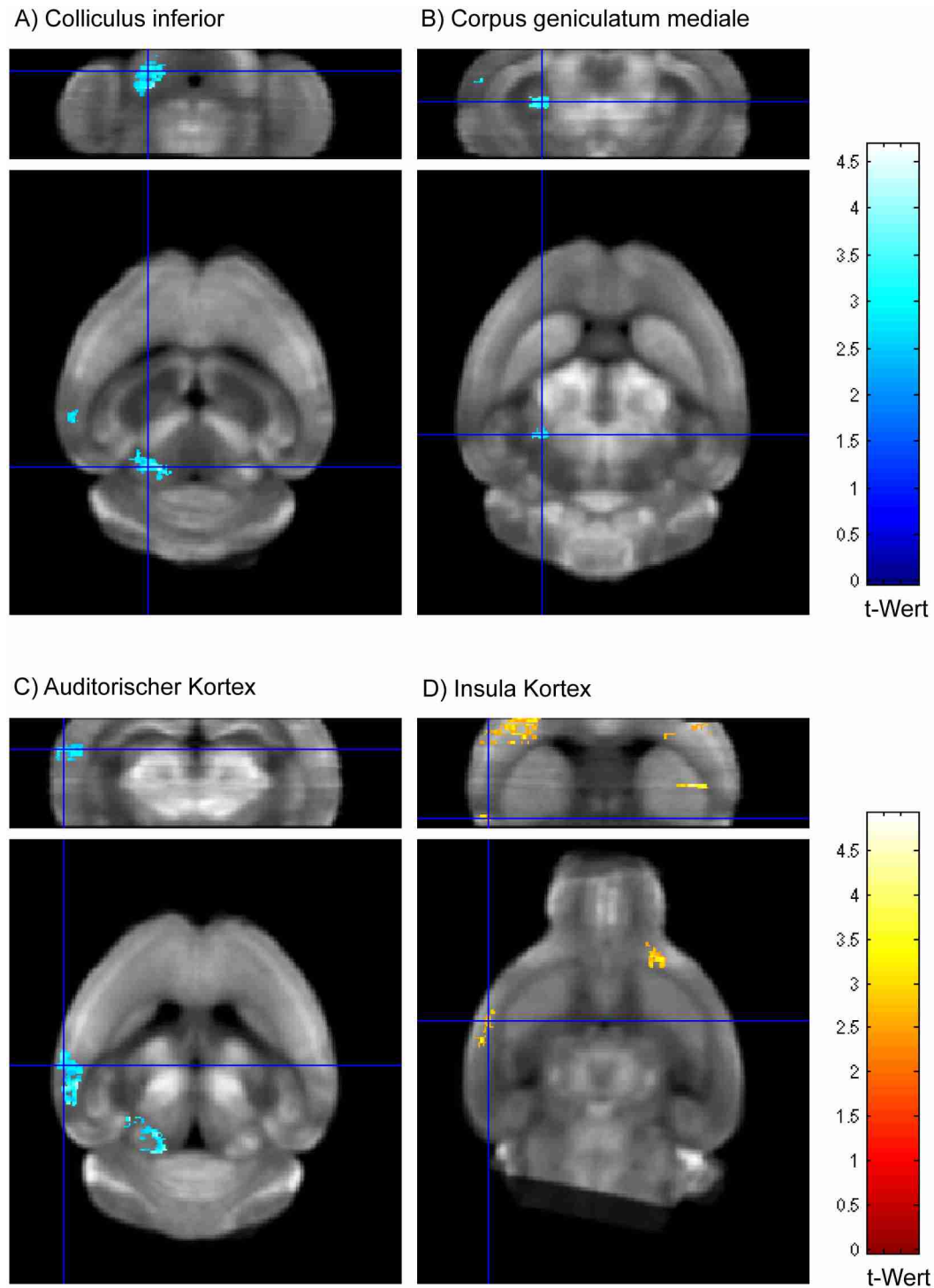


Abb. 15: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Tiere (n=25) im Vergleich zu den Kontrollen (n=23) 2 Wochen nach Trauma (rot: Zunahme, blau: Abnahme), Abnahme im kontralateralen Colliculus inferior (A), Abnahme im kontralateralen Corpus geniculatum mediale (B), Abnahme im kontralateralen auditorischen Kortex (C), Zunahme im kontralateralen Insula Kortex (D).

## Ergebnisse

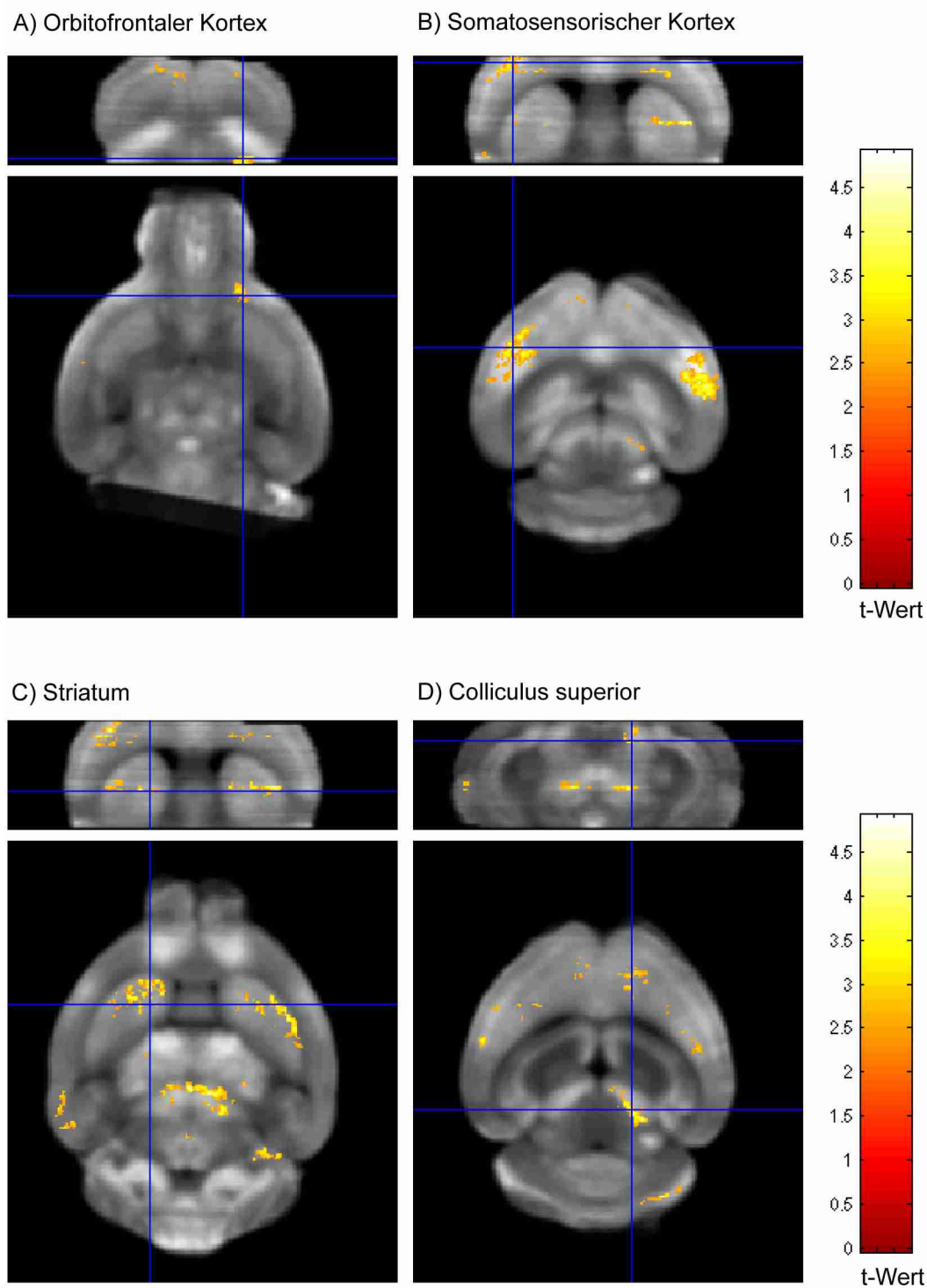


Abb. 16: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Tiere (n=25) im Vergleich zu den Kontrollen (n=23) zwei Wochen nach Trauma (rot: Zunahme), Zunahme im ipsilateralen orbitofrontalen Kortex (A), Zunahme im kontralateralen somatosensorischen Kortex (B), bilaterale Zunahme im Striatum (C), Zunahme im ipsilateralen Colliculus superior (D).

## Ergebnisse

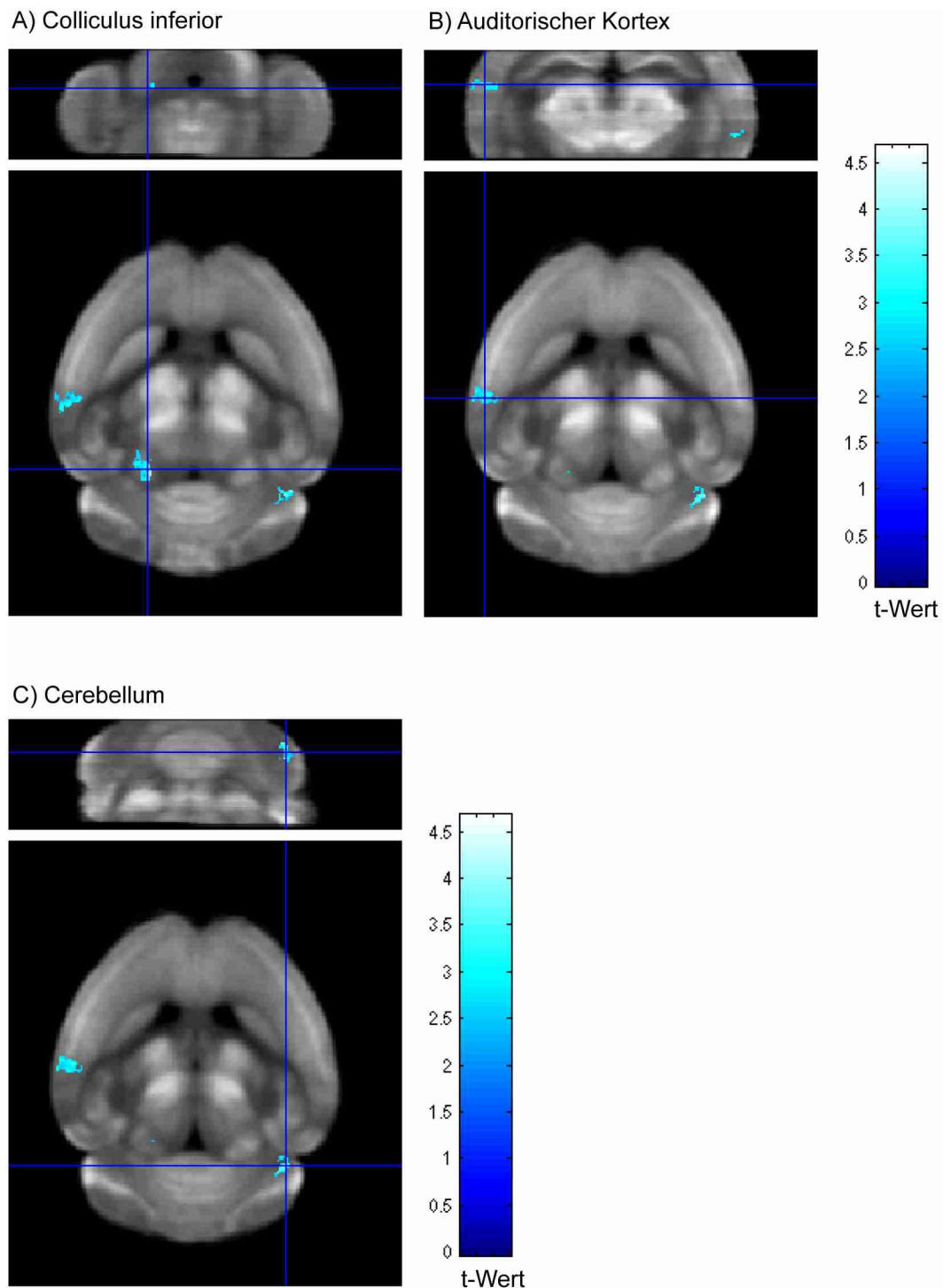


Abb. 17: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere (n=17) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=13) nach zwei Wochen (blau: Abnahme), Abnahme im kontralateralen Colliculus inferior (A), Abnahme im kontralateralen auditorischen Kortex (B), Abnahme im ipsilateralen Cerebellum (C).

## Ergebnisse

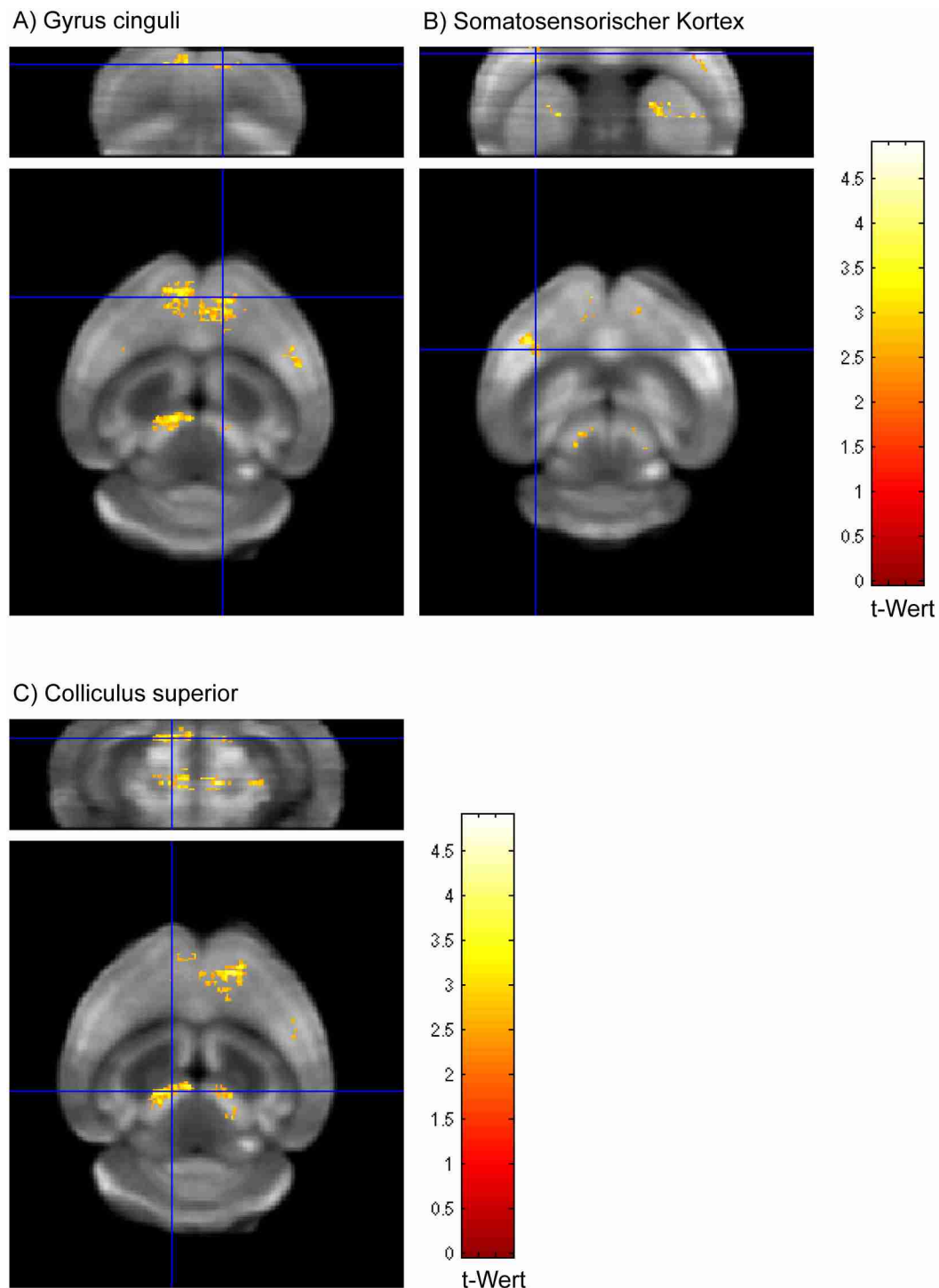


Abb. 18: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere (n=17) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=13) nach zwei Wochen (rot: Zunahme), bilaterale Zunahme im Gyrus cinguli (A), bilaterale Zunahme im somatosensorischen Kortex (B), bilaterale Zunahme im Colliculus superior (C)



## Ergebnisse

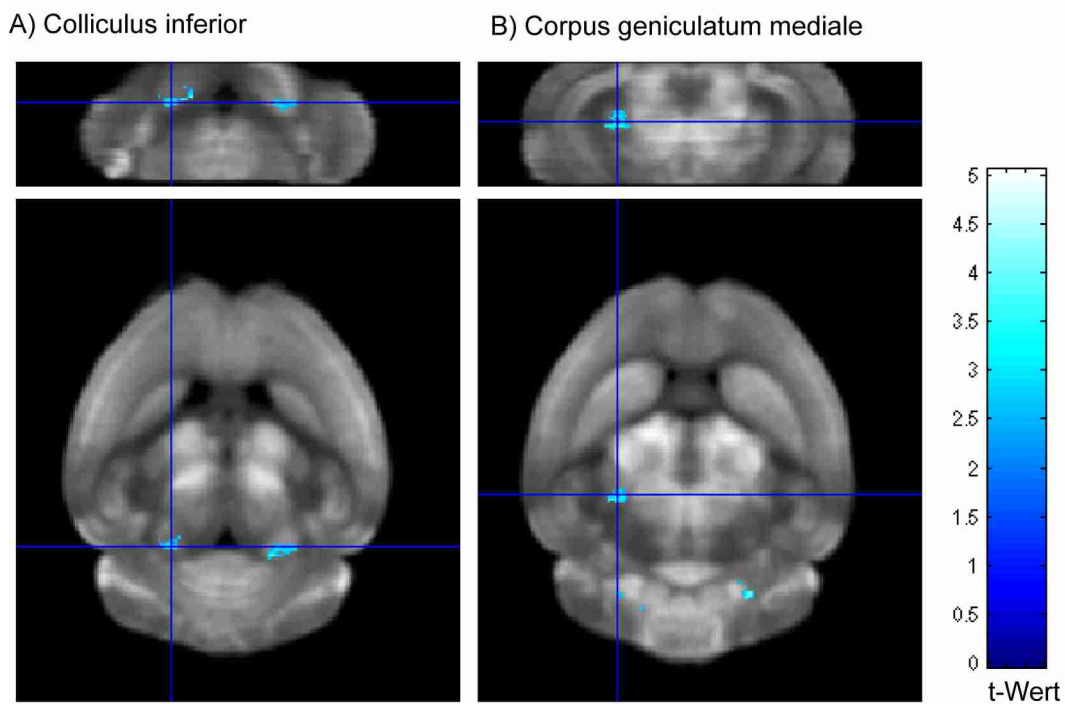


Abb. 19: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Knockout Tiere (n=8) im Vergleich zu den Knockout Kontrollen (n=10) nach zwei Wochen (blau: Abnahme), bilaterale Abnahme im Colliculus inferior (A), Abnahme im kontralateralen Corpus geniculatum mediale (B).

## Ergebnisse

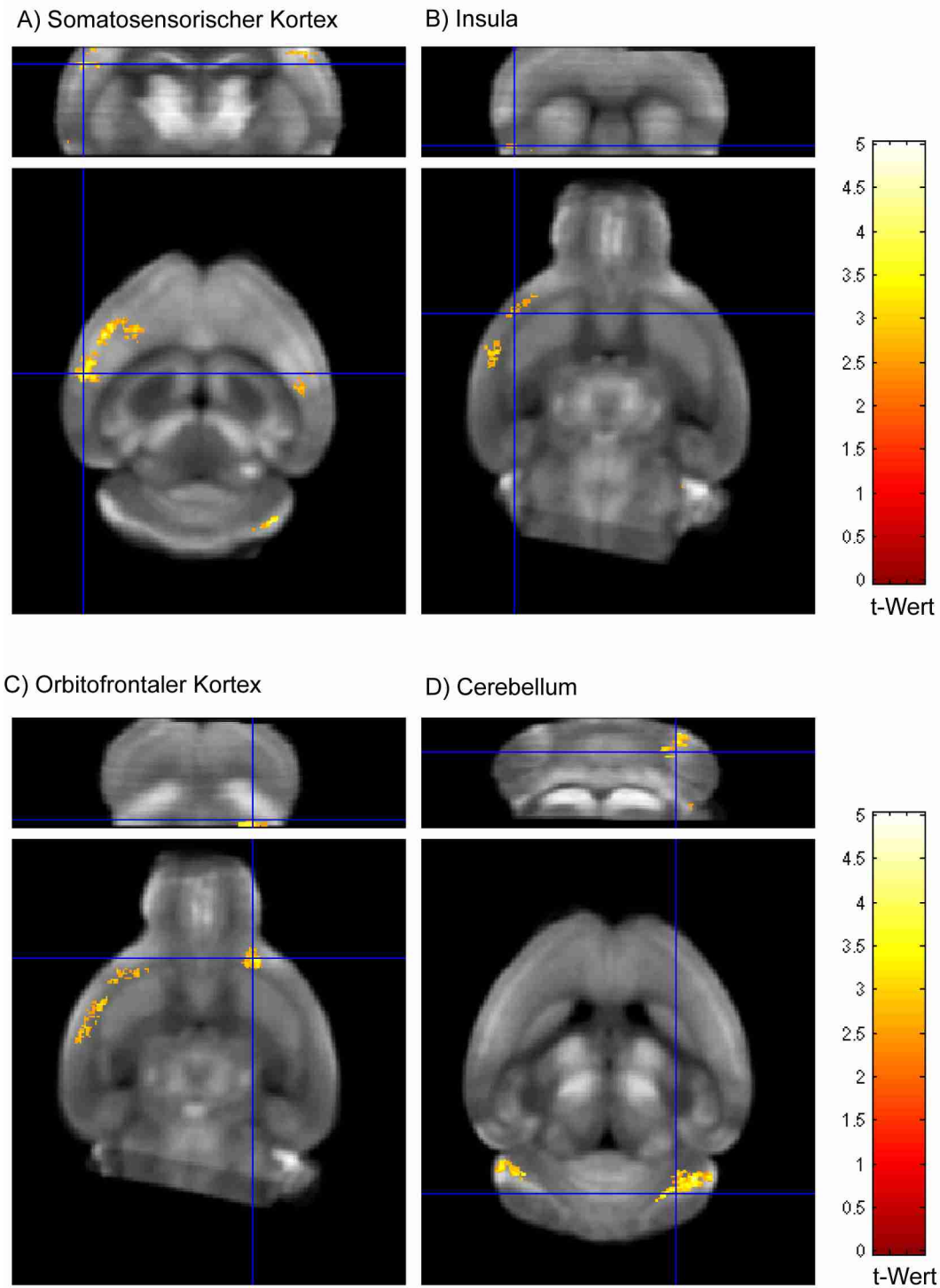


Abb. 20: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Knockout Tiere (n=8) im Vergleich zu den Knockout Kontrollen (n=10) nach zwei Wochen (rot: Zunahme), bilaterale Zunahme im somatosensorischen Kortex (A), Zunahme im kontralateralen Insula Kortex (B), Zunahme im ipsilateralen orbitofrontalen Kortex (C), bilaterale Zunahme im Cerebellum (D).

## Ergebnisse

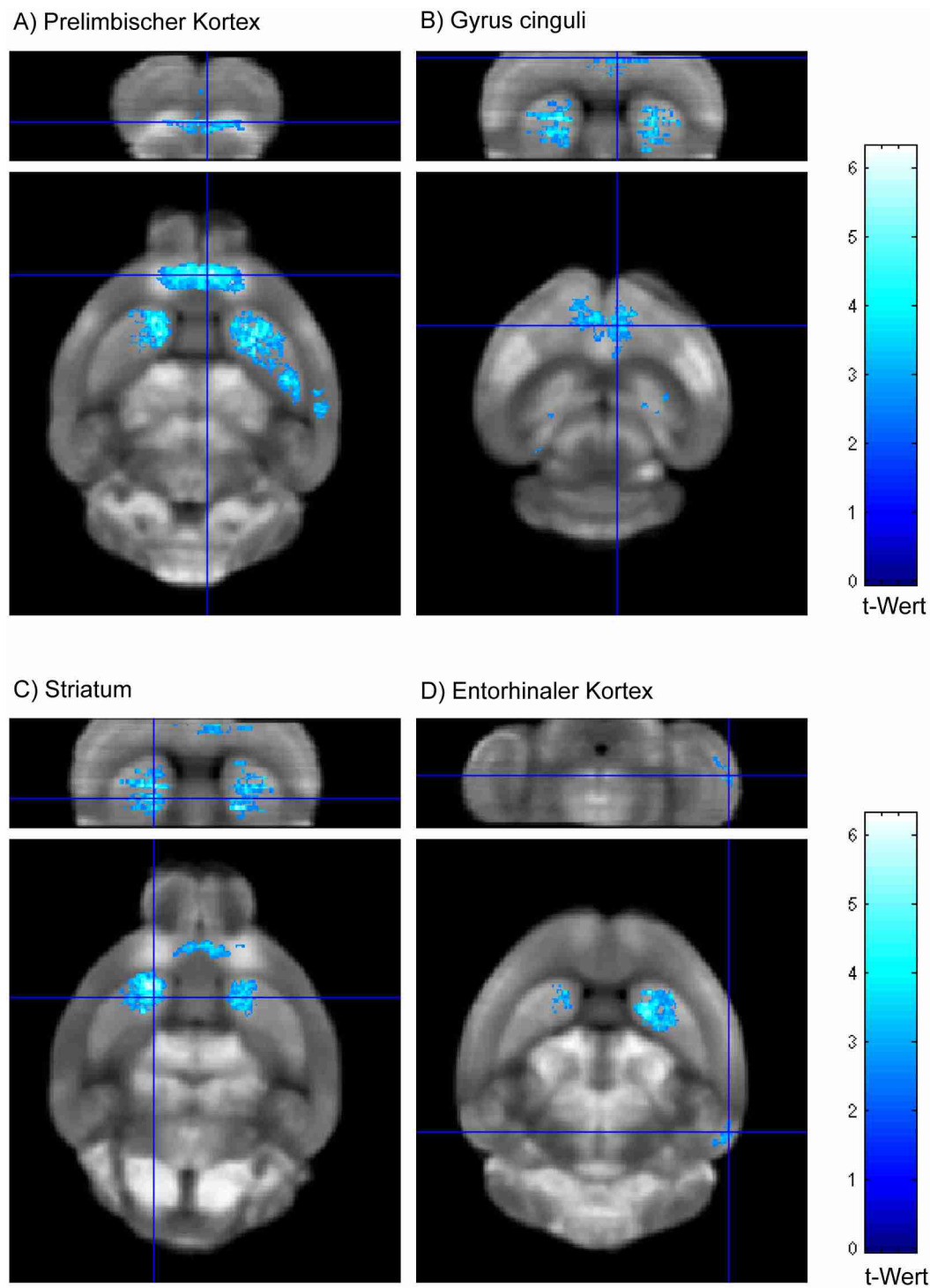


Abb. 21: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Knockout Tiere (n=8) im Vergleich zu den schallexponierten Wildtyp-Tieren (n=17) nach zwei Wochen (blau: Abnahme), bilaterale Abnahme im prelimbischen Kortex (A), bilaterale Abnahme im Gyrus cinguli (B), bilaterale Zunahme im Striatum (C), Zunahme im ipsilateralen entorhinalen Kortex (D).

## Ergebnisse

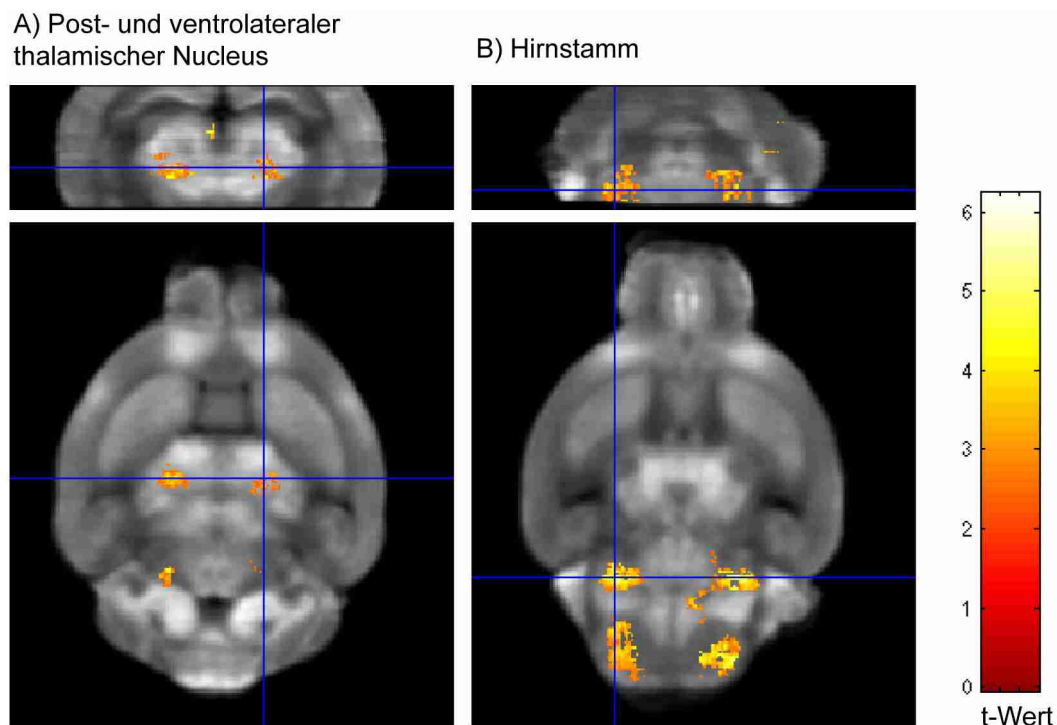


Abb. 22: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Knockout Tiere (n=8) im Vergleich zu den schallexponierten Wildtyp-Tieren (n=17) nach zwei Wochen (rot: Zunahme), bilaterale Zunahme im post- und ventrolateralen thalamischen Nucleus (A), bilaterale Zunahme im Hirnstamm (B).

### 3.6 Vorpulsinhibition und Lückendetektion zum Nachweis einer subjektiven Tinnituswahrnehmung

Bei der Präsentation eines kurzen, lauten Knalls mit einer Pegelstärke von 50-60 dB über dem akustischen Hintergrund reagieren Säugetiere mit einem reflexartigen zusammenzucken der Skelettmuskulatur (*startle response*). Wird dem lauten Knall ein leiserer akustischer Vorpuls vorangestellt wird die folgende Muskelkontraktion inhibiert (PPI). Bei der Adaption für die Tinnitusforschung wurde der Vorpuls ersetzt durch eine akustische Lücke in einem sonst kontinuierlich präsentierten Hintergrundgeräusch (gap-PPI; Turner et al., 2006). Man geht davon aus, dass wenn die Frequenz des Hintergrundgeräusches ähnlich der Frequenz des wahrgenommenen Tinnitus ist, die Lücke schlechter detektiert werden kann, woraufhin die Inhibition der Muskelkontraktion reduziert ist. Die Stärke der

## **Ergebnisse**

---

aufgenommenen Beschleunigung wird wieder größer und nähert sich der Verhaltensantwort ohne vorausgehende Lücke im Hintergrundrauschen an (Abb. 5). Die Versuche, die der Abschätzung einer möglichen Tinnituswahrnehmung in den Tieren diente, fanden zwei Tage vor und zwölf Tage nach dem Schalltrauma statt. Es wurden drei verschiedene Vorpulse, bzw. Hintergrundrauschen getestet. Als erstes wurden breitbandige Signale mit Frequenzanteilen von 0,5-20 kHz (BBN) verwendet. Da man annimmt, dass Tinnitus an den Randfrequenzen des Hörschadens entsteht, folgten Signale mit Halboktavbreite, dessen obere Grenzfrequenz der unteren Grenzfrequenz des Traumasignals entsprach und schließlich Signale mit Oktavbandbreite, deren untere Grenzfrequenz die obere Grenzfrequenz des Traumabandes war.

Um verhaltensbedingte Hinweise für eine Tinnituswahrnehmung zu erhalten wurde in den schallexponierten Tieren die Änderung der Lückendetektionsleistung zwischen der vor- und nachtraumatischen Messung herangezogen. Zwei Tage vor dem Schalltrauma war die Inhibition durch den Vorpuls, bzw. die Lücke im Hintergrundrauschen für alle vier Gruppen und drei Frequenzparadigma gleich. Der Vorpuls inhibierte die Schreckreaktion über alle Gruppen gemittelt beim BBN um 67%, die Lücke um 28%, beim 6-9 kHz Frequenzband um 64%, die Lücke um 25% und beim 11-22 kHz Band um 67%, die Lücke um 26%. Für alle Frequenzparadigma war die Inhibition durch den Vorpuls in Stille höher als durch die Lücke im Rauschen. Nur vereinzelt zeigten Tiere ähnlich hohe Inhibitionsantworten für Vorpuls und Lücke (Abb. 23).

Betrachtet man die Gesamtgruppe der schallexponierten Wildtyp-Tiere, zeigte sich nach zwei Wochen eine verminderte Inhibition nach der Lücke im Breitbandrauschen um 16,8% im Vergleich zu der Wildtyp-Kontrollgruppe. Bei der Lücke im höherfrequenten und niederfrequenten Rauschen war kein Unterschied zu den Kontrollgruppen vorhanden. Auch die schallexponierten Knockout-Tiere zeigten für keines der Frequenzbänder einen Inhibitionrückgang bei der Lückendetektion.

Da ein schallinduzierter Tinnitus nicht bei jedem exponierten Tier zu erwarten war wurde eine Einteilung der schallexponierten Tiere vorgenommen. Für jedes der drei Hintergrundrauschen mit den unterschiedlichen Frequenzinhalten wurden die Tiere in zwei Gruppen eingeteilt (Middleton et al., 2011). Wenn ein Tier eine Reduktion der

## Ergebnisse

---

Inhibition um mehr als 4% beim Vergleich von pre- zu posttraumatischer Messung aufzeigte, dann wurde es als ein Tinnitus-wahrnehmendes Tier klassifiziert. Einen Überblick über die Verteilung der Tiere nach Klassifizierung in die drei Frequenzbänder gibt Tab. 3. Bei den schallexponierten Wildtyp-Tieren wiesen von 21 Tieren der Gesamtgruppe 15 Tiere am Tag 12 eine Reduktion in mindestens einem der drei Frequenzparadigma beim gap-PPI auf (71,4%). Bei den Knockout-Tieren waren dies 9 von 11 Tieren (81,8%). Eine veränderte Prävalenz der Knockout-Tiere hinsichtlich einer möglichen Tinnituserstehung war somit nicht beobachtbar. Sechs der Wildtyp-Tiere waren beim BBN Hintergrundrauschen reduziert, von denen zwei auch bei hoch- und drei im tieffrequenten Rauschen eine verringerte Inhibition zeigten. Zwei Tiere waren bei allen drei Frequenzbändern im gap-PPI erniedrigt.

Beim BBN Hintergrundrauschen war bei den Tinnitus-wahrnehmenden Wildtyp-Tieren im Mittel eine Reduktion von 21% der Inhibition im Vergleich zur Kontrolle und von 17% der Inhibition zur vorigen Messung zu beobachten. Die nicht Tinnitus-wahrnehmenden Tiere steigerten die Inhibition zur vortraumatischen Messung, was auch in der Wildtyp-Kontrollgruppe beobachtet wurde. Bei den schallexponierten Knockout-Tieren zeigte sich keine Tendenz im Vergleich zu den Kontrollgruppen (Abb. 23, oben).

Die Schreckreaktion auf die Lücke im hochfrequenten Hintergrundrauschen war bei den Tieren mit Tinnituswahrnehmung im Vergleich zu den Kontrollen an Tag 12 um 20% reduziert und um 14% zum Zeitpunkt vor dem Trauma. Die nicht Tinnitus-wahrnehmenden Tiere steigerten ihre Inhibition verglichen zum vortraumatischen Zustand, während die Tiere der Kontrollgruppen dies nicht taten. Bei den schallexponierten Knockout-Tieren lag keine Veränderung im Vergleich zu den Kontrollgruppen vor, die Inhibition nahm zwischen den Zeitpunkten bei den Tinnitus-wahrnehmenden ab und bei den nicht wahrnehmenden zu (Abb. 24, Mitte). Beim tieffrequenten Hintergrundrauschen gab es nach Klassifizierung keine wesentlichen Inhibitionsänderungen bei den schallexponierten Tieren (Abb. 24, unten).

Das Defizite in der Inhibition durch einen Hörverlust verursacht wurden ist unwahrscheinlich, da die Hörschwellen auf dem nichtexponierten Ohr bei den Frequenzen des Hintergrundrauschens nicht, bzw. nur unwesentlich verändert waren

## Ergebnisse

---

(Abb. 8, Mitte rechts). Sensomotorische Defizite aufgrund des Schalltraumas konnten ebenso ausgeschlossen werden, da die Inhibition beim Vorpulsparadigma keine Unterschiede zu den Kontrollgruppen zeigte (Abb. 24). Einige Gruppen zeigten an Tag 12 eine leichte Steigerung bei der Vorpulsinhibition verglichen zur ersten Messung, die eventuell auf einen Trainingseffekt zurückzuführen sein könnte.

Um zu überprüfen ob die schallexponierten Gruppen nach Klassifikation in Tinnituswahrnehmende und nicht wahrnehmende Tiere eine Reduktion der Inhibition bei der Lückendetektion nur zeigten, weil ein Hörverlust für das kontralaterale Ohr bei den entsprechenden Frequenzen des Hintergrundrauschens vorhanden war, wurden die Hörschwellen für die schallexponierten Untergruppen erneut getrennt verglichen. Die Auftrennung ergab keine Unterschiede für die Behandlungsgruppen im Hörvermögen des kontralateralen Ohrs (Abb. 25).

Um zu überprüfen, ob allgemeine Änderungen der 2-DG Aufnahme aufgrund der Lückendetektionsleistung vorhanden waren, wurde eine Einteilung der Wildtyp-Kontrollgruppe anhand des 4%-Kriteriums durchgeführt. Der Vergleich der Untergruppen zeigte eine Verringerung eines kleinen Areals im Lemniscus lateralis und einer kleinvolumigen Erhöhung im Cerebellum bei den Kontrolltieren mit reduzierter Inhibition (nicht gezeigt). Keines der beiden Areale überschneidete sich mit Regionen, die bei den Vergleichen der Tiere mit Tinnituswahrnehmung gefunden wurden. Daher kann man davon ausgehen, dass die Änderungen der 2-DG Aufnahme in den Tieren mit Tinnituswahrnehmung wahrscheinlich unabhängig von der allgemeinen Lückendetektionsleistung waren.

## Ergebnisse

Tab.3: Individuelle Auflistung der schallexponierten Mäuse nach Einteilung. Die Leistung bei markierten Frequenzparadigmen zeigten bei entsprechender Maus eine Reduktion des gap-PPI von mehr als 4% an Tag 12 im Vergleich zu Tag -2 auf. Bei grau markierten Mäusen gelang die 2-DG Bildgebung.

Genotyp	Maus	Gap-PPI BBN	Gap-PPI 6-9 kHz	Gap-PPI 11-22 kHz
Wildtyp	244		X	X
	224		X	
	325	X		
	341	X		
	373			X
	400			X
	457	X		
	485			X
	545			
	<b>542</b>			
	495	X	X	
	573			X
	563			X
	561			
	867			
	<b>866</b>			X
	<b>858</b>	X	X	X
	883			X
	882			
	902			
897	X	X	X	
Knockout	215			
	268			X
	308	X	X	X
	<b>310</b>	X	X	X
	367		X	
	<b>382</b>		X	X
	422			X
	472		X	X
	<b>615</b>			
	591	X		
	610	X		X



## Ergebnisse

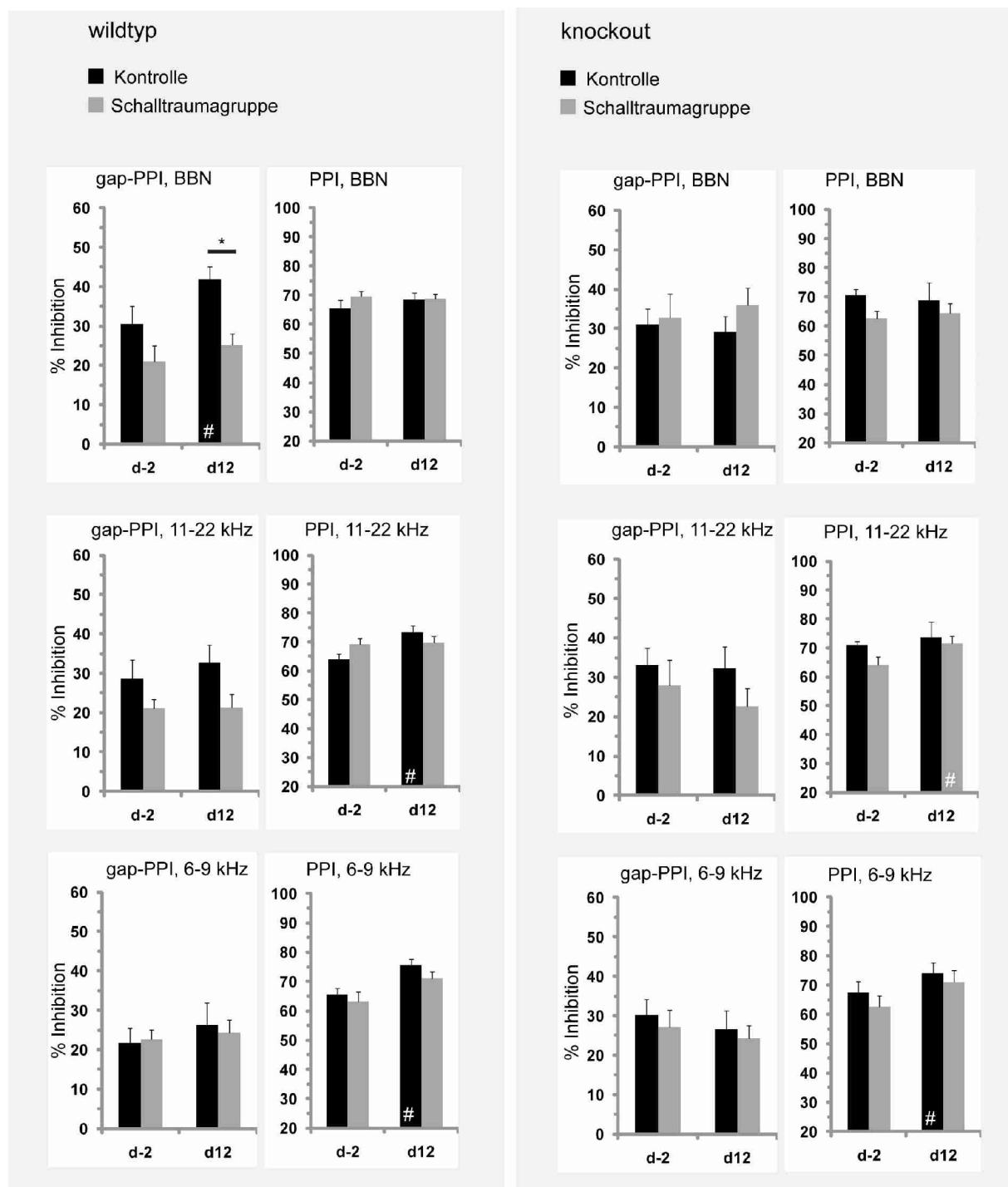


Abb. 23: Inhibition der Schreckreaktion bei den Wildtyp- (links) und Knockout Tieren (rechts) durch Lücke (gap-PPI) oder Vorpuls (PPI). Die drei Frequenzparadigmen (BBN, 6-9 kHz, 11-22 kHz) folgten nacheinander im Abstand von zwei Stunden. Nach acht Startlepulsen zur Stabilisierung der Reaktionsamplitude wurden 50 Pulse mit Hintergrundrauschen (gap-PPI, 25 mit Lücke) präsentiert, danach folgten 50 Pulse in Stille (PPI, 25 mit Vorpuls). Bei BBN Hintergrundrauschen war 12 Tage nach dem Schalltrauma bei den Wildtyp-Tieren eine Reduktion im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen vorhanden (d-2: zwei Tage vor Schalltrauma, d12: 12 Tage nach Schalltrauma, \*  $p < 0.05$ , # signifikant zu Zeitpunkt d-2).

## Ergebnisse

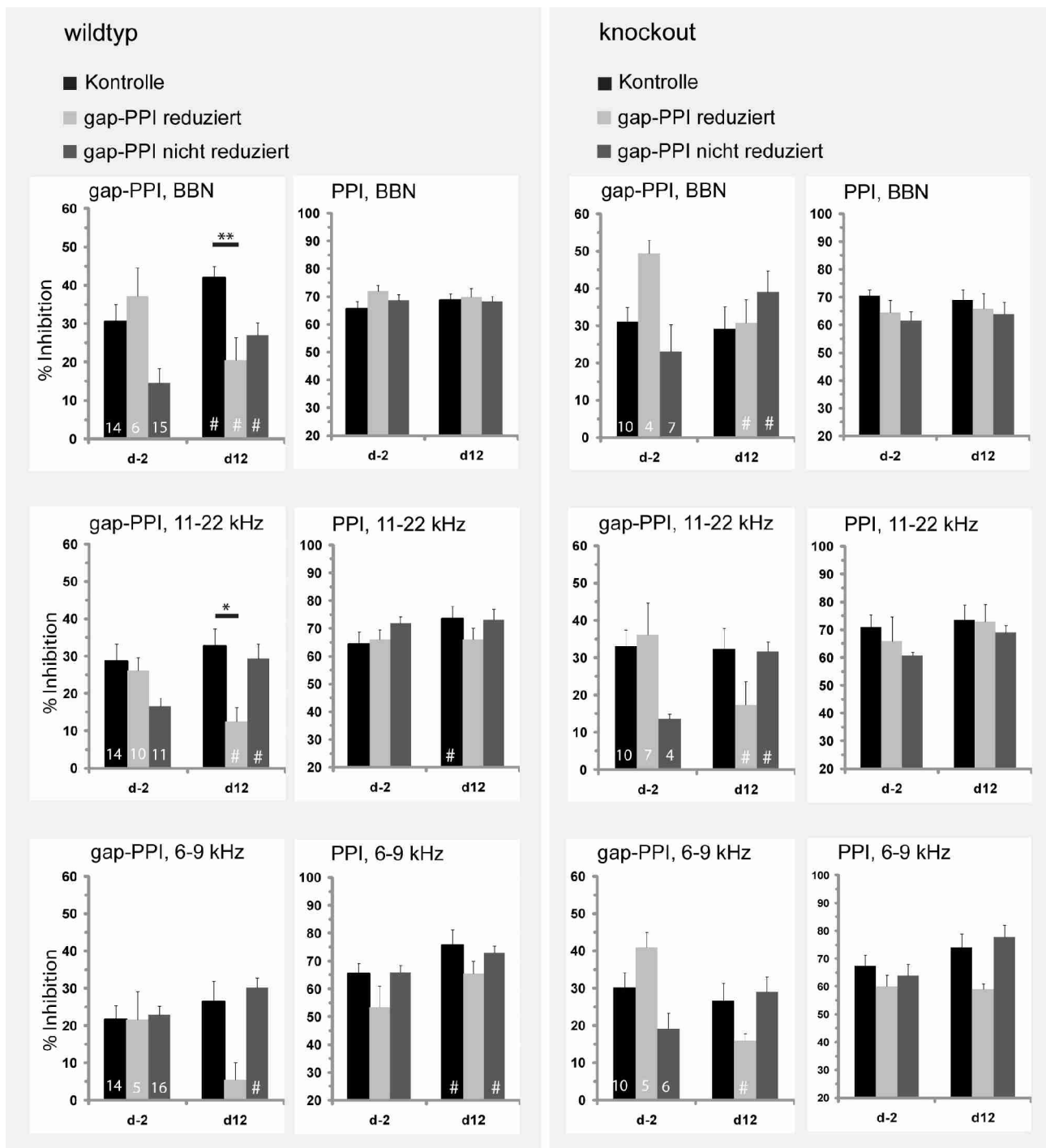


Abb. 24: Inhibition der Schreckreaktion bei den Wildtyp- (links) und Knockout Tieren (rechts) durch Lücke (gap-PPI) oder Vorpuls (PPI) nach Aufteilung der schallexponierten Gruppen. Tiere, deren Lückeninhibition um mehr als 4% am Tag 12 im Vergleich zu Tag -2 reduziert war (gap-PPI) wurden als Tinnitus wahrnehmend klassifiziert (hellgrau, d-2: zwei Tage vor Schalltrauma, d12: 12 Tage nach Schalltrauma, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , # signifikant zu Zeitpunkt d-2,  $p < 0.05$ ).

## Ergebnisse

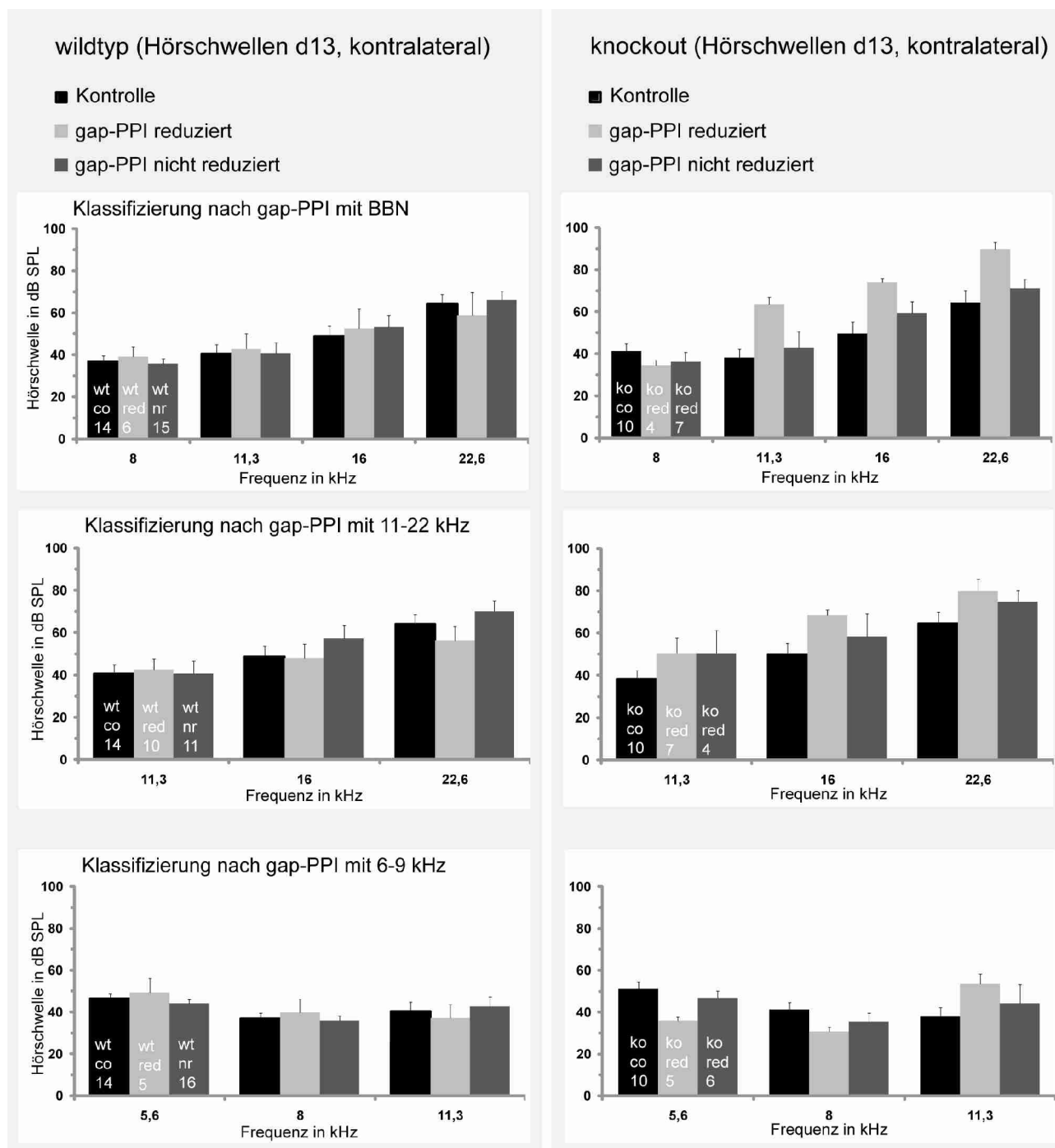


Abbildung 25: Die Hörschwellen der kontralateralen Seite nach Einteilung anhand des gap-PPI für die verschiedenen Frequenzbänder waren zwischen den Untergruppen gleich. Die Reduktion des gap-PPI an Tag 12 bei den Tinnitus-wahnehmenden Tieren resultierte deshalb nicht aus einem bilateralen Hörverlust. Die Tiere besaßen auf der kontralateralen Seite an Tag 12 ein unverändertes Hörvermögen und konnten deshalb die Lücke unverändert detektieren.

### **3.7 2-DG Bildgebung der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit Verhaltensanzeichen einer Tinnituswahrnehmung**

Aufgrund der Änderung des gap-PPI an Tag 12 wurden Tiere in Gruppen von Tieren mit und ohne Verhaltensanzeichen von Tinnitus eingeteilt. Daraufhin wurden Vergleiche des Glukosemetabolismus mit den resultierenden Wildtyp-Untergruppen durchgeführt, um die allgemeinen Effekte des Schalltraumas von den Tinnitus-spezifischen Auswirkungen unterscheiden zu können.

Betrachtet man die Gesamtgruppe der Tiere, die in einem der Frequenzparadigmen Anzeichen einer Tinnituswahrnehmung zeigte im Vergleich zu den Kontrolltieren, konnte eine Aktivitätsreduktion im kontralateralen AC und im kontralateralen Striatum an der Grenze zum lateralen Ventrikel beobachtet werden. In der ipsilateralen Amygdala fand sich ebenfalls eine Aktivitätssenkung (Abb. 26). Volumen mit signifikant erhöhter 2-DG Aufnahme waren bilateral im Gyrus cinguli (CG) lokalisiert, die kontralateral hineinreichten in sekundäre motorische Areale. Die Aktivität war außerdem im SC und dem Nucleus reticularis (TRN) kontralateral, und im Nucleus accumbens an der Grenze zum Striatum ipsilateral gesteigert (Abb. 27).

Da sich ein Tinnitus beim Menschen häufig in Frequenzbereichen an den Grenzen, bzw. im Frequenzbereich des maximalen Hörschadens entwickelt (König et al., 2006; Norena et al., 2002; Schaette et al., 2009) und meistens schmalbandig und tonal wahrgenommen wird, wurden in Abbildung 27-29 die Tiere mit einer Inhibitionssenkung beim 6-9 kHz und 11-22 kHz Band mit den Kontrollen verglichen. Das Aktivitätsmuster entsprach weitgehend dem der Gesamtgruppe. Es konnten aber noch zusätzliche Aktivitätssteigerungen und Abnahmen beobachtet werden. Während auf der kontralateralen Seite wieder eine Reduktion in A1 und AAF zu sehen war, wurde ipsilateral eine Aktivitätssteigerung im dorsalen AC an der Grenze zum somatosensorischen Kortex beobachtet. Neben der Aktivitätsabnahme in der Amygdala fanden sich bilateral noch Bereiche im olfaktorischen Bulbus mit ebenfalls reduzierter Aktivität (Abb. 28). Das Striatum zeigte ipsilateral eine Steigerung der Aktivierung und kontralateral eine Verringerung, mit deutlich ventromedialerer Sublokalisierung und kleinerem Volumen als die ipsilaterale Zunahme (Abb. 28, Abb. 30). Wie im letzten Vergleich fanden sich Steigerungen der 2-DG-Aufnahme bilateral im CG an der Grenze zu motorischen Bereichen, im SC und im ipsilateralen Nucleus

## **Ergebnisse**

---

accumbens, sowie im Thalamus (Abb. 29 und Abb. 30). Weiterhin waren bei diesem Vergleich Steigerungen in einem kleinen Volumen des kontralateralen Hippocampus zu finden.

Der Vergleich der Wildtyp-Tiere mit nicht reduzierter gap-PPI mit den Kontrollen bot Hinweise, wie sich das Schalltrauma ohne Tinnituswahrnehmung auf den Glukosemetabolismus des Maushirns auswirkte. Bei den Vergleichen der Tiere mit nicht reduzierter gap-PPI ist anzumerken, dass eine geringe Untergruppengröße vorhanden war. Es existierten nur 5 Tiere ohne Verhaltensanzeichen einer Tinnituswahrnehmung bei denen die 2-DG gelang. Beim Vergleich dieser Tiere mit der Kontrolle zeigte der ipsilaterale ventrale AC an der Grenze zum perirhinalen und Insula Kortex Aktivitätsabnahmen. Das Striatum war bilateral stärker aktiviert bei den schallexponierten Tieren, genauso wie Bereiche im ipsilateralen motorischen und somatosensorischen Kortex, sowie im kontralateralen OFC (Abb. 31). Die Änderungen waren, bis auf die Erhöhung im Striatum, unterschiedlich zum vorigen Vergleich, in dem Tinnitus-wahrnehmende Tiere mit den Kontrollen verglichen wurden.

Um die Tinnitus spezifischen Aktivitätsänderungen unabhängig vom Schalltrauma zu identifizieren, wurden die schallexponierten Wildtyp-Tiere mit reduzierter gap-PPI mit den Tieren verglichen, die keine Anzeichen einer Tinnituswahrnehmung zeigten (Abb. 32 und Abb. 33). Bei diesem Gruppenvergleich zeigten die Tiere mit Verhaltensanzeichen für Tinnitus eine Aktivitätsabnahme in den frontalen Bereichen. Im motorischen Kortex war die Aktivität bilateral und an der Grenze zum CG auch ipsilateral reduziert. Außerdem war im zentralen ipsilateralen Striatum ein größeres Volumen mit verringerter Aktivität vorhanden (Abb. 32). Im kontralateralen Nucleus cochlearis, ipsilateralen SC, ipsilateralen Globus pallidus und kontralateralen TRN war bei den potentiell Tinnitus-wahrnehmenden Tieren die 2-DG Aufnahme erhöht (Abb. 33).

## Ergebnisse

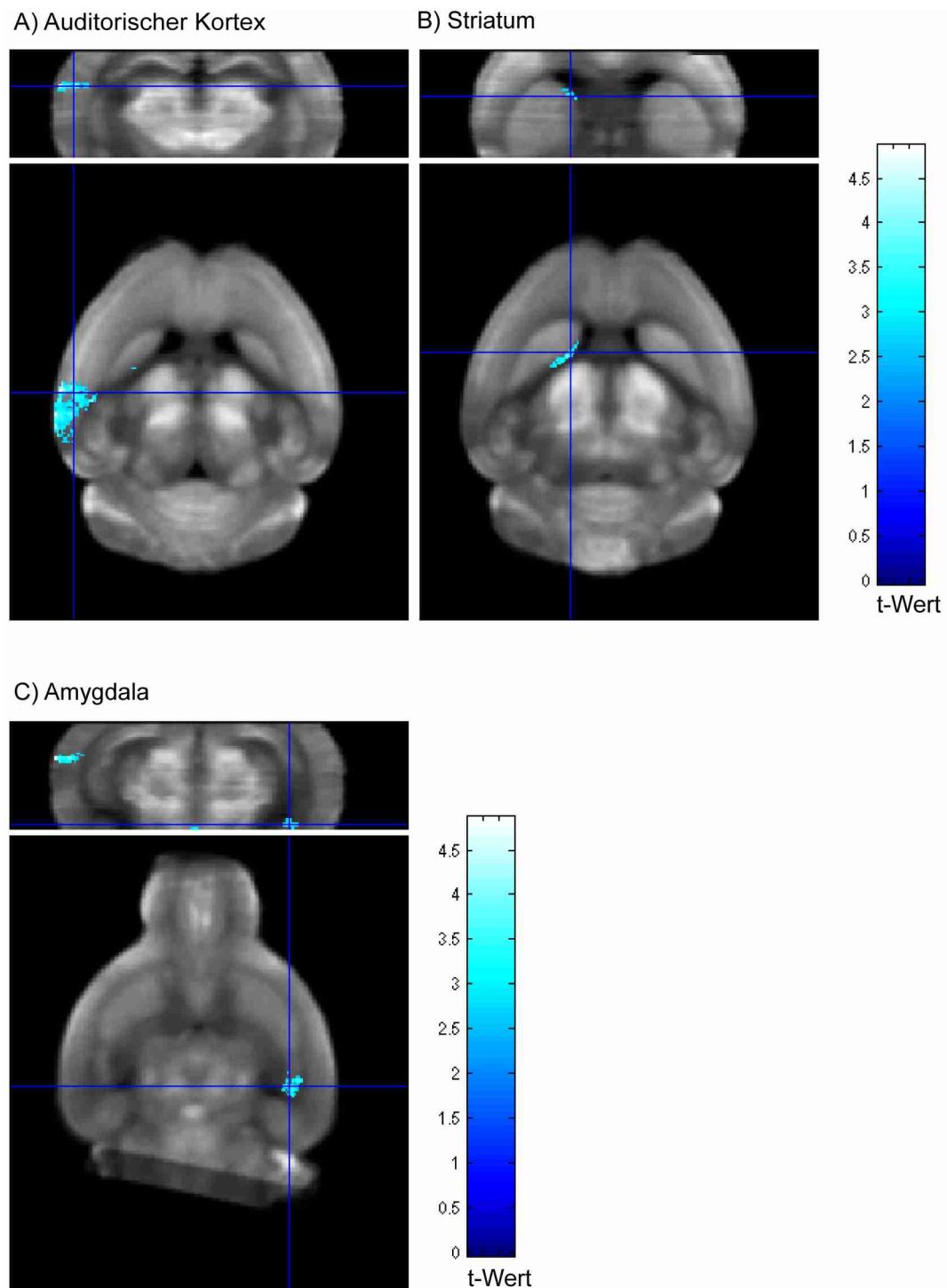


Abb. 26: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit reduziertem gap-PPI (n=12) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=13, alle Frequenzparadigma, blau: Abnahme), Abnahme im kontralateralen auditorischen Kortex (A), Abnahme am medialen Rand des Striatums (B), Abnahme in ipsilateraler Amygdala (C).

## Ergebnisse

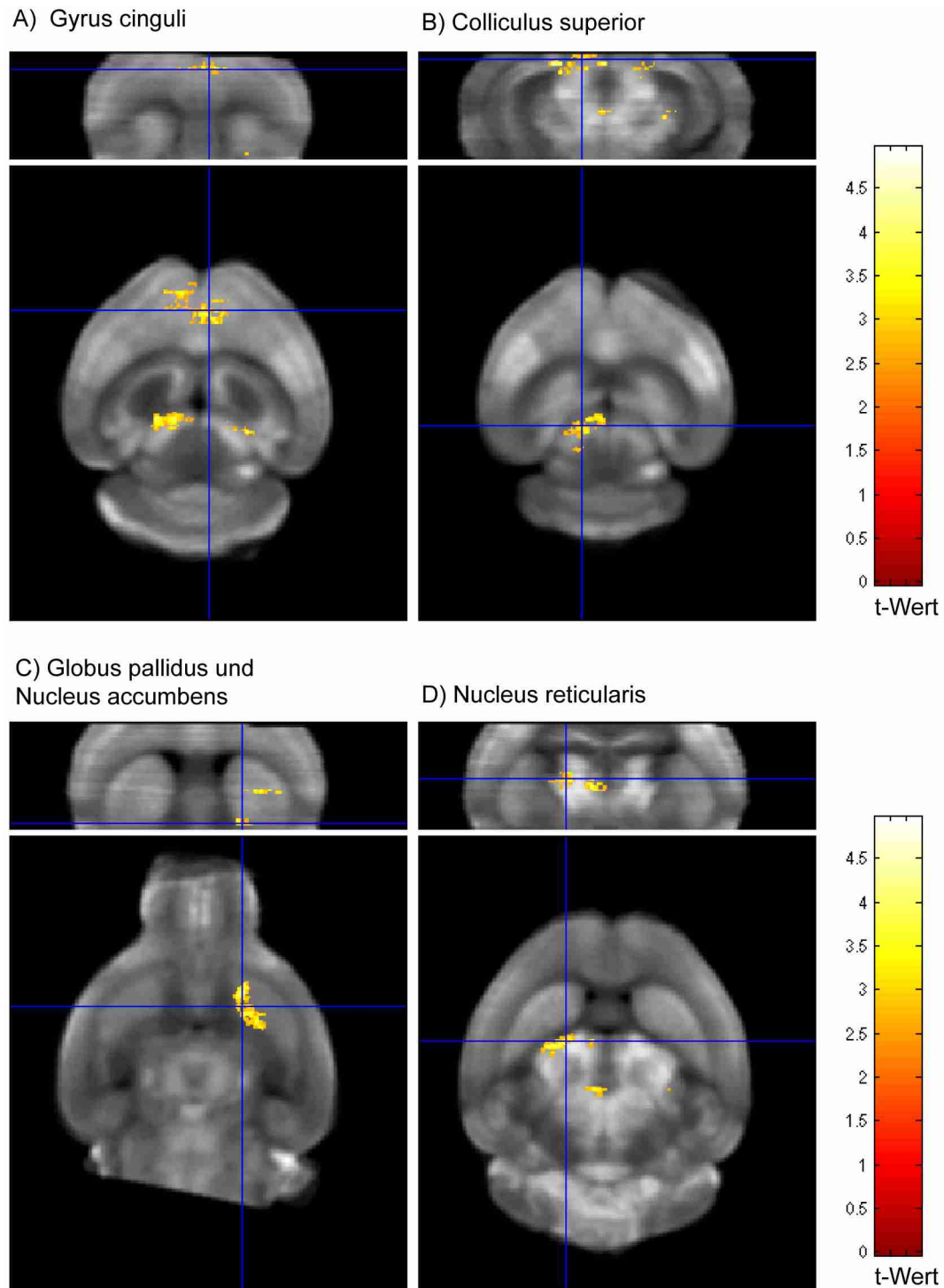


Abb. 27: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit reduziertem gap-PPI (n=12) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=13, alle Frequenzparadigma, rot: Zunahme), bilaterale Zunahme im Gyrus cinguli (A), Zunahme im kontralateralen Colliculus superior (B), Zunahme im ipsilateralen Globus pallidus und Nucleus accumbens (C), Zunahme in kontralateralen thalamischen Nucleus reticularis (D).

## Ergebnisse

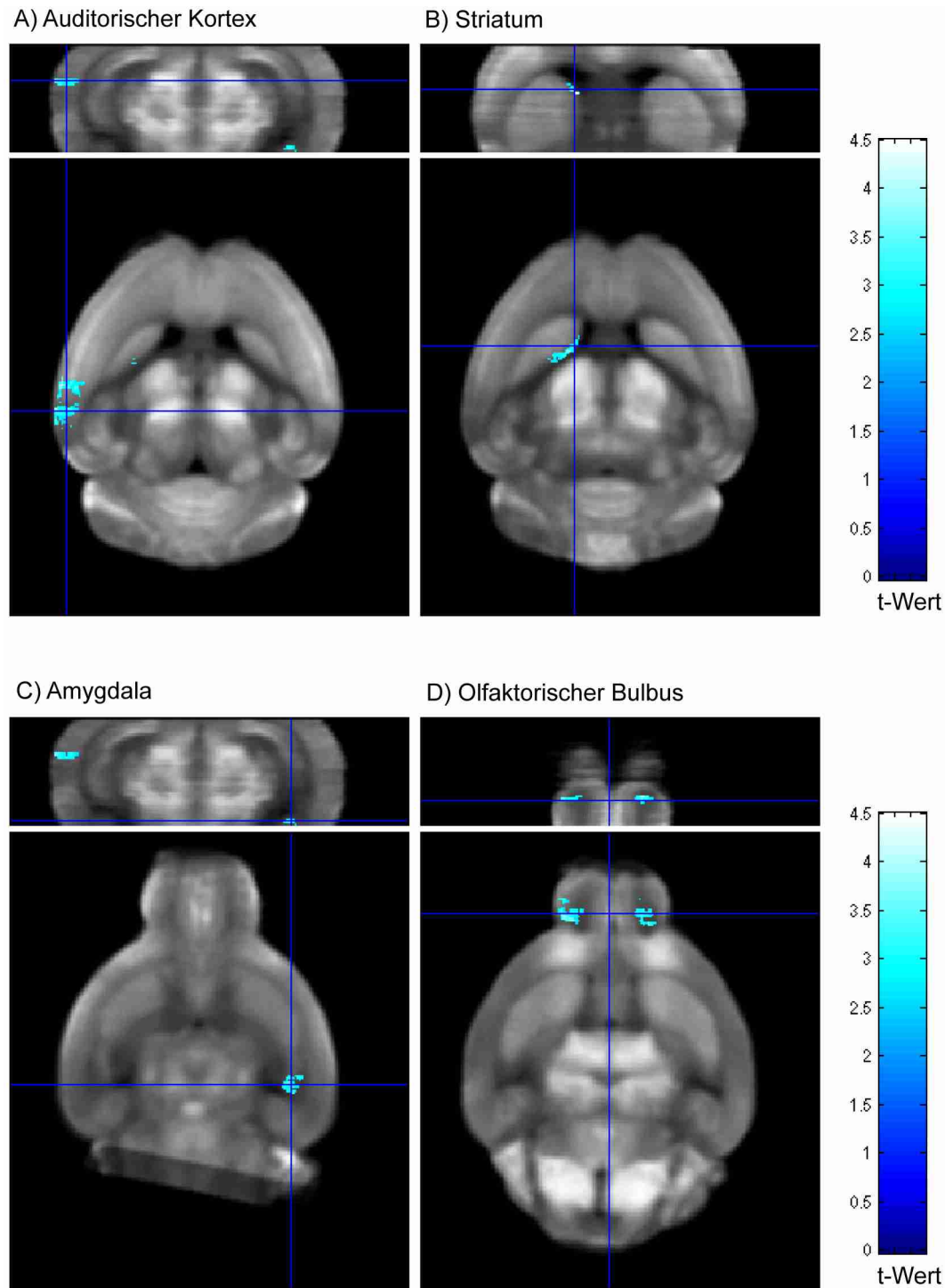


Abb. 28: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit reduzierter gap-PPI bei hoch- und tieffrequentem Hintergrundrauschen (n=9) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=13, blau: Abnahme), Abnahme im kontralateralen auditorischen Kortex (A), Abnahme am medialen Rand des kontralateralen Striatums (B), Abnahme in der ipsilateralen Amygdala (C), Abnahme im olfaktorischen Bulbus (D).



## Ergebnisse

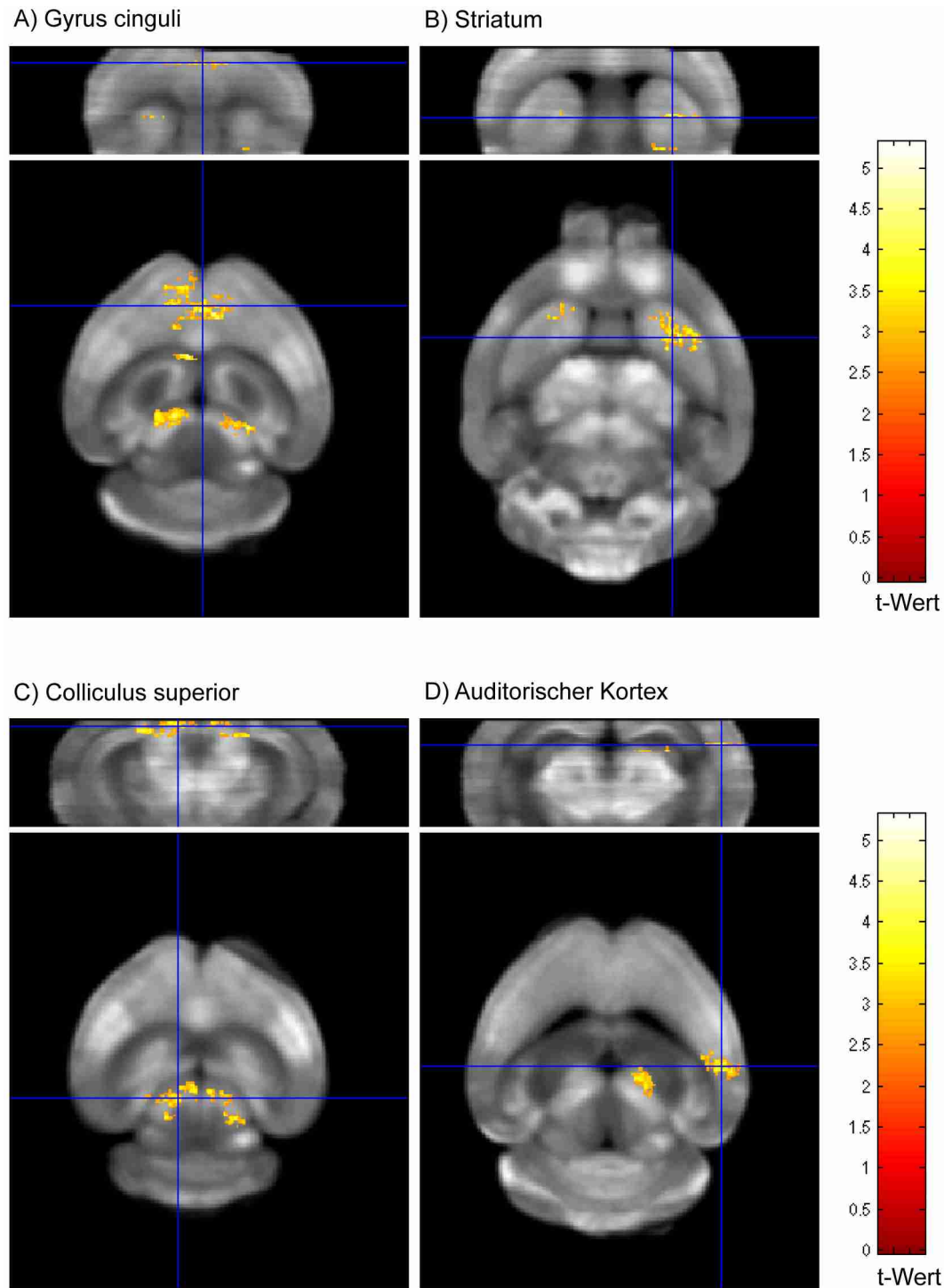


Abb. 29: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit reduzierter gap-PPI bei hoch- und tieffrequentem Hintergrundrauschen (n=9) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=13, rot: Zunahme), bilaterale Zunahme im Gyrus cinguli (A), bilaterale Zunahme im Striatum (B), bilaterale Zunahme im Colliculus superior (C), Zunahme im ipsilateralen dorsalen auditorischen Kortex (D).

## Ergebnisse

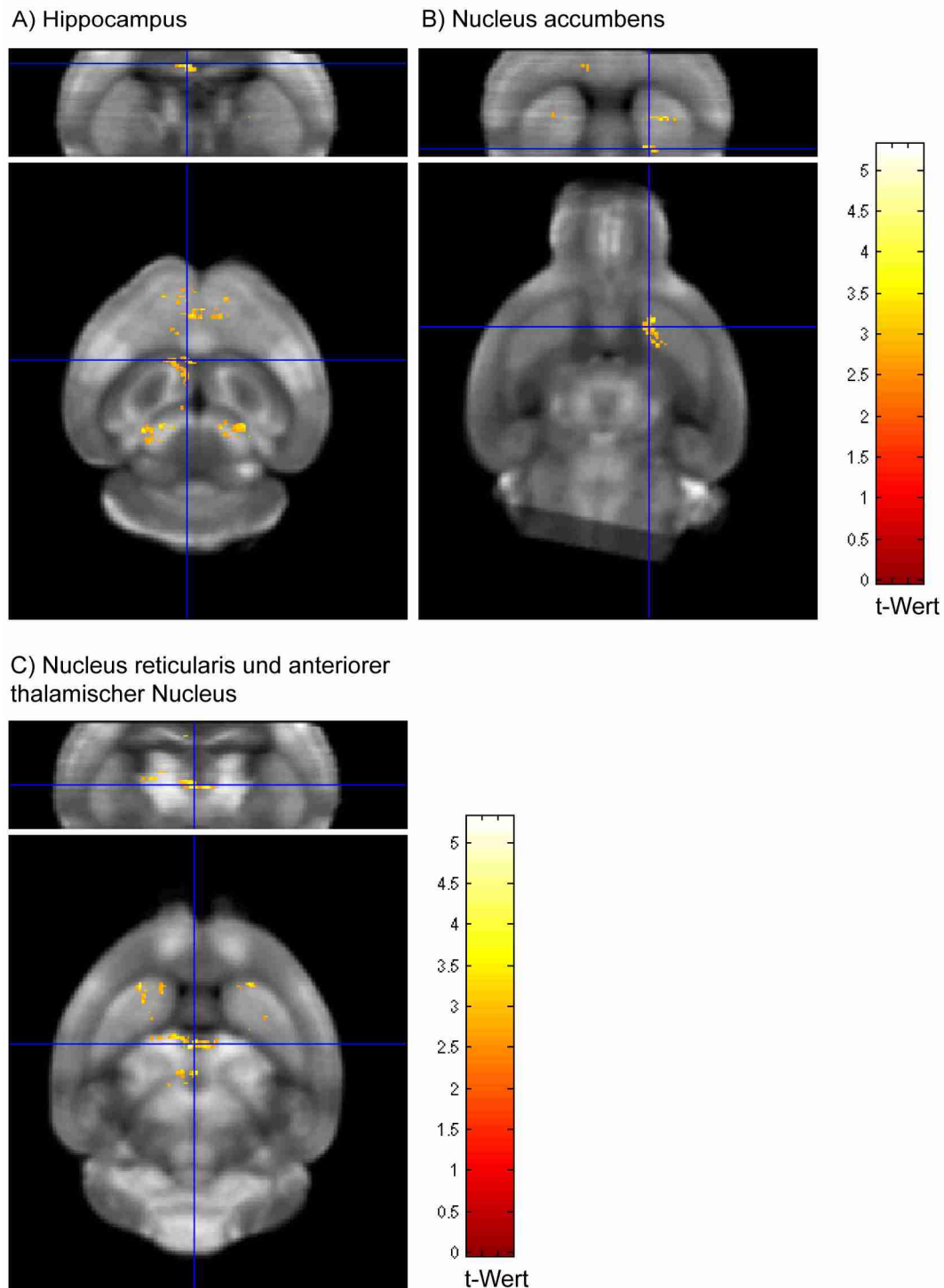


Abb. 30: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit reduzierter gap-PPI bei hoch- und tieffrequentem Hintergrundrauschen (n=9) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=13, rot: Zunahme), Zunahme im kontralateralen Hippocampus (A), Zunahme im ipsilateralen Nucleus accumbens (B), Zunahme in kontralateralen Nucleus reticularis und im anterodorsalen, anteroventralen und anteromedialen thalamischen Nucleus (C).

## Ergebnisse

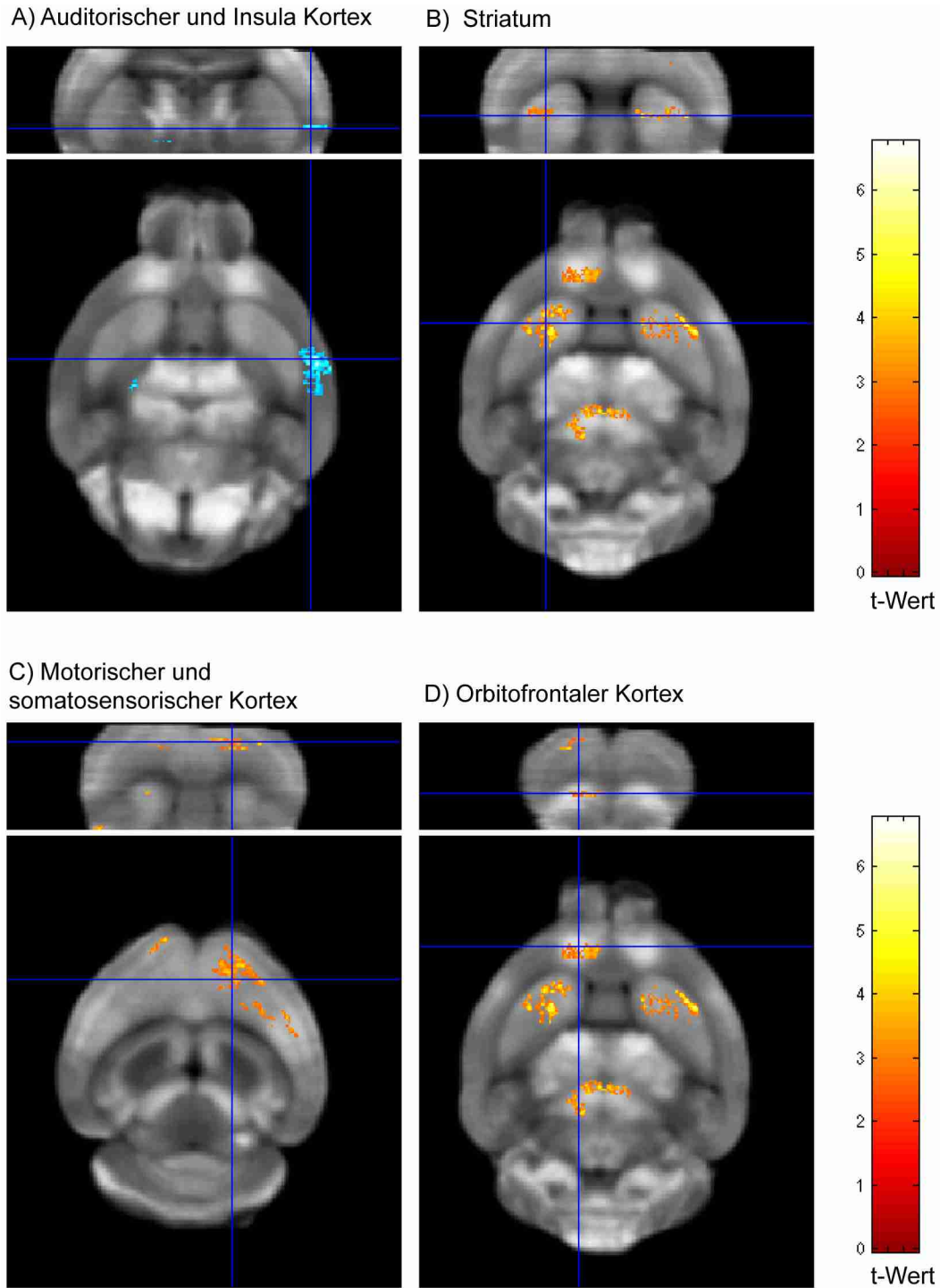


Abb. 31: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit nicht reduzierter gap-PPI (n=5) im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen (n=13, rot: Zunahme, blau: Abnahme), Abnahme im ipsilateralen auditorischen und Insula Kortex (A), bilaterale Zunahme im Striatum (B), Zunahme im ipsilateralen motorischen und somatosensorischen Kortex (C), Zunahme im kontralateralen orbitofrontalen Kortex (D).

## Ergebnisse

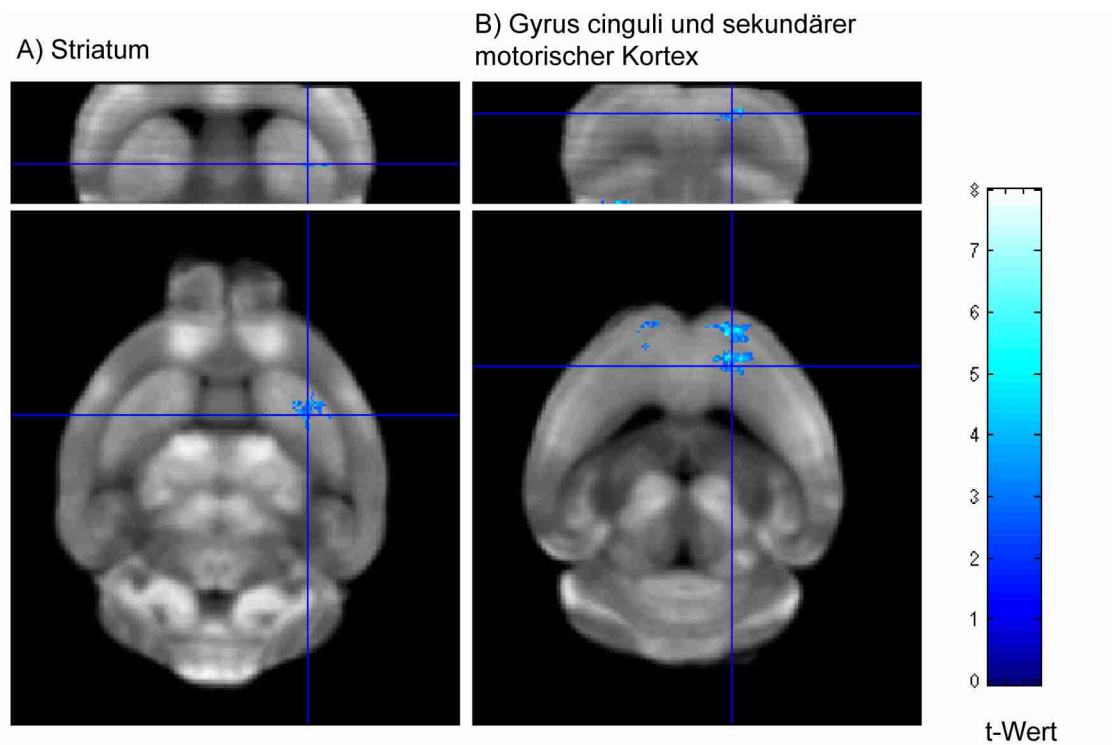


Abb. 32: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit reduzierter gap-PPI (n=12) im Vergleich zu den schallexponierten Wildtyp-Tieren mit nicht reduzierter gap-PPI (n=5, blau: Abnahme), Abnahme im ipsilateralen Striatum (A), Abnahme im ipsilateralen Gyrus cinguli und sekundären motorischen Kortex (B).

## Ergebnisse

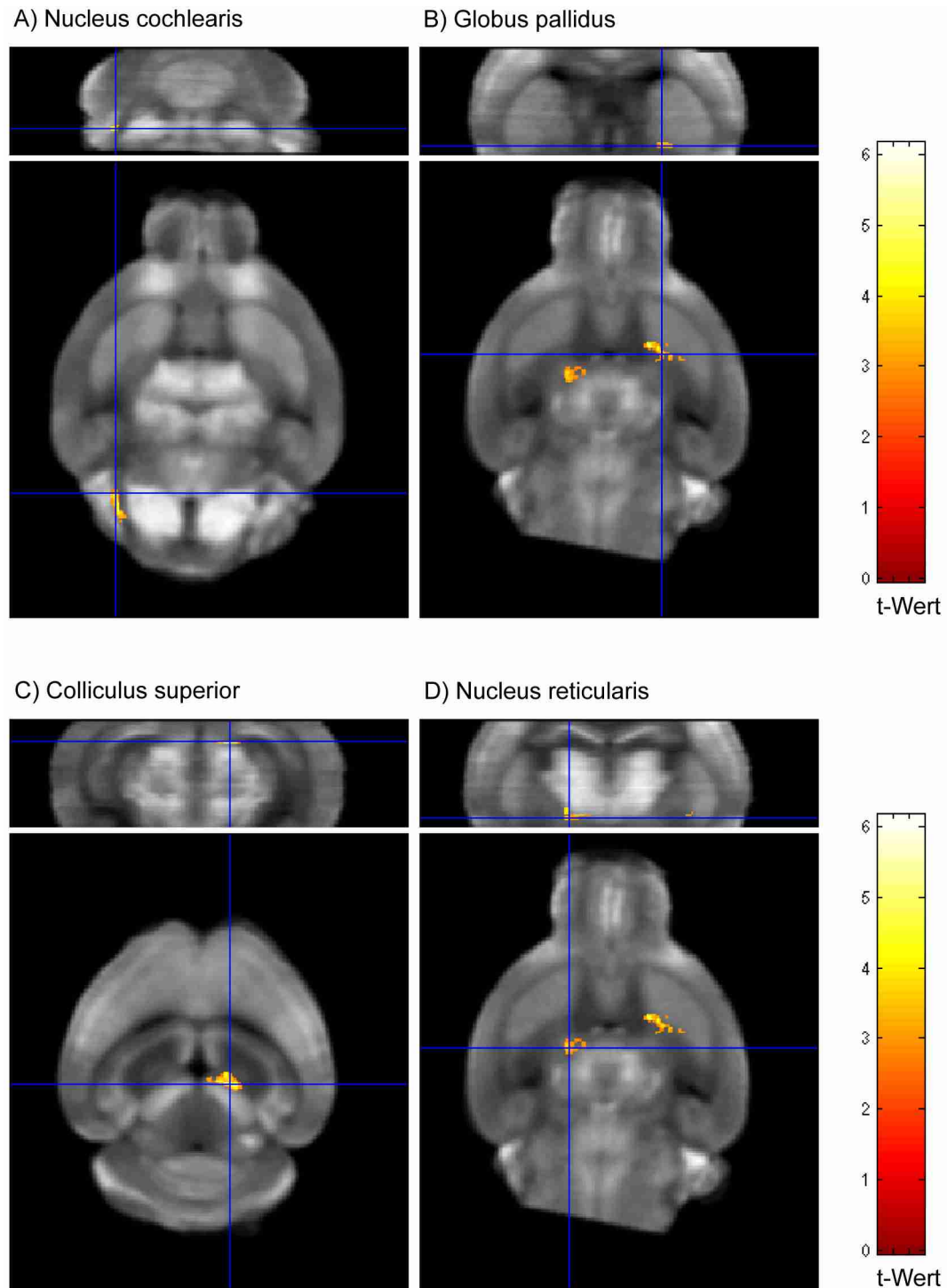


Abb. 33: Aktivitätsänderungen der schallexponierten Wildtyp-Tiere mit reduzierter gap-PPI (n=13) im Vergleich zu den schallexponierten Wildtyp-Tieren mit nicht reduzierter gap-PPI (n=5, rot: Zunahme), Zunahme im kontralateralen Nucleus cochlearis (A), Zunahme im ipsilateralen Globus pallidus (B), Zunahme im ipsilateralen Colliculus superior (C), Zunahme im kontralateralen thalamischen Nucleus reticularis (D).

### 3.8 Soziale Interaktion

Der Versuch zur sozialen Interaktion wurde durchgeführt, um eine mögliche Leidenserfahrung der Tiere mit Verhaltensanzeichen einer Tinnituswahrnehmung aufzudecken. Dazu wurden die Tiere vor und nach Schallexposition in einer zehnminütigen Testphase in einer Arena mit drei Kammern getestet. In eine der seitlichen Kammern befand sich ein fremder Interaktionspartner, eingeschlossen in einem Gitterkäfig. Detektiert wurden die Laufdistanz als Indikator für die allgemeine Aktivität und die Aufenthaltszeit in den einzelnen Kammern, sowie die Zeit in direkter Umgebung zum Interaktionspartner. Falls eine mögliche Leidenserfahrung bestehen sollte, wurde ursprünglich angenommen, dass sich sowohl Laufdistanz, als auch Interaktionszeit mit der Partnermaus im Gitterkäfig verringert.

Sowohl zwei Tage vor, als auch zwölf Tage nach Schalltrauma verbrachten die Tiere aller Gruppen mehr Zeit in der Kammer mit dem sozialen Interaktionspartner als in der gegenüberliegenden, leeren Kammer (Gruppenzusammenlegung, t-test  $p < 0.05$ , auch Einzelgruppen, nicht gezeigt). In der mittleren Startkammer wurde weniger Zeit verbracht als in der leeren Kammer ohne Interaktionspartner. Der Grund dafür könnte die Habituationsphase vor Beginn des Experiments in der mittleren Kammer sein. Der Vergleich zwischen den Gruppen zeigt, dass die Laufdistanz für alle Gruppen bis auf die Knockout-Kontrolle von Tag -2 zu Tag 12 zunahm. Die Knockout-Kontrollen hingegen verbrachten bei der Wiederholung an Tag 12 weniger Zeit in der Kammer mit neuem Interaktionspartner als bei der Referenzmessung an Tag -2. Die Gruppen-interne Reduktion betraf aber nicht die Zeit des Aufenthalts im näheren Bereich um den Interaktionspartner herum (Abb 33, A). Zwischen den Behandlungsgruppen und Genotypen gab es sowohl vor, als auch nach dem Schalltrauma keine Unterschiede bei sozialer Interaktion und Laufdistanz.

Anders als in der audiometrischen Analyse nach Klassifikation anhand des gap-PPI wurden bei den Versuchen zur sozialen Interaktion alle Untergruppen zusammengefasst. Alle Tiere mit mindestens einer Reduktion bei einem Frequenzband wurden als Tinnitus wahrnehmend eingeteilt (Abb. 34, B, C). Nach Einteilung zeigten auch die schallexponierten Untergruppen eine Steigerung der Laufdistanz am Tag 12 (Abb. 34, B). Die Gruppengröße der schallexponierten Knockout-Tiere ohne Verhaltensanzeichen von Tinnitus war mit zwei Tieren

## **Ergebnisse**

---

vernachlässigbar. Ebenso wenig wie vor Klassifikation zeigte sich kein Unterschied in der Dauer der sozialen Interaktionsparameter zwischen den Untergruppen.

Die allgemeine Aktivität und potentielle Leidensempfindung, die mit der Laufdistanz und der Dauer der sozialen Interaktion gemessen werden sollte, zeigten somit in diesem Versuchsaufbau keine Veränderung durch die Schallexposition zwei Wochen zuvor. Auch eine mögliche Tinnituswahrnehmung schien keinen Einfluss auf die soziale Interaktion und Aktivität zu haben.

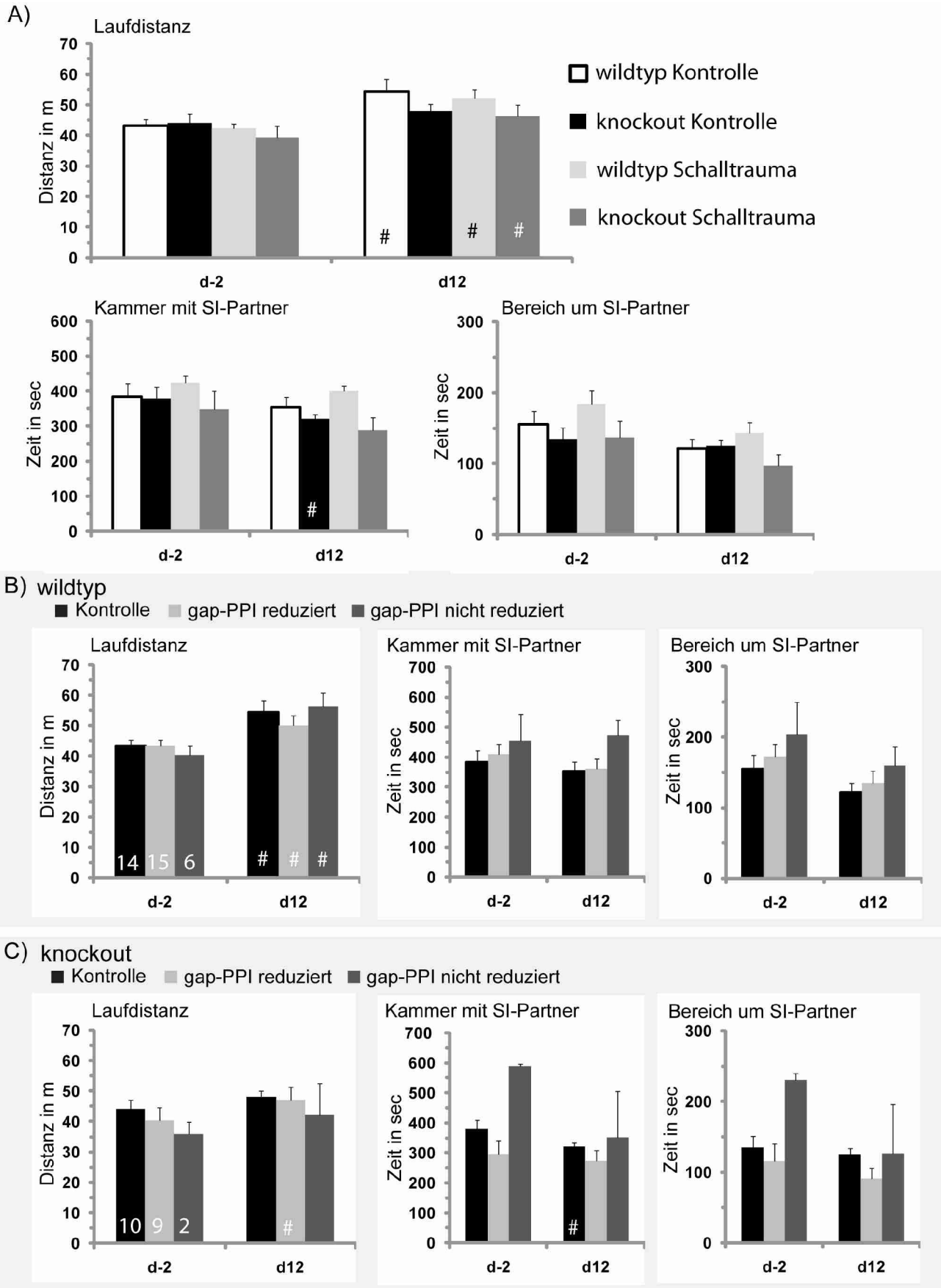


Abbildung 34: Laufdistanz, Zeit in Kammer mit Interaktionspartner und im Bereich 2 cm vom Interaktionspartner entfernt im Gruppenvergleich (A) und nach Klassifikation anhand der Reduktion beim gap-PPI für die schallexponierten Wildtyp- (B) und Knockout Tiere (C). Es waren keine Unterschiede der Gruppen und Untergruppen im Vergleich zu den Kontrollen vorhanden. (# Veränderung zu Tag-2). In den Balken steht die Tierzahl.



### 3.9 Interregionale und multimodale Korrelationsanalyse

Die Korrelationsanalyse wurde durchgeführt um funktionelle Interaktionen nach dem Schalltrauma im verteilten Netzwerk bei den Wildtyp-Tieren darzustellen. Im Gegensatz zur voxelbasierten SPM-Analyse basiert die Korrelationsanalyse auf den Gesamtaktivitätswerten der Regionen, die in der SPM-Analyse als unterschiedlich erkannt wurden.

Der Weg der Gesamtregionenanalyse wurde gewählt, weil eine Korrelationsanalyse basierend auf den SPM-Clusterwerten einen Gruppenvergleich unmöglich machte, hauptsächlich aufgrund unterschiedlicher Clusterpositionen und dem Fehlen von signifikanten Clustern in vielen Vergleichen. Da die Daten der ROI-Analyse aber isoliert und alleinig für die Korrelationsanalyse benutzt wurden, erfolgte die Bestimmung der Aktivitätswerte basierend auf dem Gesamtstrukturvolumen nach Paxinos (Paxinos und Franklin, 2004). Alle gezeigten interregionalen Korrelationskoeffizienten waren  $> 0,8$  ( $p < 0,05$ ). Die Korrelationen zwischen 2-DG Aktivitätswerten und den Verhaltensparametern besaßen alle einen Korrelationskoeffizienten  $> 0,7$  ( $p < 0,01$ , Abb. 35). Nur die Korrelationen, die signifikante Unterschiede zu anderen Gruppen aufwiesen werden im Folgenden besprochen, da diese sich zwischen den Gruppen am stärksten unterscheiden und meist eine entgegengesetzte Richtung besaßen.

Die Kontrollgruppen (Abb. 35 A, C) zeigten positive Korrelationen innerhalb des auditorischen Systems, die in der chronischen Kontrollgruppe auch interhemisphärisch zwischen Mittelhirn, Thalamus und AC auftraten. In der akuten Kontrollgruppe waren auditorische Mittelhirn- und Thalamuskern mit der Insula negativ korreliert. Nach zwei Stunden erschienen deutlich weniger Korrelationen in der Kontrollgruppe verglichen mit den Kontrollen nach zwei Wochen. Viele der in der Gesamtgruppe vorhandenen Korrelationen wurden durch das konservative Iterationsausschlußverfahren eliminiert. Dies lag daran, dass in der chronischen Kontrollgruppe fast doppelt so viele Tiere vorhanden waren wie in der akuten Kontrollgruppe. Vor dem Ausschlußverfahren waren die Koeffizienten jedoch ähnlich hoch, wie in der Kontrollgruppe nach zwei Wochen. Signifikante Unterschiede zwischen den Kontrollgruppen beider Zeitpunkte waren deshalb nicht vorhanden. Es wurde trotzdem darauf verzichtet, die beiden Kontrollgruppen zusammenzulegen, da

## **Ergebnisse**

---

die experimentelle Prozedur zu unterschiedlich war und die Gruppengrößen im Vergleich zu den korrespondierenden schallexponierten Gruppen ohne Zusammenlegung ähnlicher waren.

Die akute Schallexposition hatte auf das Korrelationssmuster im Vergleich zur entsprechenden Kontrollgruppe zur Folge, dass der CG bilateral und der ipsilaterale OFC mit dem kontralateralen ENT positiv korrelierte, während der kontralaterale CN eine negative Korrelation zum ENT entwickelt hatte (Abb. 35, B). Außerdem korrelierte der kontralaterale OFC nach der Schallexposition mit dem Striatum. Zwei Wochen nach Schalltrauma entwickelten sich die meisten der zu den Kontrollen unterschiedlichen Korrelationen im akuten Zustand wieder zurück (Abb. 35, D). Der kontralaterale ENT verlor seine hochkorrelierte zentrale Stellung und war bei den schallexponierten Tieren nach zwei Wochen unkorreliert mit den präfrontalen und frontalen Regionen. Der kontralaterale CN korrelierte nun ebenfalls nicht mehr mit dem ENT. Im auditorischen System verschwand die interhemisphärische Korrelation zwischen dem kontralateralen IC und ipsilateralen MGB. Außerdem war das ipsilaterale primäre auditorische Feld (A1), anstatt negativ, nach zwei Wochen positiv mit dem ipsilateralen IC korreliert (Abb. 35, B). Im chronischen Zustand nach Schalltrauma war im Vergleich zu der Kontrollgruppe der kontralaterale AC positiv mit der Insula korreliert. Jegliche positive interhemisphärische Korrelationen im auditorischen System, wie sie die entsprechende Kontrollgruppe aufwies, war zwei Wochen nach Schalltrauma verschwunden. Dieser Wegfall korrelierter Aktivität fand sich auch bei der Untergruppe, die an Tag 12 eine Reduktion der Inhibition bei einer Lücke im hoch- und tieffrequentem Hintergrundrauschen zeigte (Abb. 35, A, C). Zusätzlich formierte sich im Vergleich zur Kontrolle eine Abhängigkeit zwischen dem ipsilateralen CN und dem kontralateralen OFC einerseits und dem ipsilateralen oberen auditorischem System mit dem ipsilateralen OFC andererseits, während die Hemisphären des OFC nicht mehr positiv korrelierten.

Bei den Kontrolltieren sank in beiden Hemisphären des auditorischen Systems mit höherer Aktivität die Hörschwelle bei Frequenzen von 11-32 kHz auf beiden Ohren (Abb. 35, C). Zwei Wochen nach Schallexposition bestand die Korrelation nur noch für den IC und den MGB der rechten Hemisphäre, während im linken, kontralateralen AC und MGB ein Unterschied der Korrelationskoeffizienten zu den Kontrollen

## **Ergebnisse**

---

existierte. In der schallexponierten Gruppe im chronischen Zustand war die Höhe der Differenz der Inhibition von Tag-2 zu Tag 12 bei hochfrequenten Hintergrundrauschen positiv mit der 2-DG Aufnahme im ipsilateralen CN korreliert und die Untergruppe schallexponierter Tiere mit reduzierter gap-PPI zeigte eine positive Korrelation mit dem ipsilateralen CG.

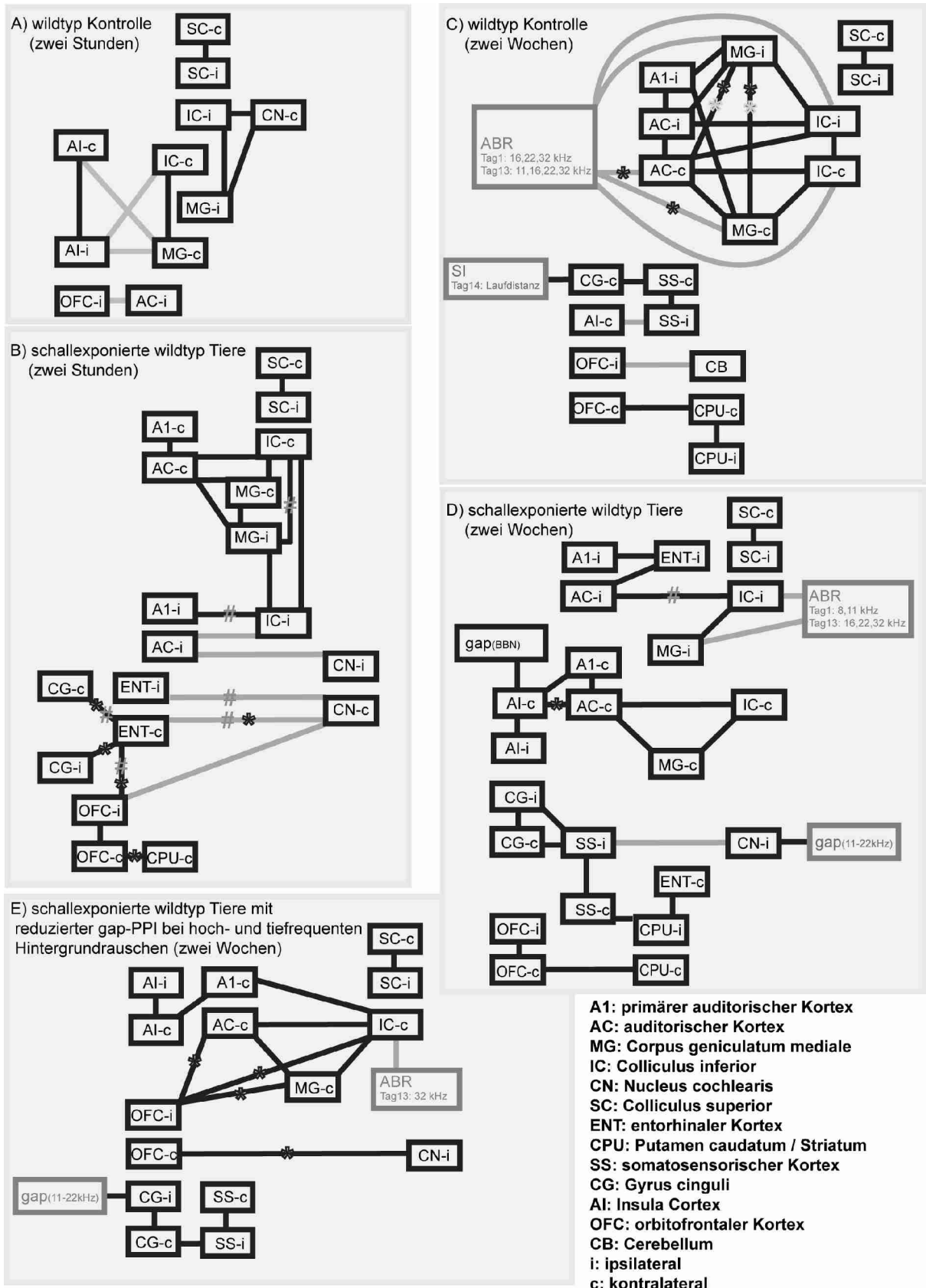


Abb. 35: Korrelationen der ROI und Verhaltensdaten. Gezeigt sind positive und negative, interregionale (Pearson,  $p < 0.05$  mit Ausschlussiteration) und multimodale (Spearman,  $p < 0.01$ ) Korrelationen. Die Korrelationsmuster unterscheiden sich im auditorischen und limbischen System. Gruppenvergleich ( $p < 0.05$ ): \* Kontrolle gegen schallexponierte Tiere, \* Kontrolle gegen gap-reduzierte Tiere, # schallexponierte Tiere 2 Stunden gegen 2 Wochen nach Trauma.

### Diskussion

Bis heute existieren keine zuverlässigen Behandlungsmethoden gegen subjektiven Tinnitus, obwohl viele Patienten erheblich unter ihrem Tinnitus leiden und folglich in den letzten zwei Jahrzehnten intensiv an Pathogenese und Therapien geforscht wurde. Nach wie vor bestehen viele Unklarheiten und Kontroversen über den Entstehungsmechanismus und die pathophysiologischen Korrelate der Phantomwahrnehmung. Tiermodelle können dazu beitragen die neurophysiologischen Ursachen einer Tinnituswahrnehmung besser zu verstehen und gleichzeitig Modelle für die Entwicklung potentieller Therapien bereitstellen. In der vorliegenden Arbeit wurde die 2-Desoxyglukose (2-DG) Methode verwendet um ein Tinnitus-spezifisches Aktivitätsmuster im Gehirn von Mäusen zu identifizieren. Zur experimentellen Tinnitusinduktion wurde ein Schalltrauma verwendet und der verursachte Hörverlust wurde mittels der Ableitung akustisch evozierter Hirnstammpotentiale bestimmt. Der Nachweis einer subjektiven Geräuschwahrnehmung in einer Untergruppe der schallexponierten Tiere wurde über ein Verhaltensparadigma, die sogenannte Lückendetektion, erbracht. Da viele Tinnituspatienten sehr unter den Phantomgeräuschen leiden und aktuell häufig diskutiert wird, ob die Tinnitus-spezifische Leidenserfahrung auch im Tiermodell zum Ausdruck kommt, wurden Untersuchungen zur sozialen Interaktion durchgeführt. Weiterhin war das Ziel den Einfluß plastischer Veränderungen auf die Tinnitusgenese über die Verwendung einer transgenen Knockout-Mauslinie zu untersuchen, in der ein wichtiges plastizitätsrelevantes Gen, *arg3.1* postnatal deletiert ist.

In der Diskussion wird zunächst die 2-DG Methode im Bezug auf Tiermodelle zur Tinnituserstehung diskutiert. Danach werden die Daten zur Hirnstammaudiometrie nach Schalltrauma besprochen. Da es bei der Glukoseaufnahme große Unterschiede zwischen den Genotypen gab, werden die Ergebnisse der *Arg3.1*-Knockout-Mäuse in einem separaten Kapitel betrachtet. Im Anschluss erfolgt die Diskussion der Aktivitätsmuster nach Schalltrauma generell, die Verhaltensuntersuchungen, Lückendetektion und soziale Interaktion, sowie die Diskussion der Tinnitus-spezifischen Aktivierungsmuster. Da immer klarer wird, dass die Tinnitusaktivität nicht in einer einzelnen Hirnregion entsteht, sondern ein

## Diskussion

---

Netzwerk aus auditorischen und limbischen Regionen für die Geräuschwahrnehmung verantwortlich ist wird diesem Aspekt ein eigenes Kapitel gewidmet, welches die vorliegenden Daten bezüglich der Übertragbarkeit zu Tinnituspatienten darstellt.

### 4.1 Methodendiskussion: 2-DG Bildgebung

Die in dieser Arbeit verwendete 2-DG Methode ermöglichte eine quantitative Messung des Glukosemetabolismus. Im Gehirn akkumuliert die 2-Desoxyglukose (2-DG) hauptsächlich in glutamatergen Synapsen und Gliazellen (Kai Kai und Pentreath, 1981; Nehlig et al., 2004), wo ihre Aktivität autoradiografisch in Hirnschnitten bestimmt werden kann. Insbesondere wurde die Methode häufig zur Untersuchung des auditorischen Systems verwendet, da sich in vielen Kernen nach einer Stimulation mit Reintönen eine tonotop organisierte Akkumulation nachweisen lässt (u.a. Imig und Durham, 2005; Martin et al., 1988; Ryan et al., 1988; Ryan und Woolf, 1988; Scheich et al., 1993; Servièrè et al., 1984; Webster und Martin, 1991). Obwohl es sich bei der 2-DG Methode um eine vergleichsweise alte Methode handelt, besitzt diese gegenüber modernen Bildgebungsmethoden wie der Positronenemissionstomographie (PET) und der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) einige für die Tinnitustiermodellforschung entscheidende Vorteile.

1. Die Tiere müssen während der Messphase nicht narkotisiert werden, weshalb Aufmerksamkeitsaspekte der Tinnituswahrnehmung im 2-DG Aktivitätsmuster abgebildet werden können, die sonst eventuell weggefallen wären.
2. Die Aufnahme der 2-DG in die Neuronen und Gliazellen ist akkumulativ. Dies begünstigt die Darstellung anhaltender Aktivierungsmuster, wie sie bei einem anhaltenden Tinnitus erwartet würden. Kurzfristige Aktivitätsänderungen sollten weniger dargestellt werden. Im Vergleich mit humaner Tinnitusbildung entspräche dies einer *steady state* Situation in der die Grundaktivität gemessen wird.
3. Die 2-DG Methode besitzt in Kombination mit der voxelbasierten Analyse den Vorteil der hohen Auflösung, der bei der Größe des Mausgehirns deutlich zu Tage tritt. Die maximale Auflösung liegt etwa im Bereich von 30  $\mu\text{m}$ , während

## Diskussion

---

herkömmliche PET/Computertomographie-Kombinationsscanner nur Auflösungen bis zu 6/3 mm (FWHM) ermöglichen und microPET Geräte für Kleintiere nur bis zu 1,2 mm (FWHM) auflösen. Ähnliche Auflösungen werden nur mit MEMRI (*Manganese-enhanced* MRT) erreicht, das Kalzium-abhängige Aktivitätsänderungen abbildet.

Während die 2-DG Methode, genauso wie MRT und PET, direkt mit dem zellulären Metabolismus in Beziehung steht und deshalb indirekt neuronale Aktivität ausdrückt, ist sie nur sehr begrenzt aussagekräftig was die Einzelzell- und Netzwerkaktivität, sowie die Synchronisation zwischen Neuronengruppen angeht. Multiple Zelltypen steuern ihren Beitrag zum metabolischen Signal bei und verschiedene Subpopulationen aus unterschiedlichen Zelltypen können zu demselben beobachtbaren Signal führen. Die Methode erlaubt somit z.B. keine Abschätzung über das Zusammenspiel zwischen Exzitation und Inhibition.

### 4.2 Schallinduzierter Hörschaden

Die Ergebnisse der Hirnstammaudiometrie zur Ermittlung des Hörschadens zeigten deutlich, dass sowohl ein starker akuter, als auch ein etwas schwächerer, permanenter Hörverlust durch das unilaterale Schalltrauma auf dem exponierten Ohr induziert wurde. Zumindest bei den schallexponierten Wildtyp-Tieren war eine Regeneration der Hörschwellenverschiebung über den elftägigen experimentellen Zeitraum vorhanden. Die Knockout-Tiere zeigten hingegen eine deutlich geringere Regeneration, was auch damit zusammenhängen könnte, dass der akute Hörschwellenanstieg etwas geringer ausfiel als bei den schallexponierten Wildtyp-Tieren (Abb. 7 und 8).

Mäuse des Stamms C57BL/6, die in dieser Studie verwendet wurden, besitzen das *Ahl* Gen, welches einen fortschreitenden Hörverlust hoher Frequenzen mit zunehmendem Alter initiiert (Harding et al., 2005; Hultcrantz und Li, 1993; Spongr et al., 1997; Willott et al., 1991). Der Hörverlust setzt im Alter von 3 Monaten ein, aber erst nach 6 Monaten ist ein größerer hochfrequenter Schwellenanstieg von 20-30 dB vorhanden. Das Alter der Mäuse betrug in der vorliegenden Arbeit generell 2-4 Monate, weshalb eine mögliche Spezies-bedingte Beeinträchtigung durch

## Diskussion

---

Presbycusis vernachlässigbar ist. Im Vergleich zu Mäusen des CBA-Stamms hat eine schädigende Schallexposition bei C57BL/6 Mäusen einen höheren Hörverlust zu Folge (Li, 1992).

Ursachen für einen temporären Hörschwellenanstieg nach dem Schalltrauma können reversible Prozesse innerhalb der Cochlea sein. Ein zeitlich begrenzter Volumenanstieg cochleärer Strukturen mit einhergehender Senkung der Membranleitfähigkeit sind bei moderater, traumatischer Beschallung zwar noch reversibel (Hirose und Liberman, 2003; Wagner et al., 2005), die Glutamatausschüttung bei übermäßiger Stimulation führt jedoch dazu, dass eine Verringerung der Verfügbarkeit von Energie eintritt, die weitere Erregung verhindert (Henderson et al., 2006). Ähnliche Effekte treten auch im zentralen auditorischen System auf, wo akute Änderungen von Transmitter- und Rezeptoreigenschaften die Erregbarkeit modifizieren. Dabei kann es sich schon um plastische Veränderungen handeln, die aufgrund des veränderten sensorischen Inputs ausgelöst werden, oder um *Top-Down*-Mechanismen, bei denen höhere Strukturen die unteren Eingänge bis hin zur Peripherie modulieren (Mossop et al., 2000; Rubio, 2006; Suga et al., 2002; Suga und Ma, 2003; Suga, 2008). Mittelfristige Folgen einer schädigenden Lärmexposition sind dann nekrotische oder apoptotische Prozesse in den Haarzellen und Neuronen des unteren auditorischen Systems, die aufgrund der akuten Bildung freier Radikale und Funktionsstörungen in den Mitochondrien ausgelöst werden und den permanenten Hörverlust verursachen (Henderson et al., 2006; Hu, 2007; Nuttall, 1999; Yamane et al., 1995). Diese induzierten Vorgänge können über mehrere Tage andauern und zu einer fortschreitenden Degeneration führen (Ahmad et al., 2003; Hu und Zheng, 2008; Yang et al., 2004). Verlust von Verbindungen zwischen den Neuronen des unteren auditorischen Systems beeinflussen dann weitere plastische Reorganisationen, die wahrscheinlich der Anpassung auf die veränderten Eingangssignale dienen und auch in höheren auditorischen Kernen auftreten (Edeline und Weinberger, 1991; Polley et al., 2006).

Auch das Ohr, das sich kontralateral zur Expositionsseite befand, zeigte einen akuten Hörverlust. Die Ursache dafür könnte direkt in einer, zwar verminderten, aber trotzdem schädigenden Schallexposition gelegen haben. Der Schallpegel sollte zwar geringer als 100 dB SPL gewesen sein, jedoch war dies ein ohne Tier gemessener



## Diskussion

---

Wert, weshalb eine mögliche Schalleitung durch das Tier selber nicht berücksichtigt wurde. Teilweise könnte der kontralaterale Hörverlust auch durch intrinsische kommissurale Hemmungseffekte in Bereichen der unteren Hörbahn als Ursache in Frage kommen (Jansen et al., 2012). Es bleibt zu erwähnen, dass die beobachtete Regeneration bei den Wildtyp-Tieren nur unwesentlich über dem Bereich der intraindividuellen Messschwankungen lag, was besonders das nichtexponierte, kontralaterale Ohr betraf. Entscheidend für die weiteren Untersuchungen war aber, dass auf dem exponierten Ohr ein permanenter Hörverlust auftrat, der als eine der primären Ursachen für die Entwicklung von Tinnitus gilt (Norena et al., 2002; Roberts et al., 2006; König et al., 2006; Weisz et al., 2006).

### 4.3 Untersuchung der konditionalen Arg3.1-Knockout-Mäuse

Das aktivitätsregulierte Protein arg3.1 ist ein „*immediate-early gene*“, das eine Rolle bei synaptischer Plastizität und der Konsolidierung von Gedächtnisinhalten spielt. Arg3.1 wird unter anderem im AC nach akustischer Stimulation exprimiert (Carpenter-Hyland et al., 2010; Mahlke und Wallhäusser-Franke, 2004; Ivanova et al., 2011). Die Expression der mRNA nach Reintonstimulation zeigt in A1 und AAF ein tonotop frequenzspezifisches Muster. Für das visuelle System wurde ein Einfluss von arg3.1 auf die Orientierungsselektivität von Neuronen gezeigt (Wang et al., 2006) und es ist anzunehmen, dass arg3.1 auch im auditorischen Kortex an der Modulation der Frequenzrepräsentation beteiligt ist. Außerdem zeigen Arg3.1-Knockout-Mäuse Defizite bei der auditorischen Furchtkonditionierung (Plath et al., 2006). Dabei wird ein neutraler akustischer Stimulus mit einem aversiven Reiz, meist ein schwacher Elektroschock, gepaart, so dass nach der Konditionierungsphase die Präsentation des Tons alleine eine Furchtreaktion hervorruft. Eine wesentliche Rolle bei diesem Mechanismus spielt die Verarbeitung in der Amygdala. Dort konvergieren auditorische Signale aus dem Thalamus und dem auditorischen Kortex mit den nozizeptiven Informationen, weshalb die Amygdala als der Ort gilt, an dem das assoziative Gedächtnis bei der Furchtkonditionierung gebildet wird (Armony et al., 1998; LeDoux, 2003; Maren et al., 2001). Über eine selektive Unterdrückung der arg3.1 Expression im lateralen Unterkern der Amygdala kann die Ausbildung eines

## Diskussion

---

langanhaltenden Furchtgedächtnisses unterdrückt werden (Maddox und Schafe, 2011). Nach experimenteller Tinnitusinduktion konnte bei Gerbilen in der Amygdala und vor allem im zentralen Unterkern, der die Ausgangsstruktur der Amygdala darstellt, eine erhöhte arg3.1 und c-fos Expression durch Salicylatinjektion, sowie eine Steigerung der 2-DG Akkumulation nach Schalltrauma nachgewiesen werden (Mahlke und Wallhäusser-Franke, 2004; eigene Daten). In Anlehnung an den Mechanismus der Furchtkonditionierung wurde auch von Jastreboff ein Modell zur Ätiologie von Tinnitus beschrieben (Jastreboff, 1990). Der Tinnitus wird dabei bei einigen Patienten als Gefahr wahrgenommen, wodurch der Organismus mit einer Leidensempfindung reagiert, die die Tinnituswahrnehmung im Bewusstsein festigt. Da diese Reaktion unterbewusst generiert wird ist die Empfindung unabhängig von der jeweiligen Situation oder Tinnitussignalstärke (siehe Kapitel 1.7). In einem Modell zur Tinnituserstehung wurde daher postuliert, dass die Amygdala eine entscheidende Rolle bei der Tinnituserstehung spielt, indem sie die pathologische kortikale Aktivierung verstärkt, plastische Prozesse induziert und somit eine Manifestation der Tinnituserstehung begünstigt. Die Amygdala wird in diesem Prozess zunächst durch negative Emotionen, etwa auf Grund belastender Lebenssituationen aktiviert, während im weiteren Krankheitsverlauf der Tinnitus selbst als negativer emotionaler Reiz die Amygdala aktivieren kann und die Chronifizierung weiter begünstigt (Mahlke, 2004, Dissertationsschrift).

Da arg3.1 sowohl bei der Furchtkonditionierung als auch bei plastischen Veränderungen im auditorischen Kortex eine Rolle spielt (Carpenter-Hyland et al., 2010; Sun et al., 2005) und beide Mechanismen eine entscheidende Rolle bei der Tinnituserstehung spielen, wurde in der vorliegenden Arbeit angenommen, dass eine Reduktion von arg3.1 im Vorderhirn die Ausbildung einer andauernden auditorischen Phantomwahrnehmung verhindern könnte. Daher wurde eine konditionale Arg3.1-Knockout-Linie verwendet, die Cre Rekombinase Vorderhirnspezifisch unter der Kontrolle des CamKII $\alpha$ -Promotors in Pyramidenzellen exprimiert. Bei diesen Tieren konnte das arg3.1-Protein ab Tag P6 im Vorderhirn nicht mehr nachgewiesen werden (Abb. 2B).

Die Ergebnisse der Versuche zur audiometrischen Hörschwellenbestimmung, Vorpulsinhibition, Lückendetektion und sozialen Interaktion zeigten im Grundzustand,

## Diskussion

---

vor dem Schalltrauma, keine Unterschiede zwischen den Genotypen. Auch wiesen die Ergebnisse der Lückendetektion nicht darauf hin, dass die Knockout-Tiere eine reduzierte Prävalenz besaßen einen schallinduzierten Tinnitus zu entwickeln. Unterschiede zwischen den Genotypen waren bei allen Frequenzparadigmen und auch nach Untergruppenanalyse nicht zu beobachten. Das Verhältnis zwischen Tieren mit und ohne Anzeichen einer Tinnituswahrnehmung war in der Knockout-Gruppe (81,8%) ähnlich dem Verhältnis in der Wildtyp-Gruppe (71,4%). Im Gegensatz dazu zeigten die unbehandelten Knockout-Tiere ein stark verändertes Aktivierungsmuster in der 2-DG Bildgebung. Allgemein zeigten die Tiere in Bereichen des Striatums, und des Groß- und Kleinhirns, in denen *arg3.1* reduziert war, ein verringertes 2-DG Signal im Vergleich zu den Wildtyp-Tieren, während in Regionen des Thalamus, Mittelhirns und Hirnstamms eine erhöhte 2-DG Aufnahme beobachtet wurde. Dies betraf unter anderem die auditorischen Kerne, wie den Nucleus geniculatum mediale (MGB) und den Colliculus inferior (IC), aber auch Kerne anderer Sinnesmodalitäten wie den Colliculus superior (SC). Nach den aktuellen Untersuchungen ist nicht klar, warum die 2-DG Aufnahme in den knockout-Tieren verändert war. Verschiedene Faktoren könnten jedoch einen Einfluss gehabt haben. Es könnte sein, dass *arg3.1* eine wichtige Rolle bei postsynaptischen Prozessen wie *Spine*-Generierung und AMPA Rezeptor-*Trafficking* spielt (Goel und Lee, 2007; Peebles et al., 2010; Shepherd et al., 2006). Da die durch Glukose bereitgestellte Energie hauptsächlich zur Generierung von Aktionspotentialen und an postsynaptischen Rezeptoren von exzitatorischen Neuronen für das Recycling von Glutamat verbraucht wird (Attwell und Laughlin 2001, Nehlig et al., 2004), wäre es somit vorstellbar, dass im Vergleich zu Wildtyp-Tieren weniger Energie für Prozesse an der postsynaptischen Membran benötigt werden könnte. Da davon auszugehen ist, dass die *arg3.1* Expression nur im Vorderhirn reduziert war könnte es sich bei den Aktivitätssteigerungen in Hirnstamm, Mittelhirn und Thalamus eventuell um kompensatorische Aktivitätserhöhungen handeln, die unter anderem auch kortikofugal induziert sein könnten.

Ein weiterer Unterschied zwischen den Genotypen wurde bei den Hörschwellenmessungen der schallexponierten Tiere gefunden. Während die Hörschwellen vor dem Trauma und 1 Tag nach dem Trauma vergleichbar waren,

## Diskussion

---

zeigten die Knockout-Tiere 2 Wochen nach Trauma eine leicht verringerte Regeneration des Hörvermögens bei 16 kHz ( $p=0,042$ , Abb. 8). Es wurde gezeigt, dass CamKII in den äußeren Haarzellen exprimiert wird und dort die Motilität dieser Zellen beeinflusst (Puschner und Schacht, 1997). Es ist somit vorstellbar, dass *arg3.1* in den Haarzellen deletiert wurde. Allerdings gibt es aktuell keine publizierten Daten, die zeigen, dass *arg3.1* in den Haarzellen exprimiert wird. Neben den direkten Effekten im Innenohr könnten auch kortikofugale Prozesse die Regeneration beeinflussen. Wie in Kapitel 1.2 beschrieben besitzt das Hörsystem weitreichende Rückprojektionen, über die die auditorische Eingangsaktivität aus der Peripherie moduliert werden kann.

Leider konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit keine weitere Analyse der Unterschiede zwischen den Genotypen gemacht werden. Die Tatsache, dass die *Arg3.1*-Knockout-Tiere in den Verhaltenstests sogar etwas häufiger Verhaltensanzeichen einer Geräuschwahrnehmung zeigten, wie die Wildtyp-Tiere, könnte jedoch darauf hinweisen, dass Mechanismen existieren, die die Deletion von *arg3.1* teilweise kompensieren. Diese könnten ausreichen, die für die Tinnitusgenese notwendige kortikale Plastizität aufrechtzuerhalten. Andererseits könnte es möglich sein, dass die *arg3.1* vermittelten plastischen Veränderungen im Vorderhirn bei der Entwicklung einer Geräuschwahrnehmung nur eine untergeordnete Rolle spielen. Es existieren Hinweise, dass *arg3.1* für die aktivitätsabhängige Modifizierung von inhibitorischen Synapsen im Kortex nicht benötigt wird (Gao et al., 2010). Somit könnten plastische Veränderungen inhibitorischer Synapsen gegebenenfalls eine größere Rolle bei der Tinnitusentstehung spielen als bisher angenommen. Weiterhin könnte es sein, dass *arg3.1* in den konditionalen Knockout-Mäusen nicht komplett deletiert wird. Während auf Proteinebene kein *arg3.1* mehr nachgewiesen werden konnte, zeigten aktuellere *in situ* Experimente eine zwar reduzierte, aber dennoch vorhandene Expression auf mRNA Ebene. Aufgrund der starken Unterschiede im 2-DG Metabolismus der Kontrolltiere können die Daten der schallexponierten Tiere jedoch ohnehin nicht interpretiert werden, weshalb in den folgenden Kapiteln vornehmlich die Ergebnisse der Wildtyp-Tiere diskutiert werden.

### 4.4 Veränderter Glukosemetabolismus nach Schalltrauma

#### Veränderter Glukosemetabolismus im auditorischen System

Akut hatte das Schalltrauma, wenn alle schallexponierten Tiere zusammen betrachtet werden, eine deutliche Reduktion der Aktivität im aufsteigenden auditorischen System zur Folge, die wahrscheinlich aufgrund verringerter Eingangssignale zu Stande kam. Diese Reduktion war aufsteigend ab dem Colliculus inferior beidseitig vorhanden (Abb. 11). Betrachtet man Wildtyp- und Knockout-Tiere getrennt von einander konnte man im akuten Stadium nur in den Knockout-Tieren eine deutliche Aktivitätsreduktion entlang der Hörbahn beobachten, während ausschließlich in den Wildtyp-Tieren eine Erhöhung im ipsilateralen auditorischen Kortex gefunden wurde. Zwei Wochen nach Trauma wurde eine Reduktion im auditorischen System nur noch auf der kontralateralen Seite vom IC über den MGB bis zum AC beobachtet. Bei der getrennten Betrachtung der Aktivierungsmuster in den Wildtyp- und Knockout-Tieren war nach 2 Wochen im Gegensatz zum akuten Zustand die laterale Reduktion der Aktivität entlang der Hörbahn in den Wildtyp-Tieren deutlicher als in den Knockout-Tieren. Diese einseitige Reduktion entlang der Hörbahn steht in Einklang mit den Hörschwellenmessungen, bei denen nach zwei Wochen kontralateral kein Unterschied mehr zu den Kontrollgruppen zu beobachten ist, sich ipsilateral aber ein permanenter Hörverlust etabliert hat.

Im akuten Stadium fand sich bei den Wildtyp-Tieren jedoch eine Aktivierung des ipsilateralen primären auditorischen Kortex (A1). Bereiche des ipsilateralen AC waren auch bei den Tieren erhöht, die Verhaltensanzeichen eines schmalbandigen Tinnitus nach zwei Wochen zeigen (Kapitel 4.7). Die Daten weisen daher darauf hin, dass sich die Tinnitusaktivität nicht wie bisher angenommen auf der geschädigten Seite ausbildet, sondern auf der weniger betroffenen ipsilateralen Seite generiert wird. Bisher sind nur wenige Daten publiziert die die Gesamtaktivität im Tiermodell nach experimenteller Tinnitusauslösung gemessen haben. In den meisten dieser Studien wurde Salicylat als Tinnitusauslöser verwendet. Generell sind die publizierten Daten nicht konsistent. Während Paul in einer microPET Studie bei Ratten eine Erhöhung der Aktivität im IC um 17% und im AC um 29% fand (Paul et al., 2009), wurde bei Wallhäusser-Franke mit der auch in dieser Arbeit verwendeten

## Diskussion

---

2-DG Bildgebung eine Reduktion in der 2-DG Aufnahme im IC bei Wüstenrennmäusen beobachtet, die von lokal begrenzten Aktivitätssteigerungen im AC begleitet wurde (Wallhäuser-Franke et al., 1996). Ähnliche Isofrequenzbanden findet man auch nach Reintonstimulation, deren Lokalisation aber sowohl zwischen den Hemisphären, als auch zwischen den Individuen stark voneinander abweichen können (Scheich et al., 1993). Eine MEMRI (*manganese-enhanced magnetic resonance imaging*) Studie an unilateral beschallten Ratten beschreibt eine Erhöhung der Aktivität im Hirnstamm und dem IC mehrere Wochen nach dem Trauma (Brozowski et al., 2007b). In dieser Studie wurden allerdings auch Reduktionen der Aktivität im kontralateralen MGB und AC gemessen, was mit den hier präsentierten 2-DG Daten für den AC nach zwei Wochen übereinstimmt. Eine Studie an schalltraumatisierten Hamstern findet nach unilateraler Exposition zwar eine Reduktion in der 2-DG Aufnahme im ipsilateralen VCN, misst jedoch im nachgeschalteten auditorischen System ipsi- statt kontralateral eine Verringerung der autoradiographischen Aktivität, während der AC keine Veränderung aufweist (Zhang et al., 2003). In einer 2-DG Studie bei mongolischen Wüstenrennmäusen, die unilaterale Cochleaablationen und Schalleitungsstörungen untersucht, wurden die Tiere während der 2-DG Akkumulation akustisch stimuliert (Hutson et al., 2008). Bei beiden Schädigungsparadigmen wurde nach 3 Wochen eine Abnahme der Aktivität im kontralateralen IC gefunden, während der MGB und A1 keine signifikanten Änderungen zeigte. Bei den Schalleitungsstörungen kam es aber zu einer Abnahme im kontralateralen AAF. Eine metabolische Reduktion im kontralateralen AC und IC findet sich auch nach unilateraler Cochleaablation bei Ratten (Hsu et al., 2009). Eigene Arbeiten, bei denen im akuten und chronischen Zustand die 2-DG Aktivität nach bilateralem Impulsschalltrauma bei mongolischen Wüstenrennmäusen gemessen wurde zeigen ebenfalls nur Reduktionen in den Kernen des auditorischen Systems, sowohl akut, als auch chronisch nach zwei Wochen. Obwohl im akuten Stadium ipsilateral eine Steigerung der 2-DG Aufnahme im AC bei den Wildtyp-Tieren detektiert werden konnte, scheint sich ein Schalltrauma und andere Cochleaschädigungen eher reduzierend auf den Glukoseverbrauch des auditorischen Systems der exponierten Seite auszuwirken. Dies gilt für die Zeit unmittelbar nach der Schädigung, als auch für Zeitpunkte nach mehreren Tagen und

## **Diskussion**

---

Wochen.

Neben bildgebenden Verfahren wurden in Tiermodellen viele elektrophysiologische Untersuchungen in verschiedenen auditorischen Regionen nach Schalltrauma durchgeführt. Im IC und AC sind im akuten Stadium nach Schalltrauma bei elektrophysiologischen in vivo Ableitungen erhöhte Spontan- und *burst*-Aktivitäten, sowie auch akustisch evozierte Aktivitätserhöhungen gegenüber nicht traumatisierten Tieren beobachtet worden (Bauer et al., 2008; Ma et al., 2006b, Manzoor et al., 2012; Wang et al., 1996; Popelar et al., 1987; Syka und Rybalko, 2000). Eine andere Studie an Meerschweinchen zeigte Hyperaktivität im IC mehrere Tage nach einer Lärmschädigung (Mulders et al., 2009). Auch im CN kommt es bei Hörverlust nach einigen Tagen zur Ausbildung erhöhter Spontanaktivität (Kaltenbach und McCaslin, 1996; Kaltenbach et al., 1998). Die elektrophysiologischen Befunde sind bezüglich des ICs und des VCN meist gegensätzlich zu den in dieser Arbeit gefundenen Abnahmen der 2-DG Akkumulation sowohl akut, als auch im chronischen Stadium. Bis auf ein Volumen erhöhter Aktivität im ipsilateralen primären AC im akuten Stadium, die eventuell ein Teil des neuronalen Korrelats eines akuten Tinnitus darstellt, sind keine Steigerungen im auditorischen System vorhanden. Dies könnte methodische Ursachen haben, da die Aufnahme und Akkumulation radioaktiv markierter Glukose nicht direkt mit der elektrophysiologisch gemessenen Hyperaktivität gleichzusetzen ist. Auch wenn die 2-DG Aufnahme nicht direkt mit der Anzahl an Aktionspotentialen korreliert (Auker et al., 1983), ist sie dennoch ein Ausdruck der metabolischen Anforderung des Nervengewebes, die im wesentlichen aufgrund der Depolarisation von Neuronen verursacht wird (Attwell und Laughlin, 2001).

### Veränderter Glukosemetabolismus in anderen Regionen

Neben den Effekten im auditorischen System wurden Aktivitätsänderungen in verschiedenen nicht primär auditorischen Regionen gefunden. Die Wildtyp-Tiere zeigten akut eine Aktivitätsabnahme in kontralateralen somatosensorischen Bereichen und dem Insula Kortex (Sawatari et al., 2011). Während die Abnahme in der Insula direkt über Projektionen des AC von der peripheren Schädigung verursacht worden sein könnte deutet die Abnahme im somatosensorischen Kortex

## **Diskussion**

---

bereits eine somatosensorisch-auditorische Interaktion kurz nach dem Schalltrauma an. Nach Zusammenlegung der schallexponierten Tiere beider Genotypen zeigte sich zwei Wochen nach dem Schalltrauma ipsilateral eine Zunahme der Aktivität im orbitofrontalen Kortex und der anteriore Gyrus cinguli (CG) und der somatosensorische Kortex war bei den schallexponierten Wildtyp-Tiere aktiviert.

Ebenfalls war die Aktivität tiefer Bereiche beider SCi nach zwei Wochen in den Wildtyp-Tieren deutlich erhöht. Diese Erhöhung fand sich auch bei den Tieren mit Anzeichen einer Tinnituswahrnehmung. Neurone des SC sind nicht nur für die Verarbeitung visueller Stimuli verantwortlich, sondern integrieren Stimuli verschiedener Modalitäten. Diese Verarbeitung findet in den tiefen Schichten statt und umfasst insbesondere auditorische Signale, die aus den sekundären Arealen des AC oder dem Kortex des IC stammen (Bajo et al., 2010; King et al., 1998). Es sind starke Hinweise vorhanden, dass hier eine auditorisch räumliche Repräsentation der Umgebung aufgrund von interauralen Intensitätsunterschieden aufgebaut wird (Alvarado et al., 2007; Kadunce et al., 1997; Palmer und King, 1982), die eventuell durch das unilaterale Schalltrauma gestört sein könnte. Die Bedeutung des SC bei der interauralen Verarbeitung auditorischer Signale wird auch durch eine Ablationsstudie an Katzen unterstützt. Die unilaterale Ablation des AC führte kontralateral zu akustischen Orientierungsdefiziten, die durch Kühlung des kontralateralen SC wieder verringert wurden (Lomber et al., 2006). Ablationsstudien zeigten, dass sowohl Läsionen des SC als auch kortikaler auditorischer Gebiete das Richtungshören verschlechtern (Heffner und Heffner, 1990; Kavanagh und Kelly, 1987; Lomber et al., 2001; Nodal et al., 2010). Außerdem wird der SC mit audiogenen Anfällen in Zusammenhang gebracht. Diese werden vom IC ausgelöst, aber vom SC aufrechterhalten (Faingold und Randall, 1999; Ishida et al., 2002).

Die Tiere beider Genotypen zeigten im chronischen Zustand zur korrespondierenden Kontrollgruppe bilaterale Aktivitätszunahmen im somatosensorischen Kortex, die kontralateral stärker ausgeprägt waren. Im akuten Stadium ist im somatosensorischen Kortex noch eine Reduktion der Aktivität vorhanden. Diese Befunde könnten auf eine Rolle des somatosensorsichen Kortex bei der multisensorischen Integration akustischer Signale hindeuten, obwohl die Richtung der Änderung im chronischen Stadium umgekehrt zu der im AC erfolgte. Eine



## Diskussion

---

Steigerung der Aktivität könnte demnach eine direkte Folge der gestörten Anregung auditorischer Kerne sein. Hinweise auf somatosensorisch-auditorische Integration im somatosensorischen Kortex konnte etwa bei Ratten gezeigt werden (Ghoshal et al., 2011). Beide sensorischen Systeme interagieren auch bei Tinnituspatienten. In einer Studie können durch somatosensorische Stimulation bei 68% der Betroffenen die psychoakustischen Eigenschaften der Tinnituswahrnehmung moduliert werden (Levine, 1999; Levine et al., 2003), etwa durch die Stimulation des Mediannerven.

Die Wildtyp-Tiere zeigen außerdem eine Reduktion im Crus I des ipsilateralen Cerebellums, die indirekt mit der traumatischen Geräuschexposition zusammenhängen könnte. Eine Rolle des Cerebellums wird unter anderem auch bei der räumlichen Gedächtnisbildung vermutet (Mandolesi et al., 2001; Passot et al., 2012). Dementsprechend konnte bereits gezeigt werden, dass bei Ratten durch ein Schalltrauma räumliche Gedächtnisbeeinträchtigungen auftreten, wobei im Hippocampus und Cerebellum akut und chronisch oxidative Schädigungsprozesse nachgewiesen wurden (Uran et al., 2010). Die verringerte Aktivität, die in dieser Arbeit gefunden wurde, könnte eine Folge dieser Schädigungsprozesse sein. Bei Ratten, die mit Schall traumatisiert wurden und Verhaltensanzeichen einer Tinnituswahrnehmung besitzen, wurde außerdem eine Steigerung neuronaler Aktivität im Paraflocculus des Cerebellums gezeigt (Brozoski et al., 2007b). Die Ablation dieser Bereiche des Cerebellums bei Tieren mit existierendem Tinnitus eliminierte die Verhaltensanzeichen, woraus der Schluss gezogen wurde, dass der Paraflocculus eine Generatorfunktion bei Tinnitus besitzen könnte (Bauer und Brozoski, 2011).

Die gezeigten funktionellen Änderungen des 2-DG Metabolismus im auditorischen System bei den schalltraumatisierten Tieren waren im akuten Stadium wahrscheinlich direkte Folge der peripheren Deafferenzierung. Darüber hinaus könnten sie schon Regionen markiert haben, in denen plastische Veränderungen induziert wurden, die später zur Änderung des Aktivitätszustands und der neuronalen Verarbeitung führten. Außerdem zeigte sich im primären auditorischen Kortex auf der nicht exponierten Seite eine Aktivierung kurz nach dem Schalltrauma, die Ausdruck eines akuten Tinnitus sein könnte. Nach 2 Wochen war diese Aktivierung in der

## **Diskussion**

---

Gesamtgruppe der Wildtyp-Tiere nicht mehr sichtbar, tritt aber spezifisch wieder auf, wenn man eine Klassifizierung in Tinnitus-wahrnehmende und nicht wahrnehmende Tiere durchführte. Dieser Effekt wird in Kapitel 4.7 näher diskutiert. Das chronische Aktivitätsmuster zeigte eine beständige Reduktion auf der exponierten Seite des auditorischen Systems, die nach wie vor auf einer Verringerung der Eingangssignale beruhen könnte. Neben den Effekten in auditorischen Regionen deuteten die Aktivierungsänderungen nicht auditorischer Areale eine limbische und multimodale Beeinflussung an, die zusammen mit den auditorischen Veränderungen letztendlich bei einem Teil der Tiere zur Manifestation der Verhaltensanzeichen von Tinnitus geführt hat.

### **4.5 Lückendetektion**

Die von Turner entwickelte und auf einer akustischen Schreckreaktion basierende Lückendetektion ist das aktuell am weitesten verbreitete Verhaltensparadigma zum Nachweis einer Tinnituswahrnehmung im Tiermodell (Turner et al., 2006). Im Gegensatz zu den meist langwierigen Konditionierungsexperimenten erlaubt es einen schnellen Nachweis einer Phantomwahrnehmung am untrainierten Tier. In einigen Studien wurden Konditionierungsexperimente und gap-PPI direkt verglichen. So zeigten z.B. schallexponierte Ratten in beiden Paradigmen eine verringerte Fähigkeit eine stille Lücke in einem sonst konstanten Hintergrundgeräusch wahrzunehmen, was mit der Wahrnehmung eines Tinnitus erklärt wurde (Brozoski et al., 1999; Turner et al., 2006). Auch bei Mäusen, Meerschweinchen und mongolischen Wüstenrennmäusen konnte posttraumatisch eine Verringerung beim gap-PPI gezeigt werden (Longenecker und Galazyuk, 2011; Middleton et al., 2011; Dehmel et al., 2012).

Die akustische Schreckreaktion ist eine schnelle Kontraktion der Skelettmuskulatur nach einem lauten akustischen Stimulus und wird durch einen einfachen, oligosynaptischen Schaltkreis im unteren Hirnstamm vermittelt, der spinale und kraniale Motorneurone aktiviert (Koch und Schnitzler, 1997; Koch, 1999). Vorpulsinhibition (PPI) eines akustischen Schreckreizes tritt auf, wenn ein akustischer Stimulus 20-200 ms vor dem Schreckreiz präsentiert wird. Beim gap-PPI

## Diskussion

---

ist der Vorpuls durch eine Lücke in einem kontinuierlichen Hintergrundgeräusch ersetzt. Gehirnregionen, die beim PPI eine Rolle spielen umfassen den IC, SC, Kerne im Tegmentum, den kaudalen retikulären Nucleus des Pons und die Substantia nigra (Fendt und Yeomans, 2001; Yeomans et al., 2006). Kortikale Areale und die Amygdala können ASR und PPI modulieren (Koch und Ebert, 1993; Forcelli et al., 2012; Swerdlow et al., 2001).

Im Vergleich mit anderen Mausstämmen weisen Mäuse des Stamms C57BL/6 hohe Startle-Amplituden auf, zeigen aber eine geringe Vorpulsinhibition (Paylor und Crawley, 1997). Die in dieser Arbeit bei der Vorpulsinhibition und Lückendetektion ermittelten Daten zeigten einige Besonderheiten. Die Inhibition des Startlepulses nach der Lücke im Hintergrundrauschen war generell deutlich geringer, als die in derselben Messreihe ermittelte Vorpulsinhibition. Während der PPI bei dem 70 dB SPL lauten Vorpulsen aller Frequenzparadigma ungefähr eine Inhibition von 70% aufweist, was verglichen mit einer anderen Studie für den C57BL/6 Stamm typisch ist (Ouagazzal et al., 2006), war der gap-PPI weniger ausgeprägt. Hier wurde durchschnittlich nur eine Inhibition von etwa 25% erreicht. Dieser Befund ist auch in anderen Studien vorhanden, jedoch mit dem Unterschied, dass die Differenz zwischen Vorpulsinhibition und Lückendetektion deutlich geringer ist (Engineer et al., 2011; Ison et al., 2002; Middelton et al., 2011; Turner et al., 2006; Turner und Parrish, 2008). Die Studien weisen etwa eine Vorpulsinhibition von 70% und eine Lückendetektion von 40-50% auf. Die Hauptgründe dafür sind wahrscheinlich in der akustischen Schallausbreitung im Versuchsaufbau, unterschiedlicher Dauer der Lücke und den unterschiedlichen Hintergrund-Signal-Verhältnissen zu suchen, wurden aber nicht genauer untersucht. Bei nur acht von 318 Messdurchläufen wurde keine Inhibition nach der Lücke beobachtet, weshalb vorausgesetzt werden kann, dass das Paradigma der Lückendetektion generell funktionierte. Der beobachtete Rückgang der gap-PPI-Inhibition bei einigen Tieren kann auch nicht durch einen Hörschaden oder Defiziten in der zeitlichen Verarbeitung erklärt werden, da die Inhibition bei der parallel durchgeführten Vorpulsinhibition nicht beeinträchtigt war.

Die Versuche zur Lückendetektion wurden durchgeführt, um die schallexponierten Wildtyp-Tiere in Tinnitus-wahrnehmende und nicht wahrnehmende Tiere einzuteilen. Schallexponierte Tiere, die am zwölften Tag nach dem Schalltrauma eine Reduktion

## Diskussion

---

des gap-PPI um mehr als 4% zur Messung vor dem Schalltrauma zeigten, wurden als Tinnitus-wahrnehmend klassifiziert. Diese Klassifikation geschah mit dem Ziel, in der 2-DG Analyse das spezifische Tinnitusaktivitätsmuster des 2-DG Metabolismus identifizieren zu können. Getestet wurden drei verschiedene Frequenzparadigma, Breitbandrauschen, ein Halboktavband an der unteren Grenzfrequenz, sowie ein Oktavband an der oberen Grenzfrequenz des um 10kHz zentrierten Traumastimulus (Abb. 5).

Mehr als zwei Drittel der schallexponierten Tiere zeigten eine Reduktion in einem oder mehreren der Frequenzparadigma (Tab. 3). Betrachtet man die Gesamtgruppe der Wildtypen nach Schalltrauma im Vergleich zu den Kontrolltieren für die einzelnen Frequenzbänder, dann kommt es nur in der Gruppe mit Breitbandhintergrundrauschen zu einer signifikanten Reduktion der Inhibition (Abb. 23). Bei den anderen Frequenzparadigma wurden zwar die gleichen Tendenzen beobachtet, hier wurde das Signifikanzniveau jedoch nicht erreicht. Trotzdem zeigten in der individuellen Analyse 12 der Wildtyp-Tiere eine Reduktion bei schmalbandigen Hintergrundsignalen, davon 10 Tiere bei dem hochfrequenten Rauschsignal, während nur 6 Tiere bei breitbandigen Signalen eine Reduktion aufwiesen (Tab. 3). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit vielen Studien, die nach einem engfrequenten Schalltrauma einen potentiellen Tinnitus oberhalb der Traumafrequenz detektierten (Turner et al., 2006; Turner et al., 2008; Middleton et al., 2011). In einer Studie, die den zeitlichen Verlauf in der gap-PPI Leistung bis zu sieben Monaten untersucht, weisen die Mäuse in den ersten Wochen nach Schalltrauma eher Anzeichen von Hyperacusis als von Tinnitus auf (Turner et al., 2012). Eine deutliche Verringerung der gap-PPI Leistung für die ermittelte Tinnitusfrequenz (hier 24kHz bei 12kHz Traumafrequenz) zeigte sich hier erst nach sieben Wochen. Eine andere Studie ermittelte eine verstärkte Reduktion beim gap-PPI jedoch bereits nach zwei Wochen (Middleton et al., 2011). Weiterhin gibt es Hinweise, dass im Tiermodell ein akuter Tinnitus eher ein breites Spektrum an Frequenzen abdeckt, während nach einigen Monaten die Tinnitusfrequenzen auf einem schmalen Frequenzbereich begrenzt sind (Longenecker und Galazyuk, 2011). Die Reduktion der schallexponierten Tiere beim gap-PPI mit BBN reflektiert vermutlich eher eine breitbandige Wahrnehmung. Der Zeitpunkt der 2-DG

## **Diskussion**

---

Bildgebung in der vorliegenden Arbeit fiel möglicherweise in eine Phase, in der bei Mäusen der akute Tinnitus in seine chronische Form übergeht und weitreichende Veränderungen im auditorischen System stattfinden.

Studien am Menschen zeigen zum einen, dass die Tinnitusfrequenz meist im Bereich des größten Hörschadens liegt, aber auch, dass der Tinnitus nicht unbedingt auf eine bestimmte Frequenz festgelegt sein muss, sondern sich häufig aus mehreren Frequenzen zusammensetzt (Henry et al., 1999; König et al., 2006; Norena et al., 2002; Roberts et al., 2006). Die meisten Patienten empfinden ihren Tinnitus jedoch als ein schmalbandiges Pfeifen (Norena et al., 2002; Penner, 1983).

### **4.6 Soziale Interaktion**

Viele Patienten mit Tinnitus beschreiben eine Einschränkung ihrer Lebensqualität durch das Ohrgeräusch und besitzen eine hohe Prävalenz zur Ausbildung einer Depression (Sullivan et al., 1988; Sullivan et al., 1989; Halford und Anderson, 1991). Die akustische Wahrnehmung kann außerdem das Sprachverständnis behindern, was zur sozialen Isolation führen kann (Meric et al., 1998). Es ist deshalb anzunehmen, dass der Umfang sozialer Kontakte bei schweren Formen von Tinnitus verringert ist und deshalb als Indikator für die Schwere einer Leidensempfindung dienen könnte. Dies wird auch in manchen Formen des Tinnitus Questionnaire berücksichtigt (Welch und Dawes, 2008).

Um im Mausmodell die mögliche Belastung durch das Phantomgeräusch zu untersuchen, wurden die Mäuse zwölf Tage nach dem Schalltrauma auf Hinweise einer Einschränkung ihrer sozialen Interaktion untersucht. Die Mäuse konnten dabei eine aus drei Kammern bestehende Arena, in der in einer der äußeren Kammern ein gleichgeschlechtlicher Interaktionspartner saß, für zehn Minuten frei erkunden, wobei Parameter zur sozialen Interaktion, Mobilität und Aktivität gemessen wurden. Die Analyse zeigte keine Unterschiede zwischen den Kontrollen der verschiedenen Genotypen und zwischen den chronisch schallexponierten Tieren im Vergleich zur korrespondierenden Kontrollgruppe. Auch die potentiell Tinnitus-wahrnehmenden Wildtyp-Tiere zeigten keine Veränderung bei der sozialen Interaktion und der Laufdistanz.

## Diskussion

---

Im Gegensatz dazu wurde in einer Studie an Balb/C Mäusen nach Salicylatgabe eine Reduktion sozialer Interaktion gezeigt (Guitton et al., 2009). Hier zeigen die salicylatbehandelten Tiere zudem eine massive Steigerung unspezifischen Folgeverhaltens gegenüber der unbehandelten Maus. In der vorliegenden Arbeit kann keine Aussage über das Folgeverhalten gemacht werden, da der Interaktionspartner im Käfig lauffimmobilisiert war. Zudem ist ein direkter Vergleich der Ergebnisse schwierig, da es sich bei dem Salicylat induzierten Tinnitus um eine pharmakologische Behandlung handelt und dieser Tinnitus vermutlich eine andere Pathogenese besitzt, als ein schallinduzierter Tinnitus.

Tinnitus kann möglicherweise Angstverhalten erzeugen (Guitton et al., 2006). Daran angelehnt war die Ausgangshypothese in dieser Arbeit, dass sich durch Tinnitus induziertes Angstverhalten in einer allgemeinen Mobilitätsreduktion, gemessen durch die Laufdistanz, widerspiegeln könnte. Allerdings wurde auch hier kein Unterschied zwischen schalltraumatisierten Tieren und Tinnitus-wahrnehmenden Tieren einerseits, und den Kontrollen andererseits gefunden. Eine Studie, die die emotionale und aufmerksamkeitsbedingte Komponente einer Tinnituswahrnehmung an schalltraumatisierten Ratten in einem visuellen Konditionierungsexperiment untersucht hat, findet zwar Hinweise auf eine gestörte Impulskontrolle bei schalltraumatisierten Tieren, jedoch sind in der Konditionierungsleistung keine Unterschiede zur Kontrolle erkennbar. Die Anzahl richtiger Antworten auf den konditionierten Stimulus war unverändert, allerdings zeigten die traumatisierten Ratten eine Steigerung unvollendeter, vorschneller Reaktionen (Zheng et al., 2011a). Durch die hier durchgeführte Analyse der Laufdistanz lässt sich keine Aussage über die Impulskontrolle machen. Eine möglicherweise gestörte Impulskontrolle scheint im hier verwendeten Aufbau keinen Einfluss auf die Laufdistanz zu haben.

Ausgehend von den Ergebnissen und dem verwendeten Versuchsaufbau dieser Arbeit ist anzunehmen, dass bei Mäusen weder das Schalltrauma, noch der schallinduzierte Tinnitus die Dauer sozialer Interaktion veränderte oder Furchtverhalten auslöste. Die Lebenseinschränkungen einiger Patienten mit schwerem Tinnitus lassen sich somit unter den vorhandenen Bedingungen in diesem Tiermodell nicht abbilden. Gegebenenfalls könnte eine genauere Analyse der Verhaltensparameter und eine größere Gruppe an Tinnitus-wahrnehmenden Tieren

## **Diskussion**

---

einen Tinnitus bedingten, emotionalen Einfluss der Geräuschwahrnehmung auf das Verhalten aufdecken.

### **4.7 Änderungen des Glukosemetabolismus bei Tinnituswahrnehmung**

Die Ergebnisse der Lückendetektionsuntersuchung weisen darauf hin, dass 71% der schallexponierten Wildtyp-Tiere einen Tinnitus wahrgenommen haben. Diese Tiere zeigten gegenüber der korrespondierenden Kontrollgruppe und den schallexponierten Tieren, die keine Anzeichen für eine Tinnituswahrnehmung besaßen, einen veränderten Glukosemetabolismus. Während die 2-DG Aufnahme im kontralateralen AC im Vergleich zu den Kontrolltieren deutlich reduziert war konnte im ipsilateralen AC eine fokussierte Erhöhung der Aktivität bei den Tieren beobachtet werden, die gemäß der Lückendetektionsuntersuchungen einen engfrequenten Tinnitus zeigten. Darüber hinaus waren bei den Tinnitus-wahrnehmenden Tieren Aktivitätsänderungen in der Amygdala, dem Hippocampus, dem Nucleus accumbens, dem TRN, dem SC, dem olfaktorischen Bulbus, dem prefrontalen Kortex, dem Striatum und in sekundären motorischen Arealen beobachtbar. Beim Vergleich der Tiere mit und ohne Anzeichen einer Tinnituswahrnehmung zeigten sich Änderungen der Aktivität in prefrontalen Bereichen, dem ipsilateralen Striatum, dem kontralateralen Nucleus cochlearis (CN), dem ipsilateralen SC, dem ipsilateralen Globus pallidus und dem kontralateralen TRN.

Um zu überprüfen, ob die beobachteten Aktivitätsveränderungen in der Tinnitusgruppe nur durch die Einteilung in Untergruppen verursacht war, wurden die Tiere der Kontrollgruppe ebenfalls nach dem gleichen Kriterium aufgeteilt, wie die schallexponierten Wildtyp-Tiere. Danach zeigte nur die Hälfte der Kontrolltiere eine Reduktion beim gap-PPI. Ein Vergleich des Glukosemetabolismus zwischen beiden Untergruppen ergab eine Erhöhung der Aktivität in einem kleinen Bereich der Vermis des Kleinhirns und eine Reduktion im linken lateralen Lemniscus. Beide Bereiche überlagerten sich nicht mit den Aktivierungsmustern der Tinnitusgruppe, sondern lassen sich der sensomotorischen Aufgabe der Lückendetektion zuordnen (Ekerot et al., 1997; Li et al., 2009).

### Veränderter Glukosemetabolismus im auditorischen System

Obwohl nach 2 Wochen noch ein deutlicher Hörschaden auf dem exponierten Ohr bestand und die Gesamtgruppe der schallexponierten Tiere eine deutliche Reduktion in der 2-DG Aufnahme entlang der aufsteigenden Hörbahn zeigte (Kapitel 3.5 und 4.4), war die Reduktion in den Tinnitus-wahrnehmenden Tieren im CN und IC nicht mehr sichtbar. Dies könnte eventuell an einer intrinsisch generierten erhöhten Spontanaktivität in diesen Strukturen liegen. Denkbar sind aber auch kommissurale und kortikofugale Modulationen, die normalerweise in Zusammenhang mit der Regulation der Eingangsaktivität beobachtet werden (Imig und Durham, 2005). Gegebenenfalls war eine reduzierte 2-DG Aktivität in dieser Untergruppe jedoch auch deshalb nicht mehr sichtbar, da die Anzahl an Tieren, die für den Vergleich mit den Kontrolltieren herangezogen werden konnte um 30% kleiner ist, als die Anzahl der gesamten Gruppe.

Die Ergebnisse der Lückenwahrnehmung (Kapitel 3.6 und 4.6) weisen darauf hin, dass die Geräuschwahrnehmungen der Tiere entweder einen engen Frequenzbereich betrafen, ein breitbandiges Signal darstellten, oder aus einer Kombination der verschiedenen Frequenzparameter zusammengesetzt waren. Bei der Betrachtung der Gesamtgruppe der potentiell Tinnitus-wahrnehmenden Tiere wurde eine Abnahme der 2-DG Aufnahme im kontralateralen AC beobachtet. Betrachtet man jedoch nur die Tiere, die Anzeichen eines engfrequenten Tinnitus in den den Hörschaden flankierenden Bereichen zeigten, zeigt sich eine deutlich erhöhte Aktivität in einem kleinen Bereich des ipsilateralen dorsalen AC an der Grenze zu somatosensorischen Bereichen. Bei dem aktivierten Gebiet handelt es sich um die dorsalen Bereiche des primären auditorischen Kortex im hochfrequenten Bereich an der Grenze zum ultrasonischen Feld und zu sekundär somatosensorischen Regionen (Stiebler et al., 1997). Auch in anderen bildgebenden Studien im Tiermodell wurde nach schall- oder salicylatinduziertem Tinnitus im AC eine Steigerung der Aktivität beobachtet (z.B. Engineer et al., 2011; Paul et al., 2009) und diese Befunde stehen ebenfalls in Einklang mit vielen Beobachtungen in Patientenstudien (z.B. Arnold et al 1996; Langguth et al., 2006; Mennemeier et al., 2011, vanderLoo et al 2009; Wang et al., 2001). Eine Aktivierung des auditorischen



## Diskussion

---

Kortex wird nach aktuellen Modellen als notwendige, wenn auch nicht als hinreichende Bedingung für eine Tinnituswahrnehmung diskutiert (Boly et al., 2005; Dehaene et al., 2006; deRidder et al., 2011; Eggermont, 2008; Kapitel 4.8).

Die Tatsache, dass in der vorliegenden Studie der ipsilaterale AC aktiviert war, ist zunächst überraschend. Lateralisationseffekte wurden bisher in der Tinnitusforschung wenig beschrieben. Die hier beobachtete Aktivierung könnte verschiedene Ursachen haben. Eine Ursache könnte eine reduzierte Inhibition aus den kontralateralen auditorischen Kortexregionen gewesen sein. Im AC von Frettchen führt eine kontralaterale Stimulation zu einer ipsilateralen Unterdrückung evozierter Einzelzellaktivität im AC (Kitzes und Doherty, 1994) und auch in einer Studie an Ratten wurden inhibitorische Effekte bei kontralateraler Stimulation auf zellulärer Ebene im Kortex gezeigt (Palmer et al., 2012).

Da die Steigerung der Aktivität an der Grenze zu somatosensorischen Bereichen gefunden wurde, könnte ein weiterer Grund für die ipsilaterale Aktivitätssteigerung im dorsalen AC eine somatosensorisch bedingte Reorganisation auditorischer Bereiche sein. Solche Veränderungen wurden nach ototoxischer Taubheitsinduktion bei Studien an adulten Frettchen gefunden (Allman et al., 2009), sind aber auch bei Tieren mit schallinduziertem Hörverlust vorhanden (Meredith et al., 2012). Rezeptive Felder für somatosensorische Stimuli entstehen dabei im Kopf- und Nackenbereich. Nicht nur sekundär auditorische Areale erfahren hierbei einen Umbau durch multimodale Plastizität, sondern auch A1 und AAF. Der Umbau beruht wahrscheinlich auf kortikokortikalen somatosensorischen Projektionen (Meredith et al., 2012). Dabei muss nicht ein vollständiger Austausch der Modalität erfolgen, sondern es kann nur die multisensorische Konvergenz verstärkt werden (Bizley et al., 2007; Keniston et al., 2011). Dabei könnte es zur fehlerhaften Integration in den Neuronen kommen, was deren auditorische Ausgangsaktivität verstärkt.

Ein weiterer Ausgangspunkt multimodaler Beeinflussung im ipsilateralen dorsalen AC könnte der SC sein, der ebenfalls eine Aktivitätszunahme zeigte. Zumindest bei Ratten bestehen Projektionen des thalamischen Nucleus suprageniculatus in den dorsalen AC. Der Nucleus suprageniculatus besitzt wiederum direkte Eingänge aus dem SC (Hori et al., 2012). Es erscheint deshalb möglich, dass der Nucleus suprageniculatus multimodale Informationen aus dem SC prozessiert und an

## Diskussion

---

Neurone des dorsalen AC weiterleitet, wo sie mit auditorischen und somatosensorischen Afferenzen konvergieren. Die tiefen Schichten des SC werden wiederum durch Projektionen des AC innerviert (Bajo et al., 2010; King et al., 1998). Durch die lateral ungleiche kortikale Anregung aufgrund des einseitigen Hörschadens erscheint es deshalb möglich, dass die räumliche Umgebungsrepräsentation im SC gestört ist und dies reziprok mit beiden Hemisphären des AC kommuniziert wird (siehe Kapitel 4.4).

Ein weiterer ungewöhnlicher Befund ist die Aktivierung im kontralateralen CN beim Vergleich der schallexponierten Tiere mit und ohne Tinnituswahrnehmung. Erhöhte Aktivität im dorsalen Kern des CN wurde als Teil der Tinnituspathologie identifiziert (Dehmel et al., 2012; Kaltenbach, 2006; Shore et al., 2008). Im DCN ist nach moderater Schallexposition eine Veränderung der Glycinrezeptorkonzentration bei Ratten mit Verhaltensanzeichen für Tinnitus gezeigt worden, die die Inhibition im DCN verändern könnte (Wang et al., 2009). Das bei einem unilateralem Schalltrauma zur Tinnitusinduktion aber der kontralaterale CN eine Rolle spielen könnte wurde erst vor kurzem postuliert. Nach vortraumatischer bilateraler Ablation des DCN zeigten Ratten nach dem Trauma keine Verhaltensanzeichen von Tinnitus. Unilaterale Läsionen auf der ipsilateralen Seite konnten jedoch die Tinnitusanzeichen nicht reduzieren und bei kontralateral ablatierten Tieren verstärkte sich sogar die Tinnituswahrnehmung (Brozoski et al., 2012). Eine posttraumatische Ablation zeigte hingegen keine Wirkung auf die bestehende Tinnituswahrnehmung (Brozoski und Bauer, 2005). Das deutet darauf hin, dass der DCN zwar eine Rolle bei der Entstehung eines Tinnitus in höheren auditorischen Kernen besitzt, aber nicht der Erzeuger der Tinnitusaktivität sein kann.

Die hier beobachtete Aktivierung des kontralateralen CN könnte durch eine reduzierte Inhibition aus den kontralateralen auditorischen Kortextbereichen (Meltzer und Ryugo, 2006), oder den Wegfall von Inhibition aus dem ipsilateralen CN induziert sein. Bilaterale Interaktionen im Hirnstamm bei akustischer Verarbeitung und nach Schädigungen wurden im DCN mehrfach beschrieben (Brozoski et al., 2002; Davis, 2005; Ingham et al., 2006; Joris und Smith, 1998).

Der dorsale Kern des CN empfängt zudem somatosensorische Efferenzen. Die Aktivitätszunahme im CN könnte deshalb durch Änderungen der Aktivität im

## **Diskussion**

---

somatosensorischen System moduliert worden sein. Die schallexponierten Tiere zeigten im somatosensorischen Kortex Aktivitätssteigerungen. Die kortikale Aktivität beider Modalitäten könnte über Projektionen in den CN übertragen werden (Weedman und Ryugo, 1996; Wolff und Kunzle, 1997). Dementsprechend konnte im Tiermodell bereits gezeigt werden, dass sich exzitatorische somatosensorische Eingänge in den CN nach Cochleaschädigung verstärken (Ahlf et al., 2012; Dehmel et al., 2012; Shore et al., 2008; Zeng et al., 2009). Der verstärkte somatosensorische Einfluss auf die Aktivität im DCN nach Deprivation betont die Wichtigkeit multimodaler Interaktion bei der Tinnitusgenese und könnte auch in diesem Modell einen wesentlichen Beitrag zur Entstehung leisten. Somatosensorisch-auditorische Interaktionen finden meist im extralemniscalen auditorischen System statt, zu dem auch der DCN und sekundäre Areale des AC gehören. Die extralemniscale Bahn ist außerdem mit vielen Strukturen des limbischen Systems verbunden (Moller, 2006). Rein hypothetisch wäre es möglich, dass der durch den Hörschaden reduzierte Eingang in einer verminderten Aktivität im kontralateralen AC resultiert. Der Wegfall kommissuraler Inhibition könnte dann im ipsilateralen AC und dem kontralateralen CN für eine verstärkte Aktivierung verantwortlich sein. Der kontralaterale CN könnte zusätzlich das Signal im ipsilateralen AC über lemniscale oder extralemniscale aufsteigende Projektionen verstärken. Informationen aus dem SC, somatosensorischen und limbischen Regionen könnten die Aktivität zusätzlich fördern. Die beobachteten Aktivitätsanstiege in diesen Regionen könnten zusammen letztendlich für eine Geräuschwahrnehmung verantwortlich sein. Das untere auditorische System zeigte eventuell keine Aktivierung gegenüber den Kontrollen, da die auditorischen, multimodalen und limbischen Informationen erst im dorsalen AC vollständig konvergieren und die Tinnitusaktivität folglich über die Wahrnehmungsschwelle gehoben wird. Die besonders kontralateral zur Expositionseite auftretenden Änderungen könnten den Einfluss lateraler Effekte bei der Tinnituserstehung betonen. Dieser Einfluss könnte zum Teil aus der lateral ungleichen Eingangsstärke resultieren, die das unilaterale Schalltrauma verursacht hat.

## **Diskussion**

---

### Veränderter Glukosemetabolismus in anderen Regionen

In den meisten Tinnitusmodellen geht man davon aus, dass für die Tinnituswahrnehmung eine Aktivierung des auditorischen Kortex notwendig ist (Langguth et al., 2006; Mahlke und Wallhäuser-Franke, 2004; Muhnickel et al., 1998; Roberts et al., 2010). Neuere Studien postulieren, dass eine bewusste Wahrnehmung jedoch zusätzlich die Aktivierung limbischer und aufmerksamkeitssteuernder Areale erfordert, die die sensorische Tinnitusinformation in ein weitverzweigtes Netzwerk integriert (Leaver et al., 2010; Schlee et al., 2008; Vanneste et al., 2011a). Im Tiermodell konnten bisher nur Anhaltspunkte für die Beteiligung der Amygdala bei der Tinnituserstehung gefunden werden (Mahlke und Wallhäuser-Franke, 2004).

Die Tiere mit Verhaltensanzeichen einer Tinnituswahrnehmung zeigten in dieser Arbeit neben den Unterschieden im auditorischen System auch spezifische Veränderungen in nicht auditorischen Gebieten. Aktivitätsveränderungen waren im kontralateralen Hippocampus, der ipsilateralen Amygdala, dem Gyrus cinguli, dem Striatum, dem Nucleus accumbens, dem Bulbus olfactorius, dem Superior Colliculus und dem TRN zu beobachten. Schallexponierte Tiere mit Tinnitusanzeichen zeigten im Vergleich zu Tieren ohne Tinnituswahrnehmung ipsilateral Aktivitätsveränderungen im Striatum, im Gyrus cinguli, im Colliculus superior, im Globus pallidus, während kontralateral der TRN aktiviert war.

Die Verringerung der Aktivität in der ipsilateralen Amygdala bei Tieren mit Tinnituswahrnehmung ist wahrscheinlich ein Ausdruck des spezifischen Tinnitusaktivitätsmusters, da die Region keine Änderung in der schallexponierten Gesamtgruppe aufweist. Die Amygdala spielt eine wesentliche Rolle bei der emotionalen Bewertung und Verarbeitung auditorischer Stimuli und ist wie in Kapitel 4.3. beschrieben maßgeblich an der Ausbildung der Furchtgedächtnisses beteiligt (Armony et al., 1998; Sander et al., 2003). Eigene Arbeiten zeigten nach bilateralem Impulstrauma im akuten Stadium eine Erhöhung der 2-DG Aufnahme im zentralen Kern der Amygdala und auch nach Salicylatinjektion zur Tinnitusauslösung findet sich eine Erhöhung der Anzahl immunoreaktiver Neurone für das aktivitätsanzeigende Protein c-fos und das plastizitätsrelevante Protein arg3.1 im zentralen Kern (Mahlke und Wallhäuser-Franke, 2004). In der vorliegenden Arbeit

## Diskussion

---

wurde im akuten Stadium nach Schalltrauma in der Amygdala keine Aktivitätssteigerung nachgewiesen, während in der Tinnitus-wahrnehmenden Gruppe nach zwei Wochen eine Reduktion der Glukoseaufnahme in der ipsilateralen Amygdala beobachtet wurde. Im Gegensatz zu der eigenen, oben erwähnten Studie wurde in der vorliegenden Arbeit das Schalltrauma unter Narkose durchgeführt. Die Prozedur war somit für das Tier deutlich stressfreier und man kann davon ausgehen, dass die Amygdala deshalb unter Narkose weniger stark aktiviert wird. Eine Verringerung der akuten Tinnituswahrnehmung durch Isoflurananästhesie konnte auch in einer anderen Studie gezeigt werden (Norman et al., 2012). Die reduzierte Glukoseaufnahme zwei Wochen nach Trauma, die nur in den Gruppe der Geräusch-wahrnehmenden Tiere beobachtet wurde unterstreicht die Annahme, dass die Amygdala eine zentrale Rolle bei der Manifestation eines Tinnitus spielt. Da das veränderte Aktivierungsmuster in der Amygdala anscheinend nicht durch die Prozedur des Traumas verursacht wurde, könnte man annehmen, dass der anhaltende Hörschaden, oder die Geräuschwahrnehmung selbst die Änderungen induziert. Generell integriert die Amygdala Eingänge aus dem MGB und dem AC und könnte somit die störende, auditorische Tinnitusinformation weiter ins limbische System leiten (LeDoux und Romanski, 1993b).

Im Nucleus accumbens war das 2-DG Signal bei Tieren erhöht, die Verhaltensanzeichen für Tinnitus bei schmalbandigem Hintergrundrauschen zeigten. Strukturelle und funktionelle Änderungen zeigen sich hier auch bei Tinnituspatienten. Im Nucleus accumbens ist eine Abnahme grauer Substanz nachgewiesen worden (Mühlau et al., 2006) und bei frequenzspezifischer akustischer Stimulation mit der Tinnitusfrequenz kommt es zu deutlicher Hyperaktivität. Eine strukturelle Volumenänderung zugunsten der grauen Substanz im ventromedialen präfrontalen Kortex korrelierte dabei mit dem Grad der Hyperaktivität (Leaver et al., 2011). Beim Menschen besitzt der Kern unter anderem eine Funktion bei der Evaluierung signifikanter Stimuli (Kable und Glimcher, 2009). Eventuell wird das im ipsilateralen AC generierte Tinnitussignal über den Nucleus accumbens verstärkt, weil es als relevant eingestuft wird. Die limbisch modulierte, Tinnitusinformation könnte über den Globus pallidus, der im Vergleich zu den schallexponierten, aber nicht Tinnitus-wahrnehmenden Tieren eine Aktivitätszunahme aufweist, in thalamische Kerne wie

## Diskussion

---

den TRN gelangen (Gandia et al., 1993; Gasca-Martinez et al., 2010; Mogenson et al., 1983). Hier lässt sich ebenfalls eine Steigerung des 2-DG Signals beobachten. Der TRN ist dann in der Lage direkt die Kommunikation zwischen MGB und AC zu modulieren (Leaver et al., 2011) und kann folglich direkt die in den AC eingehende Signalstärke verändern, wodurch die Lautstärke des Tinnitus reguliert werden könnte. Der TRN empfängt von den primärsensorischen Thalamuskernen und Kortex topographisch organisierte Projektionen und sendet die Projektionen aber nur direkt zurück zu den thalamischen Gebieten (Budinger et al., 2006; Crabtree 1999). Die Eingänge sind exzitatorisch, während die Rückprojektionen zum Thalamus inhibitorisch sind. Folglich bietet dieses Netzwerk eine ideale Organisation um die Eingangsaktivität des Kortex zu regulieren. Deshalb wird angenommen, dass der TRN wesentlich daran beteiligt ist, die thalamischen Kerne in einen Ausgangszustand zu versetzen so dass der Kortex periodisch die eigene Verarbeitung mit der aktuellen eingehenden sensorischen Information abgleichen kann (Crick, 1984). Dieser Mechanismus wurde im Detail für das visuelle System untersucht (Crabtree, 1999; McAlonan et al., 2006). In einer Reihe von Studien wurde eine Dysrhythmie in der auditorischen thalamokortikalen Oszillation als neuronales Korrelat von Tinnitus vorgeschlagen (Adjamian et al., 2012; deRidder 2011; Llinas et al., 1999; Walton und Llinas, 2010). Die möglicherweise limbisch beeinflusste Aktivitätssteigerung im TRN könnte eine Ursache dieser Dysrhythmie sein.

Die Tiere, die bei engfrequentem Hintergrundrauschen Anzeichen für eine Tinnituswahrnehmung besaßen, zeigten außerdem eine lokal sehr begrenzte Steigerung der Aktivität in der CA3 Region des kontralateralen Hippocampus. Eine Beteiligung des Hippocampus könnte die Bedeutung von Gedächtnismechanismen bei der Aufrechterhaltung eines Tinnitus reflektieren. Studien an Ratten haben etwa gezeigt, dass ein akustisches Trauma das Verhalten von „*place cells*“ stört und hippocampale Neurogenese inhibiert (Goble et al., 2009; Kraus et al., 2010). Verhaltensversuche zum räumlichen Lernen zeigten jedoch keine Beeinträchtigung des räumlichen Gedächtnisses nach starkem akustischen Trauma mehrere Monate nach Exposition (Zheng et al., 2011b). Eine chronische Schallexposition einige Stunden am Tag über einen Monat beeinträchtigt bei Ratten jedoch das räumliche

## Diskussion

---

Gedächtnis (Cui et al., 2009), was mit vermehrten oxidativen Stress und der Ausschüttung von Stresshormonen in Zusammenhang gebracht wurde (Manikandan et al., 2006). Stress-induzierte Veränderungen synaptischer Plastizität können zur Verminderung der Gedächtnisleistung führen (Shors et al., 1990) und von Stresshormonen ist bekannt, dass sie LTP im Hippocampus beeinträchtigen (Kim et al., 2007; Maggio und Segal, 2010). Eine Rolle des Hippocampus bei der Pathogenese von Tinnitus wird außerdem unterstützt durch humane Befunde, in denen chronische Tinnituspatienten eine Abnahme der grauen Substanz zeigen (Landgrebe et al., 2009).

Das Striatum zeigte beim Vergleich der Tinnitus-wahrnehmenden Tiere mit den Kontrollen sowohl eine großvolumige Zunahme in zentralen Bereichen, als auch eine Abnahme in einem schmalen Streifen am medialen Rand auf. Auditorische Information gelangt über Projektionen aus dem MGB und dem primären und sekundären AC, sowie über dem Nucleus peripeduncularis direkt in das Striatum (Clugnet et al., 1990; LeDoux et al., 1991; LeDoux et al., 1985; Moriizumi und Hattori, 1991; Roger und Arnault, 1989). Axonale Projektionen aus allen Schichten des AC erreichen das Striatum meist in kaudalen Bereichen (LeDoux et al., 1985; LeDoux et al., 1991; Moriizumi und Hattori, 1991; Reale und Imig, 1983). Neurone in Striatum und Amygdala antworten auf auditorische Stimuli, wobei viele der auditorisch erregbaren Neurone im Striatum, im Gegensatz zur Amygdala, bei Ratten eine engere Frequenzspezifität ihrer charakteristischen Frequenz besitzen (Bordi et al., 1993; Bordi und LeDoux, 1994a+b). Ähnlich wie in der Amygdala kommt es im Striatum und Globus pallidus zur Integration auditorischer und somatosensorischer Stimuli und zu einer Weitergabe dieser Information an höhere motorische Zentren (Chudler et al., 1995; Romanski et al., 1993a). Beim Menschen existiert wahrscheinlich eine bilaterale und negative Korrelation zwischen Putamen und AC bei der bewussten Detektion gleichmäßiger akustischer Stimuli. Bei einer Intensitätsdiskriminierungsaufgabe wurden bessere Ergebnisse erzielt, wenn temporär gleichmäßige, periodische akustische Stimuli präsentiert und aufgrund der Lautstärke unterschieden wurden. Dies führte im fMRT zu einer Aktivitätszunahme im Putamen und einer Abnahme im AC, die nicht bei Präsentation zeitlich ungleichmäßiger Stimuli beobachtet werden konnte. Hier steigerte sich die Aktivität

## **Diskussion**

---

im AC (Geiser et al., 2012). Interessanterweise konnte in Patientenstudien bereits gezeigt werden, dass die Stimulation dorsaler striataler Neurone die Lautstärke eines Tinnitus verändern kann (Cheung und Larson, 2010; Larson und Cheung, 2012). Dieser Befund deutet darauf hin, dass das Striatum eine Rolle beim sensorischen Gating der Wahrnehmung des Phantomgeräuschs spielen könnte. Aufgrund der in dieser Arbeit beobachteten Aktivitätsänderungen könnte es auch in diesem Mausmodell möglich sein, dass das Striatum das Gating der Tinnitusinformation beeinflusst.

Bei den Tieren mit Anzeichen einer Tinnituswahrnehmung zeigte sich weiterhin eine Aktivitätsabnahme im olfaktorischen Bulbus. Die Abnahme könnte Ausdruck auditorisch-olfaktorischer Interaktionen sein, die bisher aber nur wenig untersucht wurden. Das Interaktionen bestehen konnte aber bereits gezeigt werden (Cohen et al., 2011; LaBuissonnière-Ariza et al., 2012). Akustisch induzierter Stress verursacht eine Erhöhung von Noradrenalin, was zur Auslöschung einer olfaktorischen Gewöhnung bei Ratten führt, die über Rezeptoren im piriformen Kortex vermittelt wurde (Smith et al., 2009). Das ein durch den Tinnitus induzierter, erhöhter Spiegel adrenerger Neurotransmitter für die beobachtete Änderung verantwortlich sein könnte erscheint möglich, bleibt aber spekulativ.

Funktionelle Veränderungen des auditorischen Systems und der Amygdala konnten in Tiermodellen bereits beobachtet werden (Lobarinas et al., 2008; Mahlke und Wallhäuser-Franke, 2004). In Patientenstudien wurde außerdem eine mögliche Beteiligung des frontalen, prefrontalen und parietalen Kortex, der Hippocampusformation und des Nucleus accumbens gezeigt (u.a. Landgrebe et al., 2009; Mühlau et al., 2006; Vanneste et al., 2011a). Das auch der SC und das Striatum eine Rolle bei der Tinnituserstehung spielen könnten wurde bis jetzt jedoch nicht demonstriert.

### **4.8 Auditorisch-limbische Interaktionen bei der Tinnituserstehung**

Die Ergebnisse der Arbeit haben gezeigt, dass es nach schallinduzierter Tinnituserstehung zu einer Reihe von Aktivitätsveränderungen im auditorischen und limbischen System kam, die durch multimodale Einflüsse moduliert sein könnten. Die



## Diskussion

---

Daten weisen im Vergleich zu bisherigen Tiermodellen, die den Gehirnstoffwechsel oder die elektrische Aktivität untersuchen, einige Besonderheiten auf. So konnte die potentielle Beteiligung von Arealen, besonders des limbischen Systems, in einem Tiermodell bisher nicht in dieser Vielzahl gezeigt werden. Ein Grund dafür könnte die fehlende Narkose sein, die es hier erlaubt, emotionale und Aufmerksamkeitsaspekte des Tinnitus abzubilden. Eventuell wurden aber auch Aktivitätsänderungen dieser Areale nicht in Betracht gezogen und Methoden benutzt, die eine a priori Auswahl von Regionen verlangen. Weiterhin wurde in der vorliegenden Arbeit eine erhöhte Aktivität ausschließlich auf der ipsilateralen, nicht exponierten Seite, dem limbischen System und dem Striatum beobachtet. Im akuten, wie auch im chronischen Stadium waren hingegen keine nachweisbaren Aktivitätssteigerungen auf der exponierten Seite des auditorischen Systems zu beobachten.

Die Mäuse mit Verhaltensanzeichen einer engfrequenten Tinnituswahrnehmung zeigten im kontralateralen AC eine Reduktion des 2-DG Signals, während der ipsilaterale dorsale AC und der TRN eine Steigerung aufwies. In der ipsilateralen Amygdala und medialen striatalen Bereichen zeigte sich eine Reduktion, während im CG, im zentralen Striatum, im Hippocampus, im Globus pallidus und im Nucleus accumbens bei verschiedenen Vergleichen eine Zunahme der Aktivität gefunden wurde (siehe Kapitel 3.7 und 4.7). Um neue Erkenntnisse über die Interaktion der an der Tinnituspathogenese beteiligten Gehirnregionen zu gewinnen, wurde außerdem eine interregionale Korrelationsanalyse durchgeführt (Abb. 35), deren Ergebnis im folgenden zusammen mit den Daten der SPM Analyse diskutiert wird.

Eventuell repräsentieren die Aktivitätsänderungen der verschiedenen Gehirnregionen, ähnlich der Situation im Menschen, die drei Komponenten einer Tinnituswahrnehmung, die in einem Modell von Shulman identifiziert wurden (Shulman et al., 2009). Dieses postuliert, dass bei Patienten sensorische, emotionale und psychomotorische Komponenten der Tinnituswahrnehmung existieren, denen anatomische Substrate zugeordnet werden können und die gemeinsam das Krankheitsbild des Tinnitus entstehen lassen.

## **Diskussion**

---

### Sensorische Komponente

Die sensorische Komponente des Tinnitus entsteht demnach in einem beliebigen Kern des aufsteigenden auditorischen Systems und wird getriggert durch absteigende Projektionen, multimodale Beeinflussung und laterale Inhibition, wodurch begrenzt thalamokortikale, synchrone Aktivität aufgebaut werden könnte. Die chronischen Kontrollgruppen zeigten positive Korrelationen innerhalb des auditorischen Systems, die auch interhemisphärisch zwischen Mittelhirn, Thalamus und AC auftraten und auf einen ausgeglichenen Gesamtaktivitätszustand des auditorischen Systems hindeuten könnten (Abb. 35 C). Die akuten Kontrolltiere zeigten ähnliche, starke Korrelationen im auditorischen System, von denen einige aufgrund der geringeren Tierzahl aber das Iterationsausschlussverfahren nicht überlebten (Abb. 35 A). Bei den schallexponierten Tieren waren die interhemisphärischen Korrelationen im MGB im akuten Stadium zwar noch vorhanden, verschwanden aber im chronischen Zustand vollständig und betrafen dort auch die interhemisphärische Korrelation zwischen dem ipsilateralen MGB und dem kontralateralen AC. Der kontralaterale MGB war jedoch immer noch mit dem kontralateralen AC korreliert. (Abb. 35 C, D). Das gleiche Muster zeigte sich auch für die Untergruppe der Tiere mit Tinnituswahrnehmung (Abb. 35 C, E). Die Veränderungen des Korrelationsmusters im oberen auditorischen System könnten Ausdruck einer akuten und chronischen Störung des thalamokortikalen Systems sein, die durch die lateral ungleichmäßige Eingangsaktivität verursacht wurde. Eine Störung der thalamokortikalen Verarbeitung wurde bereits als neuronales Korrelat eines Tinnitus vermutet (Adjamian et al., 2012; Llinas et al., 1999; deRidder et al., 2011; Walton und Llinas, 2010). Gemäß diesem Modell wird ein Tinnitus verursacht durch spontane und konstante Aktivität im Gammaband, generiert durch Hyperpolarisation des MGB (Llinas et al., 1999). Im Menschen findet ein Wechsel von Alpha- zu Gammabandaktivität bei akustischer Stimulation statt (Crone et al., 2001; Joliot et al., 1994; Tiitinen et al., 1993) und bei Tinnituspatienten reduziert sich das Alphaband zugunsten von Gammabandaktivität im Grundzustand. Die Frequenz der Oszillation steht dabei in Zusammenhang mit der Aufmerksamkeit bezüglich der Tinnituswahrnehmung (Lorenz et al., 2009). Diese Aktivitätsveränderung könnte durch den TRN, dessen Aktivität durch das limbische System reguliert wird, und

## Diskussion

---

kortikofugale Projektionen des AC beeinflusst sein. Kortikofugale Verbindungen des AC erreichen den IC und die auditorischen Kerne des Hirnstamms, wodurch das *Gating* aufsteigender auditorischer Information in das thalamokortikale System verändert werden könnte und mittelfristig plastische Veränderungen induziert werden, die die eingehende Signalstärke dauerhaft modifizieren (He, 2003; Edeline und Weinberger, 1992; Gao und Suga, 2000; Zhou und Jen, 2000). Mit der 2-DG Methode kann zwar keine Aussage über die elektroenzephalographische Aktivität des thalamokortikalen Systems getroffen werden, die Veränderungen des Korrelationsmusters zusammen mit den Änderungen der 2-DG Aufnahme in beiden Hemisphären des AC zeigen aber, dass im oberen auditorischen System Veränderungen aufgetreten sind, die die Interaktion der auditorischen Kerne veränderte.

Die Tinnitusaktivität wird irgendwo im zentralen auditorischen System zwischen Hirnstamm (CN, SOC), IC, MGB und A1 generiert und gelangt vom AC über direkte Projektionen zum OFC, zu CG und der Insula. Schon im MGB sind jedoch Projektionen zum Nucleus accumbens und anderen Kernen des limbischen Systems vorhanden (Shulman et al., 2009). Multimodal integrierte sensorische Information gelangt über reziproke Projektionen des AC mit dem somatosensorischen Kortex, SC, IC, und Thalamus zum Cerebellum (Shulman und Strashun, 1999; Stein, 1998). Verbindungen von Thalamus und Kortex zu Hippocampus, Amygdala, ento- und perirhinalem Kortex bilden dann ein inneres System zur Verarbeitung der sensorischen Information (John, 2005), dass den Tinnitus als paradoxe Wahrnehmung im Gedächtnis etabliert und durch Stress verstärkt werden könnte. Die Korrelationsanalyse zeigt im akuten Stadium nach dem Schalltrauma, dass der ipsilaterale ENT mit dem kontralateralen CN negativ korreliert (Abb. 35 B). Eine funktionelle Bedeutung des kontralateralen ENT im akuten traumatischen Zustand wird auch deutlich durch die positiven Korrelationen mit beiden Hemisphären des CG. Beim Menschen wird eine Aktivierung des Parahippocampus im chronischen Tinnitusnetzwerk funktionell mit der stetigen Aktualisierung der Tinnituswahrnehmung in Verbindung gebracht, die schlussendlich verhindert, dass eine Habituation für die Geräuschwahrnehmung eintritt (deRidder et al., 2006). In Ratten konnte bereits elektrophysiologisch nachgewiesen werden, dass der ENT bei der Habituation des

## Diskussion

---

auditorischen *Gatings* eine Rolle spielt (Bickford et al., 1993). Deshalb kann angenommen werden, dass auch im akuten Stadium nach einem Schalltrauma der ENT eine Rolle beim veränderten *Gating* auditorischer Information spielen könnte, da eine Aktivierung stattfindet je geringer die auditorische Eingangsaktivität ist.

Im chronischen posttraumatischen Zustand zeigte sich eine zu der Kontrollgruppe erhöhte Korrelation zwischen kontralateralem AC und der Insula (Abb. 35 D). Bereits im akuten Stadium war die Aktivität der kontralateralen Insula verringert, was zu diesem Zeitpunkt möglicherweise direkt durch die Reduktion der Aktivität im AC verursacht war und auf eine Verringerung der Eingangssignale durch die Deafferenzierung aufgrund der Cochleaschädigung hindeuten könnte. Bei Tinnituspatienten die ein schweres Leidensempfinden entwickelt haben zeigt die Insula eine Zunahme von Alphaaktivität (Vanneste et al., 2010), was mit ihrer Rolle bei der subjektiven emotionalen Regulation und Körper selbstwahrnehmung zusammenhängen könnte (Craig, 2003). Die Aktivität in der Insula wird unter anderem mit verbesserter Geräuschwahrnehmung in Verbindung gebracht (Sadaghiani et al., 2009). Dementsprechend wird die Insula als ein wichtiger Verbindungsknoten zwischen den sensorischen Systemen und präfrontalen und frontalen Bereichen angesehen, der überschwellige Stimuli verarbeitet und auch schon Verhaltens-relevante Zielsetzungen integriert (Eckert et al., 2009; Seeley et al., 2007; Sridharan et al., 2008).

### Emotionale Komponente

Eine emotionale Komponente könnte durch präfrontale und frontale Bereiche des limbischen Systems generiert werden, die zusammen mit auditorischen Arealen über die Insula die affektive Wahrnehmung beeinflussen. Die Amygdala könnte im akuten und subakuten Stadium die Tinnitusaktivität in diesem Netzwerk verstärken. In Humanstudien konnte nach der Stimulation mit aversiven Geräuschen dementsprechend gezeigt werden, dass es nicht nur zur Aktivierung der Amygdala, sondern auch zur Aktivitätszunahme in anderen, weit verzweigten kortikalen und subkortikalen Arealen kommt, unter anderem der Insula, dem Striatum und dem Cerebellum (Zald und Pardo, 2002).

Eine Rolle des OFC bei der Umwandlung der sensorischen Komponente zu

## Diskussion

---

emotionalen Tinnitus-symptomen könnte in diesem Mausmodell durch die zu den Kontrollen signifikant unterschiedliche Korrelationsstärke des kontralateralen OFC mit dem ipsilateralen CN einerseits und des ipsilateralen OFC mit dem kontralateralen auditorischen System andererseits angedeutet werden (Abb. 35 E). Bedingt durch die lateral unterschiedliche Signalstärke eingehender Stimuli aufgrund des unilateralen Schalltraumas scheint es hier zu einer lateral unausgeglichene Verarbeitung zwischen exponierter und nicht exponierter Hemisphäre gekommen zu sein, die vom OFC detektiert und beeinflusst werden könnte. Ein Unterschied in der Korrelationsstärke zur Kontrolle zeigte sich bereits im akuten Stadium zwischen kontralateralem OFC und Striatum, was andeutet, dass schon früh nach peripherer Schädigung der OFC seine Funktion an reduzierte auditorische Eingänge anpassen könnte. In Zusammenarbeit mit der Amygdala ist der orbitofrontale Kortex (OFC) ein wichtiges, zentrales Verbindungsglied bei der Verarbeitung von Emotionen und Inhalten des Gedächtnisses (Goldman-Rakic und Porrino, 1985). Die Fokussierung der Aufmerksamkeit auf emotional bedeutende Stimuli wird durch Verbindungen von der Amygdala zum OFC vermittelt (Gallagher und Holland, 1994, Ghashghaei et al., 2007). Die emotionale Verarbeitung auditorischer Stimuli durch den OFC konnte bereits gezeigt werden (Blood et al., 1999; Wheeler et al., 1993). Zusammen mit dem Insulakortex spielt der OFC außerdem eine wesentliche Rolle bei der *top-down* Modulation physiologischer Reaktionen des Organismus auf emotionale Erfahrungen (Critchley et al., 2004; Ohira et al., 2006; Phillips et al., 2003). Die Störung der Verarbeitung im OFC könnte deshalb ein wesentlicher Teil der neuronalen Repräsentation eines Tinnitus sein, die bei der sensorisch affektiven Umwandlung der Tinnitus-symptome eine Rolle spielt (Shulman et al., 2009). Die starken Änderung im Korrelationsmuster machen deutlich, dass auch bei der Maus eine Beeinflussung des Tinnitus durch den OFC bestehen könnte.

### Aufmerksamkeit und psychomotorische Komponente

Die anatomischen Substrate einer möglichen psychomotorischen Komponente in der Maus könnten die prefrontalen und sekundärmotorischen Bereiche, das Striatum und das Cerebellum sein. Bei allen chronischen SPM-Vergleichen der schallexponierten Tiere und der Untergruppe der Tiere mit Tinnituswahrnehmung war eine Zunahme

## Diskussion

---

der Aktivität im Striatum und anterioren CG vorhanden, die teilweise in den sekundären motorischen Kortex hineinreichte. Der anteriore cinguläre Kortex ist beim Menschen ein wesentlicher Bestandteil eines Netzwerks, das wichtige motivationale und emotionale Informationen integriert (Craig, 2003; Critchley et al., 2001). Das betreffende Netzwerk, zu dem unter anderem auch der Insula Kortex gehört, wurde außerdem mit der *bottom-up* Detektion von relevanten Ereignissen zur Fokussierung der Aufmerksamkeit und adäquater Reaktion des Organismus auf diese Ereignisse in Zusammenhang gebracht (Medford und Critchley, 2010; Menon und Uddin, 2010; Seeley et al., 2007). Die Stärke der Wahrnehmung eines Tinnitus ist wahrscheinlich durch Aufmerksamkeit modulierbar (Searchfield et al., 2007). Beim Menschen ist für die bewusste Wahrnehmung eines sensorischen Stimulus die Aktivierung primärer sensorischer Areale eine notwendige, aber keine hinreichende Bedingung (Boly et al., 2005; Dehaene et al., 2006). Womöglich kodiert eine Aktivierung im primären AC nur die Lautstärke, die beim Bewusstwerden der Wahrnehmung außerdem vom *Gating* des Striatums abhängig ist (Asutay und Västfjäll, 2012; Geiser et al., 2012; Jancke et al., 1998). Eine Aktivierung cingulärer und supplementärer motorischer Regionen könnte notwendiger Bestandteil für eine bewusste Wahrnehmung sein (Boly et al., 2005, Laureys et al., 2000), wie für die Verarbeitung visueller und somatosensorischer Stimuli gezeigt wurde (deLafuente und Romo, 2005; Melloni et al., 2007). Die Aktivität innerhalb dieses Netzwerks korreliert mit verbesserter Geräuschwahrnehmung, was die Rolle bei der aufmerksamkeitsgesteuerten Regulation zugunsten der Hörwahrnehmung verdeutlicht (Sadaghiani et al., 2009). Es ist deshalb wahrscheinlich, dass die Aktivierung des AC zwar die Lautstärke eines Tinnitus vermittelt (vanderLoo et al., 2009), die synchrone Aktivität im präfrontalen und supplementären motorischen Kortex aber eine Voraussetzung für die bewusste Wahrnehmung eines Tinnitus ist (deRidder et al., 2011; Schlee et al., 2008; Vanneste et al., 2011a; Vanneste et al., 2011c). Im Menschen werden bei akustischen Diskriminierungsaufgaben der AC und supramodale frontoparietale Netzwerke aktiviert (Kiehl et al., 2001; Kiehl et al., 2005; Mitchell et al., 2005; O'Leary et al., 1996). Bei richtiger Detektion erfolgte eine Aktivierung im AC, frontoparietalen Regionen, CG und Striatum, weshalb vermutet werden kann, dass auditorische Diskriminierung wesentlich auf *bottom-up* und *top-*

## **Diskussion**

---

*down* Interaktionen basiert (Diekhof et al., 2009; Mitchell et al., 2005).

Das beobachtete Aktivitätsmuster könnte das anatomische Substrat einer bewussten Tinnituswahrnehmung in der Maus sein. Auditorische und multimodale thalamokortikale Aktivität könnte reziprok parietale und limbische Regionen aktivieren. Die Aktivitätsveränderungen in limbischen Regionen bei den Tieren mit Verhaltensanzeichen einer Geräuschwahrnehmung weisen darauf hin, dass das im auditorischen System generierte und störende Tinnitusgeräusch im limbischen System bewertet werden könnte. Auch weil sonstiger auditorischer Eingang aufgrund des Hörschadens reduziert ist könnte eine verstärkte Fokussierung auf die Tinnitusaktivität stattfinden. Über Interaktionen präfrontaler Regionen mit dem Striatum und dem sekundären Motorkortex könnte dann durch Aufmerksamkeitsausrichtung und Kognition die Umwandlung der sensorischen und emotionalen Komponente zur bewussten Wahrnehmung stattfinden.

### Tinnitus bei Mäusen und Menschen

In der vorliegenden Arbeit wurden zum ersten mal eine Reihe an Gehirnregionen in einem Tiermodell detektiert, die in Patientenstudien in den letzten Jahren als Teil der Tinnituspathophysiologie identifiziert wurden. Zwei Wochen nach dem Schalltrauma zeigten Hippocampus, präfrontaler Kortex, TRN, Striatum, Nucleus accumbens, SC, sekundäre motorische Areale und ipsilateraler AC Aktivitätsveränderungen bei den Tieren mit Verhaltensanzeichen einer Tinnituswahrnehmung. Bei Studien an Patienten wurden entsprechend strukturelle oder funktionelle Veränderungen im Hippocampus (Landgrebe et al., 2009), präfrontalen Kortex (Vanneste et al., 2011a; Schlee et al., 2008), Striatum (Cheung und Larson, 2010; Larson und Cheung, 2012), Nucleus accumbens (Mühlau et al., 2006), AC (Langguth et al., 2006; vanderLoo et al., 2009; Smits et al., 2007) und im supplementären Motorareal (Vanneste et al., 2011a; Vanneste et al., 2011c) als Teil der Tinnituspathophysiologie identifiziert. Generell deuten die korrelierten funktionellen und strukturellen Veränderungen im limbischen und auditorischen System weitreichende Änderungen in der limbisch-kortikostriatalen Verarbeitung beim Patienten an, die die Stimulusrelevanz des Tinnitus verstärken können (Leaver et al., 2011).

Die hier präsentierten Daten zeigen, dass diese Aussage auch für das Mausmodell

## **Diskussion**

---

zutreffen könnte. Weiterhin unterstützen die Daten die Ansicht, dass die Verhaltensanzeichen der Tinnituswahrnehmung nicht durch die Überaktivität unabhängiger, einzelner Neurone in einem distinkten Kern des auditorischen Systems hervorgerufen werden, sondern dass das verhaltensphänotypische und neuronale Korrelat des Tinnitus auch bei der Maus vielmehr das Resultat pathologischer Veränderung in einem weitverzweigten kortikostriatalen Netzwerk ist. Die falsche Einordnung der Relevanz des Tinnitus durch das limbische System könnte zur Folge haben, dass eine Verstärkung der Wahrnehmung erfolgt. Dementsprechend zeigen die Daten der 2-DG-Bildgebung und der Korrelationsanalyse deutlich, dass nicht nur das auditorische System an der Tinnituserstehung beteiligt ist, sondern auch Gehirnregionen, die für Aufmerksamkeit und Emotionen verantwortlich sind. Das hier etablierte Modell eröffnet somit die Möglichkeit die Wirkung neuer Therapien auf alle Komponenten und Hirnregionen gleichzeitig zu untersuchen.

### **4.9 Ausblick**

Das Tiermodell liefert die Grundlage für eine Reihe weiterer Untersuchungen. Hauptsächlich sollte mit der 2-DG Bildgebung, der Lückendetektion und den Hörschwellenmessungen der weitere zeitliche Verlauf der Tinnituserstehung verfolgt werden. Es könnte eine Charakterisierung von akutem, subakutem und chronischem Stadium mit Hilfe der 2DG-Bildgebung erfolgen. Es ist anzunehmen, dass sich die Aktivitätsmuster zu späteren Zeitpunkten von den in dieser Arbeit beobachteten unterscheiden. Eventuell sind später weniger Regionen aktiv, wodurch aussichtsreiche Interventionszeitpunkte abgeleitet werden könnten.

Die Daten weisen darauf hin, dass laterale Effekte die Tinnituserstehung begünstigen könnten. Wenn die kontralateral zur Expositionsseite beobachteten Aktivierungen des kontralateralen CN und des ipsilateralen AC durch verringerte kommissurale Inhibition verursacht worden ist, könnte eventuell durch eine kontinuierliche elektrophysiologische Stimulation des kontralateralen AC die Aktivitätszunahme verringert und die Verhaltensanzeichen von Tinnitus unterdrückt werden.



## **Diskussion**

---

Des Weiteren könnte der Einfluss emotionaler Faktoren untersucht werden, indem z.B zusätzlicher Stress induziert wird. Akut, während des Schalltraumas, könnte dazu auf eine Narkose verzichtet werden. Im weiteren Verlauf könnten die Tiere wiederholt in die beim Trauma vorhandene, schalltote Umgebung platziert oder zeitweise immobilisiert werden. Eventuell entwickelt so ein größerer Anteil der Tiere die Verhaltensanzeichen einer Geräuschwahrnehmung und die Aktivierungsmuster verstärken sich.

Mit der Anwendung weiterer Verhaltensversuche könnten sich Tinnitus bedingte Verhaltensabweichungen zeigen, die durch die Experimente zur sozialen Interaktion nicht aufgedeckt werden konnten. Besonders die Untersuchung der Aufmerksamkeitsregulation und des räumlichen Lernens könnte bei Tieren mit Tinnituswahrnehmung verändert sein.

Zuletzt könnten die identifizierten Gehirnregionen mit anderen Methoden untersucht werden. Durch elektrophysiologische in vivo Ableitungen und histologische Studien könnten Erkenntnisse über den Anteil von Inhibition und Exzitation, sowie oszillatorischer oder synchronisierter Aktivität gewonnen werden.

### Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Mausmodell zur Untersuchung Tinnitus-spezifischer neuronaler Aktivierungsmuster etabliert. Dazu wurde der Glukosemetabolismus mit Hilfe der 2-Deoxy-D-[14C]-glukose (2-DG) Methode zwei Stunden und zwei Wochen nach unilateralem Schalltrauma im Gehirn der Tiere untersucht. Mit Hilfe eines auf einem Startlreflex beruhenden Verhaltensparadigmas wurden die Tiere in Geräusch-wahrnehmende und nicht Geräusch-wahrnehmende Tiere unterteilt, um so das Tinnitus-spezifische Aktivierungsmuster zu identifizieren. Eine konditionale Arg3.1-Knockout-Mauslinie diente dazu den Einfluss plastischer Veränderungen auf die Tinnitusgenese zu untersuchen und ein Verhaltenstest zur sozialen Interaktion, um mögliche Anzeichen für die in Patienten häufig beobachtete emotionale Belastung durch das Phantomgeräusch zu detektieren.

Durch audiometrische Messungen konnte ein permanenter Hörschaden auf dem exponierten Ohr zwei Wochen nach dem unilateralen Schalltrauma gemessen werden, der vor allem Frequenzen oberhalb des Traumafrequenzbereichs betraf. Schallexponierte Tiere zeigten generell eine Reduktion der Glukoseaufnahme entlang der aufsteigenden Hörbahn der exponierten Seite, während akut und nach zwei Wochen zusätzlich Veränderungen in der Glukoseaufnahme im Striatum, somatosensorischen Kortex, Gyrus cinguli, orbitofrontalen Kortex, Insula Kortex, Colliculus superior und dem Cerebellum gefunden wurden. In 71% der Tiere konnte über das Startle-Paradigma die Wahrnehmung eines Phantomgeräuschs nachgewiesen werden. Dabei zeigten 28% der Tiere eine Wahrnehmung in einem breiten Frequenzbereich, 24% in einem schmalen Frequenzbereich unterhalb der Traumafrequenz und 48% der Tiere in einem schmalen Frequenzbereich oberhalb der Traumafrequenz. In einigen Tieren (19%) wurde eine Tinnitus-spezifische Wahrnehmung in mehreren Frequenzbändern gefunden. Die Gruppe der Geräusch-wahrnehmenden Tiere zeigte im Vergleich zu den Kontrollieren eine Reduktion der 2-DG Aufnahme im kontralateralen auditorischen Kortex (AC), während im ipsilateralen AC eine erhöhte Aktivierung bei Tieren mit einer engfrequenten Geräuschwahrnehmung beobachtet wurde. Weiterhin wurden in der Tinnitusgruppe spezifische Änderungen im kontralateralen Hippocampus, der ipsilateralen Amygdala, dem Gyrus cinguli, dem Striatum, dem Nucleus accumbens, dem Bulbus

## **Zusammenfassung**

---

olfactorius, dem Superior Colliculus und dem thalamischen Nucleus reticularis (TRN) detektiert. Schall-exponierte Tiere mit Tinnitusanzeichen zeigten im Vergleich zu Tieren ohne Anzeichen einer Tinnituswahrnehmung ipsilateral Aktivitätsveränderungen im Striatum, Gyrus cinguli, Colliculus superior und dem Globus pallidus, während kontralateral der TRN und der Nucleus cochlearis aktiviert war. In den Arg3.1-Knockout-Mäusen zeigte sich ein stark veränderter Glukosemetabolismus im Grundzustand, so dass eine spezifische Diskussion der Aktivierungsmuster nicht möglich ist. Eine reduzierte Prävalenz der Tinnitusentstehung konnte jedoch nicht nachgewiesen werden, da auch in dieser Gruppe 82% der Tiere Hinweise auf eine Geräuschwahrnehmung zeigten. Die hier durchgeführten Untersuchungen zur sozialen Interaktion konnten keine Anzeichen für eine besondere Belastung durch die Geräuschwahrnehmung detektieren.

In dem hier etablierten Modell konnten erstmalig Tinnitus-spezifische Aktivierungsmuster im Gesamtgehirn von wachen Mäusen detektiert werden. Die Veränderungen betreffen ein weites Netzwerk aus auditorischen, limbischen und multimodalen Gehirnregionen. Weiterhin zeigte sich, dass eine Tinnituswahrnehmung durch Veränderungen kommissuraler und kortikofugaler Projektionen unterstützt werden könnte. Die Daten stehen in Einklang mit aktuellen Patientenstudien und unterstreichen die Beteiligung komplexer Netzwerke an der Tinnitusentstehung.

### Summary

In the present study an animal model to study tinnitus-related changes in brain metabolism was established. 2-deoxy-D-[<sup>14</sup>C]-glucose (2-DG) uptake served to screen metabolic activity in the entire mouse brain two hours and two weeks after unilateral noise trauma. Tinnitus perception was evaluated using a modified version of the acoustic startle paradigm, in which a short gap was embedded in the constant background noise to inhibit the startle amplitude. An *arg3.1* conditional knockout mouse line was used to evaluate the influence of neuronal plasticity on the generation of tinnitus. Moreover, social interaction was tested to detect signs of emotional stress due to phantom sound perception, which is very common in tinnitus patients.

After unilateral noise trauma, auditory brain stem responses (ABR) revealed a permanent threshold shift on the exposed ear. This particularly affected frequencies above the trauma stimulus frequency. Noise exposed animals exhibited a reduction of 2-DG uptake along the afferent auditory pathway on the exposed side. In contrast, elevated activity was detected in the striatum, the somatosensory cortex, the cingulate gyrus (CG), orbitofrontal cortex, insula cortex, superior colliculus and the cerebellum. 71% of noise exposed animals demonstrated indications of phantom sound perception via the startle paradigm. Of these, 28% showed signs of phantom sound perception within a broad frequency range, 24% in a narrow frequency range below the trauma frequency and 48% within a narrow frequency range above the trauma frequency. In 19% of noise exposed animals, tinnitus perception seemed to occur in more than one frequency band. The group of tinnitus perceiving animals showed a reduction in 2-DG uptake in the contralateral auditory cortex, whereas animals with signs of phantom sound perception in the narrow frequency bands had an elevated uptake in the ipsilateral auditory cortex. Furthermore, activity changes were detected in the contralateral hippocampus, ipsilateral amygdala, cingulate gyrus, striatum, nucleus accumbens, olfactory bulb, colliculus superior and the thalamic reticular nucleus (TRN). When comparing noise exposed animals with and without behavioural indications for tinnitus, I observed differences in the ipsilateral striatum, CG, superior colliculus, globus pallidus, the contralateral TRN and cochlear nucleus.

## **Zusammenfassung**

---

Unfortunately, *arg3.1* knockout mice showed an altered glucose metabolism in the control state. Hence, a discussion of noise trauma-induced activity changes in these knockout animals is not possible. As 82% of *arg3.1* knockout mice exhibited behavioural signs for an auditory phantom perception, a reduced prevalence for tinnitus generation in this group could not be detected. In all noise exposed animals, the social interaction test demonstrated no indications of stress caused by the auditory phantom sound perception.

The established model allows for the first time the investigation of tinnitus specific activity patterns in the entire brain of awake mice. The observed changes discussed above comprise a distributed network that consists of auditory, limbic and multimodal brain regions. Moreover, the data demonstrate that tinnitus perception might be triggered by alterations in interhemispheric and corticofugal projections. The presented data is in line with recent human imaging studies and supports the hypothesis that a complex distributed network is responsible for the generation of tinnitus.

### Literaturverzeichnis

- Adamchic I, Hauptmann C, Tass PA 2012  
Changes of oscillatory activity in pitch processing network and related tinnitus relief induced by acoustic CR neuromodulation  
Front Syst Neurosci. 2012;6:18
- Adjamian P, Sereda M, Zobay O, Hall DA, Palmer AR 2012  
Neuromagnetic Indicators of Tinnitus and Tinnitus Masking in Patients with and without Hearing Loss  
J Assoc Res Otolaryngol. 2012 Oct;13(5):715-31
- Ahlf S, Tziridis K, Korn S, Strohmeyer I, Schulze H 2012  
Predisposition for and prevention of subjective tinnitus development  
PLoS One. 2012;7(10):e44519
- Ahmad M, Bohne BA, Harding GW 2003  
An in vivo tracer study of noise-induced damage to the reticular lamina  
Hear Res. 2003 Jan;175(1-2):82-100
- Allman BL, Keniston LP, Meredith MA 2009  
Adult deafness induces somatosensory conversion of ferret auditory cortex  
PNAS 2009;106(14):5925–5930
- Alvarado JC, Vaughan JW, Stanford TR, Stein BE 2007  
Multisensory Versus Unisensory Integration: Contrasting Modes in the Superior Colliculus  
J Neurophysiol. May 1, 2007 97:(5) 3193-3205
- Amaral DG, Witter MP 1995  
Hippocampal formation  
In: The Rat Nervous System. G. Paxinos, Ed.: 443–493. Academic Press. San Diego, CA
- Anderson P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'Keefe J 2007  
The hippocampal formation  
In: Anderson J; Morris R; Amaral D et al.,. The hippocampus book (first ed.). New York: Oxford University Press
- Armony JL, Quirk GJ, LeDoux JE 1998  
Differential Effects of Amygdala Lesions on Early and Late Plastic Components of Auditory Cortex Spike Trains during Fear Conditioning  
J Neurosci. 1998 Apr 1;18(7):2592-601
- Arnold W, Bartenstein P, Oestreicher E, Römer W, Schwaiger M 1996  
Focal metabolic activation in the predominant left auditory cortex in patients suffering from tinnitus: a PET study with [18F]deoxyglucose  
ORL J Otorhinolaryngol. Relat. Spec. 58, 195–199
- Ashburner J, Friston KJ 1997  
Multimodal Image Coregistration and Partitioning - a Unified Framework  
NeuroImage, 6(3):209-217, 1997
- Ashburner J, Friston KJ 1999  
Nonlinear Spatial Normalization using Basis Functions  
Human Brain Mapping, 7(4):254-266, 1999
- Ashburner J, Friston KJ 1999  
Spatial Normalization  
In: Toga AW, editor, Brain Warping, 27-44. Academic Press, 1999

## Literaturverzeichnis

---

- Ashburner J, Andersson J, Friston KJ 2000  
Image Registration using a Symmetric Prior - in Three-Dimensions  
Human Brain Mapping. 9(4):212-225, 2000
- Friston KJ, Ashburner J, Kiebel SJ, Nichols T, Penny WD 2007  
Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images  
Academic Press, 2007
- Asutay E, Västfjäll D 2012  
Perception of loudness is influenced by emotion  
PLoS One. 2012;7(6):e38660
- Attwell D, Laughlin SB 2001  
An energy budget for signaling in the grey matter of the brain  
J Cereb Blood Flow Metab. 2001 Oct;21(10):1133-45. Review
- Auker CR, Meszler RM, Carpenter DO 1983  
Apparent discrepancy between single-unit activity and [<sup>14</sup>C]deoxyglucose labeling in optic tectum of the rattlesnake  
J Neurophysiol. 1983 Jun;49(6):1504-16
- Babalian AL, Ryugo DK, Rouiller EM 2003  
Discharge properties of identified cochlear nucleus neurons and auditory nerve fibers in response to repetitive electrical stimulation of the auditory nerve  
Exp Brain Res. 2003 153:452-460
- Baguley DM 2003  
Hyperacusis  
J R Soc Med. 2003 Dec;96(12):582-5
- Bartlett EL, Smith PH 1999  
Anatomic, intrinsic, and synaptic properties of dorsal and ventral division neurons in rat medial geniculate body  
J Neurophysiol. 1999 May;81(5):1999-2016
- Basta D, Vater M 2003  
Membrane-based gating mechanism for auditory information in the mouse inferior colliculus  
Brain Res. 968, 2, 171-178
- Basta D, Ernst A. 2005  
Erratum to "Noise-induced changes of neuronal spontaneous activity in mice inferior colliculus brain slices"  
Neurosci Lett. 374, 1, 74-79
- Basta D, Tzschentke B, Ernst A 2005  
Noise-induced cell death in the mouse medial geniculate body and primary auditory cortex  
Neurosci Lett. 381, 1-2, 199-204
- Bauer CA, Brozoski TJ 2001  
Assessing tinnitus and prospective tinnitus therapeutics using a psychophysical animal model  
J Assoc Res Otolaryngol. 2001 Mar;2(1):54-64
- Bauer CA, Turner JG, Caspary DM, Myers KS, Brozoski TJ 2008  
Tinnitus and inferior colliculus activity in chinchillas related to three distinct patterns of cochlear trauma  
J Neurosci Res. 86, 11, 2564- 2578
- Bauer CA, Brozoski TJ 2011

## Literaturverzeichnis

---

- The Cerebellum as a novel tinnitus modulator  
Oral Presentation, 5th International TRI Tinnitus Conference, August 19-21, 2011
- Bickford PC, Luntz-Leybman V, Freedman R 1993  
Auditory sensory gating in the rat hippocampus: modulation by brainstem activity  
Brain Res. 607, 33–38
- Bizley JK, Nodal FR, Bajo VM, Nelken I, King AJ 2007  
Physiological and anatomical evidence for multisensory interactions in auditory cortex  
Cereb Cortex. 2007 Sep;17(9):2172-89
- Blood AJ, Zatorre RJ, Bermudez P, Evans AC 1999  
Emotional responses to pleasant and unpleasant music correlate with activity in paralimbic brain regions  
Nat Neurosci. 2, 382–387
- Bloomer WAC, VanDongen HMA, VanDongen AMJ 2008  
Arc/Arg3.1 translation is controlled by convergent N-methyl-D-aspartate and Gs-coupled receptor signaling pathways  
J Biol Chem. 283:582-592
- Bohne BA, Ward PH, Fernandez C 1976  
Irreversible inner ear damage from rock music  
Trans Sect Otolaryngol Am Acad Ophthalmol Otolaryngol. 82, 1, Seite 50-59
- Boly M, Faymonville ME, Peigneux P, Lambermont B, Damas F, Luxen A, Lamy M, Moonen G, Maquet P, Laureys S 2005  
Cerebral processing of auditory and noxious stimuli in severely brain injured patients: differences between VS and MCS  
Neuropsychol Rehabil. 15, 283–289
- Bordi F, LeDoux J, Clugnet MC, Pavlides C 1993  
Single-unit activity in the lateral nucleus of the amygdala and overlying areas of the striatum in freely behaving rats: rates, discharge patterns, and responses to acoustic stimuli  
Behav Neurosci. 1993 Oct;107(5):757-69
- Bordi F, LeDoux JE 1994a  
Response properties of single units in areas of rat auditory thalamus that project to the amygdala. I. Acoustic discharge patterns and frequency receptive fields  
Exp Brain Res. 98(2): 261-74
- Bordi F, LeDoux JE 1994b  
Response properties of single units in areas of rat auditory thalamus that project to the amygdala. II. Cells receiving convergent auditory and somatosensory inputs and cells antidromically activated by amygdala stimulation  
Exp Brain Res. 98(2): 275-286
- Brozoski TJ, Bauer CA, Rojas R, Boley J, Wyder M 1999  
Behavioral model of chronic tinnitus in rats  
Otolaryngol Head Neck Surg. 1999 Oct;121(4):457-62
- Brozoski TJ, Bauer CA, Caspary DM 2002  
Elevated fusiform cell activity in the dorsal cochlear nucleus of chinchillas with psychophysical evidence of tinnitus  
J Neurosci. 22, 6, 2383-2390
- Brozoski TJ, Bauer CA 2005  
The effect of dorsal cochlear nucleus ablation on tinnitus in rats



## Literaturverzeichnis

---

Hear Res. 206:227–236

Brozoski TJ, Spires TJ, Bauer CA 2007a  
Vigabatrin, a GABA transaminase inhibitor, reversibly eliminates tinnitus in an animal model  
J Assoc Res Otolaryngol. 8(1):105-118

Brozoski TJ, Ciobanu L, Bauer, CA 2007b  
Central neural activity in rats with tinnitus evaluated with manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI)  
Hear Res. June;228(1-2):168-179

Brozoski TJ, Wisner KW, Sybert LT, Bauer CA 2012  
Bilateral dorsal cochlear nucleus lesions prevent acoustic-trauma induced tinnitus in an animal model  
J Assoc Res Otolaryngol. 2012 Feb;13(1):55-66

Bryden DW, Johnson EE, Tobia SC, Kashtelyan V, Roesch MR 2011  
Attention for Learning Signals in Anterior Cingulate Cortex  
J Neurosci. 31(50): 18266-18274

Budinger E, Heil P, Hess A, Scheich H 2006  
Multisensory processing via early cortical stages: Connections of the primary auditory cortical field with other sensory systems  
Neuroscience. 2006 Dec 28;143(4):1065-83

Buras ED, Holt AG, Griffith RD, Asako M, Altschuler RA 2006  
Changes in glycine immunoreactivity in the rat superior olivary complex following deafness  
J Comp Neurol. 494(1),179-189

Buzsaki G, Draguhn A 2004  
Neuronal oscillations in cortical networks  
Science. 2004 Jun 25;304(5679):1926-9

Cahill L, McGaugh JL 1998  
Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory  
Trends Neurosci. 21:294–299

Cant NB 1993  
The cochlear nucleus, neuronal cell types and their synaptic organisation  
In: The Mammalian Auditory Pathway, Neuroanatomy  
Webster, DB, Pooper AN, Fay RR, Eds, 66-116, Springer Verlag, Berlin

Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ 2002  
Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex  
Neurosci. Biobehav. Rev. 26, 321–352

Carpenter-Hyland EP, Plummer TK, Vazdarjanova A, Blake DT 2010  
Arc expression and neuroplasticity in primary auditory cortex during initial learning are inversely related to neural activity.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Aug 17;107(33):14828-32

Casanova E, Fehsenfeld S, Mantamadiotis T, Lemberger T, Greiner E, Stewart AF, Schütz G. 2001  
A CamKII $\alpha$  iCre BAC allows brain-specific gene inactivation  
Genesis. 2001 Sep;31(1):37-42

Cazals Y, Horner KC, Huang ZW 1998  
Alterations in average spectrum of cochleoneural activity by long-term salicylate treatment in the guinea pig: a plausible index of tinnitus

## Literaturverzeichnis

---

J Neurophysiol. 80:2113–2120

Cheung SW, Larson PS 2010

Tinnitus modulation by deep brain stimulation in locus of caudate neurons (area LC)  
Neuroscience. 2010 Sep 15;169(4):1768-78

Chowdhury S, Shepherd JD, Okuno H, Lyford G, Petralia RS, Plath N, Kuhl D, Huganir RL, Worley PF 2006

Arc/Arg3.1 interacts with the endocytotic machinery to regulate AMPA receptor trafficking  
Neuron. 52:445-459

Chudler EH, Sugiyama K, Dong WK 1995

Multisensory convergence and integration in the neostriatum and globus pallidus of the rat  
Brain Res. 1995 Mar 13;674(1):33-45

Chun MM, Turk-Browne NB 2007

Interactions between attention and memory  
Curr Opin Neurobiol. 17: 177–184

Clugnet MC, LeDoux JE, Morrison SF 1990

Unit responses evoked in the amygdala and striatum by electrical stimulation of the medial geniculate body  
J Neurosci. 10 (1990) 1055-1061

Cohen L, Rothschild G, Mizrahi A 2011

Multisensory integration of natural odors and sounds in the auditory cortex  
Neuron. 2011 Oct 20;72(2):357-69

Crabtree JW 1999

Intrathalamic sensory connections mediated by the thalamic reticular nucleus  
Cell Mol Life Sci. 1999 Nov 15;56(7-8):683-700

Craig AD 2003

Interoception: the sense of the physiological condition of the body  
Curr Opin Neurobiol. 13, 500–505

Crick F 1984

Function of the thalamic reticular complex: the searchlight hypothesis  
Proc Natl Acad Sci USA 81:4586–4590

Critchley HD, Mathias CJ, Dolan RJ 2001

Neural activity in the human brain relating to uncertainty and arousal during anticipation  
Neuron 29, 537–545

Critchley HD, Wiens S, Rotshtein P, Ohman A, Dolan RJ 2004

Neural systems supporting interoceptive awareness  
Nat Neurosci. 7, 189–195

Crone NE, Boatman D, Gordon B, Hao L 2001

Induced electrocorticographic gamma activity during auditory perception.  
Clin Neurophysiol. 112:565–582, 2001

Cui B, Wu M, She X 2009

Effects of chronic noise exposure on spatial learning and memory of rats in relation to neurotransmitters and NMDAR2B alteration in the hippocampus  
J Occup Health. 51 (2009), 152–158

Davis KA 2005

## Literaturverzeichnis

---

Contralateral effects and binaural interactions in dorsal cochlear nucleus  
J Assoc Res Otolaryngol. 6:280–296

Dehaene S, Changeux JP, Naccache L, Sackur J, Sergent C 2006  
Conscious, preconscious, and subliminal processing: a testable taxonomy  
Trends Cogn Sci. 2006 May;10(5):204-11

Dehmel S, Pradhan S, Koehler S, Bledsoe S, Shore S 2012  
Noise overexposure alters long-term somatosensory-auditory processing in the dorsal cochlear nucleus--possible basis for tinnitus-related hyperactivity?  
J Neurosci. 2012 Feb 1;32(5):1660-71

deLafuente V, Romo R 2005  
Neuronal correlates of subjective sensory experience  
Nat Neurosci. 8, 1698–1703

Dammermann B 1999  
Herstellung und Charakterisierung einer arg3.1-knockout-Maus  
Dissertation, Hamburg (1999), ISBN 978-3-89820-056-1; 3-89820-056-6, Verlag: Mensch-und-Buch-Verl., Berlin

DeRidder D, Franssen H, Francois O, Sunaert S, Kovacs S, vandeHeyning P 2006  
Amygdalo-hippocampal involvement in tinnitus and auditory memory  
Acta Otolaryngol Suppl. 566, 50–53

DeRidder D, Elgoyhen AB, Romo R, Langguth B 2011  
Phantom percepts: tinnitus and pain as persisting aversive memory networks  
Proc Natl Acad Sci U.S.A. 108, 8075–8080

DeRidder D, van der Loo E, Vanneste S, Gais S, Plazier M, Kovacs S, Sunaert S, Menovsky T, van de Heyning P 2011  
Theta-gamma dysrhythmia and auditory phantom perception  
J Neurosurg. 2011 Apr;114(4):912-21

Doesburg SM, Green JJ, McDonald JJ, Ward LM 2012  
Theta modulation of inter-regional gamma synchronization during auditory attention control  
Brain Res. 2012 Jan 11;1431:77-85

Dornhoffer J, Danner C, Mark Mennemeier M, Donna Blake D, Garcia-Rill E 2006  
Arousal and Attention Deficits in Patients with Tinnitus  
Int Tinnitus J. 2006;12(1):9-16

Doron NN, LeDoux JE 1999  
Organization of projections to the lateral amygdala from auditory and visual areas of the thalamus in the rat  
J Comp Neurol. 412, 383-409

Diekhof EK, Biedermann F, Ruebsamen R, Gruber O 2009  
Top-down and bottom-up modulation of brain structures involved in auditory discrimination  
Brain Res. 1297, 118–123

Diesch E, Schummer V, Kramer M, Rupp A 2012  
Structural changes of the corpus callosum in tinnitus.  
Front Syst Neurosci. 2012;6:17

Dobie RA 2003  
Depression and tinnitus  
Otolaryngol Clin North Am. 36, 383–388

## Literaturverzeichnis

---

- Druga R, Syka J 1984  
Projections from auditory structures to the superior colliculus in the rat  
*Neurosci. Lett.* 45, 3, 6 April 1984, 247–252
- Dubois A, Hérard AS, Flandin G, Duchesnay E, Besret L, Frouin V, Hantraye P, Bonvento G, Delzescaux T 2008  
Quantitative validation of voxel-wise statistical analyses of autoradiographic rat brain volumes: application to unilateral visual stimulation  
*Neuroimage.* 2008 Apr 1;40(2):482-94
- Duelli R, Kuschinsky W 2001  
Brain glucose transporters: relationship to local energy demand  
*News Physiol Sci.* 2001 Apr;16:71-6. Review
- Eckert MA, Menon V, Walczak A, Ahlstrom J, Denslow S, Horwitz A, Dubno1 JR 2009  
At the Heart of the Ventral Attention System: the Right Anterior Insula  
*Hum Brain Mapp.* 2009 August ; 30(8): 2530–2541
- Edeline JM, Weinberger NM 1991  
Thalamic short-term plasticity in the auditory system: associative returning of receptive fields in the ventral medial geniculate body  
*Behav Neurosci* 105: 618-639, 1991
- Edeline JM, Weinberger NM 1992  
Associative returning in the thalamic source of input to the amygdala and auditory cortex: Receptive field plasticity in the medial division of the medial geniculate body  
*Behav Neurosci* 106:81–105
- Eggermont JJ, Kenmochi M 1998  
Salicylate and quinine selectively increase spontaneous firing rates in secondary auditory cortex  
*Hear Res.* 1998 Mar;117(1-2):149-60
- Eggermont JJ, Roberts LE 2004  
The neuroscience of tinnitus  
*Trends Neurosci.* 27(11), 676-682
- Eggermont JJ 2008  
Role of auditory cortex in noise- and drug-induced tinnitus  
*Am J Audiol.* 2008 Dec;17(2):S162-9. Epub 2008 Oct 31
- Ehret G, Moffat A 1984  
Noise masking of tone responses and critical ratios in single units of the mouse cochlear nerve and cochlear nucleus  
*Hear Res.* 14:45-57 1984
- Ehret G 1979  
Quantitative analysis of nerve fibre densities in the cochlea of the house mouse (*Mus musculus*).  
*J Comp Neurol.* 1979 Jan 1;183(1):73-88
- Ehret G, Romand R 1997  
The Central Auditory System  
Oxford University Press, New York, Oxford
- Ehret E, Stiebler 1985  
The inferior Colliculus of the house mouse: A quantitative study of tonotopic organisation, frequency representation, and tone-threshold distribution  
*J Comp Neurol.* 1985 Aug 1;238(1):65-76

## Literaturverzeichnis

---

Ehret G, und Romand R 1997

The central auditory pathway

Oxford University Press, New York

Ekerot CF, Garwicz M, Jorntell H 1997

The control of forelimb movements by intermediate cerebellum

Prog Brain Res. 1997;114:423-9. Review

Engineer ND, Percaccio CR, Pandya PK, Moucha R, Rathbun DL, Kilgard MP 2004

Environmental enrichment improves response strength, threshold, selectivity, and latency of auditory cortex neurons

J Neurophysiol. 92, 1, 73-82

Engineer ND, Riley JR, Seale JD, Vrana WA, Shetake JA, Sudanagunta SP, Borland MS, Kilgard MP 2011

Reversing pathological neural activity using targeted plasticity

Nature 470, 101–104

Etkin A, Egner T, Kalisch R 2011

Emotional processing in anterior cingulate and medial prefrontal cortex

Trends Cogn Sci. 2011 February; 15(2): 85–93

Evans EF 1972

The frequency response and other properties of single fibres in the guinea-pig cochlear nerve

J Physiol. 1972 Oct;226(1):263-87.

Everitt BJ, Robbins TW 1992

Amygdala–ventral striatum interactions and reward-related processes

In: Aggleton, JP (Ed.), The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction Wiley-Liss, New York, 401–430

Faingold CL, Randall ME 1999

Neurons in the deep layers of superior colliculus play a critical role in the neuronal network for audiogenic seizures: mechanisms for production of wild running behavior

Brain Res. 1999 Jan 9;815(2):250-8

Faye-Lund H 1985

The neocortical projection to the inferior colliculus in the albino rat

Anat Embryol (Berl). 1985;173(1):53-70

Fendt M, Li L, Yeomans JS 2001

Brain stem circuits mediating prepulse inhibition of the startle reflex

Psychopharmacology (Berl). 2001 Jul;156(2-3):216-24. Review

Feldmann H 1998

Tinnitus; Grundlagen einer rationalen Diagnostik und Therapie

Thieme Verlag, Stuttgart, New York

Ferragamo MJ, Oertel D 2001

Functional Circuitry of the Cochlear Nucleus In Vitro Studies in Slices

In: Willott JF, Handbook of Mouse Auditory Research. From Behavior to Molecular Biology , 297-316, CRC Press, Boca Raton, Florida

Forcelli PA, West EA, Murnen AT, Malkova L 2012

Ventral pallidum mediates amygdala-evoked deficits in prepulse inhibition.

Behav Neurosci. 2012 Apr;126(2):290-300

## Literaturverzeichnis

---

Fries P, Nikolic D, Singer W 2007

The gamma cycle

Trends Neurosci. 30, 309–316

Frisina D, Walton P 2001

Neuroanatomy of the central auditory system

In: Willott JF, Handbook of Mouse Auditory Research. From Behavior to Molecular Biology, 245-278, CRC Press, Boca Raton, Florida

Fukunaga K, Rich DP, Soderling TR 1989

Generation of the Ca<sup>2+</sup>(+)-independent form of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II in cerebellar granule cells

J Biol Chem. 1989 Dec 25;264(36):21830-6

Gallagher M, Holland PC 1994

The amygdala complex: Multiple roles in associative learning and attention

Proc Natl Acad Sci U S A 91:11771–11776

Games KD, Winer JA 1988

Layer V in rat auditory cortex: projections to the inferior colliculus and contralateral cortex

Hear Res. 1988 Jul 1;34(1):1-25

Gandia JA, De Las Heras S, García M, Giménez-Amaya JM 1993

Afferent projections to the reticular thalamic nucleus from the globus pallidus and the substantia nigra in the rat

Brain Res Bull. 1993;32(4):351-8

Gao E, Suga N 2000

Experience-dependent plasticity in the auditory cortex and the inferior colliculus of bats: Role of the corticofugal system

Proc Natl Acad Sci U S A. 97:8081–8086

Gao M, Sossa K, Song L, Errington L, Cummings L, Hwang H, Kuhl D, Worley P, Lee HK 2010

A specific requirement of Arc/Arg3.1 for visual experience-induced homeostatic synaptic plasticity in mouse primary visual cortex

J Neurosci. 2010 May 26;30(21):7168-78

Gasbarri A, Verney C, Innocenzi R, Campana E, Pacitti C 1994

Mesolimbic dopaminergic neurons innervating the hippocampal formation in the rat: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study

Brain Res. 668: 71–79

Gasca-Martinez D, Hernandez A, Sierra A, Valdiosera R, Anaya-Martinez V, Floran B, Erij D, Aceves J 2010

Dopamine inhibits GABA transmission from the globus pallidus to the thalamic reticular nucleus via presynaptic D4 receptors

Neuroscience. 2010 Sep 15;169(4):1672-81

Geiser E, Notter M, Gabrieli JD 2012

A corticostriatal neural system enhances auditory perception through temporal context processing

J Neurosci. 2012 May 2;32(18):6177-82

Gerken GM 1996

Central tinnitus and lateral inhibition: an auditory brainstem model

Hear Res. 97, 75-83

Geyer MA, Swerdlow NR 2001

Measurement of startle response, prepulse inhibition, and habituation

## Literaturverzeichnis

---

Curr Protoc Neurosci. 2001 May;Chapter 8:Unit 8.7

Geyer MA, McIlwain KL, Paylor R 2002  
Mouse genetic models for prepulse inhibition: An early review  
Molec Psych. 7:1039-1053

Geyer MA, Dulawa SC 2003  
Assessment of murine startle reactivity, prepulse inhibition, and habituation  
Curr Protoc Neurosci. 2003 Nov;Chapter 8:Unit 8.17.

Ghashghaei HT, Hilgetag CC, Barabas H 2007  
Sequence of information processing for emotions based on the anatomic dialogue between prefrontal cortex and amygdala  
Neuroimage. 34:905–923, 2007

Ghoshal A, Tomarken A, Ebner F. Ghoshal A, Tomarken A, Ebner F 2011  
Cross-Sensory Modulation of Primary Sensory Cortex Is Developmentally Regulated by Early Sensory Experience  
J Neurosci. 2011 Feb 16;31(7):2526-36

Gil-Loyzaga P, Carricondo F, Bartolome MV, Iglesias MC, Rodriguez F, Poch-Broto J 2009  
Cellular and molecular bases of neuroplasticity: brainstem effects after cochlear damage  
Acta Otolaryngol. 2010 Mar;130(3):318-25

Giorgi C, Yeo, GW, Stone ME, Katz DB, Burge C, Turrigiano G, Moore MJ 2007  
The EJC factor eIF4AIII modulates synaptic strength and neuronal protein expression  
Cell. 130:179-191

Goble TJ, Moller AR, Thompson LT 2009  
Acute high-intensity sound exposure alters responses of place cells in hippocampus  
Hear Res. 253(1-2):52–59, 2009

Goebel G, Hiller W 1994  
The tinnitus questionnaire. A standard instrument for grading the degree of tinnitus. Results of a multicenter study with the tinnitus questionnaire  
HNO. 1994 Mar;42(3):166-72

Goel A, Lee HK 2007  
Persistence of experience-induced homeostatic synaptic plasticity through adulthood in superficial layers of mouse visual cortex  
J Neurosci 27: 6692-6700

Granado N, Ortiz O, Suarez LM, Martin ED, Cena V, Solis JM, Moratalla R 2008  
D1 but not D5 dopamine receptors are critical for LTP, spatial learning, and LTP-induced Arc and zif268 expression in the hippocampus  
Cereb Cortex. 2008 Jan;18(1):1-12

Greenwood SM, Connolly CN 2007  
Dendritic and mitochondrial changes during glutamate excitotoxicity  
Neuropharmacology. 53, 8, 891-898

Groenewegen HJ, Berendse HW, Wolters JG, Lohman AH 1990  
The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization  
Prog Brain Res. 1990 ;85:95-116

Groenewegen HJ, Wright CI, Uylings HB 1997  
The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia

## Literaturverzeichnis

---

J Psychopharmacol. 1997;11(2):99-106

Goldman-Rakic PS, Porrino RR 1985  
The primate medio dorsal (MD) nucleus and its projections to the frontal lobe  
J Comp Neurol. 242:535–560, 1985

Guitton MJ, Caston J, Ruel J, Johnson RM, Pujol R, Puel JL 2003  
Salicylate induces tinnitus through activation of cochlear NMDA receptors  
J Neurosci. 2003 May 1;23(9):3944-52.

Guitton MJ 2006  
Tinnitus and anxiety: more than meet the ears  
Curr Psychiatry Rev. 2006;2:333–8

Guitton MJ 2009  
Tinnitus-provoking salicylate treatment triggers social impairments in mice  
J Psychosom Res. 2009 Sep;67(3):273-6

Guldin WO, Pritzel M, Markowitsch HJ 1981  
Prefrontal cortex of the mouse defined as cortical projection area of the thalamic mediodorsal nucleus  
Brain Behav Evol. 1981;19:93-107

Guzowski JF, Lyford GL, Stevenson GD, Houston FP, McGaugh JL, Worley PF, Barnes CA 2000  
Inhibition of activity-dependent arc protein expression in the rat hippocampus impairs the maintenance of long-term potentiation and the consolidation of long-term memory  
J Neurosci. 2000 Jun 1;20(11):3993-4001

Hackett TA, Barkat TR, O'Brien BM, Hensch TK, Polley DB 2011  
Linking topography to tonotopy in the mouse auditory thalamocortical circuit  
J Neurosci. 2011 Feb 23;31(8):2983-95

Halford JB, Anderson SD 1991  
Anxiety and depression in tinnitus sufferers  
J Psychosom Res. 1991;35:383–90

Harding GW, Bohne BA, Vos JD 2005  
The effect of an age-related hearing loss gene (Ahl) on noise-induced hearing loss and cochlear damage from low-frequency noise  
Hear Res. 2005 Jun;204(1-2):90-100

Harris KC, Dubno JR, Keren NI, Ahlstrom JB, Eckert M 2009  
Speech recognition in younger and older adults: a dependency on low-level auditory cortex  
J Neurosci. 29, 19, 6078-6087

He J 2003  
Corticofugal modulation of the auditory thalamus  
Exp Brain Res. (2003) 153: 579–590

Heffner HE, Heffner RS 1990  
Effect of bilateral auditory cortex lesions on sound localization in Japanese macaques  
J Neurophysiol. 1990 Sep;64(3):915-31

Heffner HE, Harrington IA 2002  
Tinnitus in hamsters following exposure to intense sound  
Hear Res. 2002 Aug;170(1-2):83-95

Hefti BJ, Smith PH 2000



## Literaturverzeichnis

---

Anatomy, physiology, and synaptic responses of rat layer V auditory cortical cells and effects of intracellular GABA(A) blockade  
J Neurophysiol. 2000 May;83(5):2626-38

Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH 2006  
The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss  
Ear Hear. 2006 Feb;27(1):1-19

Henry JA, Dennis KC, Schechter MA 2005  
General review of tinnitus: Prevalence, mechanisms, effects, and management  
J Speech Lang. Hear. Res. 48, 1204–1235

Henry JA, Schechter MA, Zaugg TL, Griest S, Jastreboff PJ, Vernon JA, Kaelin C, Meikle MB, Lyons KS, Stewart BJ 2006  
Clinical trial to compare tinnitus masking and tinnitus retraining therapy  
Acta Otolaryngol Suppl. 2006 Dec;(556):64-9

Herbert H, Aschoff A, Ostwald J 1991  
Topography of projections from the auditory cortex to the inferior colliculus in the rat  
J Comp Neurol. 1993 Feb 15;328(3):377-92.

Hirose K, Liberman MC 2003  
Lateral wall histopathology and endocochlear potential in the noise-damaged mouse cochlea  
J Assoc Res Otolaryngol. 2003 Sep;4(3):339-52

Hirsch JA, Oertel D  
Synaptic connections in the dorsal cochlear nucleus of mice, in vitro.  
J Physiol. 1988 Feb;396:549-62

Holmes S, Padgham ND 2011  
"Ringing in the ears": narrative review of tinnitus and its impact  
Biol Res Nurs. 2011 Jan;13(1):97-108

Holschneider DP, Yang J, Sadler TR, Nguyen PT, Givrad TK, Maareke MI 2006  
Mapping cerebral blood flow changes during auditory-cued conditioned fear in the nontethered, nonrestrained rat  
Neuroimage. 2006 February 15; 29(4): 1344–1358

Holt AG, Asako M, Lomax CA, MacDonald JW, Tong L, Lomax MI, Altschuler RA 2005  
Deafness-related plasticity in the inferior colliculus: gene expression profiling following removal of peripheral activity  
J Neurochem. 2005 Jun;93(5):1069-86

Hoover WB, Vertes RP 2007  
Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat.  
Brain Struct Funct  
Brain Struct Funct. 2007 Sep;212(2):149-79

Horie M, Meguro R, Hoshino K, Ishida N, Norita M 2012  
Neuroanatomical study on the tecto-suprageniculate-dorsal auditory cortex pathway in the rat  
Neuroscience. 2012 Oct 30;228C:382-394

Hsu WC, Tzen KY, Huy PT, Duet M, Yeh TH 2009  
An animal model of central auditory pathway imaging in the rat brain by high resolution small animal positron emission tomography  
Acta Otolaryngol. 2009 Apr;129(4):423-8

Hu BH, Henderson D, Nicotera TM 2002

## Literaturverzeichnis

---

Involvement of apoptosis in progression of cochlear lesion following exposure to intense noise  
Hear Res. 166, 1-2, 62-71

Hu BH 2007

Delayed mitochondrial dysfunction in apoptotic hair cells in chinchilla cochleae following exposure to impulse noise

Apoptosis. 2007 Jun;12(6):1025-36

Hu BH, Zheng GL 2008

Membrane disruption: an early event of hair cell apoptosis induced by exposure to intense noise

Brain Res. 1239,107-118

Hultcrantz M, Li HS 1993

Inner ear morphology in CBA/Ca and C57BL/6J mice in relationship to noise, age and phenotype.

Eur Arch Otorhinolaryngol. 1993;250(5):257-64

Hutson KA, Durham D, Imig T, Tucci DL 2008

Consequences of Unilateral Hearing Loss: Cortical Adjustment to Unilateral Deprivation

Hear Res. 2008 March; 237(1-2):19–31

Ingham NJ, Bleeck S, Winter IM 2006

Contralateral inhibitory and excitatory frequency response maps in the mammalian cochlear nucleus

Eur J Neurosci. 24:2515–2529

Imig TJ, Durham D 2005

Effect of unilateral noise exposure on the tonotopic distribution of spontaneous activity in the cochlear nucleus and inferior colliculus in the cortically intact and decorticate rat

J Comp Neurol. 2005 Oct 3;490(4):391-413

Irvine DR, Rajan R, Smith S 2003

Effects of restricted cochlear lesions in adult cats on the frequency organization of the inferior colliculus

J Comp Neurol. 467, 3, 354-374

Irvine DR 2007

Auditory cortical plasticity: does it provide evidence for cognitive processing in the auditory cortex?

Hear Res. 229, 1-2, 158-170

Ishida Y, Nakahara D, Hashiguchi H, Nakamura M, Ebihara K, Takeda R, Nishimori T, Niki H 2002

Fos expression in GABAergic cells and cells immunopositive for NMDA receptors in the inferior and superior colliculi following audiogenic seizures in rats

Synapse. 2002 Nov;46(2):100-7

Ison JR, Castro J, Allen P, Virag TM, Walton JP 2002

The relative detectability for mice of gaps having different ramp durations at their onset and offset boundaries

J Acoust Soc Am. 2002 Aug;112(2):740-7

Ivanova TN, Matthews A, Gross C, Mappus RC, Gollnick C, Swanson A, Bassell GJ, Liu RC 2011

Arc/Arg3.1 mRNA expression reveals a subcellular trace of prior sound exposure in adult primary auditory cortex.

Neuroscience. 2011 May 5;181:117-26

Izquierdo MA, Gutierrez-Conde PM, Merchan MA, Malmierca MS 2008

Non-plastic reorganization of frequency coding in the inferior colliculus of the rat following noise-induced hearing loss

Neuroscience. 154, 1, 355-369

## Literaturverzeichnis

---

- Jancke L, Shah N J, Posse S, Grosse-Ryuken M, Muller-Gartner HW 1998  
Intensity coding of auditory stimuli: an fMRI study  
*Neuropsychologia* 36, 875–883
- Jansen S, Wagner J, Gröschel M, Ernst A, Basta D 2012  
Effects of sudden unilateral deafness on bilateral spiral ganglion cell density  
Jansen S, Posterbeitrag BNF-Meeting Liebenwalde July 6 2012
- Jastreboff PJ, Brennan JF, Coleman JK, Sasaki CT 1986  
A behavioral paradigm for tinnitus in rats  
*Assoc Res Otolaryngol.* 1986; 9:111-2
- Jastreboff PJ, Brennan JF, Sasaki CT 1988  
Phantom auditory sensation in rats: An animal model for tinnitus  
*Behav Neurosci.* 1988; 102: 811–22
- Jastreboff PJ 1990  
Phantom auditory perception (tinnitus): mechanisms of generation and perception  
*Neurosci Res.* 1990 Aug;8(4):221-54
- Jastreboff PJ 2007  
Tinnitus retraining therapy  
*Prog Brain Res.* 2007;166:415-23. Review
- Jeanmonod D, Magnin M, Morel A 1996  
Low-threshold calcium spike bursts in the human thalamus. Common physiopathology for sensory, motor and limbic positive symptoms  
*Brain.* 1996 Apr;119 ( Pt 2):363-75
- John ER 2005  
From synchronous neuronal discharges to subjective awareness?  
*Prog Brain Res.* 150:143–171, 2005
- Joliot M, Ribary U, Llinás R 1994  
Human oscillatory brain activity near 40 Hz coexists with cognitive temporal binding  
*Proc Natl Acad Sci U S A.* 91:11748–11751
- Jolkkonen E, Pitkanen A 1998  
Intrinsic connections of the rat amygdaloid complex: projections originating in the central nucleus  
*J Comp Neurol.* 395, 53-72
- Jones MW, Wilson MA 2005  
Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task  
*PLoS Biol.* 2005 Dec;3(12):e402
- Joris PX, Smith PH 1998  
Temporal and binaural properties in dorsal cochlear nucleus and its output tract  
*J Neurosci.* 1998 Dec 1;18(23):10157-70
- Kable JW, Glimcher PW 2009  
The neurobiology of decision: consensus and controversy.  
*Neuron.* 2009 Sep 24;63(6):733-45
- Kadunce DC, Vaughan JW, Wallace MT, Benedek G, Stein BE 1997  
Mechanisms of within- and cross-modality suppression in the superior colliculus.  
*J Neurophysiol.* 1997 Dec;78(6):2834-47
- Kai Kai MA, Pentreath VW 1981

## Literaturverzeichnis

---

High resolution analysis of [3H]2-deoxyglucose incorporation into neurons and glial cells in invertebrate ganglia: histological processing of nervous tissue for selective marking of glycogen  
J Neurocytol. 1981 Aug;10(4):693-708

Kaltenbach JA, McCaslin D, 1996  
Temporal plasticity of changes in the dorsal cochlear nucleus following exposure to intense sound  
ARO Abstr. 19, 168

Kaltenbach JA, Godfrey DA, Neumann JB, McCaslin DL, Afman CE, Zhang J 1998  
Changes in spontaneous neural activity in the dorsal cochlear nucleus following exposure to intense sound: relation to threshold shift  
Hear Res. 1998 Oct;124(1-2):78-84

Kaltenbach JA 2006  
The dorsal cochlear nucleus as a participant in the auditory, attentional and emotional components of tinnitus  
Hear Res. 2006 Jun-Jul;216-217:224-34 Review

Kamke MR, Brown M, Irvine DR 2003  
Plasticity in the tonotopic organization of the medial geniculate body in adult cats following restricted unilateral cochlear lesions  
J Comp Neurol. 459, 4, 355-367

Kavanagh GL, Kelly JB 1987  
Contribution of auditory cortex to sound localization by the ferret (*Mustela putorius*)  
J Neurophysiol. 1987 Jun;57(6):1746-66

Kelly JB, Buckthought AD, Kidd, SA 1998  
Monaural and binaural properties of single neurons in the rat's dorsal nucleus of the lateral lemniscus  
Hear Res. 1998 Aug;122(1-2):25-40

Keniston LP, Allman BL, Meredith MA 2011  
Hearing-impairment in adult ferrets induces partial crossmodal conversion of core auditory cortex  
Soc Neurosci Abstr. 41 (476) (2011), p. 13

Keuroghlian AS, Knudsen EI 2007  
Adaptive auditory plasticity in developing and adult animals  
Prog Neurobiol. 82, 3, 109-121

Kiehl KA, Laurens KR, Duty TL, Forster BR, Liddle PF 2001  
Neural sources involved in auditory target detection and novelty processing: an event-related fMRI study  
Psychophysiology. 2001 Jan;38(1):133-42

Kiehl KA, Stevens MC, Laurens KR, Pearlson G, Calhoun VD, Liddle PF 2005  
An adaptive reflexive processing model of neurocognitive function: supporting evidence from a large scale (n=100) fMRI study of an auditory oddball task  
NeuroImage. 25, p899-915

Kilgard MP, Merzenich MM 1998  
Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity  
Science. 279, 5357, 1714-1718

Kim J, Morest DK, Bohne B A 1997  
Degeneration of axons in the brainstem of the chinchilla after auditory overstimulation  
Hear Res. 103, 1-2, 169-191

## Literaturverzeichnis

---

- Kim JJ, Gross J, Morest DK, Potashner SJ 2004a  
Quantitative study of degeneration and new growth of axons and synaptic endings in the chinchilla cochlear nucleus after acoustic overstimulation  
J Neurosci Res. 77, 6, 829-842
- Kim JJ, Gross J, Potashner SJ, Morest DK 2004b  
Fine structure of long-term changes in the cochlear nucleus after acoustic overstimulation: chronic degeneration and new growth of synaptic endings  
J Neurosci Res. 77, 6, 817-828
- Kim JJ, Haller J 2007  
Glucocorticoid hyper- and hypofunction: stress effects on cognition and aggression  
Ann N Y Acad Sci. 2007 Oct;1113:291-303
- King AJ, Jiang ZD, Moore DR 1998  
Auditory brainstem projections to the ferret superior colliculus: anatomical contribution to the neural coding of sound azimuth  
J Comp Neurol. 1998 Jan 19;390(3):342-65
- Kisley MA, Cornwell ZM 2006  
Gamma and beta neural activity evoked during a sensory gating paradigm: effects of auditory, somatosensory and cross-modal stimulation  
Clin Neurophysiol. 2006 Nov;117(11):2549-63
- Kitzes LM, Doherty D 1994  
Influence of callosal activity on units in the auditory cortex of ferret (*Mustela putorius*)  
J Neurophysiol. 1994 May;71(5):1740-51
- Koch M, Schnitzler HU 1997  
The acoustic startle response in rats--circuits mediating evocation, inhibition and potentiation  
Behav Brain Res. 1997 Dec;89(1-2):35-49
- Koch M, 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. 1993;93(2):231-41
- Koch M 1999  
The neurobiology of startle  
Prog Neurobiol. 1999 Oct;59(2):107-28
- König O, Schaette R, Kempter R, Gross M 2006  
Course of hearing loss and occurrence of tinnitus  
Hear Res. 2006 Nov;221(1-2):59-64
- Komiya H, Eggermont JJ 2000  
Spontaneous Wring activity of cortical neurons in adult cats with reorganized tonotopic map following puretone trauma  
Acta Otolaryngol. 120, 750-756
- Kotak VC, Fujisawa S, Lee FA, Karthikeyan O, Aoki, C, Sanes DH 2005  
Hearing loss raises excitability in the auditory cortex  
J Neurosci. 25, 15, 3908-3918
- Kraus KS, Mitra S, Jimenez Z, Hinduja S, Ding D, Jiang H, Gray L, Lobarinas E, Sun W, Salvi RJ 2010  
Noise trauma impairs neurogenesis in the rat hippocampus  
Neuroscience. 2010 Jun 2;167(4):1216-26

## Literaturverzeichnis

---

- Kujawa SG, Liberman MC 2009  
Adding Insult to Injury: Cochlear Nerve Degeneration after “Temporary” Noise-Induced Hearing Loss  
J Neurosci. 2009 Nov 11;29(45):14077-85
- La Buissonnière-Ariza V, Frasnelli J, Collignon O, Lepore F 2012  
Olfactory priming leads to faster sound localization  
Neurosci Lett. 2012 Jan 11;506(2):188-92
- Landgrebe M, Langguth B, Rosengarth K, Braun S, Koch A, Kleinjung T, May A, deRidder D, Hajak G 2009  
Structural brain changes in tinnitus: grey matter decrease in auditory and non-auditory brain areas  
Neuroimage. 46, 213–218
- Langers DR, deKleine E, van Dijk P 2012  
Tinnitus does not require macroscopic tonotopic map reorganization  
Front Syst Neurosci. 6:2
- Langguth B, Eichhammer P, Kreutzer A, Maenner P, Marienhagen J, Kleinjung T, Sand P, Hajak G 2006  
The impact of auditory cortex activity on characterizing and treating patients with chronic tinnitus--first results from a PET study  
Acta Otolaryngol Suppl. 2006 Dec;(556):84-8
- Langguth B 2011  
A review of tinnitus symptoms beyond “ringing in the ears”: a call to action  
Curr Med Res Opin. 2011 Aug;27(8):1635-43
- Langguth B, Landgrebe M, Frank E, Scheckmann M, Sand PG, Vielsmeier V, Hajak G, Kleinjung T 2012  
Efficacy of different protocols of transcranial magnetic stimulation for the treatment of tinnitus: Pooled analysis of two randomized controlled studies  
World J Biol Psychiatry. 2012 Aug 22. [Epub ahead of print]
- Langner G, Wallhäuser-Franke E 1999  
Computer simulation of a tinnitus model based on labeling of tinnitus activity in the auditory cortex  
6th Int. Tinnitus Seminar, Cambridge, 20-25
- Lanting CP, DeKleine E, Bartels H, VanDijk P 2008  
Functional imaging of unilateral tinnitus using fMRI  
Acta Otolaryngol. 128 (2008), pp. 415–421
- Larson PS, Cheung SW 2012  
Deep brain stimulation in area LC controllably triggers auditory phantom percepts  
Neurosurgery. 2012 Feb;70(2):398-405
- Laureys S, Faymonville ME, Degueldre C, Fiore GD, Damas P, Lambermont B, Janssens N, Aerts J, Franck G, Luxen A, Moonen G, Lamy M, Maquet P 2000  
Auditory processing in the vegetative state  
Brain. 2000 Aug;123 ( Pt 8):1589-601
- Leaver AM, Renier L, Chevillet MA, Morgan S, Kim HJ, Rauschecker JP 2011  
Dysregulation of limbic and auditory networks in tinnitus  
Neuron 69, 33–43
- LeDoux JE, Ruggiero DA, Reis DJ 1985  
Projections to the subcortical forebrain from anatomically defined regions of the medial geniculate body in the rat

## Literaturverzeichnis

---

J Comp Neurol. 1985 Dec 8;242(2):182-213

LeDoux JE, Sakaguchi A, Iwata J, Reis DJ 1986  
Interruption of projections from the medial geniculate body to an archi-neostriatal field disrupts the classical conditioning of emotional responses to acoustic stimuli  
Neuroscience. 1986 Mar;17(3):615-27

LeDoux JE, Cicchetti P, Zagoraris A, Romanski LM 1990  
The lateral amygdaloid nucleus: Sensory interface of the amygdala in fear conditioning  
J Neurosci. 1990 Apr;10(4):1062-9

LeDoux JE, Farb CR, Romanski LM 1991  
Overlapping projections to the amygdala and striatum from auditory processing areas of the thalamus and cortex  
Neurosci Lett. 1991 Dec 16;134(1):139-44

LeDoux JE 1994  
Emotion, memory and the brain. Review  
Scientific American, 270(6): 32-39

LeDoux J 2003  
The emotional brain, fear, and the amygdala  
Cell Mol Neurobiol. 2003 Oct; 23(4-5): 727-38

Lee JS, Ahn SH, Lee DS, Oh SH, Kim CS, Jeong JM, Park KS, Chung JK, Lee MC 2005  
Voxel-based statistical analysis of cerebral glucose metabolism in the rat cortical deafness model by 3D reconstruction of brain from autoradiographic images  
Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2005 Jun;32(6):696-701

Levine RA 1999  
Somatic modulation appears to be a fundamental attribute of tinnitus  
In: Proceedings of the Sixth International Tinnitus Seminar, (Hazell J, ed), pp 193–197. London

Levine RS, Abel M, Cheng H 2003  
CNS somatosensory–auditory interactions elicit or modulate tinnitus  
Exp Brain Res. 153 (2003), pp. 643–648

Liberman MC, Dodds LW 1984  
Single-neuron labeling and chronic cochlear pathology. II. Stereocilia damage and alterations of spontaneous discharge rates  
Hear Res. 1984 Oct;16(1):43-53

Li HS 1992  
Influence of genotype and age on acute acoustic trauma and recovery in CBA/Ca and C57BL/6J mice  
Acta Otolaryngol. 1992 Nov;112(6):956-67

Li L, Du Y, Li N, Wu X, Wu Y 2009  
Top–down modulation of prepulse inhibition of the startle reflex in humans and rats  
Neurosci Biobehav Rev. 2009 Sep;33(8):1157-67

Liberman MC, Kiang NY 1978  
Acoustic trauma in cats, Cochlear pathology and auditory-nerve activity  
Acta Otolaryngol. Suppl 358, 1-63

Link W, Konietzko U, Kauselmann G, Krug M, Schwanke B, Frey U, Kuhl D 1995  
Somatodendritic expression of an immediate early gene is regulated by synaptic activity  
Proc Natl Acad Sci USA. 92:5734 –5738

## Literaturverzeichnis

---

- Llinás RR, Ribary U, Jeanmonod D, Kronberg E, Mitra PP 1999  
Thalamocortical dysrhythmia: a neurological and neuropsychiatric syndrome characterized by magnetoencephalography  
Proc Natl Acad Sci. U.S.A. 96, 15222–15227
- Llinas R, Ribary U, Jeanmonod D, Cancro R, Kronberg E, Schulman J, Zonenshayn M, Magnin M, Morel A, Siegmund M 2001  
Thalamocortical dysrhythmia: I. Functional and imaging aspects  
Thal Relat Systems. 1:237-244, 2001
- Llinas R, Urbano FJ, Leznik E, Ramirez RR, van Marle HJ 2005  
Rhythmic and dysrhythmic thalamocortical dynamics: GABA systems and the edge effect  
Trends Neurosci. 28, 325–333
- Lobarinas E, Sun W, Cushing R, Salvi R 2004  
A novel behavioral paradigm for assessing tinnitus using schedule-induced polydipsia avoidance conditioning  
Hear Res. 2004 Apr;190(1-2):109-14
- Lobarinas E, Sun W, Stolzberg D, Jianzhong Lu J, Salvi R 2008  
Human Brain Imaging of Tinnitus and Animal Models  
Semin Hear. 2008 November; 29(4): 333–349
- Lockwood AH, Salvi RJ, Coad ML, Towsley ML, Wack DS, Murphy BW 1998  
The functional neuroanatomy of tinnitus:evidence for limbic system links and neural plasticity  
Neurology. 50, 114–120
- Lockwood AH,Salvi RJ, Burkard RF 2002  
Tinnitus  
N Engl J Med. 347, 904–910
- Loeblich S, Nedivi E 2009  
The function of activity-regulated genes in the nervous system  
Physiol Rev. 2009 Oct;89(4):1079-103
- Lomber SG, Payne BR, Cornwell P 2001  
Role of the superior colliculus in analyses of space: superficial and intermediate layer contributions to visual orienting, auditory orienting, and visuospatial discriminations during unilateral and bilateral deactivations  
J Comp Neurol. 2001 Dec 3;441(1):44-57
- Lomber SG, Malhotra S, Sprague JM 2006  
Restoration of Acoustic Orienting Into a Cortically Deaf Hemifield by Reversible Deactivation of the Contralesional Superior Colliculus: The Acoustic “Sprague Effect”  
J Neurophysiol. 2007 Feb;97(2):979-93
- Longenecker RJ, Galazyuk AV 2011  
Development of tinnitus in CBA/ CaJ mice following sound exposure  
J Assoc Res Otolaryngol. 2011 Oct;12(5):647-58
- Lorenz I, Müller N, Schlee W, Hartmann T, Weisz N 2009  
Loss of alpha power is related to increased gamma synchronization-A marker of reduced inhibition in tinnitus?  
Neurosci Lett. 453:225–228, 2009
- Lyford GL, Yamagata K, Kaufmann WE, Barnes CA, Sanders LK, Copeland NG, Worley PF 1995  
Arc, a growth factor and activity-regulated gene, encodes a novel cytoskeletal-associated protein that



## Literaturverzeichnis

---

is enriched in neuronal dendrites  
Neuron. 14:433-445

Ma WL, Young ED 2006a  
Dorsal cochlear nucleus response properties following acoustic trauma: response maps and spontaneous activity  
Hear Res. 216-217, 176-188

Ma WL, Hidaka H, May BJ 2006b  
Spontaneous activity in the inferior colliculus of CBA/J mice after manipulations that induce tinnitus  
Hear Res. 2006 Feb;212(1-2):9-21

Maddox SA, Schafe GE 2011  
The Activity-Regulated Cytoskeletal-Associated Protein (Arc/Arg3.1) is Required for Reconsolidation of a Pavlovian Fear Memory  
J Neurosci. 2011 May 11;31(19):7073-82

Maggio N, Segal M 2010  
Corticosteroid regulation of synaptic plasticity in the hippocampus  
ScientificWorldJournal. 2010 Mar 16;10:462-9. Review

Mahlke C, Wallhäusser-Franke E 2004  
Evidence for tinnitus-related plasticity in the auditory and limbic system, demonstrated by arg3.1 and c-fos immunocytochemistry  
Hear Res. 2004 Sep;195(1-2):17-34

Mahlke C 2004  
Neuronale Plastizität im auditorischen und limbischen System der Mongolischen Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*) nach experimenteller Tinnitusauslösung: Immunhistochemischer Nachweis von Arg3.1 und c-Fos, Dissertationsschrift  
<http://tuprints.ulb.tu-darmstadt.de/460/1/Mahlke-Dissertation.pdf>

Malmierca M S 2004  
The Inferior Colliculus: A Center for Convergence of Ascending and Descending Auditory Information  
Neuroembryol Aging. 2004/2005;3:215-229

Mandolesi L, Leggio MG, Graziano A, Neri P, Petrosini L 2001  
Cerebellar contribution to spatial event processing: involvement in procedural and working memory components  
Eur J Neurosci. 2001 Dec;14(12):2011-22

Manikandan S, Padma MK, Srikumar R, Jeya Parthasarathy N, Muthuvel A, Sheela Devi R 2006  
Effects of chronic noise stress on spatial memory of rats in relation to neuronal dendritic alteration and free radical-imbalance in hippocampus and medial prefrontal cortex  
Neurosci Lett. 399 (2006), pp. 17–22

Manzoor NF, Licari FG, Klapchar M, Elkin RL, Gao Y, Chen G, Kaltenbach JA 2012  
Noise-induced hyperactivity in the inferior colliculus: its relationship with hyperactivity in the dorsal cochlear nucleus  
J Neurophysiol. 2012 Aug;108(4):976-88

Margolis RH 1993  
Detection of hearing impairment with the acoustic stapedius reflex  
Ear Hear. 1993 Feb;14(1):3-10

Marsh RA, Fuzessery ZM, Grose CD, Wenstrup JJ 2002  
Projection to the Inferior Colliculus from the Basal Nucleus of the Amygdala  
J Neurosci. 2002 Dec 1;22(23):10449-60

## Literaturverzeichnis

---

Mao JC, Pace E, Pierozynski P, Kou Z, Shen Y, VandeVord P, Haacke EM, Zhang X, Zhang J 2012  
Blast-Induced Tinnitus and Hearing Loss in Rats: Behavioral and Imaging Assays  
J Neurotrauma. 2012 Jan 20;29(2):430-44

Maren S, Yap SA, Goosens KA 2001  
The Amygdala Is Essential for the Development of Neuronal Plasticity in the Medial Geniculate Nucleus during Auditory Fear Conditioning in Rats  
J Neurosci. 2001 Mar 15;21(6):RC135

Martin RL, Webster WR, Servièrè J 1988  
The frequency organization of the inferior colliculus of the guinea pig: A [14C]-2-deoxyglucose study  
Hear Res. 1988 Jun;33(3):245-55

Maudoux A, Lefebvre P, Cabay JE, Demertzi A, Vanhauzenhuysse A, Laureys S, Soddu A 2012  
Connectivity graph analysis of the auditory resting state network in tinnitus  
Brain Res. 2012 May 10. [Epub ahead of print]

McAlonan K, Cavanaugh J, Wurtz RH 2006  
Attentional modulation of thalamic reticular neurons  
J Neurosci. 2006 Apr 19;26(16):4444-50

McDonald AJ, Mascagni F, Guo L 1996  
Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat  
Neuroscience. 71, 55-75

McGaugh JL, 2002  
Memory consolidation and the amygdala: a systems perspective  
Trends Neurosci. 25, 456–461

McKenna JT, Vertes RP 2004  
Afferent projections to nucleus reuniens of the thalamus  
J Comp Neurol. 480: 115–142

Mechelli A, Price CJ, Ashburner J, Friston KJ 2005  
Voxel-Based Morphometry of the Human Brain: Methods and Applications  
Current Medical Imaging Reviews, pp 105-113, 2005

Medford N , Critchley HD 2010  
Conjoint activity of anterior insular and anterior cingulate cortex: awareness and response  
Brain Struct Funct. 2010 Jun;214(5-6):535-49

Meikle MB, Creedon TA, Griest SE 2003  
Tinnitus Archive, <http://www.tinnitusArchive.org>  
<http://www.tinnitusarchive.org/dataSets/1/>

Melcher JR, Levine RA, Bergevin C, Norris B 2009  
The auditory midbrain of people with tinnitus: abnormal sound-evoked activity revisited  
Hear Res. 2009 Nov;257(1-2):63-74

Meltzer NE, Ryugo DK 2006  
Projections from auditory cortex to cochlear nucleus: A comparative analysis of rat and mouse  
Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol. 2006 Apr;288(4):397-408

Melloni L ,Molina C, Pena M, Torres D, Singer W, Rodriguez E 2007  
Synchronization of neural activity across cortical areas correlates with conscious perception  
J Neurosci. 27, 2858–2865

## Literaturverzeichnis

---

- Meng Z, Liu S, Zheng Y, Phillips JS 2011  
Repetitive transcranial magnetic stimulation for tinnitus  
Cochrane Database Syst Rev. 2011 Oct 5;(10):CD007946
- Mennemeier M, Chelette KC, Allen S, Bartel TB, Triggs W, Kimbrell T, Crew J, Munn T, Brown GJ, Dornhoffer J 2011  
Variable changes in PET activity before and after rTMS treatment for tinnitus  
Laryngoscope. 2011 Apr;121(4):815-22
- Menon V, Uddin LQ 2010  
Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function  
Brain Struct Funct. 2010 Jun;214(5-6):655-67
- Meric C, Gartner M, Collet L, Chéry-Croze S 1998  
Psychopathological profile of tinnitus sufferers: evidence concerning the relationship between tinnitus features and impact on life  
Audiol Neurootol. 1998;3:240-52
- Merchán M, Aguilar LA, Lopez-Poveda EA, Malmierca MS 2005  
The inferior colliculus of the rat: quantitative immunocytochemical study of GABA and glycine  
Neuroscience. 2005;136(3):907-25
- Meredith MA, Keniston LP, Allman BL 2012  
Multisensory dysfunction accompanies crossmodal plasticity following adult hearing impairment  
Neuroscience. 2012;214:136-148
- Middleton JW, Kiritanid T, Pedersen C, Turner J, Shepherd GMD, Tzounopoulou T 2011  
Mice with behavioral evidence of tinnitus exhibit dorsal cochlear nucleus hyperactivity because of decreased GABAergic inhibition  
Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 May 3;108(18):7601-6
- Middleton JW, Tzounopoulos T 2012  
Imaging the neural correlates of tinnitus: a comparison between animal models and human studies  
Front Syst Neurosci. 2012;6:35
- Milner B 1972  
Disorders of learning and memory after temporal lobe lesions in man  
Clin Neurosurg. 1972;19:421-46
- Mitchell TV, Morey RA, Inan S, Belger A 2005  
Functional magnetic resonance imaging measure of automatic and controlled auditory processing  
NeuroReport. 16 (2005), pp. 457-461
- Mogenson GJ, Swanson LW, Wu M 1983  
Neural projections from nucleus accumbens to globus pallidus, substantia innominata, and lateral preoptic-lateral hypothalamic area: an anatomical and electrophysiological investigation in the rat  
J Neurosci. 1983 Jan;3(1):189-202
- Møller AR 1983  
Auditory physiology  
Academic Press, New York
- Møller AR, Møller MB, Yokota M 1992  
Some forms of tinnitus may involve the extralemniscal auditory pathway  
Laryngoscope. 1992 Oct;102(10):1165-71
- Møller A R 2006

## Literaturverzeichnis

---

Hearing. Anatomy, Physiology and Disorders of the Auditory System  
2nd. Auflage, Elsevier Science & Technology, Oxford, UK

Moore JK 1987

The human auditory brain stem as a generator of auditory evoked potentials.  
Hear Res. 1987;29(1):33-43

Morgan JI, Cohen DR, Hempstead JL, Curran T 1987

Mapping patterns of c-fos expression in the central nervous system after seizure  
Science. 1987 Jul 10;237(4811):192-7

Morgane PJ, Galler JR, Mokler DJ 2005

A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain  
Prog Neurobiol. 2005 Feb;75(2):143-60

Moriizumi T, Hattori T 1991

Pyramidal cells in rat temporoauditory cortex project to both striatum and inferior colliculus  
Brain Res Bull. 1991 Jul;27(1):141-4

Mossop JE, Wilson MJ, Caspary D M, Moore DR 2000

Downregulation of inhibition following unilateral deafening  
Hear Res. 147, 1-2, 183-187

Moy SS, Nadler JJ, Perez A, Barbaro RP, Johns JM, Magnuson TR, Piven J, Crawley JN 2004

Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice  
Genes Brain Behav. 2004 Oct;3(5):287-302

Mühlau M, Rauschecker JP, Oestreicher E, Gaser C, Röttinger M, Wohlschläger AM, Simon F, Etgen T, Conrad B, Sander D 2006

Structural brain changes in tinnitus  
Cereb Cortex. 2006; 16:1283–1288

Muhl nickel W, Elbert T, Taub E, Flor H 1998

Reorganization of auditory cortex in tinnitus  
Proc Natl Acad Sci USA. 95, 10340–10343

Mulders WH, Robertson D 2009

Hyperactivity in the auditory midbrain after acoustic trauma: dependence on cochlear activity  
Neuroscience. 2009 Dec 1;164(2):733-46

Müller M, Smolders JW, Ding-Pfennigdorff D, Klinke R 1997

Discharge properties of pigeon single auditory nerve fibers after recovery from severe acoustic trauma  
Int J Dev Neurosci. 1997 Jul;15(4-5):401-16

Naber PA, Witter MP, Lopes Silva FH 2000

Networks of the hippocampal memory system of the rat. The pivotal role of the subiculum  
Ann N Y Acad Sci. 2000 Jun;911:392-403

Nadler JJ, Moy SS, Dold G, Trang D, Simmons N, Perez A, Young N B, Barbaro R P, Piven P, Magnuson R, Crawley JN 2004

Automated apparatus for quantitation of social approach behaviors in mice  
Genes Brain Behav. 2004 Oct;3(5):303-14

Nakashima T, Naganawa S, Sone M, Tominaga M, Hayashi H, Yamamoto H, Liu X, Nuttall AL 2003

Disorders of cochlear blood flow  
Brain Res Brain Res Rev. 2003 Sep;43(1):17-28

## Literaturverzeichnis

---

- Neafsey EJ, Terreberry KM, Hurley KM, Ruit KG, Fryszak RJ 1993  
Anterior cingulate cortex in rodents: connections, visceral control functions, and implications for emotion  
In: Vogt BA, Gabriel M (Eds.), *Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus: A Comprehensive Handbook*. Birkhauser, Boston, MA, pp. 206–233
- Nehlig A, Wittendorp-Rechenmann E, Lam CD 2004  
Selective Uptake of [<sup>14</sup>C]2-Deoxyglucose by Neurons and Astrocytes: High-Resolution Microautoradiographic Imaging by Cellular <sup>14</sup>C-Trajectory Combined With Immunohistochemistry  
*J Cereb Blood Flow Metab.* 2004 Sep;24(9):1004-14
- Nguyen PT, Holschneider DP, Maarek JM, Yang J, Mandelkern MA 2004  
Statistical parametric mapping applied to an autoradiographic study of cerebral activation during treadmill walking in rats  
*Neuroimage.* 2004 Sep;23(1):252-9
- Nodal FR, Kacelnik O, Bajo VM, Bizley JK, Moore DR, King AJ 2010  
Lesions of the auditory cortex impair azimuthal sound localization and its recalibration in ferrets  
*J Neurophysiol.* 2010 Mar;103(3):1209-25
- Norena A, Micheyl C, Chery-Croze S 2000  
An auditory negative after-image as a human model of tinnitus  
*Hear Res.* 2000 Nov;149(1-2):24-32
- Norena A, Micheyl C, Chery-Croze S, Collet L 2002  
Psychoacoustic characterization of the tinnitus spectrum: Implications for the underlying mechanisms of tinnitus  
*Audiol Neurootol.* 7(6), 358-369
- Norena AJ, Eggermont JJ 2003  
Changes in spontaneous neural activity immediately after an acoustic trauma: implications for neural correlates of tinnitus  
*Hear Res.* 183:137–153
- Noreña AJ, Moffat G, Blanc JL, Pezard L, Cazals Y 2010  
Neural changes in the auditory cortex of awake guinea pigs after two tinnitus inducers: salicylate and acoustic trauma  
*Neuroscience.* 2010 Apr 14;166(4):1194-209
- Nordmann AS, Bohne BA, Harding GW 2000  
Histopathological differences between temporary and permanent threshold shift  
*Hear. Res.* 139, 13–30
- Norman M, Tomscha K, Wehr M 2012  
Isoflurane blocks temporary tinnitus  
*Hear Res.* 2012 Aug;290(1-2):64-71. Epub 2012 May 22
- Nowotny M, Remus M, Kössl M, Gaese BH 2011  
Characterization of the perceived sound of trauma-induced tinnitus in gerbils  
*J Acoust Soc Am.* 2011 Nov;130(5):2827-34
- Nuttall A L 1999  
Sound-Induced Cochlear Ischemia/Hypoxia as a Mechanism of Hearing Loss  
*Noise Health.* 1999;2(5):17-32
- Ohlemiller KK 2006  
Contributions of mouse models to understanding of age- and noise-related hearing loss

## Literaturverzeichnis

---

Brain Res. 2006 May 26;1091(1):89-102

Ohira H, Nomura M, Ichikawa N, Isowa T, Iidaka T, Sato A, Fukuyama S, Nakajima T, Yamada J 2006  
Association of neural and physiological responses during voluntary emotion suppression  
Neuroimage. 29, 721–733

Okuno H 2011

Regulation and function of immediate-early genes in the brain: beyond neuronal activity markers  
Neurosci Res. 2011 Mar;69(3):175-86

Oleary DS, Andreasen N.C., Hurtig R.R., Kesler M.L., Rogers M, Arndt S, Cizadlo T, Watkins GL, Ponto LL, Kirchner PT, Hichwa RD 1996

Auditory attentional deficits in patients with schizophrenia. A positron emission tomography study  
Arch Gen Psychiat. 53 (1996),633–641

Osen KK 1988

Anatomy of the mammalian cochlear nuclei, a review

In "Auditory Pathway, Structure and Function", 65-75, Plenum Press, New York

Ouagazzal AM, Reiss D, Romand R 2006

Effects of age-related hearing loss on startle reflex and prepulse inhibition in mice on pure and mixed  
C57BL and 129 genetic background

Behav Brain Res. 2006 Sep 25;172(2):307-15

Palmer AR, King AJ 1982

The representation of auditory space in the mammalian superior colliculus

Nature. 1982 Sep 16;299(5880):248-9

Palmer LM, Schulz JM, Murphy SC, Ledergerber D, Murayama M, Larkum ME 2012

The cellular basis of GABA(B)-mediated interhemispheric inhibition

Science. 2012 Feb 24;335(6071):989-93

Passot JB, Sheynikhovich D, Duvelle E, Arleo A 2012

Contribution of Cerebellar Sensorimotor Adaptation to Hippocampal Spatial Memory

PLoS One. 2012; 7(4): e32560

Patuzzi R 2002

Non-linear aspects of outer hair cell transduction and the temporary threshold shifts after acoustic  
trauma.

Audiol Neurootol. 2002 Jan-Feb;7(1):17-20

Paul AK, Lobarinas E, Simmons R, Wack D, Luisi JC, Sperryak J, Mazurchuk R, Abdel-Nabi H, Salvi R 2009

Metabolic imaging of rat brain during pharmacologically-induced tinnitus

Neuroimage. 2009 Jan 15;44(2):312-8. Epub 2008 Oct 2

Paxinos G, Franklin K 2004

The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates

Second Edition Gulf Professional Publishing, 2004

Paylor R, Crawley JN 1997

Inbred strain differences in prepulse inhibition of the mouse startle response

Psychopharmacology. (1997) 132:169–180

Peebles CL, Yoo J, Thwin MT, Palop JJ, Noebels JL, et al. 2010

Arc regulates spine morphology and maintains network stability in vivo

Proc Natl Acad Sci U S A 107: 18173-18178

## Literaturverzeichnis

---

Penner MJ 1983

Variability in matches to subjective tinnitus  
J Speech Hear Res. 26(2), 263-267

Peruzzi D, Bartlett E, Smith PH, Oliver DL 1997

A Monosynaptic GABAergic Input from the Inferior Colliculus to the Medial Geniculate Body in Rat  
J Neurosci. 1997 May 15;17(10):3766-77

Petersen SE, Posner MI 2012

The attention system of the human brain: 20 years after  
Annu Rev Neurosci. 2012;35:73-89

Phillips ML, Drevets WC, Rauch SL, Lane R 2003

Neurobiology of emotion perception: the neural basis of normal emotion perception  
Biol Psychiatry. 54, 504–514

Pilgramm M, Rychlick R, Lebisch H, Siedentop H, Goebel G, Kirchhoff D 1999

Tinnitus in the federal republic of germany: A representative epidemiological study  
In: Hazell J (.ed) Proceedings of the Sixth International Tinnitus Seminar, Cambridge pp64-7 London:  
The Tinnitus and Hyperacusis centre

Pinaud R, Penner MR, Robertson HA, Currie RW 2001

Upregulation of the immediate early gene arc in the brains of rats exposed to environmental  
enrichment: implications for molecular plasticity  
Brain Res Mol Brain Res. 2001 Jul 13;91(1-2):50-6

Pitkanen A, Savander V, and LeDoux JE 1997

Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding  
functions of the amygdala  
Trends Neurosci. 20, 517-523

Plath N, Ohana O, Dammermann B, Errington ML, Schmitz D, Gross C, Mao X, Engelsberg A, Mahike  
C, Welzi H, Kobalz U, Stawrakakis A, Fernandez E, Waltereit R, Bick-Sander A, Therstappen E,  
Cooke SF, Blanquet V, Wurst W, Salmen B, Bosl MR, Lipp HP, Grant SGN, Bliss TVP, Wolfer DP, Kuhl  
D 2006

Arc/Arg3.1 is essential for the consolidation of synaptic plasticity and memories  
Neuron. 2006 Nov 9;52(3):437-44

Popelar J, Syka J, Berndt H 1987

Effect of noise on auditory evoked responses in awake guinea pigs  
Hear Res. 26 (3), 239–247

Popelar J, Erre JP, Aran JM, Cazals Y 1994

Plastic changes in ipsicontralateral differences of auditory cortex and inferior colliculus evoked  
potentials after injury to one ear in the adult guinea pig  
Hear.Res. 72, 1-2, 125-134

Polley DB, Steinberg EE, Merzenich MM 2006

Perceptual learning directs auditory cortical map reorganization through top-down influences  
J Neurosci. 26: 4970-4982, 2006

Posner MI, Petersen SE 1990

The attention system of the human brain  
Annu Rev Neurosci. 1990;13:25-42. Review

Posner M I 1994

Attention: the mechanism of consciousness  
PNAS 91, 7398-7402

## Literaturverzeichnis

---

- Puschner B, Schacht J 1997  
Calmodulin-dependent protein kinases mediate calcium-induced slow motility of mammalian outer hair cells  
Hear Res. 1997 Aug;110(1-2):251-8
- Rajan R, Irvine DR, Wise LZ, Heil P 1993  
Effect of unilateral partial cochlear lesions in adult cats on the representation of lesioned and unlesioned cochleas in primary auditory cortex  
J Comp Neurol. 338(1):17-49
- Rajan R, Irvine DR 1998  
Absence of plasticity of the frequency map in dorsal cochlear nucleus of adult cats after unilateral partial cochlear lesions  
J Comp Neurol. 399, 1, 35-46
- Rasmussen A T 1940  
Studies of the 8th cranial nerve in man  
Laryngoscope. 50: 67-83
- Rauschecker JP 1999  
Auditory cortical plasticity: a comparison with other sensory systems  
Trends Neurosci., 22: 74-80
- Reale RA, Imig TJ 1983  
Auditory cortical field projections to the basal ganglia of the cat  
Neuroscience. 867-86; 1983
- Reimer A, Hubka P, Engel AK, Kral A 2010  
Fast Propagating Waves within the Rodent Auditory Cortex  
Cereb Cortex. 2011 Jan;21(1):166-77
- Rial Verde EM, Lee-Osbourne J, Worley PF, Malinow R, Cline HT 2006  
Increased expression of the immediate-early gene Arc/Arg3.1 reduces AMPA receptor-mediated synaptic transmission  
Neuron. 52:461-474
- Rhode WS, Greenberg S 1992  
Physiology of the cochlear nuclei  
Fay, R.R. und Popper, A. N. The Mammalian auditory pathway: neurophysiology, 94-152, Springer-Verlag, New York
- Rhode WS, Greenberg S 1994  
Lateral suppression and inhibition in the cochlear nucleus of the cat  
J Neurophysiol. 71, 493,514
- Roberts LE, Moffat G, Bosnyak DJ 2006  
Residual inhibition functions in relation to tinnitus spectra and auditory threshold shift  
Acta Otolaryngol Suppl. 556, 27-33
- Roberts LE, Eggermont JJ, Caspary DC, Shore SE, Melcher JR, Kaltenbach JA 2010  
Ringing ears: The neuroscience of tinnitus  
J Neurosci. 2010 Nov 10;30(45):14972-9
- Rogan MT, Stäubli UV, LeDoux JE 1997  
Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala  
Nature. 1997 Dec 11;390(6660):604-7



## Literaturverzeichnis

---

- Roger M, Arnault P 1989  
Anatomical study of the connections of the primary auditory area in the rat  
J Comp. Neurol. 287 (1989) 339-356
- Romanski LM, LeDoux JE 1992  
Equipotentiality of thalamo-amygdala and thalamo-cortico-amygdala circuits in auditory fear conditioning  
J Neurosci. 12, 4501-4509
- Romanski LM, Clugnet MC, Bordi F, Ledoux JE 1993a  
Somatosensory and auditory convergence in the lateral nucleus of the amygdala  
Behav. Neurosci. 107, 444-450
- Romanski LM, LeDoux JE 1993b  
Information cascade from primary auditory cortex to the amygdala: corticocortical and corticoamygdaloid projections of temporal cortex in the rat  
Cereb Cortex. 3, 515-532
- Rossiter S, Stevens C, Walker G 2006  
Tinnitus and Its Effect on Working Memory and Attention  
Journal of Speech, Language, and Hearing Research, 49(2), 150-161
- Rowland DC, Kentros CG 2008  
Potential anatomical basis for attentional modulation of hippocampal neurons  
Ann N Y Acad Sci. 2008;1129:213-24. Review
- Rubio ME 2006  
Redistribution of synaptic AMPA receptors at glutamatergic synapses in the dorsal cochlear nucleus as an early response to cochlear ablation in rats  
Hear Res. 216-217, 154-167
- Ryan AF, Woolf NK 1988  
Development of tonotopic representation in the Mongolian gerbil: a 2-deoxyglucose study  
Brain Res. 1988 Jun 1;469(1-2):61-70
- Ryan AF, Furlow Z, Woolf NK, Keithley EM  
The spatial representation of frequency in the rat dorsal cochlear nucleus and inferior colliculus  
Hear Res. 1988 Nov;36(2-3):181-9
- Sadaghiani S, Hesselmann G, Kleinschmidt A 2009  
Distributed and antagonistic contributions of ongoing activity fluctuations to auditory stimulus detection  
J Neurosci. 29, 13410-13417
- Sakurai Y 2002  
Coding of auditory temporal and pitch information by hippocampal individual cells and cell assemblies in the rat  
Neuroscience. 2002;115:1153-63
- Salińska E, Danysz W, Łazarewicz JW 2005  
The role of excitotoxicity in neurodegeneration  
Folia Neuropathol. 2005;43(4):322-39
- Salvi RJ, Saunders SS, Gratton MA, Arehole S, Powers N 1990  
Enhanced evoked response amplitudes in the inferior colliculus of the chinchilla following acoustic trauma  
Hear Res. 50, 1-2, 245-257
- Salvi RJ, Wang J, Ding D 2000

## Literaturverzeichnis

---

- Auditory plasticity and hyperactivity following cochlear damage  
Hear Res. 147, 1-2, 261-274
- Sander D, Grafman J, Zalla T 2003  
The human amygdala: an evolved system for relevance detection  
Rev Neurosci. 2003;14(4):303-16
- Saunders JC, Dear SP, Schneider ME 1985  
The anatomical consequences of acoustic injury: A review and tutorial  
J Acoust Soc Am. 78, 3, 833-860
- Sawatari H, Tanaka Y, Takemoto M, Nishimura M, Hasegawa K, Saitoh K, Song WJ 2011  
Identification and characterization of an insular auditory field in mice  
Eur J Neurosci. 2011 Dec;34(12):1944-52
- Sawiak SJ, Wood NI, Williams GB, Morton AJ, Carpenter TA 2009  
Voxel-based morphometry in the R6/2 transgenic mouse reveals differences between genotypes not seen with manual 2D morphometry  
Neurobiol Dis. 33(1):20-7
- Schaette R, Kempter R 2009  
Predicting tinnitus pitch from patients' audiograms with a computational model for the development of neuronal hyperactivity  
J Neurophysiol. 2009 Jun;101(6):3042-5
- Scheich H, Heil P, Langner G 1993  
Functional organization of auditory cortex in the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). II. Tonotopic 2-deoxyglucose  
Eur J Neurosci. 1993 Jul 1;5(7):898-914
- Schlee W, Mueller N, Hartmann T, Keil J, Lorenz I, Weisz N 2009  
Mapping cortical hubs in tinnitus  
BMC Biol. 2009 Nov 23;7:80
- Schlee W, Weisz N, Bertrand O, Hartmann T, Elbert T 2008  
Using auditory steady state responses to outline the functional connectivity in the tinnitus brain  
PLoS One 3:e3720
- Scholl B, Wehr M 2008  
Disruption of balanced cortical excitation and inhibition by acoustic trauma  
J Neurophysiol. 2008 Aug;100(2):646-56
- Searchfield GD, Morrison-Low J, Wise K 2007  
Object identification and attention training for treating tinnitus  
Prog Brain Res. 2007;166:441-60
- Seeley WW, Menon V, Schatzberg AF, Keller J, Glover GH, Kenna H, Reiss AL, Greicius MD 2007  
Dissociable intrinsic connectivity networks for salience processing and executive control  
J Neurosci. 2007 Feb 28;27(9):2349-56
- Seki S, Eggermont JJ 2002  
Changes in cat primary auditory cortex after minor-to-moderate pure-tone induced hearing loss  
Hear Res. 2002 Nov;173(1-2):172-86
- Seki S, Eggermont JJ 2003  
Changes in spontaneous firing rate and neural synchrony in cat primary auditory cortex after localized tone-induced hearing loss  
Hear Res. 180, 1-2, 28-38

## Literaturverzeichnis

---

- Servière J, Webster WR, Calford MB 1984  
Isolfrequency labelling revealed by a combined [<sup>14</sup>C]-2-deoxyglucose, electrophysiological, and horseradish peroxidase study of the inferior colliculus of the cat  
*J Comp Neurol.* 1984 Oct 1;228(4):463-77
- Sesack SR, Deutch AY, Roth RH, Bunney BS 1989  
Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin.  
*J Comp Neurol.* 1989 Dec 8;290(2):213-42
- Shepherd JD, Rumbaugh G, Wu J, Chowdhury S, Plath N, Kuhl D, Haganir RL, Worley PF 2006  
Arc/Arg3.1 mediates homeostatic synaptic scaling of AMPA receptors  
*Neuron.* 52:475-484
- Shore SE, Koehler S, Oldakowski M, Hughes LF, Syed S 2008  
Dorsal cochlear nucleus responses to somatosensory stimulation are enhanced after noise-induced hearing loss  
*Eur J Neurosci.* 27:155–168
- Shors TJ, Foy MR, Levine S, Thompson RF 1990  
Unpredictable and uncontrollable stress impairs neuronal plasticity in the rat hippocampus  
*Brain Res Bull.*, 24 (1990), pp. 663–667
- Shulman A, Strashun AM 1999  
Descending auditory system/ cerebellum/tinnitus  
*Int Tinnitus J.* 5(2):92-106, 1999
- Shulman A, Goldstein B, Strashun AM 2009  
Final Common Pathway for Tinnitus: Theoretical and Clinical Implications of Neuroanatomical Substrates  
*Int Tinnitus J.* 2009;15(1):5-50
- Siapas AG, Lubenov EV, Wilson MA 2005  
Prefrontal phase locking to hippocampal theta oscillations  
*Neuron.* 2005 Apr 7;46(1):141-51
- Slepecky N 1996  
Structure of the mammalian cochlea  
In: Dallos P, Popper A, Fay R (Hrsg.): *The Cochlea.* Springer, New York, 44-129
- Smeyne RJ, Schilling K, Robertson L, Luk D, Oberdick J, Curran T, Morgan JI 1992  
fos-lacZ transgenic mice: mapping sites of gene induction in the central nervous system  
*Neuron.* 1992 Jan;8(1):13-23
- Smith JA, Mennemeier M, Bartel T, Chelette KC, Kimbrell T, Triggs W, Dornhoffer JL  
Repetitive transcranial magnetic stimulation for tinnitus: a pilot study  
*Laryngoscope.* 2007 Mar;117(3):529-34
- Smith JJ, Shionoya K, Sullivan RM, Wilson DA 2009  
Auditory stimulation dishabituates olfactory responses via noradrenergic cortical modulation  
*Neural Plast.* 2009;2009:754014
- Smits M, Kovacs S, deRidder D, Peeters RR, vanHecke P, Sunaert S 2007  
Lateralization of functional magnetic resonance imaging (fMRI) activation in the auditory pathway of patients with lateralized tinnitus  
*Neuroradiology.* 49 (2007), pp. 669–679

## Literaturverzeichnis

---

Sokoloff L, Reivich M, Kennedy C, Des Rosiers MH, Patlak CS, Pettigrew KD, Sakurada O, Shinohara M 1977

The [<sup>14</sup>C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat  
J Neurochem. 1977 May;28(5):897-916

Spong VP, Flood DG, Frisina RD, Salvi RJ 1997

Quantitative measures of hair cell loss in CBA and C57BL/6 mice throughout their life spans  
J Acoust Soc Am. 1997 Jun;101(6):3546-53

Sridharan D, Levitin DJ, Menon V 2008

A critical role for the right fronto-insular cortex in switching between central-executive and default-mode networks  
PNAS 2008.105(34):12569–12574

Stein BE 1998

Neural mechanisms for synthesizing sensory information and producing adaptive behaviors  
Exp Brain Res. 1998 Nov;123(1-2):124-35

Steward O, Wallace CS, Lyford GL, Worley PF 1998

Synaptic activation causes the mRNA for the IEG Arc to localize selectively near activated postsynaptic sites on dendrites  
Neuron. 21:741-751

Stiebler I, Neulist R, Fichtel I, Ehret G 1997

The auditory cortex of the house mouse: left-right differences, tonotopic organization and quantitative analysis of frequency representation  
J Comp Physiol A. 1997 Dec;181(6):559-71

Stypulkowski PH 1990

Mechanisms of salicylate ototoxicity  
Hear Res. 46:113–145

Suga N 1995

Sharpening of frequency tuning by inhibition in the central auditory system: tribute to Yasuji Katsuki  
Neurosci Res. 1995 Feb;21(4):287-99

Suga N, Xiao Z, Ma X, Ji W 2002

Plasticity and corticofugal modulation for hearing in adult animals  
Neuron. 2002 Sep 26;36(1):9-18

Suga N, Ma X 2003

Multiparametric corticofugal modulation and plasticity in the auditory system  
Nat Rev Neurosci. 2003 Oct;4(10):783-94

Suga N 2008

Role of corticofugal feedback in hearing  
J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol. 2008 Feb;194(2):169-83, Review

Sullivan MD, Katon W, Dobie R, Sakai C, Russo J, Harrop-Griffiths J 1988

Disabling tinnitus. Association with affective disorder.  
Gen Hosp Psychiatry. 1988 Jul;10(4):285-91

Sullivan MD, Dobie RA, Sakai CS, Katon WJ 1989

Treatment of depressed tinnitus patients with nortriptyline  
Ann Otol Rhinol Laryngol. 1989 Nov;98(11):867-72

Sumner CJ, Tucci DL, Shore SE 2005

## Literaturverzeichnis

---

Responses of ventral cochlear nucleus neurons to contralateral sound after conductive hearing loss, *J Neurophysiol.* 94, 6, 4234-4243

Sun W, Mercado E 3rd, Wang P, Shan X, Lee TC, Salvi RJ  
Changes in NMDA receptor expression in auditory cortex after learning  
*Neurosci Lett.* 2005 Feb 1;374(1):63-8

Suneja SK, Yan L, Potashner SJ 2005  
Regulation of NT-3 and BDNF levels in guinea pig auditory brain stem nuclei after unilateral cochlear ablation  
*J Neurosci Res.* 80, 3, 381-390

Swerdlow NR, Geyer MA, Braff DL 2001  
Neural circuit regulation of prepulse inhibition of startle in the rat: current knowledge and future challenges  
*Psychopharmacology (Berl).* 2001 Jul;156(2-3):194-215

Syka J, Rybalko N 2000  
Threshold shifts and enhancement of cortical evoked responses after noise exposure in rats  
*Hear Res.* 2000 Jan;139(1-2):59-68

Tass PA, Popovych OV 2012  
Unlearning tinnitus-related cerebral synchrony with acoustic coordinated reset stimulation: theoretical concept and modelling  
*Biol Cybern.* 2012 Jan;106(1):27-36

Tierney PL, Dégenétais E, Thierry AM, Glowinski J, Gioanni Y. 2004  
Influence of the hippocampus on interneurons of the rat prefrontal cortex  
*Eur J Neurosci.* 2004 Jul;20(2):514-24

Tiitinen H, Sinkkonen J, Reinikainen K, Alho K, Lavikainen J, Näätänen R 1993  
Selective attention enhances the auditory 40-Hz transient response in humans  
*Nature.* 364:59–60, 1993

Tsuprun V, Schachern PA, Cureoglu S, Paparella M 2003  
Structure of the stereocilia side links and morphology of auditory hair bundle in relation to noise exposure in the chinchilla  
*J Neurocytol.* 32, 9, 117-1128

Turner JG, Brozoski TJ, Bauer CA, Parrish JL, Myers K, Hughes LF, Caspary DM 2006  
Gap detection deficits in rats with tinnitus: a potential novel screening tool  
*Behav Neurosci.* 2006 Feb;120(1):188-95

Turner J, Larsen D, Hughes L, Moechars D, Shore S 2012  
Time course of tinnitus development following noise exposure in mice  
*J Neurosci Res.* 2012 Mar 21. doi: 10.1002/jnr.22827

Turner J, Parrish 2008  
Gap Detection Methods for Assessing Salicylate-Induced Tinnitus and Hyperacusis in Rats  
*Am J Audiol.* 2008 Dec;17(2):S185-92

Turrigiano GG 1999  
Homeostatic plasticity in neuronal networks: the more things change, the more they stay the same  
*Trends Neurosci.* 22, 5, 221-227

Uran SL, Caceres LG, Guelman LR 2010  
Effects of loud noise on hippocampal and cerebellar-related behaviors. Role of oxidative state  
*Brain Res.* 2010 Nov 18;1361:102-14

## Literaturverzeichnis

---

Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B 2003  
Do rats have a prefrontal cortex?  
Behav Brain Res. 2003 Nov 30;146(1-2):3-17

Vale C, Juiz JM, Moore DR, Sanes DH 2004  
Unilateral cochlear ablation produces greater loss of inhibition in the contralateral inferior colliculus  
Eur J Neurosci. 2004 Oct;20(8):2133-40

vanderLoo E, Gais S, Congedo M, Vanneste S, Plazier M, Menovsky T, VandeHeyning P, DeRidder D 2009  
Tinnitus intensity dependent gamma oscillations of the contralateral auditory cortex  
PLoSOne 4:e7396

Vanneste S, Plazier M, vanderLoo E, de Heyning PV, Congedo M, DeRidder D 2010  
The neural correlates of tinnitus-related distress  
Neuroimage. 52, 470–480

Vanneste S, van de Heyning P, DeRidder D 2011a  
The neural network of phantom sound changes over time: a comparison between recent-onset and chronic tinnitus patients  
Eur J Neurosci. 2011 Sep;34(5):718-31

Vanneste S, Van de Heyning P, DeRidder D 2011b  
Contralateral parahippocampal gamma-band activity determines noise-like tinnitus laterality: a region of interest analysis  
Neuroscience. 199, 481–490

Vanneste S, Plazier M, vander Loo E, VandeHeyning P, DeRidder D 2011c  
The difference between uni- and bilateral auditory phantom percept  
Clin. Neurophysiol. 122, 578–587

Vernon JA, Meikle MB 2003  
Masking devices and Alprozolam  
Otolaryngol Clin North Am. 2003 Apr;36(2):307-20, Review

Vertes RP 2004  
Differential Projections of the Infralimbic and Prelimbic Cortex in the Rat  
Synapse. 2004 Jan;51(1):32-58

Vidal JR, Freyermuth S, Jerbi K, Hamamé CM, Ossandon T, Bertrand O, Minotti L, Kahane P, Berthoz A, Lachaux JP 2012  
Long-distance amplitude correlations in the high  $\gamma$  band reveal segregation and integration within the reading network  
J Neurosci. 2012 May 9;32(19):6421-34

Vinogradova OS 2001  
Hippocampus as comparator: role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information  
Hippocampus. 11: 578–598

Vogt BA, Finch, DM, Olson CR 1992  
Functional heterogeneity in cingulate cortex: the anterior executive and posterior evaluative regions"  
Cerebral Cortex. 2, 435-443

Wagner W, Heppelmann G, Kuehn M, Tisch M, Vonthein R, Zenner HP 2005  
Olivocochlear activity and temporary threshold shift-susceptibility in humans  
Laryngoscope. 2005 Nov;115(11):2021-8

## Literaturverzeichnis

---

- Wallhäusser-Franke E, Braun S, Langner G 1996  
Salicylate alters 2-DG uptake in the auditory system: a model for tinnitus?  
Neuroreport. 1996 Jul 8;7(10):1585-8
- Wallhausser-Franke E, Mahlke C, Oliva R, Braun S, Wenz G, ,Langner G. 2003  
Expression of c-fos in auditory and non-auditory brain regions of the gerbil after manipulations that induce tinnitus  
Exp Brain Res. 2003 Dec;153(4):649-54
- Wallhausser-Franke E, Mahlke C, Oliva R, Braun S, Wenz G, Langner G 2004  
Expression of c-fos in auditory and non-auditory brain regions of the gerbil after manipulations that induce tinnitus  
Exp.Brain Res. 153, 4, 649-654
- Waltereit R, Dammermann B, Wulff P, Scafidi J, Staubli U, Kauselmann G, Bundman M, Kuhl D 2001  
Arg3.1/Arc mRNA induction by Ca<sup>2+</sup> and cAMP requires protein kinase A and mitogen-activated protein kinase/extracellular regulated kinase activation  
J Neurosci. 21:5484-5493
- Walton KD, Llinas RR 2010  
Central Pain as a Thalamocortical Dysrhythmia: A Thalamic Efference Disconnection?  
In: Kruger L, Light AR, editors. Source Translational Pain Research: From Mouse to Man. Boca Raton, FL: CRC Press; 2010. Chapter 13
- Wang J, Salvi RJ, Powers N 1996  
Plasticity of response properties of inferior colliculus neurons following acute cochlear damage  
J Neurophysiol. 1996 Jan;75(1):171-83
- Wang H, Tian J, Yin D, Jiang S, Yang W, Han D, Yao S, Shao M 2001  
Regional glucose metabolic increases in left auditory cortex in tinnitus patients: a preliminary study with positron emission tomography  
Chin Med J (Engl). 2001 Aug;114(8):848-51
- Wang KH, Majewska A, Schummers J, Farley B, Hu C, Sur M, Tonegawa S 2006  
In vivo two-photon imaging reveals a role of arc in enhancing orientation specificity in visual cortex  
Cell. 2006 Jul 28;126(2):389-402
- Wang H, Brozoski TJ, Turner JG, Ling L, Parrish JL, Hughes LF, Caspary DM 2009  
Plasticity at glycinergic synapses in dorsal cochlear nucleus of rats with behavioral evidence of tinnitus  
Neuroscience 164, 2, 747-759
- Warr BW 1992  
Organization of olivocochlear efferent systems in mammals  
In: Webster DB, Popper AN, Fay RR, editors. The mammalian auditory pathway: Neuroanatomy. New York: Springer. 410-448
- Wazen JJ, Foyt D, Sisti M 1997  
Selective cochlear neurectomy for debilitating tinnitus  
Ann Otol Rhinol Laryngol. 1997 Jul;106(7 Pt 1):568-70
- Webster WR, Martin RL 1991  
The development of frequency representation in the inferior colliculus of the kitten  
Hear Res. 1991 Sep;55(1):70-80
- Weedman DL, Ryugo DK 1996  
Projections from auditory cortex to the cochlear nucleus in rats: synapses on granule cell dendrites.

## Literaturverzeichnis

---

J Comp Neurol. 1996 Jul 22;371(2):311-24

Weinberger NM 1998

Physiological memory in primary auditory cortex: characteristics and mechanisms  
Neurobiol Learn Mem. 70:226–251

Weinberger MN 2004

Specific long-term memory traces in primary auditory cortex  
Neurobiol Learn Mem. 1998 Jul-Sep;70(1-2):226-51. Review

Weinberger NM 2012

The medial geniculate, not the amygdala, as the root of auditory fear conditioning.  
Hear Res. 2011 Apr;274(1-2):61-74

Weisz N, Wienbruch C, Dohrmann K, Elbert T 2005

Neuromagnetic indicators of auditory cortical reorganization of tinnitus  
Brain. 2005 Nov;128(Pt 11):2722-31

Weisz N, Hartmann T, Dohrmann K, Schlee W, Norena A 2006

High-frequency tinnitus without hearing loss does not mean absence of deafferentation  
Hear Res. 222,1-2,108-14

Weisz N, Lüchinger C, Thut G, Müller N 2012

Effects of individual alpha rTMS applied to the auditory cortex and its implications for the treatment of chronic tinnitus  
Hum Brain Mapp. 2012 Sep 24. doi: 10.1002/hbm.22152. [Epub ahead of print]

Welch D, Dawes PJ 2008

Personality and perception of tinnitus  
Ear Hear. 2008 Oct;29(5):684-92

Wheeler RE, Davidson RJ, Tomarken AJ 1993

Frontal brain asymmetry and emotional reactivity: a biological substrate of affective style  
Psychophysiology. 30, 82–89

Willott JF, Parham K, Hunter KP. 1991

Comparison of the auditory sensitivity of neurons in the cochlear nucleus and inferior colliculus of young and aging C57BL/6J and CBA/J mice  
Hear Res. 1991 May;53(1):78-94

Winer JA 1992

The functional architecture of the medial geniculate body and the primary auditory cortex  
In: Webster DB, Popper AN, Fay RR (eds): The mammalian auditory pathway: neuroanatomy. 1992  
Springer, New York: 222-409

Winguth SD, Winer JA 1986

Corticocortical connections of cat primary auditory cortex (AI): laminar organization and identification of supragranular neurons projecting to area AII  
J Comp Neurol. 248, 1, 36-56

Wolff A, Künzle H 1997

Cortical and medullary somatosensory projections to the cochlear nuclear complex in the hedgehog tenrec  
Neurosci Lett. 1997 Jan 17;221(2-3):125-8

Womelsdorf T, Schoffelen JM, Oostenveld R, Singer W, Desimone R, Engel AK, Fries P 2007

Modulation of neuronal interaction through neuronal synchronization  
Science. 316, 1609–1612



## Literaturverzeichnis

---

- Yan L, Suneja SK, Potashner SJ 2007  
Protein kinases regulate glycine receptor binding in brain stem auditory nuclei after unilateral cochlear ablation  
Brain Res. 1135, 1, 102-106
- Yang WP, Henderson D, Hu BH, Nicotera TM 2004  
Quantitative analysis of apoptotic and necrotic outer hair cells after exposure to different levels of continuous noise  
Hear Res. 196, 1-2, 69-76
- Yang S, Weiner BD, Zhang LI, Cho SJ, Bao S 2011  
Homeostatic plasticity drives tinnitus perception in an animal model  
PNAS September 6, 2011 108, 36, 14974-14979
- Yamane H, Nakai Y, Takayama M, Konishi K, Iguchi H, Nakagawa T, Shibata S, Kato A, Sunami K, Kawakatsu C 1995  
The emergence of free radicals after acoustic trauma and strial blood flow  
Acta Otolaryngol Suppl. 1995;519:87-92
- Yamasaki H, LaBar KS, McCarthy G, 2002  
Dissociable prefrontal brain systems for attention and emotion  
Proc Natl Acad Sci U.S.A. 99, 11447–11451
- Yan J, Zhang Y 2005  
Sound-guided shaping of the receptive field in the mouse auditory cortex by basal forebrain activation  
Eur J Neurosci. 2005 Jan;21(2):563-76
- Yeomans JS, Lee J, Yeomans MH, Steidl S, Li L 2006  
Midbrain pathways for prepulse inhibition and startle activation in rat  
Neuroscience. 2006 Nov 3;142(4):921-9
- Yukie M 2002  
Connections between the amygdala and auditory cortical areas in the macaque monkey  
Neurosci Res. 42:219–229
- Zhang JS, Kaltenbach JA, Wang J, Bronchti G 2003  
Changes in [14C]-2-deoxyglucose uptake in the auditory pathway of hamsters previously exposed to intense sound  
Hear Res. 2003 Nov;185(1-2):13-21
- Zhang J 2012  
Auditory cortex stimulation to suppress tinnitus: Mechanisms and strategies  
Hear Res. 2012 Jun 6. [Epub ahead of print]
- Zald DH, Pardo JV 2002  
The neural correlates of aversive auditory stimulation.  
Neuroimage. 2002 Jul;16(3 Pt 1):746-53
- Zeng C, Nannapaneni N, Zhou J, Hughes L F, Shore S 2009  
Cochlear damage changes the distribution of vesicular glutamate transporters associated with auditory and nonauditory inputs to the cochlear nucleus  
J Neurosci. 29, 13, 4210-4217
- Zenner HP 1994  
Physiologische und biochemische Grundlagen des normalen und gestörten Gehörs  
In: Naumann HH, Helms J, Herberhold C, Kastenbauer E (Hrsg.): Oto-Rhino-Laryngologie in Klinik und Praxis. Bd I: Ohr. Thieme, Stuttgart, 81-231

## Literaturverzeichnis

---

Zheng Y, Hamilton E, Stiles L, McNamara E, de Waele C, Smith PF, Darlington CL 2011a  
Acoustic trauma that can cause tinnitus impairs impulsive control but not performance accuracy in the 5-choice serial reaction time task in rats  
Neuroscience. 2011 Apr 28;180:75-84

Zheng Y, Hamilton E, Begum S, Smith PF, Darlington CL 2011b  
The effects of acoustic trauma that can cause tinnitus on spatial performance in rats  
Neuroscience. 2011 Jul 14;186:48-56

Zhou X, Jen PHS 2000  
Brief and short-term corticofugal modulation of subcortical auditory responses in the big brown bat, *Eptesicus fuscus*  
J Neurophysiol. 84:3083–3087

Zöger S, Svedlund J, Holgers KM 2006  
Relationship between tinnitus severity and psychiatric disorders  
Psychosomatics. 2006 Jul-Aug;47(4):282-8

### Abkürzungsverzeichnis

2-DG	2-Desoxyglukose (hier: 2-Fluoro-2-deoxy-[14C]-D-glukose)
A1	Primärer Auditorischer Kortex
A2	sekundäres auditorisches Feld
Abb.	Abbildung
ABR	Auditorische Hirnstammantwort (akustisch evoziert)
AI	Insula Kortex
AC	Auditorischer Kortex
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
ASR	Auditorischer Startlreflex (ohne Vorimpuls)
BBN	Breitbandrauschen, hier mit Frequenzanteilen von 0,5-20 kHz
BW	Körpergewicht
CA1-3	Cornu ammonis 1-3
CamKII	Calcium/calmodulin-abhängige Kinase II
CG	Gyrus cinguli
CN	Nucleus Cochlearis
CT	Computertomographie
dB	Dezibel
DCN	dorsaler Nucleus cochlearis
EEG	Elektroenzephalographie
ENT	entorhinaler Kortex
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FWHM	<i>full width at half maximum</i>
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
gap-PPI	Auditorischer Startlreflex mit Lücke im Hintergrundrauschen
HPC	Hippocampus
IC	Colliculus inferior
kHz	Kilohertz
LL	Lemniscus lateralis
LTP	<i>Long Term Potentiation</i>
MGB	Corpus geniculatum mediale
MW	Mittelwert (der 25 Startle <i>Trials</i> )

## Abkürzungsverzeichnis

---

μCi	mikro Curie
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OFC	Orbitofrontaler Kortex
ORF	<i>open reading frame</i>
P0, P6	Postnataler Tag0, bzw. Tag6
PET	Positronenemissionstomographie
PPI	Auditorischer Startlreflex mit Vorpuls
ROI	<i>Region of Interest</i>
SC	Colliculus superior
SI	Soziale Interaktion
SPECT	<i>Single Photon Emission Computed Tomography</i>
SPM	Statistical Parametric Mapping (Softwaremodule für MATLAB)
SPL	<i>Sound pressure level</i>
SOC	oberer Olivenkomplex
SUB	Subiculum
Tab.	Tabelle
TRN	Nucleus reticularis thalami
u.a.	Unter anderem
VCN	ventraler Nucleus cochlearis
%VOL	Volumenprozent
z.B.	Zum Beispiel
ZMNH	Zentrum für molekulare Neurobiologie Hamburg