

Der Zusammenhang von Struktur und Funktion
kleiner neuronaler Netzwerke
im auditorischen Cortex der Katze

Diplomarbeit

vorgelegt von Lars Kindermann
aus Uelzen

Angefertigt am
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie
Göttingen

1991

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Fragestellungen dieser Arbeit	2
1.2. Modell eines Neurons	4
1.3. Nachweis synaptischer Verbindungen mit Korrelogrammen.....	5
1.4. Der auditorische Cortex der Katze	8
2. Versuchsaufbau und Durchführung	10
2.1. Aufbau der Meßapparatur.....	10
2.2. Tonerzeugung.....	11
2.3. Erfassung der Spikes	12
2.4. Trennung unterschiedlicher Aktionspotentialformen.....	13
2.5. Kontrolle der Trennung	19
2.6. Versuchsablauf	21
2.7. Datenaufnahme und Darstellung.....	22
Dot-Displays.....	23
PSTH's	23
Tuning-Flächen und Kurven	24
3. Korrelationsanalyse von Aktionspotentialfolgen	25
3.1. Kreuzkorrelogramm und Shift-Predictor.....	25
3.2. Normierung	27
3.3. Signifikanz der Korrelogramme	29
4. Ergebnisse	33
4.1. Überblick über das Datenmaterial.....	33

4.2. Leistungsfähigkeit des Trennalgorithmus	33
4.3. Lokale Homogenität funktioneller Eigenschaften	36
4.3.1. Spontanaktivität.....	38
4.3.2. Reaktion auf tonale Reize	39
Reaktionstypen	39
Frequenzselektivität	41
Bestfrequenzen	42
Latenzzeiten.....	44
4.4. Korrelationen und synaptische Vernetzung.....	45
4.4.1. Spontanaktivität.....	47
4.4.2. Reaktion auf tonale Reize	48
Reaktionstypen	48
Frequenzselektivität	49
Bestfrequenzen	49
Latenzzeiten.....	51
4.5. Vergleich der funktionellen Parameter untereinander	52
5. Diskussion	54
5.1 Spiketrennung	54
5.2 Korrelationsanalyse	55
5.3 Lokale Homogenität und Netzwerkstruktur	57
5.3 Weiterführende Überlegungen.....	60
6. Zusammenfassung	62
7. Literaturverzeichnis	64
Danksagung	68

1. Einleitung

Die Frage, wie das Gehirn Informationen verarbeitet, ist zur Zeit Gegenstand verschiedenster Forschungsrichtungen. Auf molekularer Ebene geben Neurochemie, molekulare Neurobiologie und Neurogenetik die Beschreibung für die grundlegenden Prozesse. Die entscheidenden Erkenntnisse auf zellulärer Ebene lassen sich wohl in den HODGKIN - HUXLEY-Gleichungen (1952) zusammenfassen, die die mathematische Beschreibung wichtiger Funktionen der Nervenzelle wie Informationsverarbeitung und -leitung durch die Theorie der Generierung und des Transports von Aktionspotentialen ermöglichen. Die Patch-Clamp-Technik ermöglicht die Beobachtung einzelner Ionenkanäle, der aktiven Elemente in der Zellmembran. In der Elektrophysiologie werden mit Mikroelektroden die elektrischen Aktivitäten von Neuronen und Neuronengruppen aufgezeichnet, was vor allem zur Aufklärung der Struktur der Wahrnehmungszentren geführt hat. Neue bildgebende Verfahren wie Computertomographie und Kernspintomographie ermöglichen genaueste anatomische Analysen und sogar Einblicke in das *arbeitende* Gehirn: Mit dem PET (Positronen-Emissions-Tomographen) lassen sich die momentan aktiven Zentren sichtbar machen. Von der anderen Richtung her versuchen Psychologen und Verhaltensforscher einer globalen Funktionalität des Gehirns auf die Spur zu kommen.

Die Zusammenarbeit all dieser Bereiche hat die Hirnforschung zu einer interdisziplinären Wissenschaft gemacht, die in neuester Zeit auch befruchtend auf andere Gebiete wirkt: Die Theorie der *neuronalen Netzwerke* verspricht, eine neue Generation von Computern hervorzubringen mit Fähigkeiten, die weit über die der "klassischen" von Neumann-Maschinen hinausgehen. Hier profitieren Ingenieure und Wissenschaftler voneinander. Konzepte, die die Natur während der Evolution für die Informationsverarbeitung in biologischen Systemen entwickelt hat, werden als Anregung für die Entwicklung technischer Implementationen verwendet, während durch dieses *Back-Engineering* auch das Verständnis der Funktion des Hirns wächst.

Der entscheidende Schritt ist zweifellos das Verständnis der Netzwerkstruktur, die inzwischen als entscheidend für die Funktion des Hirns anerkannt ist. Theoretiker bieten seit HEBB (1939) bestechend einfache Modelle für Phänomene wie Mustererkennung und Lernen in neuronalen Netzen. Inwiefern solche Modelle, die für die Entwicklung neuer Rechnerkonzepte z.T. sehr erfolgreich verwendet werden (z.B HOPFIELD 1982), auch neuronale Prozesse im Gehirn beschreiben, ist noch weitgehend offen. Die Funktionsweise eines einzelnen Neurons ist zwar zu einem großen Teil entschlüsselt und kann auf Computern simuliert werden, jedoch das Zusammenwirken vieler Zellen zur Ausübung bestimmter mentaler Aufgaben ist nach wie vor durch die ungeheure Komplexität der beteiligten Strukturen rätselhaft. Die starke Vernetzung im Cortex

macht eine komplette anatomische Analyse, selbst wenn sie durchführbar wäre - 10^{10} Zellen mit je etwa 10^3 - 10^4 Synapsen müßten dokumentiert werden - von einem wissenschaftlichen, nach einfachen Beschreibungen suchenden Standpunkt aus wenig befriedigend. Daß es eine einfachere Beschreibungsweise geben muß, ist evident: Das menschliche Genom enthält bei weitem nicht genügend Information, um alle synaptischen Verbindungen einzeln zu determinieren. Es muß also allgemeine Prinzipien geben, die für den Aufbau der Netzwerkstruktur sorgen. Selbstorganisatorische Prozesse, die in letzter Zeit in vielen Gebieten der Naturwissenschaften von der Physik über Chemie, Biologie bis hin zu soziologischen Phänomenen erfolgreich eingeführt wurden, bieten auch hier mögliche Ansätze: Von der Malsburg (1973) und KOHONEN (1984) zeigen, wie durch sehr einfache Regeln zur Variation synaptischer Stärken in einem zunächst unstrukturierten Netzwerk durch die Einspeisung von Informationen die Bildung von Strukturen induziert wird, die eine topologische Abbildung der Informationsstruktur sind, sogenannte Feature-Maps. Ein Vergleich mit der Abbildung der Sinnesorgane im Cortex, wie sie z.B. Retinotopie oder Tonotopie darstellen, drängt sich förmlich auf.

Ein erhebliches Manko der bestehenden Theorien, was ihren Nutzen zur Beschreibung biologischer neuronaler Netze betrifft, ist eine Simplifizierung der einzelnen Bausteine. Die meisten Netzwerktheorien gehen von identischen Elementen aus; jede besondere Leistung wird durch eine sinnreiche Verschaltung dieser Basiselemente erreicht. Man findet im Nervensystem jedoch eine Vielzahl von Zelltypen, die z.T. hochspezialisiert sind, funktionell differenzierte Netzwerke, die sich räumlich überlagern. Ferner gibt es globale Einflüsse auf das Netzwerk, die nicht durch Aktionspotentiale übertragen werden, chemische Modulatoren, ähnlich Drogen, die die Übertragungseigenschaften aller oder eines Teiles der Synapsen simultan beeinflussen.

1.1. Fragestellungen dieser Arbeit

Ein großer Teil des Wissens über neuronale Strukturen im Cortex stammt aus elektrophysiologischen Untersuchungen an Einzelzellen. Insbesondere die anatomische Struktur der rezeptiven Felder, also der Areale des Cortex, die für die Verarbeitung von Sinnesreizen zuständig sind, konnte so weitgehend entschlüsselt und kartographiert werden. Die Ordnung dieser Felder korrespondiert weitgehend mit dem Aufbau der entsprechenden Sinnesorgane: Es existiert eine topologische Abbildung des Sinnesraumes auf die Oberfläche des Cortex, z.B. in Form von Retinotopie oder Tonotopie. Aufgrund der zweidimensionalen Struktur des Cortex kann eine kontinuierliche Abbildung des Sinnesraumes jedoch nur existieren, wenn dessen Dimension sich durch maximal zwei Parameter beschreiben läßt. Eine einfache Projektion der Retina würde diese Bedingung

erfüllen, aber im visuellen Cortex finden sich Zellen, die auf weit mehr als die Position eines optischen Reizes reagieren: Es gibt positions-, farb-, richtungs-, und geschwindigkeitsselektive Zellen in den gleichen cortikalen Arealen. Das ist nur durch Diskontinuitäten möglich, eine kolumnäre Organisation. Außerdem stellt sich die Frage, ob abgesehen von diesen notwendigen Diskontinuitäten die Abbildung des Sinnesorgans so exakt wie möglich oder nur in einem statistischen Sinne geordnet ist. Die gleichzeitige Beobachtung von mehreren unmittelbar benachbarten Zellen mit einer Elektrode kann eine eindeutige Antwort auf diese Frage geben: Im visuellen Cortex der Katze wurden unmittelbar benachbarte Zellen gefunden, deren rezeptive Felder nicht überlappen (REINIS et al. 1988), ein Ergebnis unvereinbar mit der Annahme einer sehr homogenen Retinotopie. CREUTZFELDT et al. (1975) zeigten, daß viele benachbarte Neurone in Area 17 der Katze keine gemeinsamen Afferenzen haben und sich gegenseitig in keinem signifikanten Maße beeinflussen.

In der vorliegenden Arbeit führen wir eine ähnliche Untersuchung im auditorischen Cortex der Katze durch. Die Tonotopie, also die Organisation der Zellen des auditorischen Cortex nach der Frequenz der Töne, auf die sie reagieren, ist eine Abbildung des Gehörorgans, der Cochlea oder Basilarmembran. Diese bildet eine langgestreckte Trennwand, die die flüssigkeitsgefüllte Höhle der Schnecke des Innenohres in zwei Bereiche teilt. Die eine Flüssigkeitssäule wird von den Geräuschen, die über Trommelfell und Gehörknöchelchen dorthin geleitet werden, in Schwingungen versetzt, die sich entlang der Basilarmembran ausbreiten. Durch die besondere Geometrie dieses hydro-mechanischen Systems führen unterschiedliche Frequenzen zu einer Anregung verschiedener Bereiche der Cochlea: Hohe Töne reizen vor allem den Anfang, tiefe Frequenzen den innersten Abschnitt. An dieser Membran sitzende Sinnesrezeptoren, die Härchenzellen, wandeln die mechanische Anregung in Nervenimpulse, die über verschiedene Schaltstellen bis in den Cortex geschickt werden. Dabei werden benachbarte Punkte der Basilarmembran auf benachbarte Punkte im Cortex abgebildet. Da der Frequenzraum stetig auf die Basilarmembran abgebildet ist, findet sich auch im Cortex ein Gradient der Bestfrequenzen einzelner Neurone. Durch den Vergleich unmittelbar benachbarter Neurone bestimmen wir die Präzision dieser Abbildung. Neben dieser *Bestfrequenz* untersuchen wir auch andere funktionelle Eigenschaften wie Spontanaktivität und Latenzzeit auf deren homogene Verteilung im Cortex.

Praktisch alle Modelle von neuronalen Netzwerken besitzen eine *Lernregel*, die die folgende Eigenschaft hat (HEBB, MCCULLOCH-PITTS, KOHONEN): Sind zwei Neurone verbunden und oft zur gleichen Zeit aktiv, verstärkt sich die Stärke dieser Verbindung; feuern sie dagegen nie gemeinsam, schwächt sich die Verbindung. Beim Prägen eines Netzes werden synaptische Verbindungen nach diesem Schema sogar neu aufgebaut

oder lösen sich völlig. Das ist ein experimentell nachprüfbarer Sachverhalt: Neurone, die auf äußere Reize (Töne in unserem Fall) gleich reagieren, sollten stärker miteinander verknüpft sein als Zellen, die in ihrer Aktivität nie von außen synchronisiert werden.

Die Art und Stärke der synaptischen Verbindung von Neuronen läßt sich ebenfalls durch simultane Ableitung ihrer Aktivität bestimmen. Mittels Korrelationsanalyse ist es möglich, die Vernetzung der einzelnen Zellen zu rekonstruieren bzw. ein minimales Modell anzugeben, das dem beobachteten Ensemble entspricht.

In Verbindung mit den physiologischen Eigenschaften der Zellen, die durch Messung ihrer Reaktion auf verschiedene Töne und Geräusche erkennbar sind, kann dann der Zusammenhang zwischen synaptischer Struktur und Funktion von Neuronengruppen nachgeprüft werden, insbesondere die Vermutung, ob tatsächlich eine HEBB'sche Lernregel bei der Prägung des Netzwerkes beteiligt sein könnte.

1.2. Modell eines Neurons

Das Neuronenmodell, das allgemein für die Deutung von elektrophysiologischen Daten, besonders Kreuzkorelogrammen, benutzt wird, ist der "*Leaky Integrator*" (MELSSSEN und EPPING 1987). Sein Zustand wird vollständig durch das Membranpotential V beschrieben. Isoliert strebt es asymptotisch mit dem Exponenten α einem Ruhepotential V_0 zu. Überschreitet es einen Schwellenwert V_T , produziert das Neuron ein Aktionspotential. Andere durch Synapsen verbundene Neuronen beeinflussen das Membranpotential mit jedem Aktionspotential, das sie produzieren und in Form von EPSP's bzw. IPSP's als minimale Potentialänderung übertragen. Die Größe dieser Potentialänderung durch ein einzelnes Aktionspotential wird durch die Stärke der Synapse bestimmt, das synaptische Gewicht w_i (der Index kennzeichnet die Identität des präsynaptischen Neurons). Das Membranpotential V läßt sich also durch eine einfache Differentialgleichung beschreiben, und die Folge der Aktionspotentiale $A(t)$ kann man direkt aus den Stellen ablesen, an denen das Potential den Schwellwert überschreitet:

$$\frac{dV}{dt} = \sum_i (a_i(t) \cdot w_i) - \alpha(V - V_0)$$

$$A(t) = \begin{cases} 1 & \text{für } V \geq V_T \\ 0 & \text{sonst} \end{cases}$$

Die $a_i(t) \in \{0,1\}$ sind die Aktionspotentialfolgen der präsynaptischen Zellen; durch setzen von $a_0(t) := A(t - \delta)$ und von w_0 auf einen negativen Wert erhält man ein refraktäres Verhalten des Neurons.

Ein Spike der Zelle i führt damit genau dann zu einem Aktionspotential, wenn das Membranpotential unmittelbar vor dem EPSP größer als $V_T - w_i$ ist. Beeinflussen sehr viele Zellen ein Neuron, kann man deren Einfluß als statistische Fluktuation des Membranpotentials mit einer Gauß'schen Amplitudenverteilung und einem mittleren Potential V_M auffassen. Dann besteht zu jedem Zeitpunkt eine Wahrscheinlichkeit $P(V_M)$, daß ein Aktionspotential produziert wird. Gleiches gilt für die bedingte Wahrscheinlichkeit, daß unter der Voraussetzung eines Spikes der Zelle i im zeitlichen Abstand τ ein Aktionspotential generiert wird. Und genau das entspricht (bei geeigneter Skalierung auf Wahrscheinlichkeiten) der Kreuzkorrelationsfunktion.

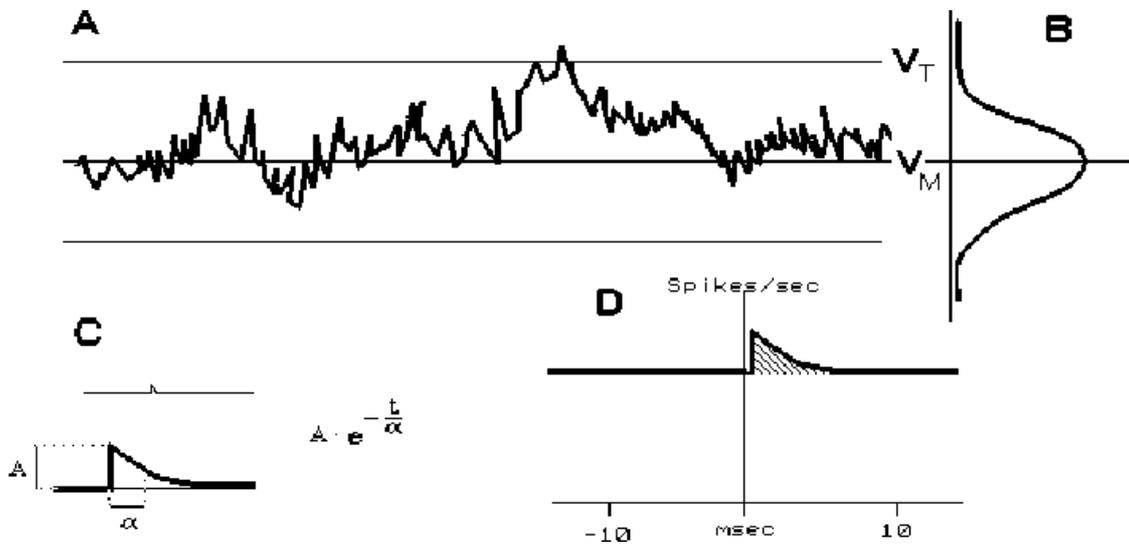


Abbildung 1 Modell zum Zusammenhang zwischen Input und Output eines Neurons. Das Membranpotential unterliegt durch Aufsummierung einer großen Zahl von EPSP's und IPSP's einer statistischen Schwankung. Ein einzelnes EPSP erhöht in diesem Bild die Wahrscheinlichkeit der Generierung eines Aktionspotentials um einen bestimmten Betrag. **A)** Fluktuationen des Membranpotentials um das mittlere Potential V_M . Ein Aktionspotential wird bei Überschreiten der Schwelle V_T generiert. **B)** Amplitudenverteilung des Membranpotentials. Die Wahrscheinlichkeit, ein Aktionspotential zu generieren, entspricht der Fläche unter dem "Schwanz" der Gaußkurve jenseits V_T . **C)** Einfluß eines einzelnen EPSP's auf das Membranpotential. Oben Originalgröße im Verhältnis zu A; unten vergrößerte Darstellung. A =Amplitude, α =Breite des Membranpotentialverlaufes. **D)** Manifestation eines EPSP's im Kreuzkorrelogramm. Nach ABELES (1982).

1.3. Nachweis synaptischer Verbindungen mit Korrelogrammen

Inwieweit Kreuzkorrelogramme für die Ableitung von funktionellen Eigenschaften der direkten synaptischen Verbindung der beobachteten Neurone geeignet sind, ist immer mehr umstritten (EGGERMONT und EPPING 1987, AERTSEN und GERSTEIN 1989). Trotzdem erlauben einfache Modelle zumindest eine qualitative Beschreibung des Zusammenhangs zwischen synaptischer Struktur und Kreuzkorrelogrammen, zeigen jedoch auch, wo Schwierigkeiten bei einer solchen Interpretation liegen.

Die Frage, inwiefern aus der Form der Korrelogramme auf die Art und Stärke der evtl. vorhandenen Synapsen geschlossen werden kann, war ursprünglich eine der Motivationen zur Anwendung dieser Methode in der Neurophysiologie. Man findet in der Literatur - z.B bei ABELES (1982) - eine Interpretation der Korrelogramme folgender Art:

Exzitatorisch - Asymmetrischer Peak: Neuron A macht exzitatorische Synapsen nach Neuron B, daher feuert B nur unmittelbar nach einem Spike von A mit erhöhter Wahrscheinlichkeit.

Inhibitorisch - Asymmetrischer Trog: Neuron A macht inhibitorische Synapsen nach Neuron B und hemmt es jeweils für kurze Zeit nach einem eigenen Spike.

Gemeinsamer Input - Symmetrischer Peak: Beide Neurone bekommen gemeinsamen exzitatorischen oder inhibitorischen Input. Bei Inhibition ist der Peak breiter und kleiner als bei Exzitation, da gemeinsames "Nicht-Feuern" für eine bestimmte Zeit einer gemeinsam erhöhten Aktivität in der übrigen Zeit entspricht.

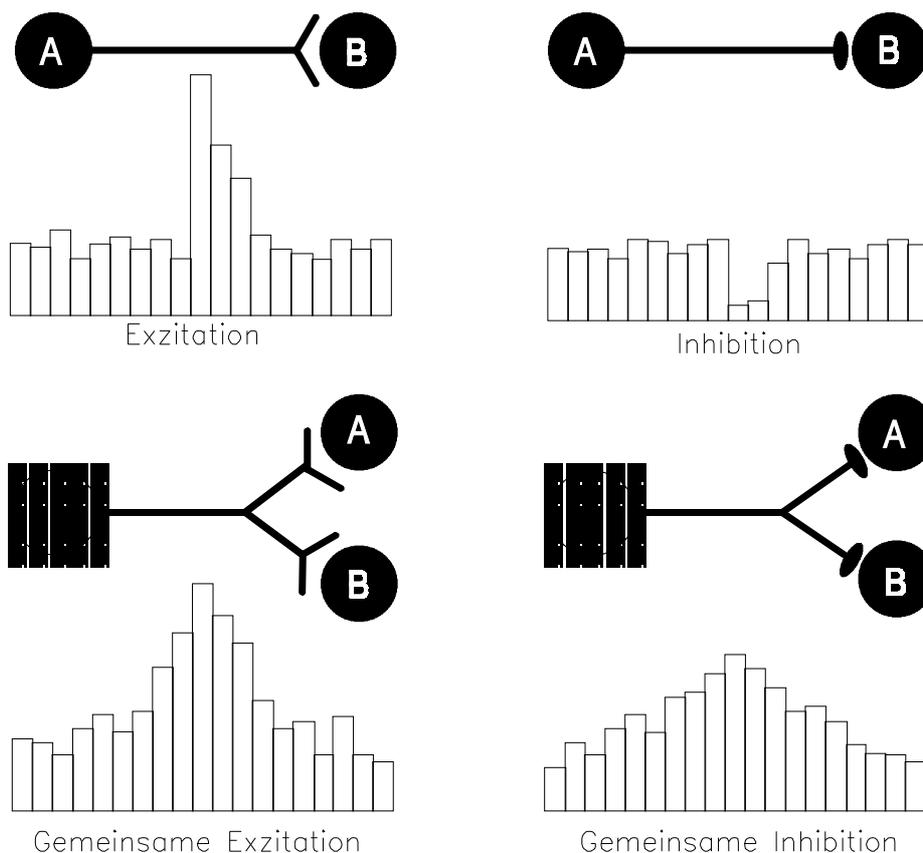


Abbildung 2 Schematische Darstellung der elementaren Verschaltungsmöglichkeiten von Neuronen und Form der daraus resultierenden Kreuzkorrelogramme zwischen ihren Aktionspotentialfolgen.

Man beachte: Gemeinsam inhibierte Zellen führen nicht zu einer zentralen Absenkung in der Korrelationsfunktion, wie man es intuitiv annehmen könnte und auch gelegentlich in der Literatur beschrieben findet. Gemeinsame Inhibition führt zu einer Synchronisation der Spike-freien Phasen der AP-Folgen.

Eine Interpretation des vorhandenen Datenmaterials nach dieser Systematik führt jedoch zu Widersprüchen gegenüber Untersuchungen synaptischer Verbindungen mit anderen Methoden, vor allem intrazellulären Ableitungen. Zum Beispiel treten kaum negative Korrelationen auf. Bei intrazellulärer Registrierung von EPSP's und IPSP's findet man jedoch Inhibitionen genauso oft wie Exzitationen. Erklärt wird diese Diskrepanz durch die um bis zu eine Größenordnung geringere Empfindlichkeit der Korrelationsanalyse für Inhibition gegenüber Exzitation (AERTSEN und GERSTEIN 1985).

Des weiteren gibt es in vivo nirgendwo zwei isolierte Zellen wie in diesen Modellen, sondern das beobachtete Paar ist stets eingebettet in ein komplexes Netzwerk, in dem sich beliebig viele Einflüsse summieren. Inwieweit sich die Interaktion zwischen den zufällig daraus gewählten beiden Neuronen von der übrigen Netzwerkstruktur trennen läßt, kann im Moment nicht entschieden werden.

Daher benutzen wir diese simplifizierenden Modelle nur bedingt für anatomische Aussagen und sehen die Korrelation nur als Maß für Kooperativität in dem beobachteten Netzwerk: Die beobachteten "Synapsen" sind nur funktioneller Natur.

Die Quantifizierung synaptischer Stärken erfordert sogar schon bei einfachsten Modellen die zusätzliche Annahme mehrerer nicht durch die Ableitung bestimmbarer Parameter. MELSSEN und EPPING (1987) simulierten ein 3-Neuronen Modell mit variierenden synaptischen Verbindungen und stellten die resultierenden Kreuzkorrelogramme diesen Verbindungsstärken sowie anderen Systemparametern gegenüber. Es zeigte sich, daß Größen wie das mittlere Membranpotential, die Schwelle zur Generierung von Aktionspotentialen und die Breite von postsynaptischen Potentialen auch bei identischen Synapsen zu sehr unterschiedlichen Korrelationsfunktionen führen können. Auch der Einfluß von anderen Neuronen kann zu einer beliebigen Änderung führen. Auch sie kommen zu dem Schluß, daß tatsächliche oder strukturelle Konnektivität nicht aus der Kreuzkorrelationsanalyse abgeleitet werden kann, wohl aber eine effektive bzw. funktionelle Konnektivität, die - von einem funktionellen Standpunkt aus betrachtet - gleichwohl die für das Gehirn relevante Beschreibung darstellt.

1.4. Der auditorische Cortex der Katze

Der auditorische Cortex der Katze ist ein ca. 5x5mm großes Gebiet, das zum großen Teil auf der Oberfläche der Hirnrinde liegt, jedoch auch in eine Falte (Fissura sylvii) hineinreicht. Die genaue Lage kann von Tier zu Tier variieren. Er ist aufgeteilt in mehrere Felder, die jeweils eine komplette Repräsentation der Cochlea und damit des Frequenzraumes enthalten.

Viele Neurone im auditorischen Cortex besitzen Bandpaßeigenschaften. Sie reagieren nur auf bestimmte Frequenzen oder einen Frequenzbereich. Man sieht im Dot-Display eine Häufung von Aktionspotentialen bei diesen Frequenzen. Aber die Stärke der Reaktion eines Neurons hängt auch von der Lautstärke ab. Die Funktion der neuronalen Aktivität in Abhängigkeit von Frequenz und Lautstärke bezeichnen wir als Tuningfläche. (In der Regel gibt man nur die Abhängigkeit der Hörschwelle von der Frequenz als Tuningkurve an.) Als Bestfrequenz bezeichnet man die Frequenz, bei der bei geringster Lautstärke noch eine Reaktion erkennbar ist.

Die Bestfrequenzen von Zellen in den primären auditorischen Feldern bilden einen Gradienten, das heißt in einer bestimmten Richtung ändert sich die Bestfrequenz kontinuierlich. Man spricht von einer tonotopen Organisation oder einer Abbildung des Sinnesorgans, der Cochlea. Entsprechendes findet sich auch bei anderen Sinnesmodalitäten, etwa die Retinotopie im visuellen System, bei der das Bild auf der Netzhaut in Aktivität im Cortex umgesetzt wird oder die Abbildung der Körperoberfläche im sensorischen Cortex.

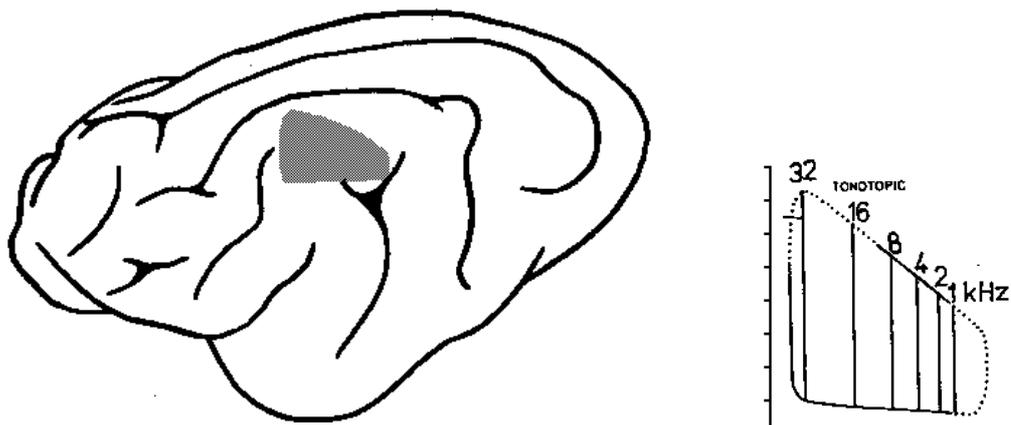


Abbildung 3 Der auditorische Cortex der Katze. **Links:** Die Lage des primären Feldes AI. Die genaue Lage variiert etwas von Tier zu Tier. **Rechts:** Die tonotope Organisation durch Isofrequenzstreifen, Gebieten in denen Zellen gleiche Bestfrequenzen haben (MERZENICH,1975).

Als Spontanaktivität bezeichnet man die mittlere Feuerrate eines Neurons, ohne daß ein äußerer Stimulus vorhanden ist.

Die Signalgeschwindigkeit im Nervensystem ist relativ gering, Aktionspotentiale wandern mit Geschwindigkeiten zwischen 0,5 m/s und 80 m/s (CREUTZFELDT 1983). Dazu kommen weitere Verzögerungen durch synaptische Delays, wenn keine direkte Bahn vorhanden ist. Die Zeit vom Onset des Signals bis zur Reaktion eines Neurons wird als Latenzzeit bezeichnet.

Die Darstellung der Frequenzabhängigkeit der Reaktion von Neuronen erfolgt in Form von Tuningkurven. Dabei wird die Stärke der Reaktion als Funktion von Frequenz und Lautstärke grafisch dargestellt (Siehe z.B. Abbildung 16). Als Maß für die Stärke der Reaktion benutzen wir direkt die Anzahl der Spikes, die unmittelbar auf den akustischen Reiz ausgelöst werden. Die in der Psychophysik gebräuchliche Darstellung von Hörschwellen oder von Linien gleicher Lautstärkeempfindung sind implizit in dieser Form der Tuningkurven enthalten: Der Hörschwelle entspricht die Grenze zwischen Bereichen mit und ohne Reaktion.

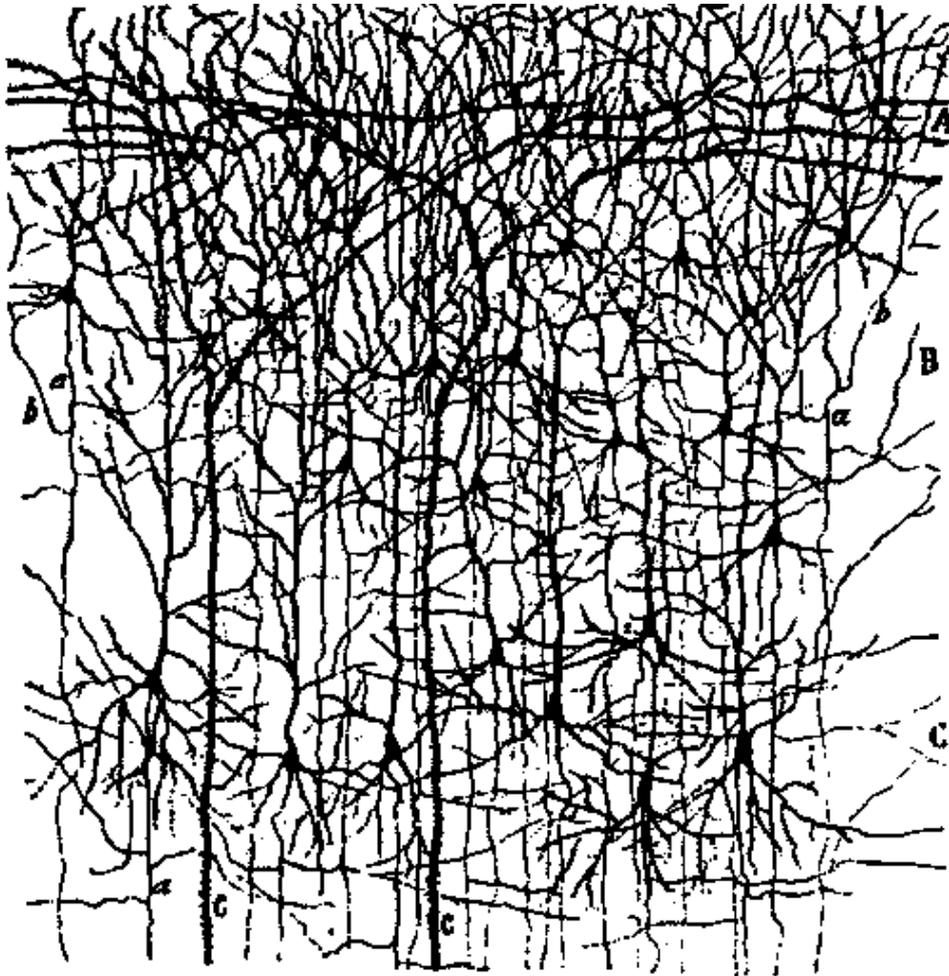


Abbildung 4 Der Cortex der Katze. In diesem Golgi-angefärbtem Schnitt ist ein Teil des Nervengewebes sichtbar, in dem die Mikroelektrode plaziert wird. Die tatsächliche Dichte der Struktur ist noch wesentlich höher, nur etwa 1% der Zellen sind in dieser Darstellung sichtbar. Die Dicke beträgt ca. 2 mm. (RAMÓN Y CAJAL, 1911)

2. Versuchsaufbau und Durchführung

Um die Reaktion von Neuronen und Neuronengruppen im auditorischen Cortex auf akustische Reize zu studieren, entwickelten wir eine computergestützte Versuchsanordnung zur Erzeugung der akustischen Reize und Registrierung und Verarbeitung der neuronalen Signale. Insbesondere das Herausfiltern mehrerer Single-Units aus dem Multi-Unit-Signal der Meßelektrode sowie die grafische Darstellung und Speicherung der Daten erfolgte weitgehend automatisiert.

2.1. Aufbau der Meßapparatur

Die Meßapparatur bestand aus einer zentralen PDP-11/73 zur Steuerung des Experimentalablaufes, Benutzerinteraktion und Datenspeicherung (im folgenden Text durch (A) gekennzeichnet), einer weiteren PDP-11 (B) zur Analyse des Elektrodensignals und einem IBM-PC kompatiblen Compaq Deskpro 386 zur grafischen Kontrolle der Analyse. Ferner waren beide PDP-11 mit einem TZQ-11 Signalprozessor der Firma DI-STECH zur Erzeugung akustischer Reize und zur Erfassung des Elektrodensignals ausgerüstet. Außerdem enthielt die PDP-11 (B) noch einen SKY-MNK (Micro Number Cruncher) Array-Prozessor, der als Vektorrechner die Geschwindigkeit der Klassifikation erheblich beschleunigte.

Neben dieser digitalen Ausrüstung waren noch eine Reihe analoger Geräte notwendig, die zum Teil von den Rechnern kontrolliert wurden: Filter, Attenuatoren und Verstärker für die Tonerzeugung, ferner Meßverstärker zur frequenzabhängigen Kalibrierung der akustischen Apparatur.

Als Lautsprecher wurde in einem Teil der Versuche ein BRÜEL&KJÆR 1/2" elektrostatisches Mikrofon verwendet, das über einen Adapter hermetisch an den Ohrkanal gekoppelt war. Eine zweite B&K 1/4" Mikrofonkapsel, die sich ebenfalls in diesem abgeschlossenen System befand, diente zur frequenzabhängigen Eichung der Lautstärke.

In anderen Versuchen wurde im akustischen Freifeld gearbeitet, wobei ein ca. 50 cm vom Ohr des Tieres entfernter Lautsprecher zur Tonausgabe diente. Auch hier wurde durch ein in unmittelbarer Nähe des Ohres postiertes Meßmikrofon die Kontrolle der Lautstärke ermöglicht.

Zur Abschirmung von Störgeräuschen befand sich das Tier bei den Versuchen in einer akustisch isolierten Hörkabine.

Die Registrierung der Aktionspotentiale erfolgte mit einer glasüberzogenen Elgiloy-Metallmikroelektrode, die am Ende bleistiftartig angespitzt war, so daß das Metall frei lag. Die Impedanz bei 1 kHz lag bei $\approx 1,5 \text{ M}\Omega$.

Die Meßelektrode befand sich in einer stereotaktischen Halterung zur horizontalen Positionierung und konnte in der Tiefe durch einen Mikromanipulator von außerhalb der Kabine verstellt werden, um nach Zellen zu suchen.

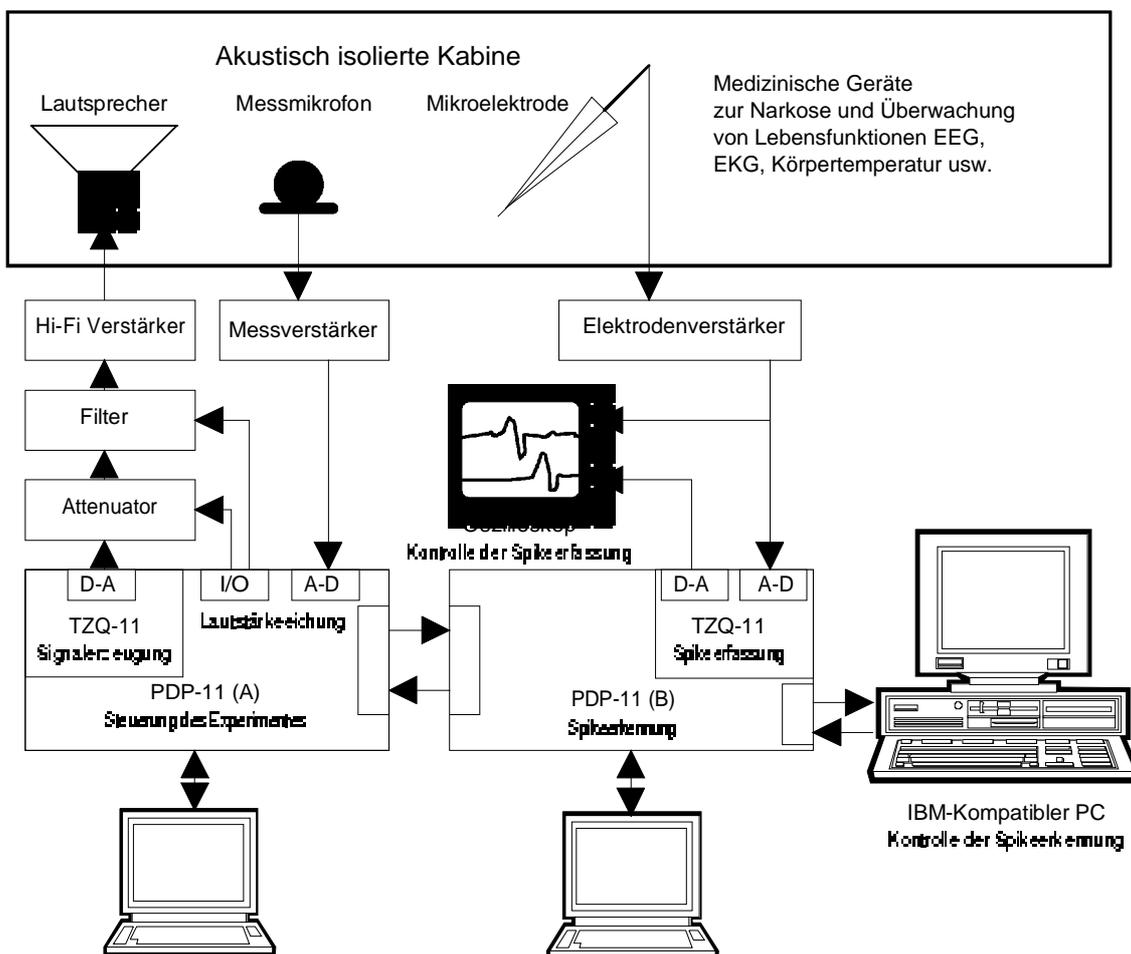


Abbildung 5 Schematische Darstellung der Meßapparatur. Eine PDP-11 (A) steuert den Experimentablauf. Die akustischen Reize werden von dem TZQ-11 Signalprozessor erzeugt, D-A-gewandelt, gefiltert und verstärkt. Zur Eichung werden sie über Mikrofon und Meßverstärker wieder dem Rechner zugeführt. Das Elektrodensignal wird verstärkt und A-D gewandelt dem TZQ-11 der PDP-11 (B) übergeben, der die Spikes herausfiltert und der PDP übergibt, die die Klassifizierung durchführt. Das Ergebnis wird an den PC zur grafischen Darstellung und an die PDP-11 (A) zur Auswertung und Speicherung übermittelt.

2.2. Tonerzeugung

Für die Erzeugung der akustischen Reize stand mit dem auf dem TEXAS-INSTRUMENTS TMS-320 basierenden TZQ-11 Signalprozessor ein sehr flexibles System zur Verfügung, das es ermöglichte, beliebige Geräusche zu produzieren. Diese mußten als Sampling-Dateien vorhanden sein und wurden entweder durch ein Programm mit Hilfe einer Formel erzeugt oder enthielten gesampelte Geräusche, die mit einem Mikrofon aufgenommen werden konnten. Mit einem 16-Bit DA-Wandler wurden diese dann

ausgegeben. Eine Abtastrate von bis zu 100 kHz war erreichbar, also konnten nach dem Abtasttheorem Töne bis maximal 50 kHz erzeugt werden. Die Ausgabe wurde durch den Host-Rechner PDP-11 (A) angestoßen, erfolgte dann aber unabhängig von der PDP. Die Programmierung erfolgte in TMS-320-Assembler.

Die Lautstärke wurde nicht nur durch den Signalprozessor bestimmt, sondern auch durch einen externen Attenuator, der über eine Schnittstelle angesteuert wurde. Dieses ermöglichte es auch bei leisen Tönen stets die volle Auflösung von 16 Bit für die Signalerzeugung auszunutzen.

Dann wurde das Signal mit einem programmierbaren Filter, das als Tiefpaß mit einer Grenzfrequenz von der Hälfte der jeweiligen Abtastrate eingestellt wurde, von den "Spiegelfrequenzen" befreit (OPPENHEIM and SCHAFFER, 1974) und in einen handelsüblichen HiFi-Verstärker geleitet.

Die Darbietung erfolgte alternativ im akustischen Freifeld, wobei ein Lautsprecher ca. 50 cm vom Kopf des Tieres entfernt aufgestellt war, oder durch eine Art Kopfhörer, einen Hartgummistopfen, der in das Ohr gesteckt wurde und am anderen Ende ein als Lautsprecher beschaltetes BRÜEL&KJÆR 1/2" Kondensatormikrofon enthielt, so daß ein abgeschlossenes System gebildet wurde. Um alle Fremdgeräusche auszuschalten, fand das Experiment in einer akustisch isolierten Kabine statt.

Um die Lautstärke der bei der Datenaufnahme präsentierten Töne exakt festlegen zu können, mußte das akustische System geeicht werden. Dazu wurde am Ohr ein 1/4" BRÜEL&KJÆR Meßmikrofon installiert. Dann erzeugte der Computer Sinustöne aller im Experiment verwendeten Frequenzen. Über das Mikrofon und den entsprechenden Meßverstärker wurde der Schallpegel dann in den Rechner zurückgemeldet, der so die Frequenz-Übertragungsfunktion tabellieren konnte. Diese wurde später als Eichkurve verwendet, um während des Experimentes die Signalamplitude mit dem computergesteuerten Attenuator anzupassen, so daß Töne definierter Lautstärke für alle Frequenzen erzeugt werden konnten.

2.3. Erfassung der Spikes

Das verstärkte und analog bandpaßgefilterte (100 Hz - 8 kHz) Elektrodensignal wurde über einen 16-Bit AD-Wandler mit 16 kHz abgetastet und von einem Signalprozessor übernommen, der als Co-Prozessor an einer PDP-11 (B) arbeitete. Der mit einem Texas Instruments TMS320 Mikroprozessor ausgerüstete TZQ-11 speicherte in einem Ring-

puffer ständig die letzten 2 Millisekunden des Elektrodensignals, also 32 Abtastwerte, und kontrollierte, ob der Absolutwert des Signals einen Schwellwert überschritten hatte. War so ein Spike entdeckt worden, wurden 32 Abtastwerte, also ein Zeitfenster von 2 ms, zusammen mit dem auf eine Millisekunde bestimmten Zeitpunkt per DMA (Direct Memory Access = Speicherzugriff ohne Belastung des Hostrechners) in den Speicher der PDP-11 (B) abgelegt.

Gleichzeitig wurde dieser Ausschnitt aus dem Elektrodensignal über einen DA-Wandler wieder ausgegeben und auf einem Oszilloskop zusammen mit dem Originalsignal angezeigt. Das ermöglichte eine visuelle Kontrolle der Spike-Entdeckung: Durch Vergleich von Originalsignal und rückgewandeltem Signal konnte man sehen, ob alle Spikes erfasst wurden und kein Rauschen oder Störsignale den Trigger auslöste. Gegebenenfalls wurde der Schwellenwert manuell korrigiert.

Das Programm wurde in TMS-Assemblersprache geschrieben, um Echtzeitverarbeitung zu gewährleisten. Es wurde mit einem Crossassembler übersetzt, und als Binärdatei in den Programmspeicher des TZQ-11 abgelegt, wo es unabhängig vom Hostrechner abläuft.

Die PDP-11 (B) wurde zur Klassifikation der Aktionspotentialformen und zur Weitergabe der Daten verwendet. Sie fügte jedem Datensatz aus 32 16-Bit-Abtastwerten und dem Zeitpunkt, ebenfalls 16 Bit, eine Identifikation hinzu, die eine Zuordnung zu unterschiedlichen Zellen ermöglichte. Diese Daten wurden dann über 16-Bit Parallelschnittstellen an die andere PDP-11 (A) zur Auswertung und Speicherung und den PC zur Kontrolle übertragen.

2.4. Trennung unterschiedlicher Aktionspotentialformen

Voraussetzung der hier verwendeten Methode zur gleichzeitigen Beobachtung mehrerer Zellen mit nur einer Elektrode ist die Tatsache, daß Aktionspotentiale in einer Vielzahl von verschiedenen Formen auftreten. Unterschiedliche Zelltypen unterscheiden sich in der Form, Dauer und Amplitude ihrer Aktionspotentiale. Wichtiger ist jedoch, daß diese Eigenschaften auch von der relativen Position der Elektrodenspitze zum Neuron abhängen. Trivial ist ein Abnehmen der Amplitude mit zunehmender Entfernung. Jedoch ist die Wellenform der Spikes auch stark abhängig von dem Zellteil, in dessen Nähe abgeleitet wird. Axon, Soma und Dendriten unterscheiden sich erheblich in der Form der extrazellulären Potentiale, die sie produzieren. Daneben ist das Gewebe im Bereich der Ableitung keineswegs ein bezüglich der elektrischen Leitfähigkeit homogenes Kontinuum, sondern ein kompliziertes Gewirr von Zellbestandteilen, vor allem Lipidmembranen, was zu unterschiedlichsten Übertragungseigenschaften führen kann. Auch dadurch verändert sich die Signalform (HUMPHREY 1979, ABELES 1982).

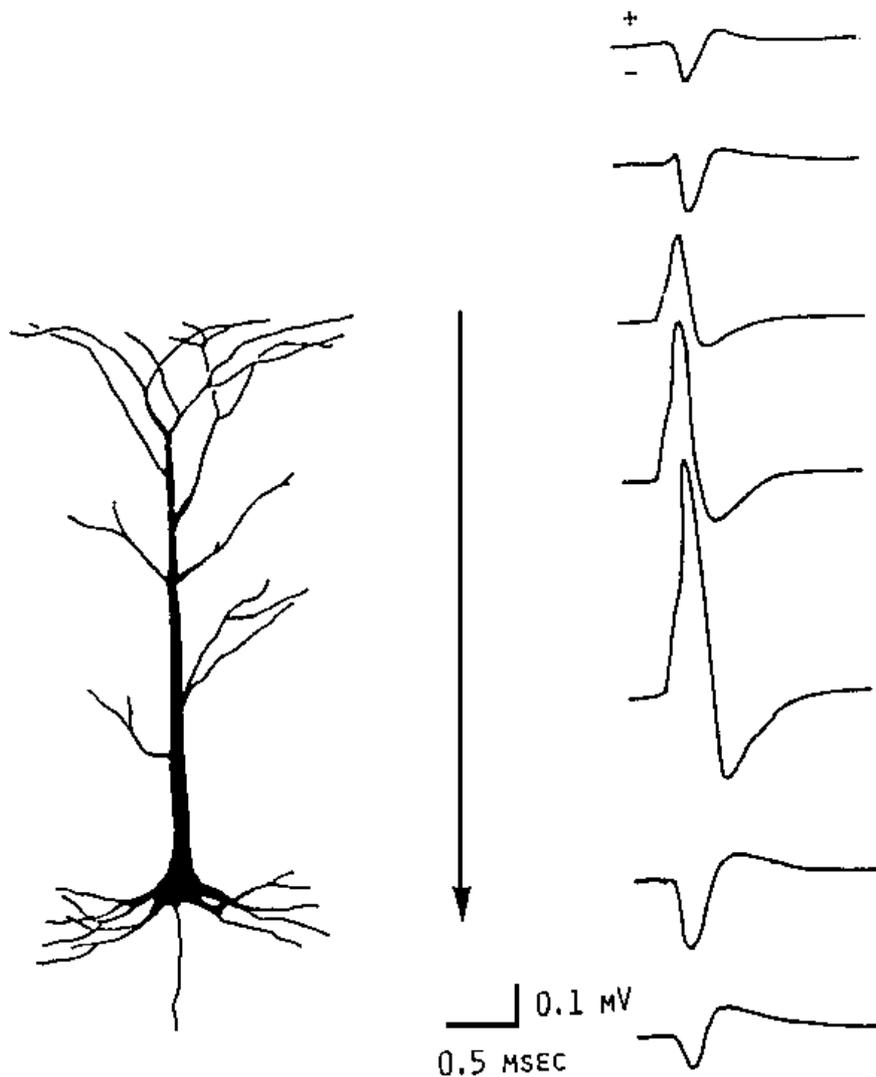


Abbildung 6 Folge von Spikeformen, wie sie mit einer Mikroelektrode aufgezeichnet wurden, die durch das Feld einer Pyramidenzelle bewegt wurde. Aus HUMPHREY (1979). Sowohl Form als auch Amplitude des extrazellulär registrierten Aktionspotentials sind abhängig von der Position der Elektrode relativ zum Neuron.

In unserer Arbeitsgruppe wurde ein rechnergesteuertes Laborsystem entwickelt, das diese Unterschiede in der Spikeform zur automatischen Klassifikation ausnutzt (KINDERMANN, REDIES und SIEBEN 1987).

Da nicht a priori bekannt ist, von wievielen Zellen abgeleitet wird und wie die Aktionspotentiale aussehen, ist ein "Bootstrapping" notwendig, in dem die Menge der verauschten Spikes in eine kleine Anzahl von Klassenrepräsentanten komprimiert wird, die später als Muster dienen sollen. Es ist also ein Verfahren zur Mustererkennung nötig, das zunächst selbstständig die Muster herausfindet, die es erkennen soll.

Als Muster oder Template T dienen Vektoren aus den 32 Abtastwerten. Außerdem wird jedem Template ein Einzugsbereich zugeordnet, eine Kugel im \mathbb{R}_{32} , deren Radius R angibt, wie sehr neue Spikes s von dem Templatevektor abweichen dürfen, um noch in diese Klasse zu fallen. Als Distanz D zwischen Mustervektoren wird dabei das Minimum des Euklidischen Abstands bei Verschiebung der Spikes verwendet. Das ist nötig, weil die Position des Spikes in dem 2-ms Fenster nicht exakt festliegt, sondern sich durch unscharfe Triggerung um einige Abtastwerte verschieben kann.¹

S_{\max} ist die maximale Verschiebung, die getestet wird.

$$D = \min \left[\sqrt{\sum_{i=1}^{32} (s_{i-d} - T_i)^2} \right] \quad d = -S_{\max} .. S_{\max} \quad (2.1)$$

In einer Lernphase wird zunächst das Hintergrundrauschen bestimmt. Dazu wird für einige Sekunden der RMS-Wert des Signals gemessen.

Der erste registrierte Spike wird als Repräsentant der ersten Klasse von Aktionspotentialformen genommen und im folgenden als erstes Template verwendet. Als Radius des Einzugsbereiches wird zunächst ein Wert aus dem Gedächtnis des Systems verwendet. Dieses besteht aus einer Datei, die für verschiedene Signal- Rauschabstände die empirisch gefundenen Radien der Einzugsbereiche enthält.²

Der nächste Spike wird mit diesem Template verglichen, dazu wird die Distanz D zum Template berechnet. Liegt er innerhalb des Einzugsbereiches, so gilt der neue Spike als zur selben Klasse gehörig und wird ihr zugeordnet. Ist der Abstand dagegen größer, so definiert der neue Spike die zweite Klasse.

Mit jedem neuen Spike wird entsprechend verfahren: Der Abstand zu allen vorhandenen Templates wird bestimmt, das ähnlichste ausgewählt und wenn der Abstand klein

¹ Eine Alternative stellt die Transformation der Vektoren in eine gegenüber Translationen invariante Darstellung dar. Das Amplitudenspektrum erfüllt diese Bedingung, hat aber den Nachteil, daß invertierte Signalformen, wie sie gelegentlich vorkommen, nicht unterscheidbar sind. Versuche mit einem Algorithmus, der die Abtastwerte zunächst mittels FFT in die Spektralkomponenten zerlegte (KINDERMANN UND REDIES 1987), zeigten keine bessere Ergebnisse.

² Wäre das Rauschen in den einzelnen Komponenten der Spikes unabhängig und Gauß'sch könnte man den Einzugsbereich analytisch aus der Rauschamplitude bestimmen: D^2 , also der quadrierte Abstand der einzelnen Spikes von ihrem Schwerpunkt, würde einer χ^2 -Verteilung mit 32 Freiheitsgraden entsprechen, also praktisch einer Normalverteilung (BRONSTEIN 1983). Man könnte dann nach Messung des Rauschens leicht ein Konfidenzintervall angeben und R entsprechend wählen (HOLLANDER UND ORBAN 1979). Allerdings treffen im Experiment diese Voraussetzungen nicht zu. Das Rauschen besteht hier aus mindestens drei Komponenten; wobei das Rauschen der Apparatur wohl noch Gauß'sch wäre, das Rauschen jedoch, das die Zelle z.B. durch Änderungen der Spikeform und -Amplitude während eines Bursts produziert, aber mit Sicherheit nicht, da es in Stufen auftritt und korreliert in den Komponenten ist. Das digitale Rauschen, das durch asynchrones Digitalisieren, also zeitliches Verschieben des Spikes um bis zu einer Abtastperiode entsteht, ist ebenfalls stark in den Komponenten korreliert, so daß die tatsächliche Größe der Kugel, die die Verteilung umgibt, meist größer ist.

genug ist, wird der Spike diesem zugeordnet, andernfalls erzeugt er selbst eine neue Klasse.

Das Zuordnen eines Spikes zu einer Klasse verändert sowohl das Template als auch den Einzugsbereich R : Das neue Template wird als gewichtetes Mittel aus dem alten und dem neuen Spike gebildet. Wie stark die neue Form gewichtet wird, hängt von der Anzahl der schon der Klasse zugehörigen Spikes ab: Der zweite Spike geht mit einem Faktor von $\frac{1}{2}$ ein, die folgenden schwächer bis zu einem Minimum von $\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{40}$ des Templates, was dann einem gleitenden Mittelwert entspricht.

In regelmäßigen Abständen werden die Templates untereinander verglichen und auf ihren Abstand voneinander geprüft. In dem Fall, daß die ersten Spikes einer Zelle zufällig durch das Rauschen sehr unterschiedlich aussehen, also an gegenüberliegenden Rändern eines Clusters liegen, werden zunächst oft zwei Klassen gebildet, die jedoch mit der Zeit zusammenwachsen, wenn mehr Spikes dazukommen. Sobald der Abstand zweier solcher Templates kleiner als ihr Einzugsbereich wird, werden sie automatisch zusammengelegt.

Außerdem werden Klassen, die längere Zeit keinen Zuwachs bekamen, gelöscht, um Zellen, die von der Elektrode nicht mehr erfaßt werden, aus der Klassifizierung zu entfernen.

Für den Fall, daß in einer Klasse fälschlich zwei Spikeformen liegen, ist keine automatische Kontrolle programmiert. Der Versuchsleiter kann dieses entweder an den übereinandergezeichneten Spikes dieser Klasse auf dem Bildschirm erkennen oder an der Clusterdarstellung auf dem PC, wenn zwei Punkthaufen in gleicher Farbe erscheinen (siehe *Kontrolle der Trennung*). Dann muß dieses Template manuell gelöscht werden und nochmals "gelernt" werden.

Mit der Datenaufnahme kann begonnen werden, wenn die Trennung der Spikes zufriedenstellend erfolgt. Wenn der Experimentator die Lernphase abschließt, werden die momentanen Klassen eingefroren und das "Gedächtnis" ergänzt. Während der Datenaufzeichnung ändert sich an der Konstellation der Templates nichts Entscheidendes mehr. Lediglich ein "Nachführen" der Mustervektoren, wenn sich die Formen der Aktionspotentiale langsam ändern, z.B. durch langsames Driften der Elektrode, wird noch vorgenommen: Sie werden weiterhin aus dem gleitenden Mittel über die letzten ihnen zugeordneten Spikes gebildet.

Spikes, die während der Analysephase keiner der vorhandenen Klassen zugeordnet werden können, werden in einer eigenen Klasse, dem "Mülleimer", als unklassifizierbar gespeichert.

Praktisch alle erwähnten Parameter sind interaktiv beeinflussbar und können je nach Randbedingungen des Experimentes und individuellen Eigenschaften der Elektrode optimal eingestellt werden.

Um diesen Algorithmus in Echtzeit zu implementieren, sind zeitkritische Routinen in Assembler geschrieben. Außerdem wird ein Vektorprozessor verwendet, mit dem u.a. die Berechnung des Euklidischen Abstands quasiparallel erfolgt.

Probleme treten vor allem bei stark burstenden Zellen auf, d.h. Zellen, die dazu tendieren, mehrere Spikes in kürzester Zeit auszusenden. Typisch sind zwei bis zehn Entladungen im Abstand von ein bis zwei Millisekunden. Da die Amplitude ihrer Aktionspotentiale während eines solchen Burst's stark abnehmen kann, treten Distanzen innerhalb der Spikeformen dieser Zelle auf, die größer sein können, als die zwischen verschiedenen Zellen. Solche Zellen werden dann vom Algorithmus zunächst in mehrere Klassen aufgeteilt. Nach Inspektion der Daten können diese dann später zur Auswertung wieder zusammengelegt werden. Diese Entscheidung kann in der Regel nur nach gründlicher Durchsicht der Daten getroffen werden. Typisch sind in der Clusterdarstellung langgestreckte Cluster, die sich über größere Amplitudenbereiche erstrecken. Doch selbst in der Clusterdarstellung liegen manchmal zwei getrennte Haufen vor, da die Abnahme der Amplitude in festen Schritten erfolgt. Nur das rekonstruierte Elektrodensignal macht in solchen Fällen eine Entscheidung möglich.

Durch diesen Algorithmus können überlagerte Spikes nicht erkannt werden. Dazu müßte bei Mustern, die keiner Klasse zuzuordnen sind, getestet werden, ob sie sich durch Addition von zwei Templates bei einer Zeitverschiebung bis zu zwei Millisekunden konstruieren lassen. Das ist in Echtzeit kaum möglich. Außerdem kann eines der Aktionspotentiale teilweise außerhalb des Zwei-Millisekunden Fensters liegen. Solche Impulse werden im allgemeinen als unklassifizierbar eingeordnet oder bilden eine eigene Klasse, wenn die Zeitdifferenz zwischen beiden oft den gleichen Wert annimmt. Das führt später bei der Korrelationsanalyse zu einem zwei Millisekunden breiten "Loch" im Zentrum der Kreuzkorrelogramme.

Wenn nur von zwei Neuronen abgeleitet wird, sind in manchen Fällen jedoch praktisch alle unklassifizierten Ereignisse als Überlagerung von Aktionspotentialen von zwei Zellen erkennbar. Durch Hinzufügen dieser Ereignisse zu beiden Klassen können so in einigen Fällen die vollständigen AP-Folgen rekonstruiert werden und die Korrelogramme auch bei einer Zeitverschiebung Null angegeben werden.

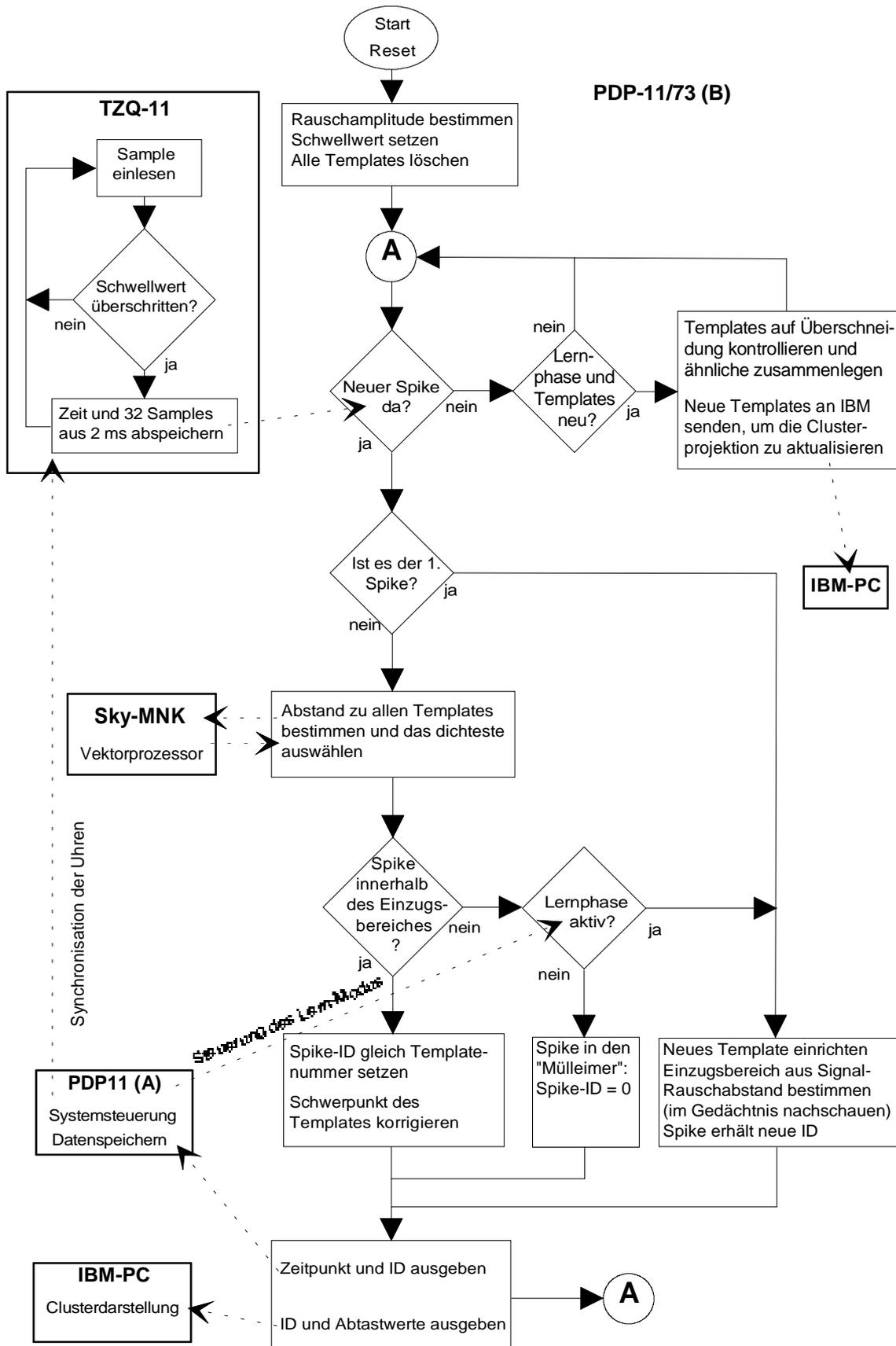


Abbildung 7 Flußdiagramm der Echtzeit-Spikeerkennung. Der Algorithmus wurde in Omsi-Pascal auf einer PDP-11 unter dem Betriebssystem RT11 implementiert. Das Samplingprogramm auf dem TZQ-11 Signalprozessor wurde in TMS-320 Assembler geschrieben. Die gepunkteten Linien deuten Datentransfer zwischen den verschiedenen Prozessoren und Computern an.

2.5. Kontrolle der Trennung

Auf dem PC, der mit einer hochauflösenden Farbgrafik ausgerüstet ist, ist eine visuelle Kontrolle der Trennung der verschiedenen Spikes möglich. Jeder Spike-Klasse wird eine Farbe zugeordnet, an der sich die einzelnen Darstellungen leicht identifizieren lassen.

Zunächst besteht die Möglichkeit, das Elektrodensignal selbst als Funktion der Zeit darzustellen, wobei die erfaßten Spikes in ihrer Farbe und mit der ihnen zugeordneten Klasse angezeigt werden. Der Rest des Signals, der nur Rauschen oder unterschwellige Signale enthält, wird durch eine Linie ersetzt. Zur besseren Erkennbarkeit ihrer Form können die Spikes in der Zeit gedehnt dargestellt werden.

Alle Spikes, die einer Klasse zugeordnet wurden, werden in einem Fenster überlagert, so ist ein direkter Vergleich der Signalformen möglich. Außerdem erfolgt eine Projektion der Spikes auf Punkte in einer Ebene, wobei verschiedene Formen disjunkte Cluster bilden, die durch ihre Farben mit den entsprechenden AP-Formen identifiziert werden können. Eine gute Trennung ist also durch klar voneinander abgegrenzte Cluster in verschiedenen Farben erkennbar.

Zur Berechnung dieser Projektion werden die Spikes s wiederum durch Vektoren in einem 32-dimensionalen Vektorraum mit den Abtastwerten als Komponenten beschrieben. Ebenso die im Klassifikationsalgorithmus berechneten Templates T_i , die der Mittelwert aus den jeweils zu ihrer Klasse zugeordneten Spikes sind. Es werden bereits die verschobenen Abtastwerte verwendet, da die im folgenden beschriebene Prozedur nicht invariant gegenüber Zeitverschiebungen ist.

Die angemessene zweidimensionale Darstellung ist offensichtlich die, bei der der Abstand der Templates untereinander invariant bleibt; das ist bei bis zu drei verschiedenen Klassen durch eine Projektion auf einen linearen affinen Unterraum möglich: Die Hyperebene, auf der die drei Templates liegen, bzw. zwei Templates und der Nullvektor, falls nur zwei Klassen vorhanden sind.

Bei zwei Templates spannen diese den Unterraum direkt auf, und man kann eine Basis durch das Schmidt'sche Orthogonalisierungsverfahren angeben. Sind drei Templates darzustellen, liegen diese nicht in einem Untervektorraum, sondern in einem affinen Raum, einer Ebene, die den Nullvektor nicht enthält. Es gibt jedoch einen wirklichen Unterraum, der zu dieser Ebene parallel ist und durch den Ursprung geht. Da eine orthogonale Projektion invariant gegenüber Translationen ist, die parallel zur Projektionsrichtung erfolgen, kann man eine Basis aus der Differenz je zweier Templates zum dritten erzeugen:

$$T'_1 := T_1 - T_3 \quad (2.1)$$

$$T'_2 := T_2 - T_3$$

Die zwei Basisvektoren der Projektionsebene X,Y ergeben sich durch Orthogonalisierung der T_i bzw. T'_i : Der erste Basisvektor ist einfach das normierte erste Template

$$X := \frac{T_1}{\|T_1\|} \quad (2.2)$$

Vom zweiten Template wird zunächst der X-Anteil abgezogen, was einen zu X orthogonalen Vektor ergibt, der dann ebenfalls normiert wird

$$Y := \frac{T_2 - X \langle T_2, X \rangle}{\|T_2 - X \langle T_2, X \rangle\|} \quad (2.3)$$

\langle , \rangle steht für das Skalarprodukt, $\| \|$ für den Betrag eines Vektors.

Das Bild eines Spikes s mit den Abtastwerten s_i als Vektorkomponenten hat in diesem System die Koordinaten x, y

$$x := \langle s, X \rangle = \sum_{i=1}^{32} s_i \cdot X_i \quad (2.4)$$

$$y := \langle s, Y \rangle = \sum_{i=1}^{32} s_i \cdot Y_i \quad (2.5)$$

Diese Projektion entspricht damit einer Matrixmultiplikation der Spikes s mit einer 32×2 Matrix, die aus den Spaltenvektoren X und Y besteht.

Die Verschiebung eines Spikes um einen Abtastwert führt unter dieser Abbildung leider auch zu einem anderen Bild. Zwei Cluster von Spikes gleicher Form, aber unterschiedlicher Lage im Zeitfenster können also durchaus getrennt erscheinen. Also muß man Templates entweder auf minimalen Abstand untereinander verschieben oder eine Darstellung wählen, die invariant gegenüber Zeitverschiebungen ist. Dazu geeignet ist das Amplitudenspektrum der Spikes bzw. Templates. Dabei geht jedoch die Phaseninformation verloren, was in manchen Fällen jedoch wichtig zur Unterscheidung zweier Klassen ist, z.B. wenn die Form der Aktionspotentiale einfach invertiert ist. Deshalb ist die Darstellungsform auf dem PC umschaltbar.

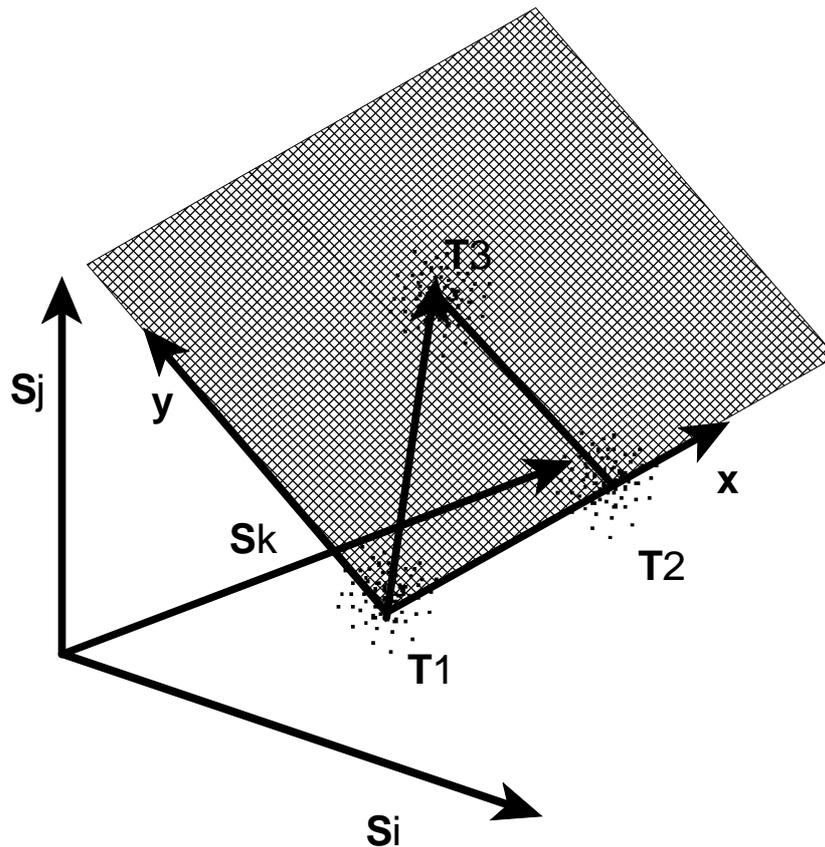


Abbildung 8 Schematische Darstellung der Projektion der Spikes auf eine Ebene zur zweidimensionalen Darstellung von Clustern am Bildschirm. Die Spikes, repräsentiert durch Vektoren aus 32 Abtastwerten S_j , werden auf die Ebene x, y abgebildet, die die maximale Information bezüglich ihrer Unterschiede enthält: Die Mustervektoren T bzw. die Schwerpunkte der Haufen, die zu verschiedenen Zellen gehören, liegen auf dieser Ebene.

2.6. Versuchsablauf

Erwachsene Katzen aus institutseigener Zucht wurden zunächst durch die Injektion eines Narkotikums (Pentobarbital) betäubt. Während des Experimentes wurde die Narkose durch permanente Infusion mit Anästhetika und künstliche Beatmung mit einem Lachgas (N_2O) - Carbogen (CO_2+O_2) Gemisch aufrechterhalten. Ständig wurden physiologische Parameter wie EKG, Körpertemperatur und CO_2 -Gehalt der ausgeatmeten Luft beobachtet.

Nach Anheben der Kopfhaut und Freipräparieren des Schläfenknochens wurde in der Schädeldecke ein Loch von 6-8 mm Durchmesser geöffnet, so daß der auditorische Cortex frei lag. Nach Entfernen der Hirnhaut wurde der freiliegende Cortex mit einer Agar-Agar-Schicht bedeckt, um ein Austrocknen zu verhindern.

Eine detaillierte Beschreibung der medizinischen Methoden wird in der Arbeit von BRANDNER und REDIES (1989) gegeben.

Der Kopf des Tieres wurde in einer stereotaktischen Halterung fixiert. Dann wurde bei einigen Experimenten ein Lautsprecher über einen Hartgummiadapter direkt an den Ohrkanal gekoppelt, in anderen eine Lautsprecherbox in die Nähe des Kopfes gestellt und das akustische System kalibriert.

Unter einem Operationsmikroskop wurde mit Mikromanipulatoren manuell die Mikroelektrode auf der Oberfläche des Cortex positioniert. Das Eindringen in das Gewebe wurde durch eine elektronisch gesteuerte Hydraulik mit einer Auflösung von 1 μm geregelt. Dadurch konnte die gesamte weitere Kontrolle des Experimentalablaufes von außerhalb der Hörkabine erfolgen.

Während die Elektrode hydraulisch langsam in die Tiefe des Gewebes gefahren wurde, um nach aktiven Neuronen zu suchen, produzierte das Signalgenerierungssystem der PDP-11 (A) mit dem TZQ-11 eine Auswahl von Sinustönen und Klicks, um die Zellen zu stimulieren, und das Datenerfassungssystem der anderen PDP-11 (B) registrierte die aufgefangenen Spikes. Eine Kontrolle, ob man eine Zelle oder Zellgruppe gefunden hatte, ermöglichte die Darstellung des Elektrodensignals auf dem Oszilloskop und auf den Computerbildschirmen. So konnte die Position optimal eingeregelt werden bis die Unterschiede der Aktionspotentialformen maximal waren und eine Trennung der verschiedenen Zellen erfolgt war.

Dann wurde das System in die Analysemodus geschaltet und mit der Aufnahme von Daten begonnen. Nach der Datenaufnahme wurde die Elektrode vertikal weitergefahren, um nach anderen Zellen zu suchen bzw. an eine neue Position gesetzt. Es war möglich, von einem Tier bis zu 60 Stunden lang abzuleiten. Danach wurden die Tiere durch eine letale Dosis des Narkotikums getötet und das Hirn für anatomische Untersuchungen entnommen.

2.7. Datenaufnahme und Darstellung

Von jeder Zellgruppe wurde die Reaktion auf Sinustöne verschiedener Frequenz und Lautstärke bestimmt. Aufgezeichnet wurden jeweils die Zeitpunkte, an denen die verschiedenen Zellen Aktionspotentiale generierten.

Ein Meßdurchlauf dauerte 600 Millisekunden. Nach 200 Millisekunden begann ein 100 ms langer Ton mit einer linearen Anstiegs- und Abfallrampe von 20 ms, um Klicks zu vermeiden. Eine Aufnahme enthält die Reaktionen auf verschiedene Reize, vor allem Sinustöne unterschiedlicher Frequenz und Lautstärke, die drei bis fünfmal wiederholt wurden.

Bei der Aufnahme von Tuningkurven wurden 20 Frequenzen (500 Hz - 38 kHz) in 5 Lautstärken (20 - 90 dB Spl) je dreimal wiederholt. Eine Aufnahme enthält damit ca. 300 Durchläufe zu 600 oder 1000 ms, also drei bis fünf Minuten Meßzeit.

Die Präsentation der Stimuli erfolgte in zufälliger Reihenfolge, um Adaptionseffekte zu vermeiden und eine eventuell vorhandene Drift in der Zellaktivität nicht systematisch auf das Ergebnis einwirken zu lassen.

On-Line wurden die Daten während der Aufnahme als Dot-Displays (s.u.) dargestellt. Außerdem konnte auf dem Kontrollrechner (IBM-PC) das analysierte Elektrodensignal in verschiedenen Zeitmaßstäben beobachtet werden: Als übereinandergeplottete Spikes, und ähnlich einem Speicheroszilloskop das Signal mit entsprechend der Klassifikation farbig markierter Spikes (Abbildungen 10 und 11). Für weitergehende Auswertungen wurde in Turbo-Pascal ein Programm entwickelt, das neben dieser Darstellung eine weitgehende Visualisierung und Analyse der Daten in Form von Histogrammen, Tuning-Kurven und Korrelogrammen ermöglicht. Die Beispiel-Abbildungen im Ergebnisteil wurden alle mit diesem Programm erstellt.

Dot-Displays

(Abbildungen 11, 13, 14, 16 und 24)

Die Abszisse markiert die Zeit, darüber sind zeilenweise die Meßdurchläufe aufgezeichnet, geordnet nach Reizen und innerhalb einer Gruppe von gleichen Reizen nach Lautstärken. Jeder registrierte Spike wird in dieser Darstellung durch einen Punkt repräsentiert. Damit ist sehr intuitiv die Klassifikation eines Neurons möglich: Eine Häufung von Punkten an bestimmten Stellen des Dot-Displays entspricht einer erhöhten Aktivität bei entsprechenden Reizen, Lautstärken, und relativ zum Onset der Tonpräsentation. Speziell bei Reizen, die aus Sinustönen unterschiedlicher Frequenz bestehen, sind so Tuning-Eigenschaften der einzelnen Zellen direkt sichtbar.

PSTH's

(Abbildungen 13, 18 und 24)

Im Peri-Stimulus-Time-Histogram stellt man die zeitliche Antwortstruktur eines Neurons dar. Man trägt die über alle Reizwiederholungen aufsummierten Spikes als Funktion der Zeit dar. Am PSTH kann man gut die *Latenzzeit* ablesen: Die Zeit, die vom Beginn des Reizes bis zu Reaktion der Zelle vergeht. Neben der Angabe von Spikes/Bin kann man auch Spikes/sec als Skalierung wählen.

Tuning-Flächen und Kurven

(Abbildungen 14 und 16)

In den Tuning-Flächen wird die *Frequenzselektivität* oder Tuning-Eigenschaft eines Neurons sichtbar. Man trägt die Anzahl der Spikes als Funktion von Lautstärke und Frequenz auf. Die durchgezogene Linie, die Tuning-Kurve gibt die Hörschwelle als Funktion der Frequenz an, also die geringste Lautstärke, die nötig ist, das Neuron anzuregen. Als *Bestfrequenz* bezeichnet man die Frequenz, bei der das Neuron mit der niedrigsten Schwelle noch reagiert. Weitere charakteristische Werte sind z.B. die Asymmetrie und die Breite der Kurve bei einem Pegel von 30 dB über der Hörschwelle bei der Bestfrequenz.

3. Korrelationsanalyse von Aktionspotentialfolgen

In diesem Abschnitt werden die Definitionen für einige Begriffe und Größen gegeben oder hergeleitet, die in der Auswertung benutzt werden. Speziell für die Struktur der in der Neurophysiologie anfallenden Daten wird ein Korrelationsbegriff verwendet, der die Koinzidenz zwischen zeitlich diskreten Ereignissen in den Mittelpunkt stellt. Für die Interpretation von Daten ist es wichtig, von speziellen Experimentalbedingungen zu verallgemeinern, wozu der in der Literatur verbreitete *Shift-Predictor* (z.B. ABELES 1982) in einer allgemeineren und theoretisch befriedigenden Form abgeleitet und eine Normierung eingeführt wird.

Korrelationsanalyse ist primär eine statistische Methode zur Auswertung der Meßdaten. Um die Signifikanz der Ergebnisse beurteilen zu können, wird eine Methode hergeleitet, die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines bestimmten Korrelogrammwertes unter der "Nullhypothese" unabhängiger Zellen zu berechnen, ohne weitere Voraussetzungen über die Statistik der AP-Folgen zu machen. Für die in unseren Experimenten angefallenen Daten waren die in der Literatur (PALM et al. 1988) vorgeschlagenen Testmethoden kaum anwendbar, da zum einen dort gemachte Voraussetzungen (z.B. quasistationäre AP-Folgen) nicht gegeben sind und viele Näherungen wegen einer sehr geringen Spikeanzahl in unseren Daten und der Präsentation von unterschiedlichen Reizen fraglich erscheinen. Ein einfaches Modell erlaubt dennoch die Angabe der Signifikanz für Werte in Korrelogrammen.

3.1. Kreuzkorrelogramm und Shift-Predictor

Die Meßdaten sind die *Spiketrains* eines Zellpaares, wobei Spikes eines Neurons nur durch den Zeitpunkt ihres Auftretens gekennzeichnet sind. Die Aktionspotentialfolgen werden also durch einen Punktprozeß beschrieben. Als Funktion der diskretisierten Zeit sind sie überall gleich Null und nur an den Zeitpunkten, an denen Spikes gemessen wurden, gleich Eins:

$$a_{ij}(t) \in \{0,1\}$$

$$b_{ij}(t) \in \{0,1\}$$

Dabei kennzeichnen die Indizes i, j den Meßdurchlauf (die j -te Wiederholung des i -ten Reizes) und t gibt das Zeitbin (hier stets der Breite 1 ms) an.

$$t \in 0 \dots t_{\max} \quad \text{die Anzahl der Zeit-Bins}$$

$$i \in 1 \dots \text{Reiz}_{\max} \quad \text{die Anzahl der verschiedenen Reize}$$

$$j \in 1 \dots \text{Rep}_{\max} \quad \text{die Anzahl der Wiederholungen pro Reiz}$$

Die Summation einer AP-Folge über alle Wiederholungen eines Reizes ergibt die mittlere Reaktion jeder Zelle und wird gewöhnlich in der Neurophysiologie als Peri-Stimulus-Time-Histogramm (PSTH) bezeichnet. Die zeitliche Antwortstruktur auf diesen Stimulus tritt dabei deutlicher hervor. Mathematisch entspricht das PSTH einer Kreuzkorrelation des Spiketrains mit der Folge der Anfangszeitpunkte der Stimuli.

$$A_i(t) := \sum_j a_{ij}(t) \quad (3.1)$$

$$B_i(t) := \sum_j b_{ij}(t)$$

Ähnlich erhält man die Kreuzkorrelation zwischen den AP-Folgen beider Partner des Zellpaares untereinander. Auch sie kann man als Histogramm bezeichnen, bei dem für jeden Spike der Zelle A der gesamte Spiketrain der Zelle B aufsummiert wird, jeweils um den Zeitpunkt des A-Spikes verschoben. Bei Null liegt also immer ein A-Spike:

$$c_{ij}(\tau) := \sum_t a_{ij}(t) \cdot b_{ij}(t+\tau) \quad (3.2)$$

Über alle Wiederholungen j eines Reizes summiert, erhält man für jeden Reiz i das Korrelogramm

$$\begin{aligned} C_i(\tau) &:= \sum_j c_{ij}(\tau) & (3.3) \\ &= \sum_t \sum_j a_{ij}(t) \cdot b_{ij}(t+\tau) \end{aligned}$$

Ein Ziel dieser Arbeit ist es, Aussagen über die Struktur der synaptischen Verbindungen zwischen Zellen zu machen. Da aber auch völlig unverbundene Zellen, die ähnlich auf äußere Reize reagieren, eine positive Korrelation ihrer Spiketrains aufweisen, wird versucht, den Anteil der Korrelationsfunktion, der nur auf Grund einer ähnlichen Reaktion auf den Reiz besteht, zu ermitteln. Das klassische Verfahren dazu ist der sogenannte *Shift-Predictor* (ABELES 1982). Die Korrelation wird nicht zwischen gleichzeitig aufgenommenen AP-Folgen berechnet, sondern zwischen den Reaktionen auf verschiedene Präsentationen des gleichen Reizes; i.a. werden AP-Folgen aufeinanderfolgender Stimuluspräsentationen korreliert:

$$P_i(\tau) := \sum_t \sum_j a_{ij}(t) \cdot b_{ij+1}(t+\tau)$$

Korrelationen, die nur aus der Modulation der beiden Zellreaktionen durch den Stimulus resultieren, bleiben dabei bestehen, während Korrelationen verschwinden, die durch ein bevorzugt auftretendes Delay zwischen Spikes der beiden Zellen entstehen.

Diese etwas willkürliche Methode der Auswahl der zu korrelierenden AP-Folgen ersetzen wir durch die Berechnung des Mittelwertes über die Kreuzkorrelogramme zwischen *allen* Permutationen der Durchgänge statt nur zwischen sukzessiven, wie oben beschrieben. Das entspricht bis auf den Faktor Rep_{\max} der Kreuzkorrelation der PSTH's, die ja die durchschnittliche Antwortcharakteristik der beiden Neurone beschreiben. Die Definition des Shift-Predictors lautet damit:

$$\begin{aligned} P_i(\tau) &:= \frac{1}{\text{Rep}_{\max}} \sum_t A_i(t) \cdot B_i(t+\tau) \\ &= \frac{1}{\text{Rep}_{\max}} \sum_t \sum_j a_{ij}(t) \cdot \sum_j b_{ij}(t+\tau) \end{aligned} \quad (3.4)$$

Diese gleichzeitig mit dem Stimulus synchronisierte Korrelation ist die, die bei unabhängigen Zellen zu erwarten wäre, die sich nicht durch interne Synapsen beeinflussen. Um den Teil der Korrelation zu extrahieren, der mit Sicherheit auf solche interne Beeinflussung zurückzuführen ist, wird der Shift-Predictor von dem originären Korrelogramm subtrahiert. Dadurch wird das *effektive Korrelogramm* E für den i -ten Reiz definiert:

$$E_i(\tau) := C_i(\tau) - P_i(\tau) \quad (3.5)$$

3.2. Normierung

Da aus den Experimenten nur AP-Folgen der Länge t_{\max} vorliegen, d.h. $a(t)$ und $b(t)$ nur für $0 \leq t \leq t_{\max}$ definiert sind, kann die Summation über t sich nur über den Bereich erstrecken, in dem $0 \leq t+\tau \leq t_{\max}$ ist.

Das führt natürlich zu einer Verzerrung von $c(\tau)$. Der Summationsbereich schrumpft mit wachsendem Betrag von τ . Maximal gibt es $t_{\max}-|\tau|$ mögliche Koinzidenzen, und $c(\tau)$ fällt so auch für unkorrelierte Spiketrams nach außen ab. Daher wird eine Skalierung eingeführt, die für unkorrelierte AP-Folgen ein flaches Korrelogramm produziert. Das wird durch Multiplikation von $c(\tau)$ mit $1 - \frac{|\tau|}{t_{\max}}$ erreicht. Außerdem ist es wünschenswert, eine Normierung der Korrelation einzuführen, um Korrelogramme ver-

schiedener Aufnahmen miteinander vergleichbar zu machen. Dabei sollten unkorrelierte Signale zu einer flachen Korrelationsfunktion vom Betrage 1 führen, unabhängig von der Aktivität der Zellen. Als Normierungsfaktor $n_i(\tau)$ erhält man dafür den Kehrwert des Erwartungswertes für die Koinzidenz unabhängiger AP-Folgen. (Dieser ist proportional zur Anzahl der Spikes und umgekehrt proportional zur gesamten Anzahl der Bins, auf die sie sich verteilen.)

$$n_i(\tau) = \frac{(t_{\max} - |\tau|) \cdot \text{Rep}_{\max}}{D \cdot N_{iA} \cdot N_{iB}} \quad (3.6)$$

dabei sind D die Bin-Weite des Korrelogramms

$$N_{iA} = \sum_j \sum_t a_{ij}(t) \quad \text{die Gesamtzahl der Spikes,}$$

die als Reaktion auf den i-ten

$$N_{iB} = \sum_j \sum_t b_{ij}(t) \quad \text{Reiz aufgezeichnet wurden}$$

Damit erhält man die *skalierten Korrelogramme*

$$C_i(\tau) := n_i(\tau) \cdot C_i(\tau) \quad (3.7)$$

$$P_i(\tau) := n_i(\tau) \cdot P_i(\tau)$$

$$E_i(\tau) := n_i(\tau) \cdot E_i(\tau)$$

Da die vorhandenen Meßdaten aus der Reaktion auf verschiedene Reize resultieren, werden die Korrelogramme aller Reize aufsummiert. Einen Sinn hat das jedoch nur für das effektive Korrelogramm, da es ja unabhängig von externen Einflüssen durch die akustischen Stimuli sein sollte. Hier die unskalierten Korrelogramme:

$$C(\tau) := \sum_i C_i(\tau) \quad (3.8)$$

$$P(\tau) := \sum_i P_i(\tau)$$

$$E(\tau) := \sum_i E_i(\tau)$$

Für die skalierten Korrelogramme muß man noch durch die Anzahl der verschiedenen Reize teilen, um die Normierung aufrechtzuhalten:

$$C(\tau) := \frac{1}{\text{Reiz}_{\max}} \sum_i C_i(\tau) \quad (3.9)$$

$$P(\tau) := \frac{1}{\text{Reiz}_{\max}} \sum_i P_i(\tau)$$

$$E(\tau) := \frac{1}{\text{Reiz}_{\max}} \sum_i E_i(\tau)$$

Das skalierte effektive Korrelogramm E ist das bei den Auswertungen benutzte Maß für die Konnektivität in den beobachteten Netzwerken.

3.3. Signifikanz der Korrelogramme

Die in unseren Experimenten gewonnenen Datensätze enthalten oft nur wenige Spikes. Damit ist eine große relative Streuung der aus ihnen berechneten Werte verbunden. Der Frage, wie signifikant ein gefundener Peak im Kreuzkorrelogramm tatsächlich ist, muß daher Beachtung geschenkt werden.

In der Literatur werden verschiedene Methoden angegeben (AERTSEN und GERSTEIN 1985, PALM und GERSTEIN 1988, WIEGNER und WIERBICKA 1987). Allerdings ist keine dieser Methoden für unsere Datensätze geeignet. Alle gehen von einer Berechnung des Korrelogramms aus Wiederholungen des *gleichen* Stimulus aus. Außerdem werden Näherungen verwendet, die bei wenig Spikes nicht mehr anwendbar sind. Aber auch bei sehr wenig Spikes können Peaks im Korrelogramm, die nur aus drei oder vier Koinzidenzen bestehen, hochsignifikant sein, denn die Wahrscheinlichkeit eines zufälligen Zusammentreffens sehr seltener Ereignisse ist extrem gering.

Daher haben wir eine Methode abgeleitet, diese exakt zu bestimmen: Dazu wird *die Wahrscheinlichkeit* berechnet, *daß ein bestimmter Wert im Korrelogramm unter der "Nullhypothese" unabhängiger AP-Folgen die beobachtete Größe erreicht*, was als Maß für die *Signifikanz* benutzt wird.

Ausgehend von Gleichung (3.2) wird zunächst eine etwas andere Indizierung eingeführt:

$$c_i(t, \tau) := \sum_j a_{ij}(t) \cdot b_{ij}(t+\tau) \quad (3.10)$$

Damit schreibt sich Gl 3.3:

$$C_i(\tau) = \sum_t c_i(t, \tau) = \sum_t \sum_j a_{ij}(t) \cdot b_{ij}(t+\tau) \quad (3.11)$$

Zunächst wird für jedes $c_i(t, \tau)$ die Verteilungsfunktion gesucht, d.h. die Wahrscheinlichkeit P , daß r Koinzidenzen mit

$$a_{ij}(t) = 1 \quad \text{und} \quad b_{ij}(t+\tau) = 1$$

auftreten, unter der Voraussetzung, daß $a_{ij}(t)$ und $b_{ij}(t+\tau)$ unabhängig sind.

Äquivalent dazu ist ein Urnenexperiment mit zwei Urnen, die jeweils N Kugeln enthalten, davon A bzw. B weiße und $N-A$ bzw. $N-B$ schwarze. Beim gleichzeitigen Ziehen von N Paaren ohne Zurücklegen ist die Wahrscheinlichkeit P , genau r weiße Paare zu erhalten, durch die *Hypergeometrische Verteilung* gegeben (BRONSTEIN 1982):

mit $A := A_i(t)$ PSTH der Zelle A zur Zeit t
 $B := B_i(t+\tau)$ PSTH der Zelle B zur Zeit $t+\tau$
 $N := \text{Rep}_{\max}$ Anzahl der Stimuluswiederholungen

$$P(c_i(t, \tau)=r) = \frac{\binom{B}{r} \binom{N-B}{A-r}}{\binom{N}{A}} \quad (3.12)$$

$$= \frac{A! B! (N-A)! (N-B)!}{N! r! (A-r)! (B-r)! (N+r-A-B)!}$$

In der Schreibweise mit Fakultäten erkennt man leicht die Symmetrie bezüglich einer Vertauschung von A und B .

Ein Bin $c_i(\tau)$ des Kreuzkorrelogramms entsteht durch Summation aller $c_i(t, \tau)$. Die Verteilungsfunktion einer Summe ist die Faltung der Verteilungsfunktionen der Summanden. Deshalb müssen die Verteilungsfunktionen der $c_i(t, \tau)$ sukzessiv aufeinandergefaltet werden. In rekursiver Formulierung:

$$P_0(c_i(\tau), r) := P(c_i(0, \tau)=r) \quad (3.13)$$

$$P_t(c_i(\tau), r) := \sum_{k=0}^r P_{t-1}(c_i(\tau), k) \cdot P(c_i(t, \tau)=r-k)$$

$$P(c_i(\tau)=r) := P_{t_{\max}}(c_i(\tau), r)$$

Ebenso muß man die Verteilungsfunktionen der Korrelogramme der einzelnen Reize i miteinander falten, um die Verteilungsfunktion des kumulierten Korrelogramms $C(\tau)$ zu erhalten:

$$P_1(C(\tau), r) := P(c_1(\tau)=r) \quad (3.14)$$

$$P_i(C(\tau), r) := \sum_{k=0}^r P_{i-1}(C(\tau), k) \cdot P(c_i(\tau)=r-k)$$

$$P(C(\tau)=r) := P_{\text{Reiz}_{\text{Max}}}(C(\tau), r)$$

Bei der Darstellung mit größerer Bin-Weite müssen auch noch die Verteilungsfunktionen der Teil-Bins entsprechend einzeln miteinander gefaltet werden.

Durch die Überlagerung vieler solcher Verteilungen erhalten wir eine annähernde Normalverteilung. Den *Erwartungswert* erhält man als *Schwerpunkt* der Verteilung:

$$P(\tau) = \sum_r r \cdot P(C(\tau)=r) \quad (3.15)$$

Das ist identisch mit dem schon vorher erwähnten *Shift-Predictor*.

Um das *Signifikanzniveau* $S(\tau)$ eines Korrelogramm-Wertes $C(\tau)$ zu quantifizieren, berechnet man die Wahrscheinlichkeit, daß dieser oder ein noch weniger wahrscheinlicher Wert unter der Nullhypothese unabhängiger AP-Folgen auftreten würde; bildlich gesprochen, den Flächeninhalt des "Schwanzes" der Verteilungsfunktion.

Für Korrelogramm-Werte größer als der Erwartungswert, also im Fall vermutlicher Exzitation, sind das alle noch größeren Werte; im Falle von Inhibition sind es alle kleineren Werte. Einfacher nimmt man das Minimum beider Möglichkeiten:

$$S_{\text{inhib}}(\tau) := \sum_{r=0}^{C(\tau)} P(C(\tau)=r)$$

$$S_{\text{exzit}}(\tau) := \sum_{r=C(\tau)}^{\infty} P(C(\tau)=r) \quad (3.16)$$

$$S(\tau) := \min(S_{\text{inhib}}, S_{\text{exzit}})$$

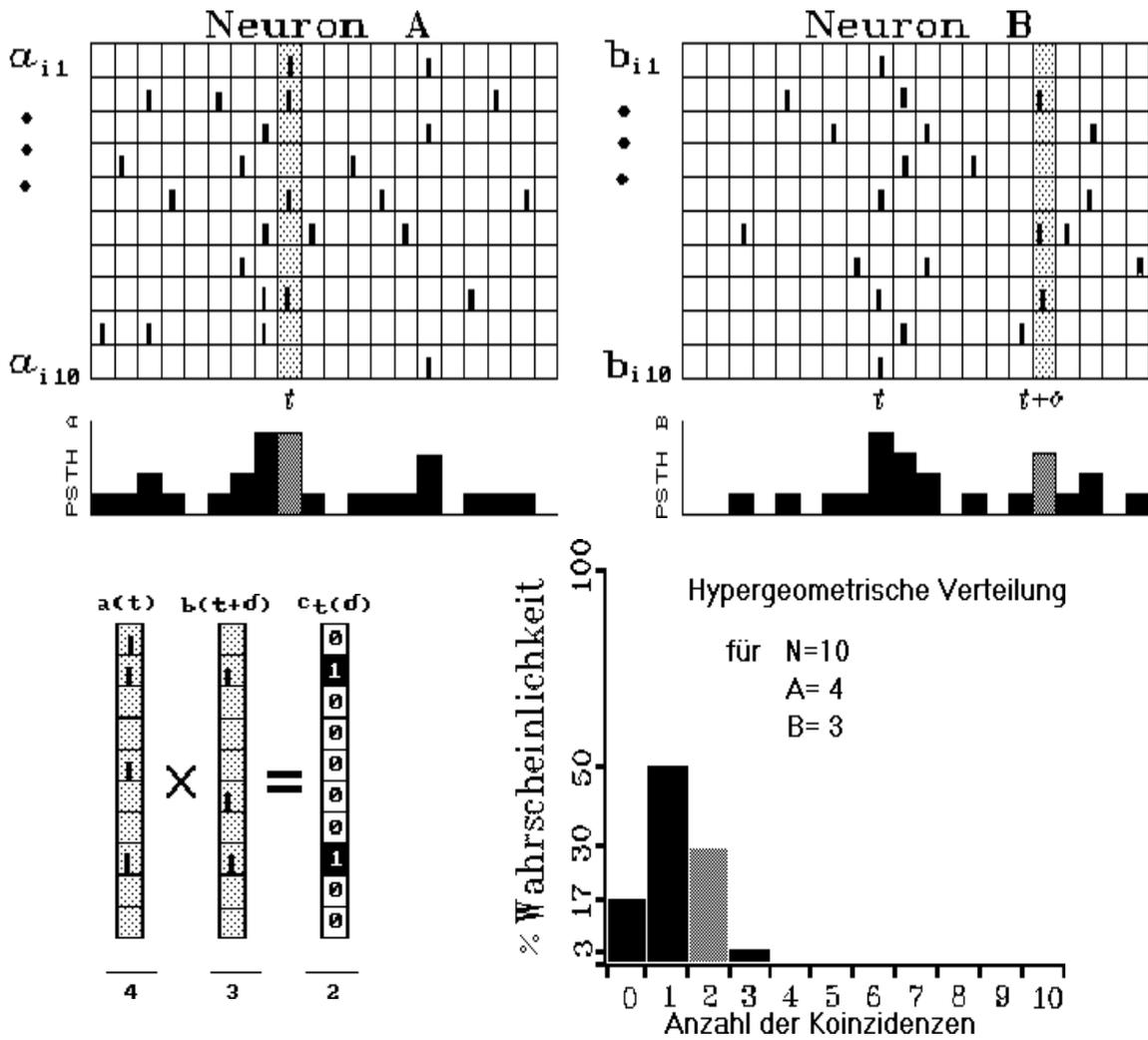


Abbildung 9 Beispiel zur Berechnung der Signifikanz einer Koinzidenzzahl. **Oben:** Die Spiketrams a_i und b_i als Reaktionen auf 10 Wiederholungen des i -ten Reizes, digitalisiert in einzelne Zeit-Bins. Unterlegt sind die Bins der Zelle A zum Zeitpunkt t und die der Zelle B zum Zeitpunkt $t+\tau$, zwischen denen die Koinzidenzen berechnet werden sollen. **Darunter:** Die PSTH's werden durch Summation der Spikes eines Zeitpunktes gebildet. **Unten links:** der t -te Summand der Kreuzkorrelationsfunktion ist die Anzahl der Koinzidenzen zwischen A-Spikes aus dem Intervall t und B-Spikes aus dem Intervall $t+\tau$. In $N=10$ Wiederholungen hat Zelle A=4 mal gefeuert, Zelle B=3 mal und $r=2$ mal waren beide aktiv. **Unten rechts:**Die Wahrscheinlichkeit dafür ist gegeben durch die Hypergeometrische Verteilung: $P(r=2) = 30\%$. Als Signifikanz S , also als die Wahrscheinlichkeit, daß zufällig zwei oder mehr Koinzidenzen auftreten, erhält man $S = 33\%$. Je kleiner S ist, desto größer die Wahrscheinlichkeit, daß der Peak im Korrelogramm "echt" ist.

4. Ergebnisse

4.1. Überblick über das Datenmaterial

Im Rahmen mehrerer Projekte führten wir an 36 Katzen Experimente aus, bei denen wir durch Ableitung corticaler Neurone deren Reaktion auf akustische Reize getestet haben. Insgesamt 3000 Aufnahmen - meist von Einzelzellen wurden dabei mit unserer Meßapparatur aufgezeichnet. Aus diesem Datenmaterial konnten wir mit Hilfe der Clusterdarstellung aus Kapitel 2.4 125 Zellgruppen, verteilt auf 18 Tiere, auswählen, deren einzelne Zellen eindeutig separiert waren. Dabei waren 115 Zellpaare, 19 Dreiergruppen und zwei Cluster von 4 Neuronen. Damit stehen für die Auswertung insgesamt 149 Zellpaare zur Verfügung.

Von jeder dieser Zellgruppen wurde eine Aufnahme gemacht, die ihre Reaktion auf eine Reihe von Sinustönen festhielt. Wir präsentierten jeweils bis zu 20 Frequenzen zwischen 500 Hz und 38 kHz in 1/4 oder 1/2 Oktavschritten und in 6 Lautstärken zwischen 0 und 80 dB Spl. Jeder Reiz wurde dreimal wiederholt, so daß jedes Zellpaar bis zu 360-mal stimuliert wurde. Bei einer Durchgangsdauer von 600 oder 1000 ms ergaben sich Gesamtbeobachtungszeiten von 3-6 Minuten pro Zellgruppe. Dabei wurden pro Zelle zwischen 10 und 30000 Spikes registriert, im Durchschnitt ca. 1000.

4.2. Leistungsfähigkeit des Trennalgorithmus

Die Spikeerkennung war befriedigend, wenn der Signal-Rauschabstand des Elektrodensignals 5:1 oder einen besseren Wert erreichte. In fast allen dieser Fälle war die Trennung sehr gut mit weniger als 1% Fehlklassifizierungen; oft sogar perfekt. Bei einem schlechteren Signal-Rauschverhältnis war eine Klassifizierung nicht immer möglich. In einigen Experimenten fanden wir Gruppen aus einer Zelle mit einer großen Spikeamplitude und mehreren Neuronen mit kleinen Amplituden. In solchen Fällen war das System in der Lage, die große Zelle eindeutig von den anderen zu unterscheiden, aber es war nicht möglich zu sagen, ob die kleinen Aktionspotentiale von einer Einzelzelle oder von mehreren Neuronen stammten, also Multi-Unit-Aktivität repräsentierten.

Besondere Probleme bereiteten stark burstende Zellen, deren Spikeamplitude bei mehreren direkt aufeinanderfolgenden Entladungen drastisch abnimmt, in einigen Fällen um bis zu 50%, da bei der wiederholten Generierung von Aktionspotentialen das Membranpotential nicht sofort vollständig wiederaufgebaut wird. In solchen Fällen war eine korrekte Trennung selten möglich, da die verschieden großen Aktionspotentiale

dieser Zellen allein schon mehreren Klassen zugeordnet wurden, die sich oft stärker voneinander unterscheiden als die Spikes verschiedener Neurone. Ein solches Beispiel ist in Abbildung 10 dargestellt.

Diese Fehlklassifizierungen des Online-Datenaufnahmeprogrammes konnten jedoch fast immer durch eine visuelle Kontrolle der Daten mit Hilfe der Clusterdarstellung eliminiert werden.

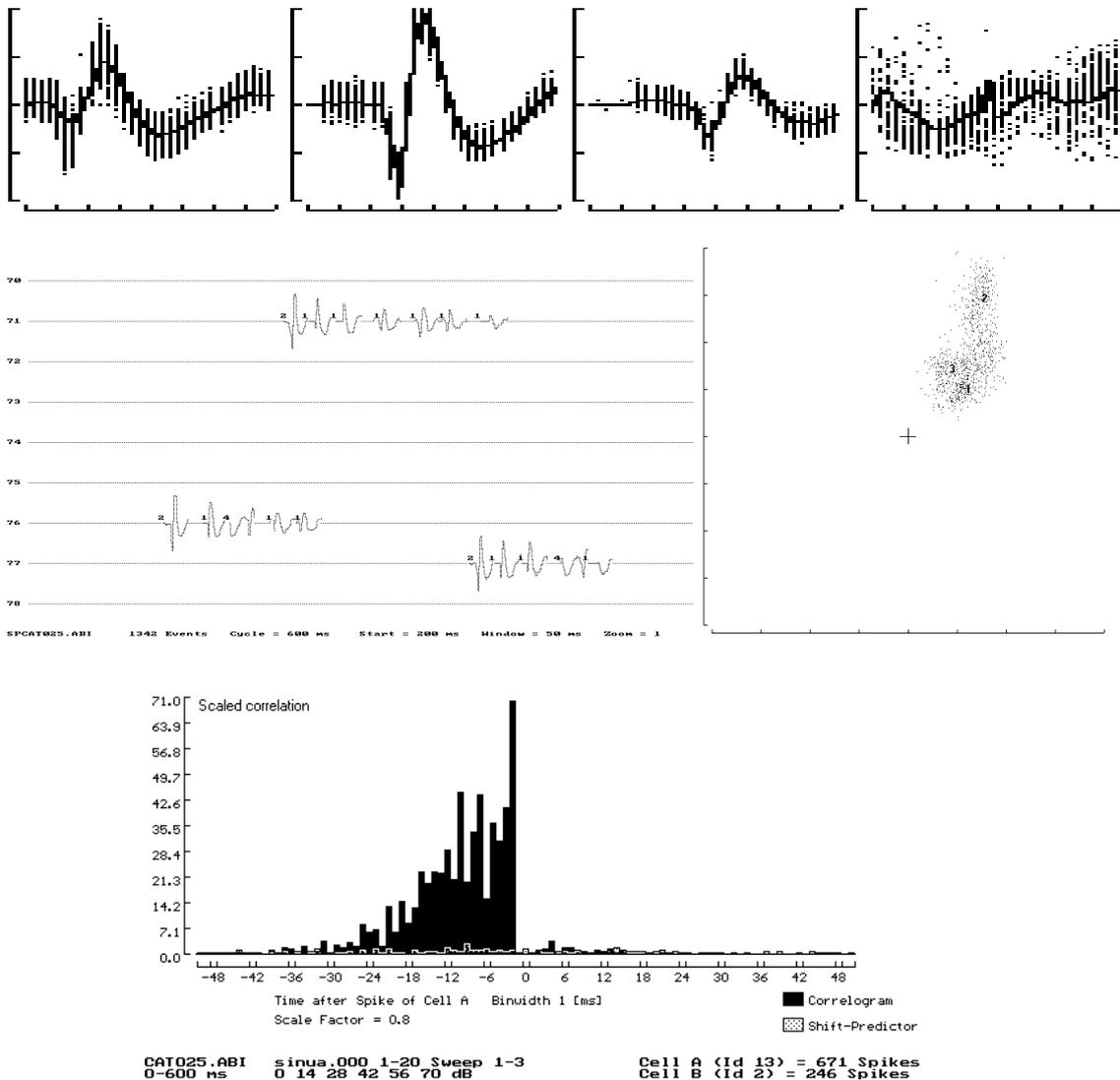


Abbildung 10 Beispiel für eine falsche Klassifizierung. **Oben:** Die starke Abnahme der Spikeamplitude während wiederholten Feuerns ("Burstens") führte zu einer Aufteilung der Aktionspotentiale in drei Klassen (die vierte stellt den "Mülleimer" unklassifizierbarer Signale dar). Dadurch, daß die Amplitude vom ersten zum zweiten Spike um einen festen Betrag abnimmt, scheinen diese Klassen in der Projektion (**mitte rechts**) sogar etwas voneinander separiert und ohne die Betrachtung des Signals selbst (**mitte links**) wäre ein Aussortieren solcher Aufnahmen nicht möglich. **Unten:** Das Korrelogramm zeigt auch, daß die Aktionspotentialformen 1 und 3 immer nur nach 2 auftreten, eine Deutung als exzitatorisch gekoppeltes Zellpaar kann hier jedoch nicht aufrechterhalten werden.

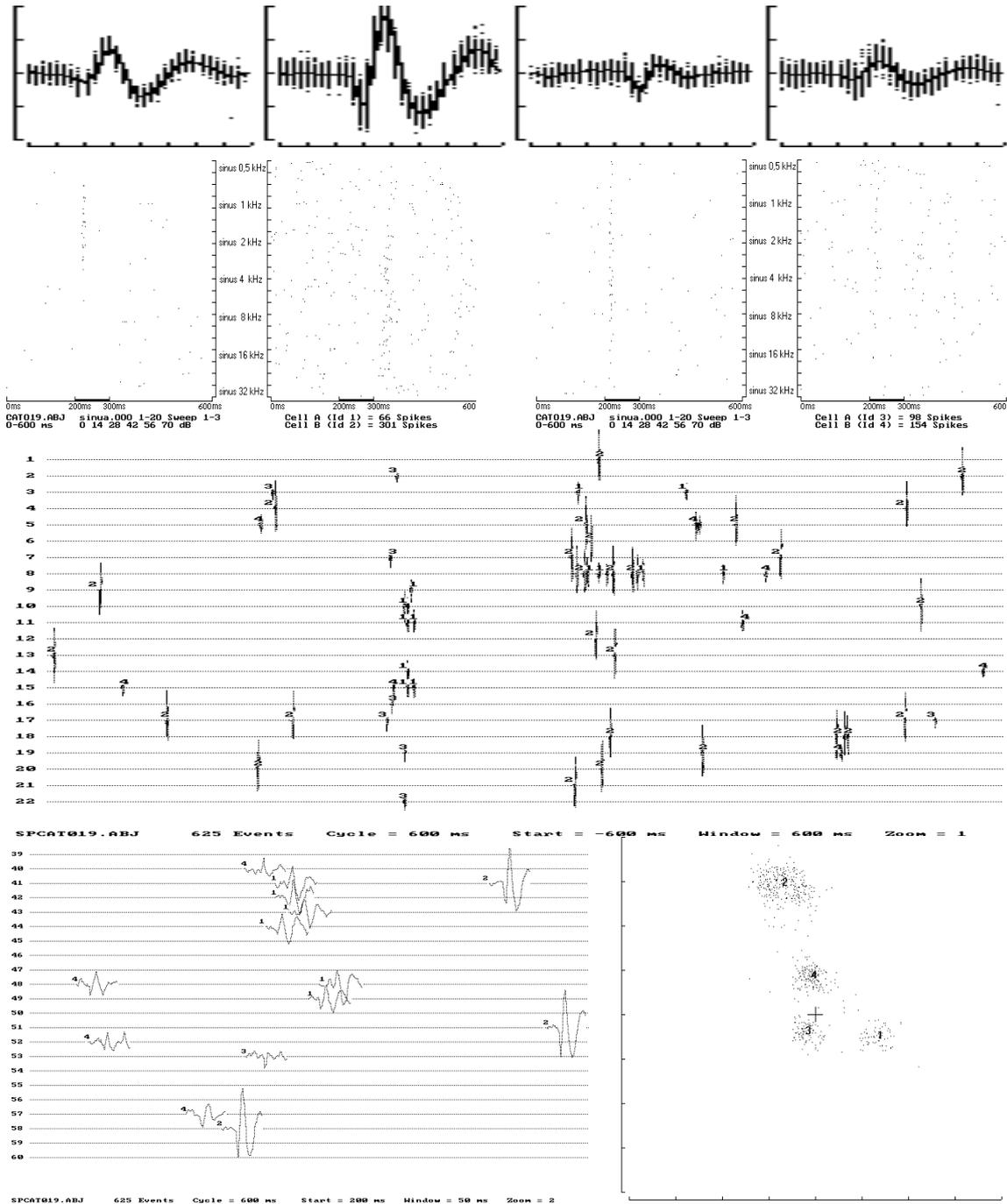


Abbildung 11 Eine Gruppe von vier Neuronen. **Oben:** Die Formen der jeweiligen Aktionspotentiale als 32 Abtastwerte in einem 2ms breiten Ausschnitt aus dem Elektrodensignal. Die senkrechten Balken zeigen den Schwankungsbereich. **Darunter** eine Darstellung der Reaktion der einzelnen Zellen in Form von *Dot-Displays*: Jeder Punkt entspricht einem Aktionspotential; Jede Zeile einem Meßdurchlauf von 600 ms; bei 200 ms setzt der Ton an und dauert 100 ms. Die Markierungen auf der Ordinate deuten verschiedene Reize an, hier Sinustöne unterschiedlicher Frequenz; innerhalb jedes Frequenzabschnittes variiert die Lautstärke von unten nach oben in 6 Stufen von 0 bis 60 dB Spl und jede dieser Stufen wird dreimal wiederholt. **Mitte:** Rekonstruktion des Elektrodensignals. Nur als Spike erkannte Ereignisse sind als 2 ms lange Folgen von jeweils 32 Abtastwerten gespeichert worden und werden hier angezeigt. Das zwischen den Spikes liegende Rauschen ist nicht gespeichert und wird durch eine Linie überbrückt. Die Zahlen geben die Klasse an, in die der jeweilige Spike eingeordnet wurde. Diese Darstellung ist praktisch eine Vergrößerung der *Dot-Displays*. **Unten links** wurde ein Ausschnitt nochmals vergrößert, so daß auch die Formen der Aktionspotentiale erkennbar sind. **Unten rechts:** Clusterdarstellung der auf eine Ebene projizierten Spikes; man sieht, daß die Spikeformen sich gut voneinander unterscheiden.

4.3. Lokale Homogenität funktioneller Eigenschaften

Ein bemerkenswertes Ergebnis beim Vergleich von Zellpaaren ist die funktionelle Diversität, die man bei Neuronen findet, die unmittelbar nebeneinander liegen oder nur wenige hundert μm voneinander entfernt sind. Die Abbildungen 16 und 18 geben ein Beispiel davon, wie unterschiedlich Zellen auf einen Reiz antworten können. Dem gegenüber steht die Tatsache der Existenz corticaler Maps, topologischer Abbildungen von Sinnesmodalitäten auf ein neuronales Netz. Im Falle des auditorischen Cortex ist das die tonotope Projektion des Tonspektrums. Diese bedingt einen Gradienten der Bestfrequenz entlang der auditorischen Felder. Wir haben untersucht wie präzise dieser Gradient eingehalten wird, wie unscharf also die Abbildung des Frequenzraumes im Cortex ist.

Es ist klar, daß bei Existenz einer solchen Struktur nahe beieinander liegende Zellen in ihrer Frequenzselektivität meist ähnlicher sind als weiter voneinander entfernte. Dieses Prinzip bezeichnen wir als *lokale Homogenität*. Die Existenz einer solchen Ordnung setzt jedoch nicht notwendig eine globale Struktur des Netzwerkes voraus; kleine Cluster von gleichartigen Zellen würden ebenfalls dazu führen, daß der Vergleich von Nachbarn mehr Ähnlichkeiten liefert als bei distanzierten Objekten.

Neben der *Bestfrequenz* von auditorischen Neuronen bestimmen wir aus unseren Messungen die *spontane Feuerrate* und die *Latenzzeit* als funktionelle Parameter. Außerdem klassifizieren wir Zellen noch nach der *Art ihrer Reaktion* und ihrer *Frequenzselektivität* und teilen sie in verschiedene Gruppen ein. Jede dieser Eigenschaften testen wir dann auf lokale Homogenität.

Für die Parameter, die sich durch ein *stetiges Maß* charakterisieren lassen - Spontanaktivität, Bestfrequenz und Latenzzeit - nutzen wir zwei Methoden, um statistisch zu untersuchen, ob räumliche Nähe auch funktionelle Ähnlichkeit bedingt:

Zunächst zeigen wir zur Veranschaulichung das Histogramm der Verteilung des Parameters in allen Zellen, unabhängig von der Paarung (Abbildungen 12, 15 und 17 oben). Als geeignetes Maß für den Unterschied zweier Zellen bezüglich dieses Parameters wählen wir für die Spontanaktivität den (logarithmierten) Quotienten der Spontanraten, für die Bestfrequenz den Unterschied in Oktaven und für die Latenzzeiten die Differenz in Millisekunden. Von der Verteilung dieser Unterschiedsmaße bilden wir dann ebenfalls ein Histogramm (Abbildungen 12, 15 und 17 unten links) und berechnen den Mittelwert. Zum Vergleich ermitteln wir die Verteilung, die bei zufälliger Paarung der Zellen zu erwarten wäre, und bestimmen auch deren Mittelwert. Ist der empirische Mittelwert kleiner als der erwartete, ist der entsprechende Parameter lokal homogen im Cortex verteilt. Ob dem eine globale Struktur zugrunde liegt oder lediglich eine

Häufung gleichartiger Neurone vorliegt, ist mit unserer Methode nicht zu unterscheiden.

Um festzustellen, ob dieses Ergebnis signifikant ist, testen wir die Nullhypothese, daß die empirische Verteilung gleich der erwarteten ist bzw. daß die Mittelwerte beider Verteilungen in Wirklichkeit gleich sind und die beobachteten Unterschiede rein zufällig. Der dafür in der Regel verwendete t-Test erscheint hier allerdings nicht angebracht, er testet *normalverteilte* Stichproben auf Gleichheit des Mittelwertes; eine offensichtlich nicht gegebene Voraussetzung, wie man mit bloßem Auge an den Verteilungen sieht. Statt dessen benutzen wir den nichtparametrischen MANN-WHITNEY-WILCOXON-Test, der eine solche Wahrscheinlichkeit auf der Basis von Rängen bestimmt (BRONSTEIN 1983).

Als weitere Methode, lokale Homogenität aufzuzeigen, tragen wir Spontanaktivitäten, Bestfrequenzen bzw. Latenzen der beiden Zellen in einem Paar gegeneinander auf (Abbildungen 12, 15 und 17 unten rechts) und berechnen den Korrelationskoeffizienten r . Eine positive Korrelation bedeutet, daß die Neurone innerhalb der Paare einander ähnlich sind³. Um einen Vergleich mit der Literatur durchführen zu können, wählen wir außerdem ein nichtparametrisches Verfahren: Den SPEARMANN-Rank-Koeffizienten ρ . Er liefert ähnliche Werte wie der gewöhnliche Korrelationskoeffizient, braucht aber die Voraussetzung normalverteilter Stichproben nicht, um die Korrelation auf Signifikanz testen zu können.

Um die Merkmale Reaktionstyp und Frequenzselektivität auszuwerten, bezüglich deren wir Neurone in jeweils drei verschiedenen Klassen eingeteilt haben, tragen wir die Klassifikationen beider Zellen in einer Tabelle ein: Auf der Diagonalen liegen Paare mit gleichen Eigenschaften, daneben die Paare, in denen Neurone mit verschiedenen Qualitäten nebeneinanderliegen. Aus der Häufigkeit der Merkmale bei den Einzelzellen berechnen wir den Erwartungswert für die verschiedenen Paarungen von Eigenschaften, so daß wir wieder ein Modell erhalten, das uns angibt, was bei einer unstrukturierten Anordnung des Netzwerkes zu erwarten wäre: Treten homogene Paare häufiger auf als in diesem Modell, bedeutet das, daß der Cortex bezüglich dieser Merkmale lokale Homogenität aufweist.

³ Ein Problem bei der Bestimmung der Korrelationskoeffizienten ergibt sich in unserem Fall durch die Äquivalenz beider Zellen: Die Wahl, welche der beiden Zellen die abhängige Größe besitzt, ist frei. Und der Korrelationskoeffizient ist nicht invariant gegenüber Vertauschungen von x - und y - Wert eines *einzelnen* Wertepaares. Statt einen sogenannten *Intraklassenkorrelationskoeffizienten* zu verwenden, der eine solche Invarianz besitzt, aber extrem aufwendig in Handhabung und Berechnung ist (LIENERT 1975), berechnen wir für viele zufällig erzeugte Kombinationen den normalen *Interklassenkorrelationskoeffizienten* und geben den Mittelwert für r an.

Um hier die Signifikanz einer solchen Häufung zu bestimmen, benutzen wir einen χ^2 -Test. Als Nullhypothese wählen wir, daß die Verteilungen der erwarteten und empirischen Häufigkeiten von homogenen und heterogenen Paaren gleich sind. Der Test gibt uns dann eine Irrtumswahrscheinlichkeit p für die tatsächliche Existenz einer solchen Homogenität.

4.3.1. Spontanaktivität

Da die Datenaufnahme stets 200 ms vor der Präsentation des Reizes begann, konnten wir die Spontanaktivität der beobachteten Zellen bestimmen. Bei 300 Darbietungen entsprach das 60 Sekunden Meßzeit pro Zellpaar. Die Abbildung 12 zeigt oben die Verteilung der gefundenen Einzelzellaktivitäten in logarithmischer Auftragung. Bei 286 Zellen fanden wir neben inaktiven Zellen solche mit Feuerraten bis 50 Spikes/sec.

Als Maß für den Unterschied der Aktivität in einem Zellpaar definieren wir den Quoti-

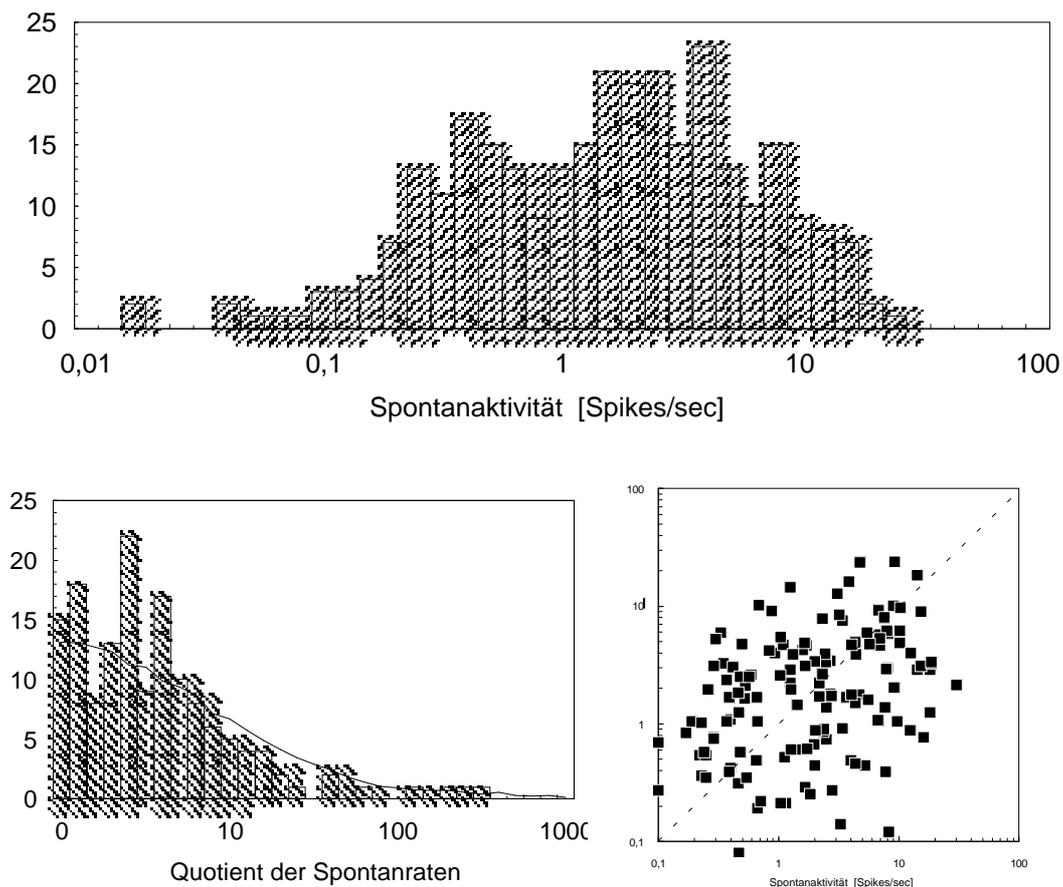


Abbildung 12 Spontanaktivität innerhalb von Zellpaaren. **Oben:** Verteilung der Spontanaktivität von Einzelzellen im auditorischen Cortex. **Unten links:** Häufigkeitsverteilung des Unterschiedes der Feuerraten. Als Unterschied wird hier der Quotient der beiden Raten verwendet. Durchschnittlich weichen die spontanen Raten um den Faktor 3,9 voneinander ab. Die Linie ist die aus den Spontanaktivitäten berechnete Verteilung für D_f , die bei zufälliger Paarung zu erwarten wäre (Im Mittel ein Faktor von 4,8). **Unten rechts:** Die Spontanaktivität innerhalb von Zellpaaren ist korreliert ($r = 0,38$).

enten aus den Feuerraten bzw. dessen dekadischen Logarithmus. Wir fanden Unterschiede bis zu einem Faktor 100. Abbildung 12 zeigt unten links die Verteilung dieses logarithmierten Quotienten mit einem Mittelwert von 0,59 - das entspricht etwa einem Verhältnis von 3,9, um das Spontanraten in Zellpaaren im Schnitt voneinander abweichen.

Bei zufälliger Kombination der Zellen aus dem Pool wäre dagegen eine Verteilung mit dem Mittelwert 0,68 zu erwarten, entsprechend einem Faktor 4,8.

Also ist der empirisch ermittelte Unterschied kleiner als der unter der Hypothese der Unabhängigkeit theoretisch zu erwartende. Das heißt, *benachbarte Zellen sind in ihren spontanen Feuerraten ähnlicher als weiter entfernte*. Ein MANN-WHITNEY-WILCOXON-Test belegt die Signifikanz dieses Resultates: Die Irrtumswahrscheinlichkeit p ist kleiner 0,01. (Voraussetzung für diese Aussage ist allerdings, daß die globale Aktivität während der Experimente konstant war. Siehe auch Diskussion, Kapitel 5.3)

Dies wird auch in Abbildung 12 unten rechts deutlich. Dort sind die Feuerraten der beiden Zellen in einem Paar gegeneinander aufgetragen. Man sieht eine Korrelation, die sich als Häufung entlang der Hauptdiagonalen zeigt. Der Korrelationskoeffizient ist $r = 0,38$ bzw. $\rho = 0,42$.

4.3.2. Reaktion auf tonale Reize

Reaktionstypen

Zunächst teilen wir die Neurone in drei Kategorien entsprechend ihrer Reaktion auf Sinustöne ein:

- *deutliche Reaktion:* Klare Reaktion auf den akustischen Stimulus.
- *schwache Reaktion:* Die Zelle reagiert auf Sinustöne, aber diffus und ohne klares zeitliches Ankoppeln an den Reiz
- *keine Reaktion:* Keine sichtbare Reaktionen auf Töne im Dot-Display und PSTH.

Abbildung 13 zeigt als Beispiel drei Dot-Displays von verschiedenen Zellen bei gleichen Versuchsbedingungen. Wir fanden 219 Zellen mit deutlicher Reaktion, 59 mit schwacher Reaktion und 20 Zellen, die nicht auf Töne reagieren (Tabelle 1).

In Tabelle 1 sind die möglichen Kombinationen von Reaktionstypen in Zellpaaren mit ihrer gefundenen Häufigkeit dargestellt. Außerdem ist in Klammern der statistisch zu

erwartende Anteil der entsprechenden Kombination angegeben, wenn die 298 Zellen willkürlich gepaart würden. Es wird deutlich, daß gleiche Reaktionstypen in Zellpaaren überwiegen (102 gegenüber 87 erwarteten). Unterschiedliche Typen fanden wir nur in 47 Paaren, obwohl 63 erwartet waren. Diese Abweichung ist hochsignifikant; ein χ^2 -Test zeigt $p < 0,01$.

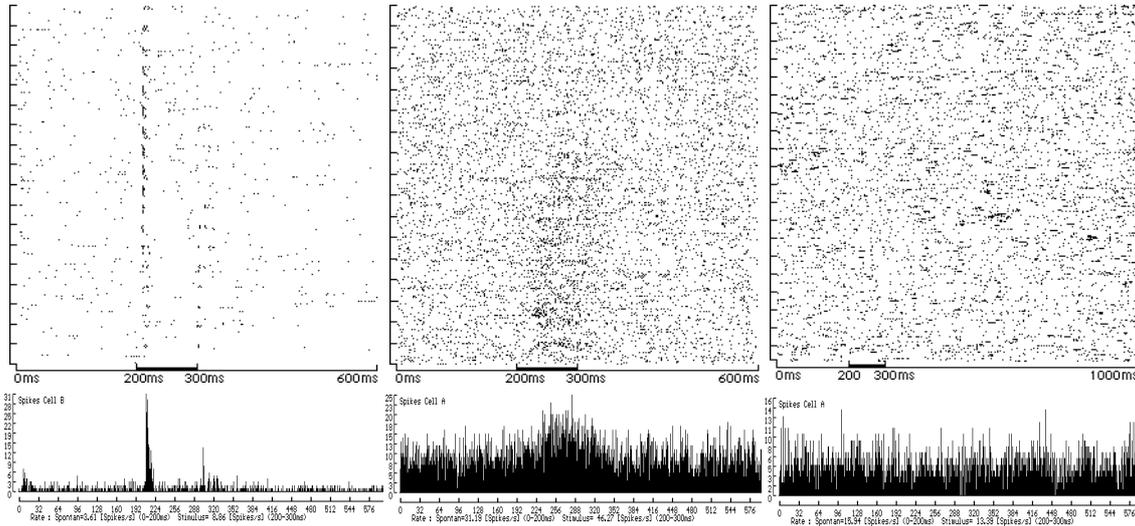


Abbildung 13 Beispiele für die Reaktion von Zellen auf tonale Reize. Die Einteilung in drei verschiedene Typen erfolgte anhand von Dot-Displays (oben) und PSTH's (unten). **Links:** Deutliche Reaktion **Mitte:** Schwache Reaktion **Rechts:** Keine Reaktion.

Deutliche Reaktion	Schwache Reaktion	Keine Reaktion
219 = 73%	59 = 20%	20 = 7%

Tabelle 1 Reaktionstypen von Einzelzellen auf tonale Reize entsprechend Abbildung 13. Jeweils absolute und relative Häufigkeiten.

	Deutliche Reaktion	Schwache Reaktion	Keine Reaktion
Deutliche Reaktion	88 = 59% (90 = 54%)	29 = 20% (44 = 29%)	14 = 9% (15 = 10%)
Schwache Reaktion	—	13 = 9% (8 = 4%)	4 = 3% (4 = 3%)
Keine Reaktion	—	—	1 = 1% (1 = 1%)

Tabelle 2 Kombination von Reaktionstypen in Zellpaaren. In Klammern die bei zufälliger Paarung der Zellen aus Tabelle 1 zu erwartenden Häufigkeiten. Gleiche Reaktionen sind häufiger als erwartet zu finden: In 102 Paaren reagieren beide Zellen gleich, bei willkürlicher Paarung wären dagegen nur 87 Paare zu erwarten.

Frequenzselektivität

Wir fanden 88 Paare, bei denen beide Zellen eine deutliche Reaktion auf Sinustöne zeigten (siehe Tabelle 1). Die Zellen in diesen Paaren teilten wir wiederum nach ihrer Tuningeigenschaft, d.h. deren Selektivität auf Frequenzen in 3 Kategorien ein:

- *Scharfes Tuning*: Eine klare Bestfrequenz ist erkennbar.
- *Breites Tuning*: Die Zellen haben keine scharfe Bestfrequenz, jedoch ist die Reaktion auf einen Bereich von weniger als 2 Oktaven begrenzt.
- *Kein Tuning*: Die Zellen antworten praktisch unabhängig von der Frequenz des Stimulus und keine Bestfrequenz kann angegeben werden.

In Tabelle 3 sind die Häufigkeiten dieser Typen angegeben. Es überwiegen die Zellen, deren Frequenzgang selektiv ist, die also für die tonotope Struktur des auditorischen Cortex sorgen. Tabelle 4 zeigt die Kombination von Zellen dieser Kategorien in den corticalen Zellpaaren und den unter der Annahme statistisch zufälliger Kombination zu erwartenden Anteil. Hier sind gleiche Eigenschaften ebenfalls häufiger gepaart als erwartet (44 homogene Paare gegenüber 41 erwarteten und 44 heterogene statt 51). Ein χ^2 -Test zeigt, daß dieser Unterschied allerdings kaum signifikant ist ($p = 0,25$).

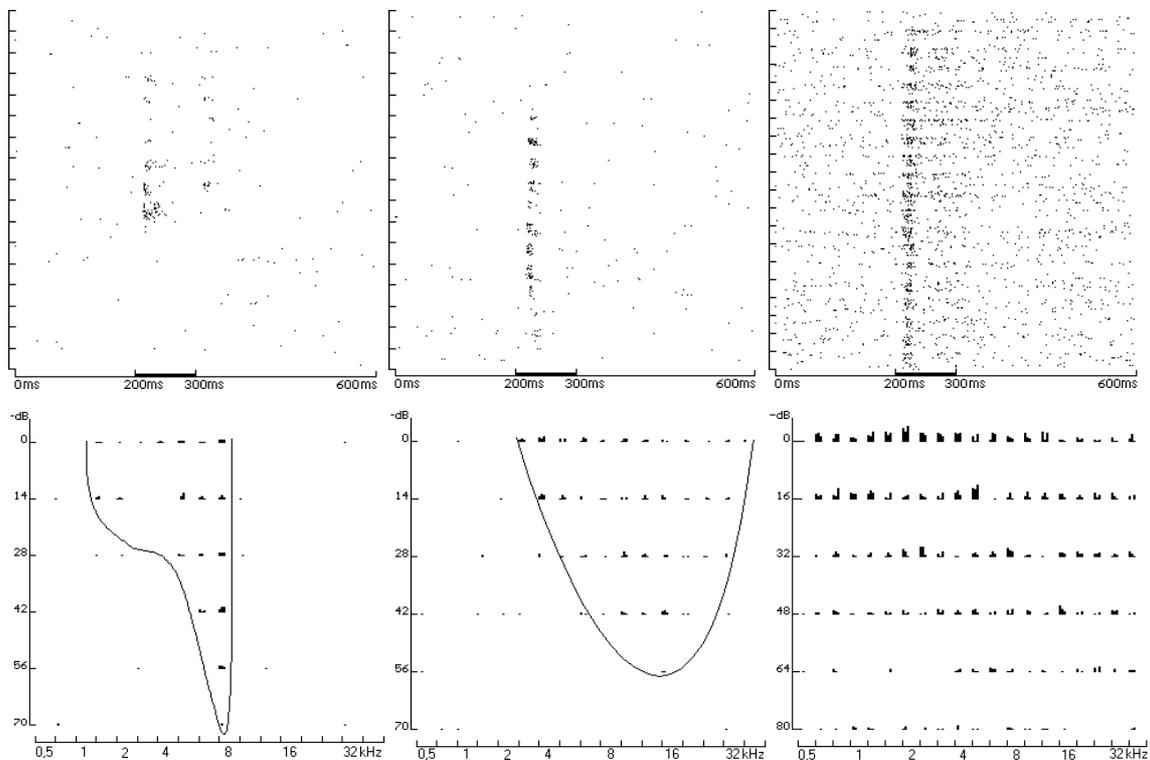


Abbildung 14 Beispiele für Frequenzselektivität anhand von Dot-Displays und Tuning-Kurven. **Links:** Scharfes Tuning - Die Zelle weist eine klare Bestfrequenz auf. **Mitte:** Breites Tuning - Zelle reagiert auf einen Frequenzbereich größer als 2 Oktaven oder auf mehreren Frequenzen **Rechts:** Kein Tuning - Die Reaktion erstreckt sich auf den gesamten Frequenzbereich.

Scharfes Tuning	Breites Tuning	Kein Tuning
102 = 58%	39 = 22%	35 = 20%

Tabelle 3 Häufigkeit der verschiedenen Typen von Frequenzselektivität entsprechend Abbildung 14. Es sind nur Paare berücksichtigt, in denen beide Zellen auf tonale Reize reagieren.

	Scharfes Tuning	Breites Tuning	Kein Tuning
Scharfes Tuning	32 = 36% (29 = 33%)	21 = 24% (23 = 26%)	17 = 19% (20 = 23%)
Breites Tuning	—	6 = 7% (4 = 5%)	6 = 7% (8 = 9%)
Kein Tuning	—	—	6 = 7% (7 = 8%)

Tabelle 4 Kombination der Frequenzselektivität in Zellpaaren. In Klammern die bei Unabhängigkeit zu erwartenden Häufigkeiten. In 44 Paaren reagieren die Zellen gleich, ebenfalls 44 Paare zeigen eine heterogene Frequenzspezifität. Zu erwarten sind dagegen 41 bzw. 51 Paare, d.h. auch bezüglich der Frequenzselektivität zeigt das Netzwerk eine gewisse Homogenität.

Bestfrequenzen

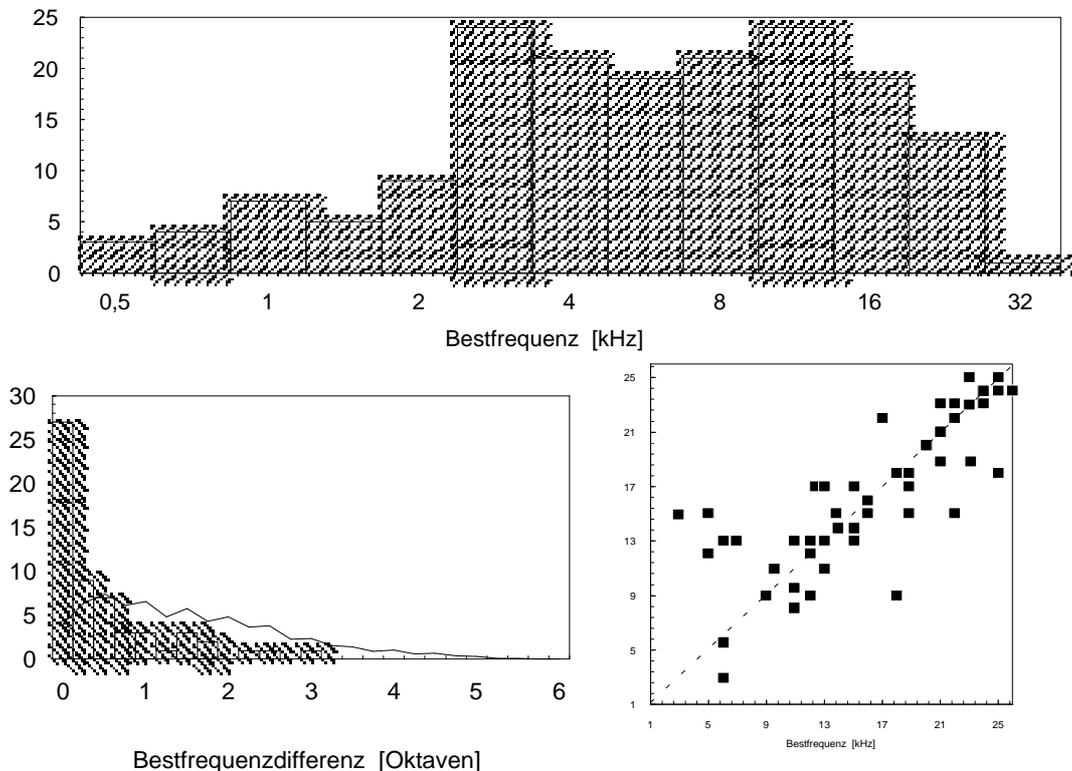


Abbildung 15 Bestfrequenzen in Zellpaaren. **Oben:** Die Häufigkeit der verschiedenen Bestfrequenzen von Einzelzellen im auditorischen Cortex. **Links unten:** Häufigkeitsverteilung der Differenz der Bestfrequenz. Die Differenz ist in Oktaven angegeben. Die Linie ist die aus den Bestfrequenzen berechnete Erwartung für die Differenzen bei zufälliger Paarung. Durchschnittlich weichen die Bestfrequenzen um 0,54 Oktaven voneinander ab gegenüber 1,5 erwarteten Oktaven. **Rechts unten:** Die Bestfrequenzen innerhalb von Zellpaaren sind stark korreliert ($r = 0,80$).

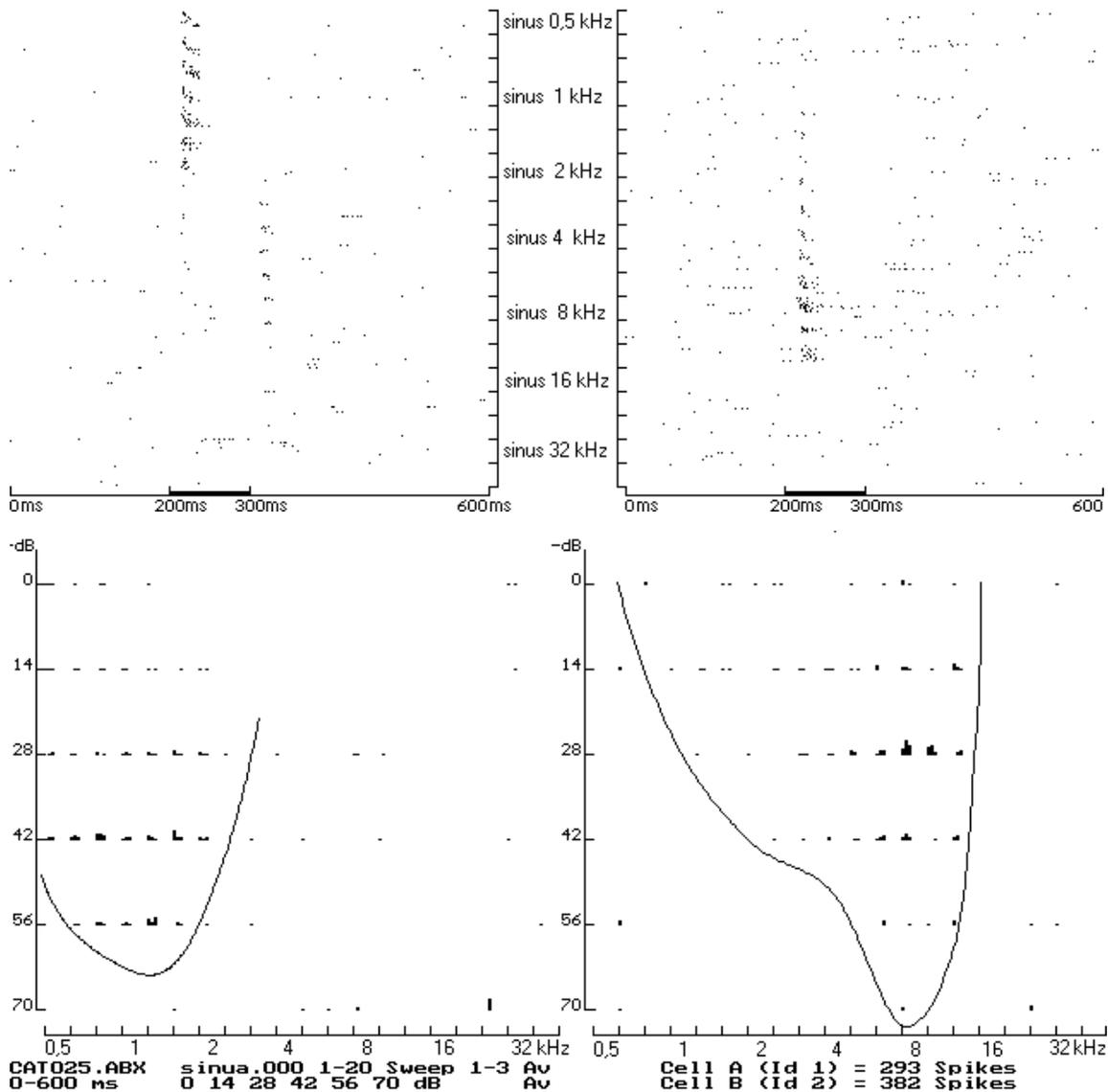


Abbildung 16 Beispiel für ein Zellpaar mit sehr unterschiedlichen Bestfrequenzen. Anhand der Dot-Displays und Tuning-Kurven läßt sich ein Unterschied von 3 Oktaven erkennen. Links liegt die Bestfrequenz bei ca. 1 kHz, rechts bei 8 kHz.

Von den 141 Zellen, die ein Frequenztuning zeigten (siehe Tabelle 3) wurden mit Hilfe von *Tuning-Kurven* die Bestfrequenzen bestimmt. Abbildung 15 zeigt oben, wie häufig die einzelnen Frequenzen auftraten. In 59 Paaren konnte die Bestfrequenz für beide Zellen bestimmt werden. In 26 Fällen waren die Bestfrequenzen im Rahmen unserer Meßauflösung (1/4 Oktave) identisch, in den anderen fanden wir Unterschiede bis zu drei Oktaven. Unten links ist die Verteilung der Differenz der Bestfrequenzen dargestellt: Die durchschnittliche Abweichung beträgt 0,54 Oktaven und ist deutlich geringer als der Unterschied, der zu erwarten wäre, wenn die Zellen zufällig gepaart wären (1,5 Oktaven). Die Verteilung, die sich dann ergäbe, ist durch die durchgezogene Linie dargestellt. Die Tatsache der tonotopen Organisation des auditorischen Cortex zeigt sich auch durch eine starke Korrelation in der Auftragung der Bestfrequenzen gegeneinander

in Abbildung 15 unten rechts mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,80$ (bzw. dem nichtparametrischen SPEARMAN-Rank-Koeffizienten $\rho = 0,85$).

Latenzzeiten

Bei 51 Zellpaaren konnte die Latenzzeit beider Partner ermittelt werden. Sie wurde bestimmt als minimale Antwortzeit der Zelle bei der Bestfrequenz und einer Lautstärke von 60 dB SPL. Abbildung 17 zeigt, welche Latenzzeiten wir bei diesen 102 einzelnen Neuronen fanden. Sie reichen von 9 ms bis ca. 80 ms. Der Durchschnitt liegt bei 26 ms. Für die Zellpaare berechneten wir die Differenzen der Latenzzeiten. Sie reicht bis ca. 50 ms. Der Mittelwert liegt bei 15 ms. Die durchgezogene Linie deutet wieder die Verteilung an, die zu erwarten wäre, wenn die Zellen zufällig gepaart würden, was einen Mittelwert von 12,8 ms ergäbe.

Auch im direkten Vergleich der Latenzen in den Zellpaaren ist kein Zusammenhang sichtbar (Abbildung 17 unten rechts - die Paare sind unkorreliert, die Korrelationskoeff-

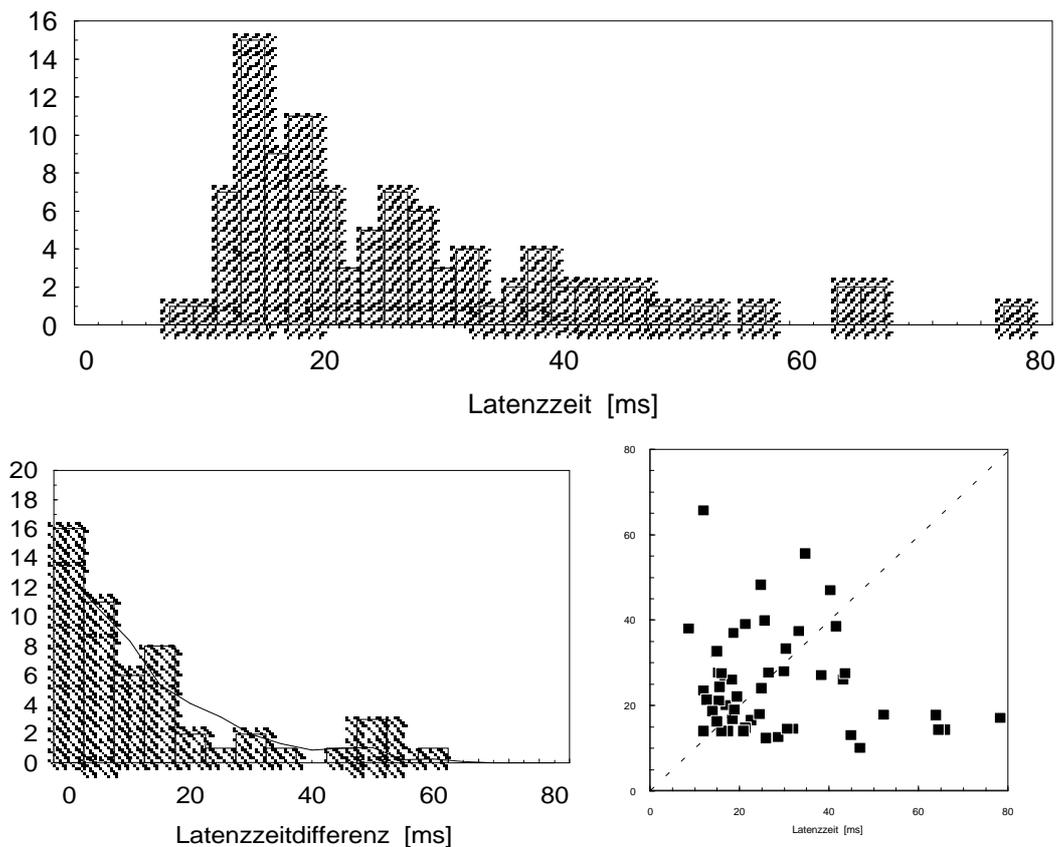


Abbildung 17 Latenzzeiten in Zellpaaren. **Oben:** Verteilung der Latenzzeiten in Einzelzellen. **Unten links:** Häufigkeitsverteilung der Differenz der Latenzzeiten. Die Linie zeigt die bei zufälliger Paarung zu erwartenden Latenzen. Durchschnittlich weichen die Werte um 15 ms voneinander ab. **Unten rechts:** Die Latenzzeiten innerhalb von Zellpaaren sind unkorreliert ($r = -0,16$).

fizienten von $r = -0,16$ bzw. $\rho = -0,12$ liegen in der statistischen Schwankungsbreite. Also ist das Netzwerk im auditorischen Cortex bezüglich der Latenzzeiten nicht homogen.

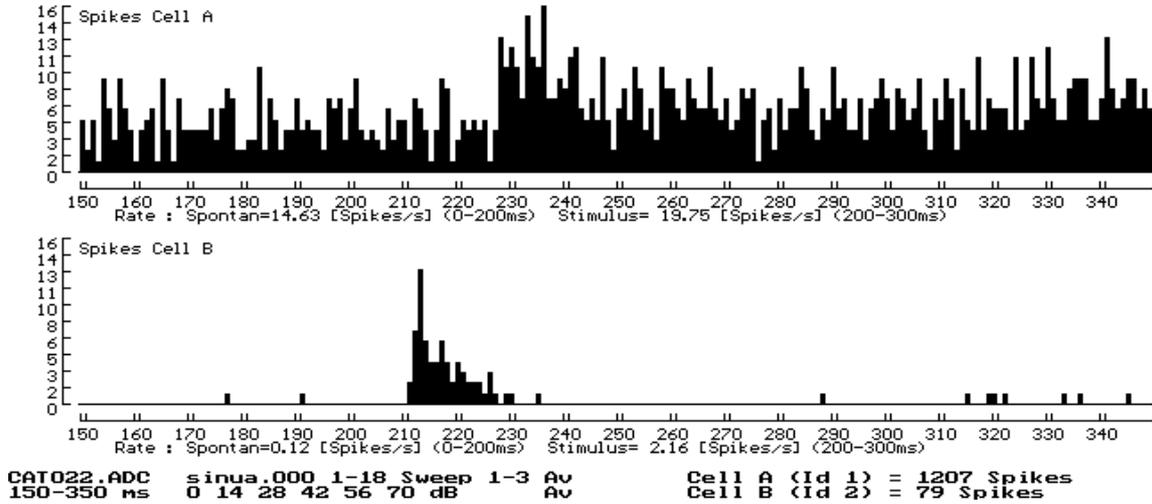


Abbildung 18 Beispiel für ein Zellpaar mit unterschiedlichen Latenzzeiten. Im PSTH sieht man, daß Zelle A erst ca. 17 ms nach Zelle B auf die Sinustöne reagiert, die bei 200 ms beginnen. Die Latenzzeiten sind also 11 bzw. 28 ms.

4.4. Korrelationen und synaptische Vernetzung

Bei 149 identifizierten Zellpaaren versuchten wir durch Korrelationsanalyse die effektiven synaptischen Verbindungen zu ermitteln. Abbildung 19 zeigt typische Beispiele für die Form der im Experiment gefundenen Korrelogramme. In Tabelle 5 sind die Häufigkeiten der gefundenen Typen verzeichnet. Inhibition war wegen der geringen Anzahl von Spikes praktisch nicht sichtbar und die wenigen Fälle, in denen wir sie signifikant nachweisen konnten, sind hier nicht berücksichtigt.

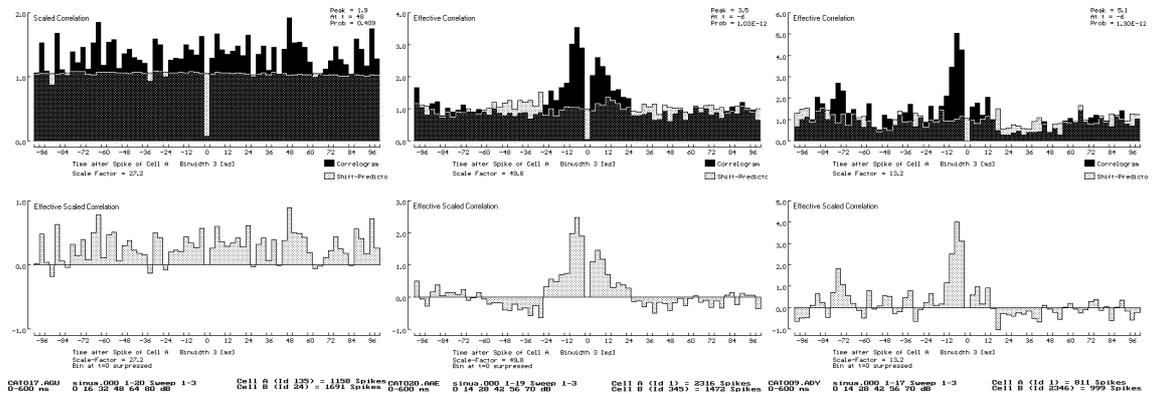


Abbildung 19 Beispiele typischer Formen von experimentell gefundenen Kreuzkorrelogrammen. **Links:** NC (No Correlation) **Mitte:** CI (Common Input) **Rechts:** EXC (Exzitatorisch) - Oben das *Korrelogramm* (schwarz) und der *Shift-Predictor* (grau), unten das *Effektive Korrelogramm* nach Kapitel 3.

EXC	CI	EXC&CI	NC	Unbekannt
17	57	13	48	14

Tabelle 5 Häufigkeit der verschiedenen Typen von Kreuzkorrelogrammen. Bei 14 Zellpaaren reichte die Datenmenge nicht aus, eine Klassifikation vorzunehmen.

EXC	CI	NC
22%	52%	36%

Tabelle 6 Häufigkeit, mit der Verschaltungstypen im auditorischen Cortex auftreten (Zellen können als EXC und CI gleichzeitig klassifiziert werden, daher ist die Summe > 100%). Der Anteil an verschalteten Paaren (EXC-oder CI oder beides) ist 64%.

In den folgenden Abschnitten vergleichen wir nochmals die funktionellen Parameter in Zellpaaren miteinander entsprechend Kapitel 4.3, teilen die Paare aber jetzt aufgrund der Kreuzkorrelogramme in unterschiedliche Gruppen synaptischer Vernetzung ein. Dann vergleichen wir diese Gruppen und testen insbesondere die Hypothese, ob verschaltete Neurone ähnlicher in ihren funktionellen Eigenschaften sind als nicht verbundene.

Für die quantitativen Merkmale können wir einfach die Differenzen und Korrelationskoeffizienten aus den verschiedenen Gruppen miteinander vergleichen und mit einem WILCOXON-Test auf Signifikanz prüfen.

Bei den qualitativen Merkmalen Reaktionstyp und Frequenzselektivität müssen die Tabellen, in denen die Kombinationen dieser Eigenschaften in Zellpaaren dargestellt sind, ebenfalls aufgeteilt werden. Für jede Verschaltungsart werden Paare mit gleichen und verschiedenen Partnern gegenübergestellt (Tabelle 8 und 9). Als Maß für die Homogenität h definieren wir den Anteil der Paare mit gleichen Eigenschaften, abzüglich des zu erwartenden Anteils bei willkürlicher Paarung sämtlicher Zellen:

$$h = \frac{A - A'}{N}$$

N Anzahl der Zellpaare
 A Paare mit sich entsprechenden Neuronen
 A' Erwartungswert für A bei zufälliger Paarung

Werte von r größer als 0 bedeuten, daß Zellpaare meist aus gleichen Zellen bestehen, negative Werte stehen für eine antagonistische Anordnung der Neurone.

4.4.1. Spontanaktivität

Der Vergleich der Spontanaktivität von Einzelzellen in Zellpaaren aus 4.3.1 wird hier aufgeschlüsselt nach verschiedenen Arten der Interaktion zwischen beiden Partnern. Man findet, daß die Ähnlichkeit vor allem bei verbundenen Zellen besteht. Das sieht man zum einen am Unterschied der Feuerraten, der bei verbundenen Paaren geringer ist als bei nicht verschalteten. Ein MANN-WHITNEY-WILCOXON-Test zeigt, daß diese Variation signifikant ist mit $p < 0,05$.

Außerdem ist der Korrelationskoeffizient beim direkten Vergleich der Spontanraten bei verbundenen Zellen höher als bei nicht verschalteten: 0,64 bei exzitatorisch verbundenen Neuronen bzw. 0,37 bei Zellen, die einen "Common Input" erhalten, gegenüber 0,17 für unverbundene Paare.

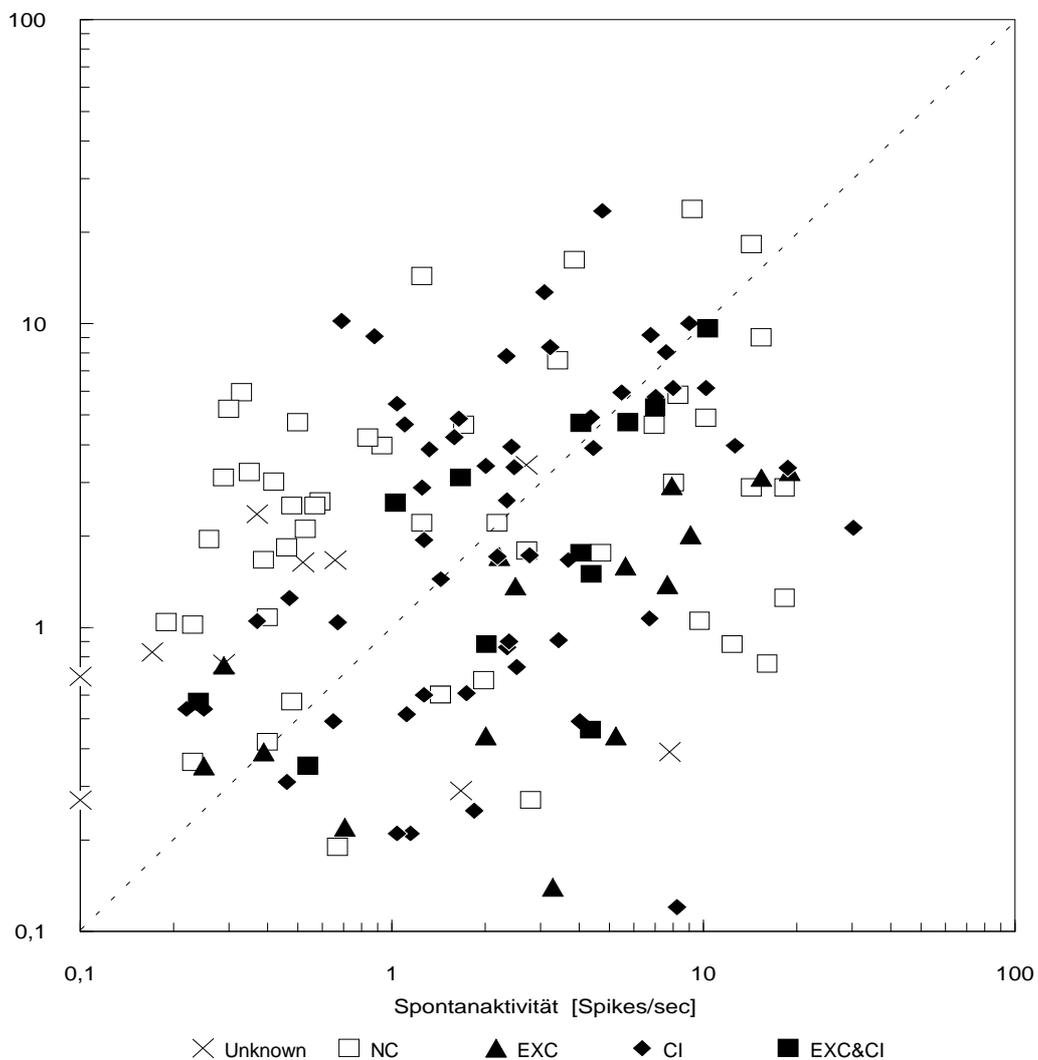


Abbildung 20 Zusammenhang der Spontanaktivität innerhalb von Zellpaaren bei unterschiedlichen Typen von Verschaltungen. Aufgetragen ist jeweils die Spontanrate eines Neurons gegen die des anderen. Punkte auf der Diagonalen bedeuten gleiche Feuerraten. Die NC-Paare streuen deutlich mehr als die EXC-Paare, sind intern also nicht so ähnlich wie verbundene Gruppen. Die Korrelationskoeffizienten sind in Tabelle 7 angegeben.

	Gesamt	NC	EXC	CI
N	149	48	30	70
r	0,38	0,17	0,64	0,37
ρ	0,42	0,21	0,68	0,45
D	0,59	0,65	0,53	0,50

Tabelle 7 Unterschiede in der Spontanaktivität bei verschiedenen Korrelationstypen. N ist die Anzahl der Paare, r ist der Korrelationskoeffizient, ρ der nichtparametrische Korrelationskoeffizient nach SPEARMAN und D das mittlere logarithmierte Verhältnis der Feuerraten innerhalb von Zellpaaren. In synaptisch verbundenen Paaren sind die Spontanraten deutlich ähnlicher als in der *No-Correlation* Gruppe.

4.4.2. Reaktion auf tonale Reize

Reaktionstypen

Die Kombination von Reaktionstypen innerhalb von Zellpaaren aus Tabelle 2 wird jetzt aufgeschlüsselt nach Art der synaptischen Verbindung zwischen beiden Neuronen. Um vergleichen zu können, ob miteinander verschaltete Neurone in ihrem Reaktionstyp häufiger übereinstimmen als andere, berechnen wir als Maß für Homogenität h entsprechend Abschnitt 4.4. Es zeigt sich allerdings, daß sich verbundene Neurone bezüglich des Reaktionstyps nicht mehr ähneln als andere.

	Deutliche Reaktion	Schwache Reaktion	Keine Reaktion	Deutliche Reaktion	Schwache Reaktion	Keine Reaktion
	II = 30 EXC h = 0,0			II = 70 CI h = 0,15		
Deutliche Reaktion	20 = 67% (20 = 67%)	7 = 23% (7 = 23%)	2 = 7% (2 = 7%)	46 = 66% (41 = 58%)	10 = 14% (21 = 30%)	5 = 7% (5 = 7%)
Schwache Reaktion	—	1 = 3% (1 = 3%)	0 = 0% (0 = 0%)	—	8 = 11% (3 = 4%)	1 = 1% (1 = 2%)
Keine Reaktion	—	—	0 = 0% (0 = 0%)	—	—	0 = 0% (0 = 0%)
	II = 48 NC h = 0,12			II = 149 Gesamt h = 0,10		
Deutliche Reaktion	25 = 52% (21 = 44%)	12 = 25% (17 = 35%)	2 = 4% (5 = 10%)	88 = 59% (80 = 54%)	29 = 20% (44 = 29%)	14 = 9% (15 = 10%)
Schwache Reaktion	—	5 = 10% (3 = 7%)	3 = 6% (2 = 4%)	—	13 = 9% (6 = 4%)	4 = 3% (4 = 3%)
Keine Reaktion	—	—	1 = 2% (0 = 1%)	—	—	1 = 1% (1 = 1%)

Tabelle 8 Der Zusammenhang zwischen Ähnlichkeit der Reaktion auf Sinustöne und synaptischer Verschaltung in Zellpaaren. In Klammern die bei Unabhängigkeit zu erwartenden Häufigkeiten. N = Anzahl der ausgewerteten Zellpaare, h = Maß für die Homogenität (siehe Text). Verbundene Zellen sind *nicht* ähnlicher als unverbundene.

Frequenzselektivität

Ebenso wird jetzt Tabelle 4 nach Verschaltungstyp aufgliedert, um zu überprüfen, ob verbundene Zellen öfter eine gleiche Frequenzselektivität aufweisen als nicht verschaltete. Auch hier ist keine größere Homogenität bei synaptisch verbundenen Zellen nachweisbar.

	Scharfes Tuning	Breites Tuning	Kein Tuning	Scharfes Tuning	Breites Tuning	Kein Tuning
	EXC N = 20 h = 0,07			CI N = 46 h = 0,12		
Scharfes Tuning	4 = 20% (4 = 22%)	6 = 30% (5 = 24%)	5 = 25% (5 = 27%)	20 = 44% (18 = 38%)	10 = 22% (13 = 27%)	7 = 15% (9 = 20%)
Breites Tuning	—	1 = 5% (1 = 6%)	2 = 10% (3 = 14%)	—	4 = 9% (2 = 5%)	2 = 4% (3 = 7%)
Kein Tuning	—	—	2 = 10% (3 = 14%)	—	—	3 = 7% (2 = 5%)
	NC N = 25 h = 0,01			Gesamt N = 88 h = 0,04		
Scharfes Tuning	7 = 28% (6 = 25%)	5 = 20% (6 = 25%)	6 = 24% (7 = 27%)	32 = 36% (29 = 33%)	21 = 24% (23 = 26%)	17 = 19% (20 = 23%)
Breites Tuning	—	2 = 8% (1 = 5%)	3 = 12% (3 = 13%)	—	6 = 7% (4 = 5%)	6 = 7% (8 = 9%)
Kein Tuning	—	—	2 = 8% (3 = 13%)	—	—	6 = 7% (7 = 8%)

Tabelle 9 Zusammenhang zwischen Ähnlichkeit in der Frequenzselektivität und synaptischer Verschaltung in Zellpaaren. In Klammern die bei Unabhängigkeit zu erwartenden Häufigkeiten. N = Anzahl der ausgewerteten Paare, h Maß für die Ähnlichkeit der Reaktion (siehe Text). Es ist keine größere Homogenität bei verbundenen Neuronen nachweisbar.

Bestfrequenzen

Die tonotope Organisation des auditorischen Cortex äußert sich als Gradient der Bestfrequenz, daher ist eine Korrelation in den Bestfrequenzen benachbarter Zellen zu erwarten und wurde auch in Abschnitt 4.3.2 nachgewiesen. Bei der Analyse verschiedener synaptischer Strukturen fanden wir, daß Neurone, die exzitatorisch aufeinander einwirken, deutlich geringere Unterschiede in ihrer Bestfrequenz aufweisen als andere. Und Neurone mit Common Input sind auch noch signifikant ähnlicher als solche ohne Korrelation der Spiketrains. Dies läßt sich sowohl am Korrelationskoeffizienten ablesen bei der Auftragung der Bestfrequenzen beider Zellen gegeneinander (Abbildung 21) als auch an der Differenz der Bestfrequenzen, die 0,4 Oktaven bei direkt verbundenen Zellen beträgt, 0,5 Oktaven bei Neuronen, die gemeinsame Afferenzen haben und 0,7 Oktaven bei unabhängigen Zellen (Tabelle 10).

Dieser Unterschied läßt sich mit einem WILCOXON-Test auch statistisch absichern: Die Irrtumswahrscheinlichkeit p ist kleiner 0,01 für EXC- und kleiner 0,04 für CI-Paare.

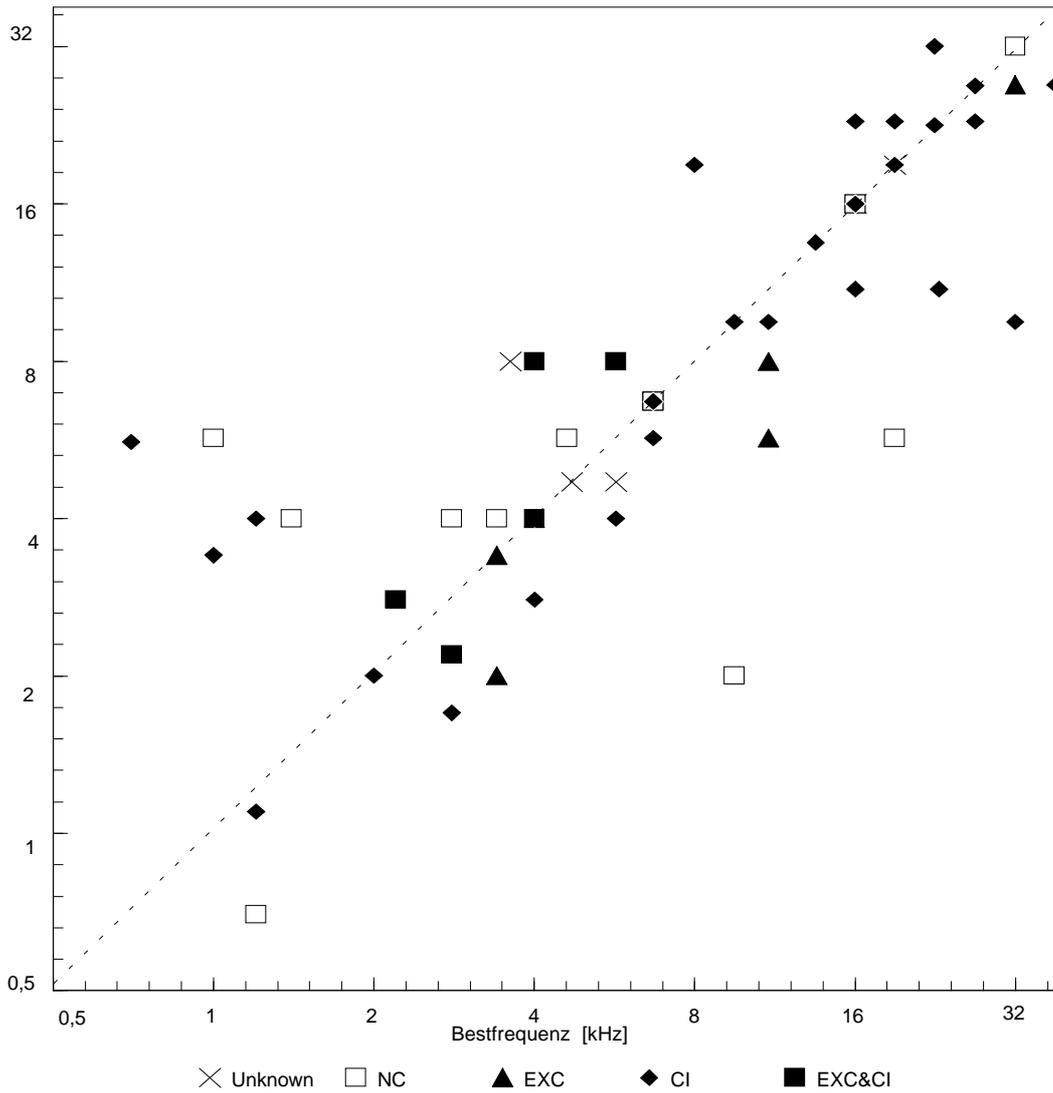


Abbildung 21 Bestfrequenzen in Zellpaaren bei unterschiedlichen Typen von Verschaltungen. Am ähnlichsten reagieren exzitatorisch verbundene Zellen, die größten Unterschiede weisen unverschaltete Neurone auf.

	Gesamt	NC	EXC	CI
N	58	14	11	33
r	0,80	0,69	0,89	0,83
ρ	0,85	0,67	0,87	0,86
D [Oktaven]	0,54	0,70	0,42	0,53

Tabelle 10 Unterschiede in der Bestfrequenz bei unterschiedlichen Typen von Verschaltungen. Angegeben sind die Anzahl der Paare N, die Korrelationskoeffizienten r und ρ und die durchschnittliche Abweichung in Oktaven D der Bestfrequenzen innerhalb von Zellpaaren. Die Homogenität ist bei verbundenen Zellen höher als bei unverbundenen.

Latenzzeiten

In Abschnitt 4.3.2 fanden wir, daß Latenzzeiten in Zellpaaren praktisch unkorreliert sind. Bei der Differenzierung nach Verschaltungstypen findet sich jedoch ein Zusammenhang bei den exzitatorisch gekoppelten Zellen: In dieser Subpopulation ist eine gewisse Korrelation vorhanden ($r = 0,55$) und die durchschnittliche Latenzzeitdifferenz ist mit 7,3 ms deutlich geringer als bei allen anderen Kategorien, die um durchschnittlich 15 ms verzögert reagieren. Aufgrund der geringen Sample-Größe von nur 10 EXC-Paaren ist die statistische Signifikanz dieses Ergebnisses allerdings gering: Der WILCOXON-Test liefert lediglich einen p-Wert von 0,17.

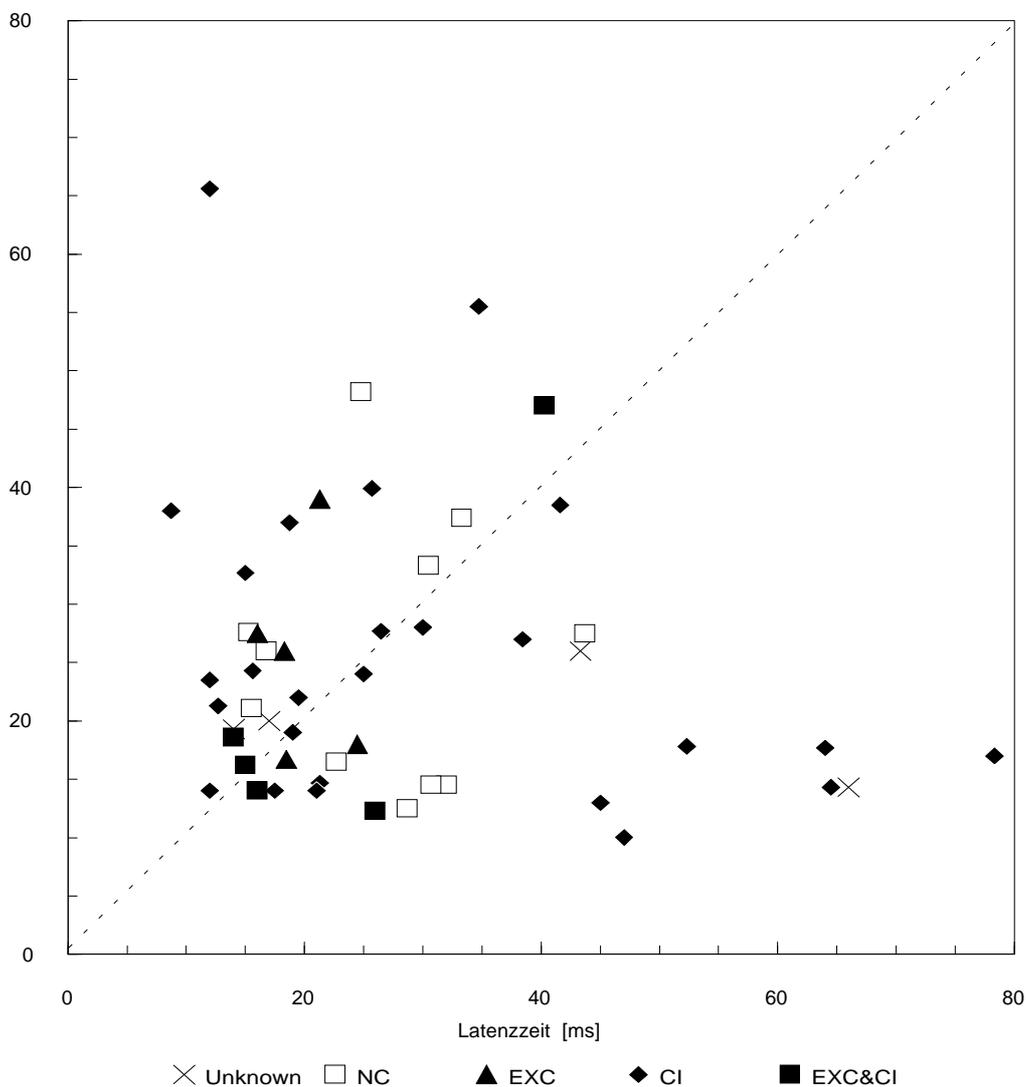


Abbildung 22 Unterschiede in der Latenz bei unterschiedlichen Typen von Verschaltungen. Nur die exzitatorisch verbundenen Zellen weisen eine schwache Korrelation auf, in allen anderen Fällen sind die Latenzzeiten in Zellpaaren unkorreliert.

	Gesamt	NC	EXC	CI
N	51	11	10	31
r	-0,16	0,05	0,55	-0,16
ρ	-0,12	0,07	0,17	-0,12
D [ms]	15,0	11,8	7,3	16,5

Tabelle 11 Latenzzeitdifferenzen zwischen Zellen bei unterschiedlichen Typen von Verschaltungen. Angegeben jeweils die Anzahl der Paare N, die Korrelationskoeffizienten r und SPAERMAN'S ρ und die durchschnittliche Verzögerung der Reaktion auf einen Reiz innerhalb eines Paares D. Exzitatorisch verbundene Neurone haben vergleichbare Latenzen.

4.5. Vergleich der funktionellen Parameter untereinander

Es stellt sich noch die Frage, ob eine gewisse Ähnlichkeit der Zellen in einem Paar bezüglich einer funktionellen Eigenschaft automatisch bedeutet, daß auch andere Eigenschaften dann ähnlicher sind. Hier heißt das zum Beispiel: Stimmen die Bestfrequenzen gut überein, sind dann auch die Latenzen und Spontanraten ähnlich? Wir haben die Unterschiede von Bestfrequenzen, Latenzzeiten und Spontanraten miteinander verglichen (Abbildung 23) und jeweils den Korrelationskoeffizienten bestimmt (Tabelle 12). Lediglich Spontanaktivität und Latenzzeit scheinen bei exzitatorisch verbundenen Paaren zu korrelieren und Spontanaktivität mit Bestfrequenz negativ zu korrelieren. Allerdings ist die Datenbasis zu klein, um definitive Aussagen zu machen, die gefundenen Korrelationen können auch zufällig sein: Nur 10 bzw. 9 EXC-Paare sind vorhanden, bei denen beide Parameter bestimmbar sind.

	Gesamt		NC		EXC		CI	
	r	ρ	r	ρ	r	ρ	r	ρ
Spontanaktivität Latenzzeit	0,08	-0,13	0,03	-0,20	0,61	0,65	-0,05	-0,19
Bestfrequenz Spontanaktivität	-0,12	-0,22	-0,12	-0,40	-0,56	-0,61	-0,08	-0,02
Latenzzeit Bestfrequenz	0,08	-0,04	-0,11	-0,16	-0,09	-0,17	0,22	0,05

Tabelle 12 Der Zusammenhang zwischen den Variationen einzelner Parameter. Außer im Falle von Spontanaktivität und Latenzzeit gibt es keine signifikanten Zusammenhänge. Ähnlichkeit bezüglich einer Eigenschaft bedeutet also nicht, daß Zellen auch in anderen Parametern korrespondieren. (r=Korrelationskoeffizient, ρ = SPEARMAN'S Korrelationskoeffizient)

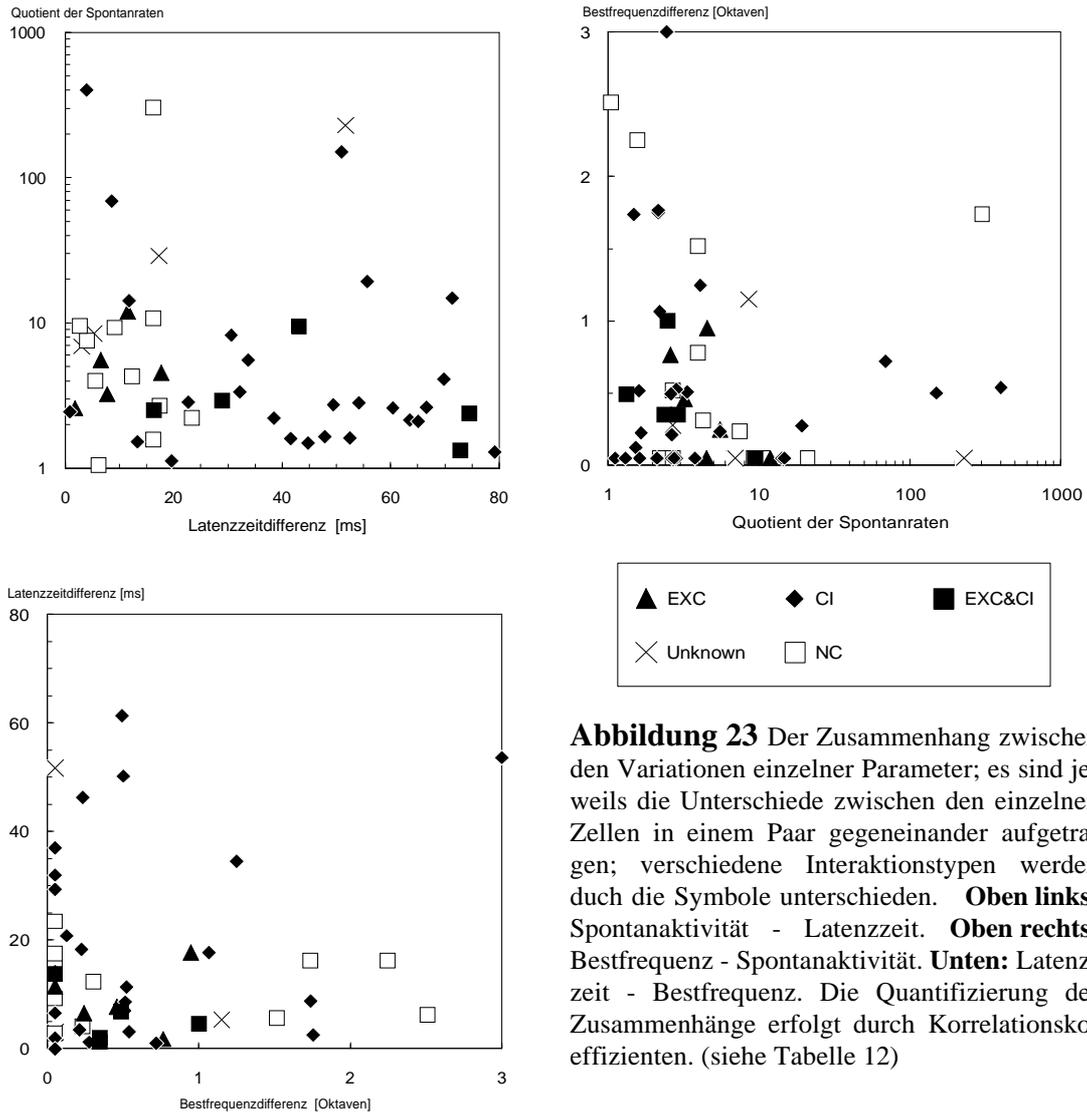


Abbildung 23 Der Zusammenhang zwischen den Variationen einzelner Parameter; es sind jeweils die Unterschiede zwischen den einzelnen Zellen in einem Paar gegeneinander aufgetragen; verschiedene Interaktionstypen werden durch die Symbole unterschieden. **Oben links:** Spontanaktivität - Latenzzeit. **Oben rechts:** Bestfrequenz - Spontanaktivität. **Unten:** Latenzzeit - Bestfrequenz. Die Quantifizierung der Zusammenhänge erfolgt durch Korrelationskoeffizienten. (siehe Tabelle 12)

5. Diskussion

5.1 Spiketrennung

Obwohl bei der Entwicklung des Systems eine weitestgehende Automatisierung der Spikeerkennung und Trennung angestrebt hatten, stellte sich während der Arbeit mit dem Programm heraus, daß sich ohne eine eingehende Kontrolle der Ergebnisse zahlreiche Artefakte einschleichen können. Die Signalformen von Spikes sind einander recht ähnlich, so daß der Trennalgorithmus sehr empfindlich auf kleine Unterschiede reagieren muß. Andererseits verändern sich die Spikeformen mancher Zellen z.B. während starker Aktivität (Bursts), so daß eine fälschliche Einteilung in mehrere Klassen erfolgt (Abbildung 10). Außerdem ist die Form von Spikes wenig charakteristisch: Leicht werden Spannungsspitzen oder Netzeinstreuungen als Spikes klassifiziert. Überlagerte Spikes sind eine weitere Ursache für Fehlklassifikationen.

Eine sehr sorgfältige Durchsicht der Daten war daher nötig, um alle Artefakte auszuschließen. Die meisten Fehlklassifizierungen führen dazu, daß Interaktionen zwischen Zellen als zu hoch angesetzt werden, da der entsprechende Teil der Autokorrelation sich zur Kreuzkorrelationsfunktion addiert. Falls fälschlich einzelne Neurone in ein Paar aufgespalten werden, wird sogar die Autokorrelation direkt als Kreuzkorrelogramm interpretiert. Einfache Verfahren zur Klassifikation von Multi-Units z.B. durch Window-Diskriminatoren oder durch analoge Filter, wie sie in der Elektrophysiologie weit verbreitet sind, bieten kaum eine Kontrollmöglichkeit und können daher unserer Ansicht nach leicht zu überhöhten Abschätzungen für die Konnektivität führen.

Auch andere Gruppen, die automatische Spikeerkennungs- und Klassifikationsverfahren vorgestellt haben (D'HOLLANDER und ORBAN 1979, VIBERT, ALBERT und COSTA 1987), beschreiben Probleme, die nur durch interaktive Bedienung zu mildern sind. VIBERT et al. geben die Leistungsfähigkeit ihres Systems mit einem Anteil von 60-80% korrekt klassifizierter Spikes an gegenüber 80-100% in unserem System⁴.

Ein von WHEELER und HEETDERKS 1982 durchgeführter Vergleich von Trennverfahren für Multi-Units zeigte, daß das auch von uns verwendete *Template-Matching* allen anderen überlegen ist, allerdings konnte es von ihnen noch nicht *Online* implementiert

⁴Aufnahmen mit schlechteren Ergebnissen wurden von uns nicht verwendet. Es ist unklar, ob in den anderen Systemen die Leistungsfähigkeit für beliebige Aufnahmesituationen oder ebenfalls nur für selektierte Experimente gilt, da praktisch keine großen Datenbasen vorgestellt werden, sondern nur Methodenbeschreibungen gegeben werden.

werden, die nötige Rechenleistung ist erst durch den Einsatz moderner Signalprozessoren verfügbar.

Ein weiteres Dilemma liegt im Design der Mikroelektroden: Gewöhnlich werden sie entweder auf hohem Signal-Rauschabstand für Einzelzelleitungen oder hohe Empfindlichkeit für Multi-Unit-Aktivität optimiert. Für eine Auflösung von mehreren Zellen jedoch ist beides nötig. Im Experiment zeigte sich, daß die Güte der Aufnahmen sehr stark von der Elektrode abhängt, und zwar nicht nur von der Impedanz sondern auch von schwer klassifizierbaren Faktoren wie der Form der Spitze.

Die Auswahl von Zellen wird durch Verfahren zur Trennung von Multi-Units relativ stark verfälscht: Allgemein werden in der Elektrophysiologie Zellen mit großen Aktionspotentialen und hohen Feuerraten öfter untersucht als es ihrer Repräsentation im Gewebe entspricht: Beim Suchen mit der Mikroelektrode entdeckt man sie viel leichter. Wir suchten speziell nach Zellgruppen, deren Spikes leicht zu unterscheiden sind, also potenziert sich dieser Effekt noch. Die kleinen Zellen z.B. aus Schicht III und IV sind demnach vermutlich unterrepräsentiert.

Die beschriebenen Schwierigkeiten sowie die Einschränkung auf lokale Populationen von wenigen 100 μm und die Tatsache, daß praktisch nur *Zellpaare* mit vernünftigem Aufwand zu beobachten sind⁵, lassen uns zu dem Schluß kommen, daß Multielektrodensysteme einen allgemeineren Ansatz und weiterreichende Anwendungen bieten. Lediglich für Studien, die sich nur mit lokalen Interaktionen beschäftigen, ist die Spikeseparation interessant.

5.2 Korrelationsanalyse

Der verhältnismäßig große Aufwand, der in Abschnitt 3.1 bei der Definition von Korrelogramm, Shift-Predictor und Effektivem Korrelogramm betrieben wurde, mag angesichts der weiten Verbreitung dieser Methode in der Literatur verblüffen. Doch die besondere Struktur der in unseren Experimenten gewonnenen Daten, die jedoch typisch für neurophysiologische Versuchsbedingungen ist, läßt die Anwendung von Standardverfahren nicht zu. Normalerweise wird *ein* Reiz hunderte Male wiederholt, um eine Korrelation unter Stimulusbedingungen zu berechnen und durch die Shift-Predictor-Prozedur zu korrigieren. Wir dagegen hatten viele Reize, die selbst nur drei- bis fünfmal wiederholt wurden. So war der Shift-Predictor nicht nur eine nachträglich

⁵ Zwar tauchen in der Literatur gelegentlich Beispiele von Recordings mit 4 (WHEELER et al. 1982) oder 5 (ABELES 1982) separierten Neuronen auf, doch nur als Einzelfälle. Wir konnten in 18 Versuchen nur 2 Gruppen mit 4 gut getrennten Neuronen aufzeichnen, daneben 19 mit 3 Neuronen. Das bietet leider keine ausreichende Datenbasis für irgendwelche Aussagen über lokale Cluster.

anzubringende Korrektur, sondern nötig, um Korrelogramme von Spiketrains unter unterschiedlichen Stimulusbedingungen zu kombinieren.

Die Methode zur Berechnung der Signifikanz von Korrelogrammen, die in Abschnitt 3.2 abgeleitet wurde, hat gegenüber anderen Methoden aus der Literatur den Vorteil, daß die experimentell gewonnenen Daten ohne weitere Annahmen direkt zu einer Wahrscheinlichkeitsaussage führen. Bisherige Verfahren setzten entweder quasistationäres Verhalten der Spiketrains voraus (WIEGNER und WIERZBICKA, 1987) oder schätzen die Feuerwahrscheinlichkeiten eines Neurons ab (PALM et al. 1988).

Vor allem aber verlangte auch hier die Struktur unserer Meßdaten - nur sehr wenige Wiederholungen des gleichen Reizes, dafür viele verschiedene Reize, die demselben Zellpaar präsentiert wurden - eine Methode, die Signifikanz einer Summe von Korrelogrammen zu bestimmen.

Die Schwierigkeiten bei der Interpretation von Korrelogrammen wurden zum Teil bereits in Abschnitt 4 dargelegt:

- Eine konkrete Bestimmung der Stärke von Synapsen aus Kreuzkorrelogrammen ist praktisch nicht möglich. (MELSEN und EPPING, 1987)
- Inhibitorische Synapsen bleiben im Korrelogramm fast immer unsichtbar. (AERTSEN und GERSTEIN, 1985)
- Eine Ausschaltung des Einflusses der Modulation durch Reize mit dem Shift-Predictor ist nicht vollständig möglich. Er erlaubt zwar die Eliminierung aller Korrelationen, die durch die Stimulusmodulation verursacht werden, verschleiert aber auch solche anderer Herkunft mehr oder weniger stark.

Die Existenz eines Peaks im Effektiven Korrelogramm ist eine hinreichende - aber nicht notwendige - Voraussetzung für die Existenz einer, wie auch immer gearteten Wechselwirkung (synaptischen Verbindung) zwischen den beiden Zellen. Wenn jedoch das Netzwerk stark deterministisch funktioniert, reagieren auch verbundene Neurone stets in gleicher Weise auf den Stimulus und die resultierende Korrelation wird durch den Shift-Predictor beseitigt. Die Existenz einer effektiven Korrelation setzt also ein systeminhärentes Rauschen voraus.

Diese Schwierigkeiten machen die Anwendung der Korrelationsanalyse für die Bestimmung anatomischer Strukturen nur zu einem bedingt tauglichen Werkzeug. Es können jedoch funktionelle Zusammenhänge beschrieben und manchmal wie in Abbildung 24 *minimale* Verschaltungsmodelle angegeben werden, die zu den beobachteten Daten führen.

5.3 Lokale Homogenität und Netzwerkstruktur

Bei der Sichtung der Daten ist man zunächst überrascht über die oft sehr unterschiedlichen Reaktionstypen von Neuronen, die unmittelbar benachbart sind. Trotz eines meist ähnlichen Verhaltens gibt es Fälle, in denen Bestfrequenzen mehrere Oktaven auseinanderliegen. Ähnliche Ergebnisse werden auch von REINIS et al. (1988) in Area 18 des visuellen Cortex beschrieben, wobei ebenfalls rezeptive Felder von benachbarten Neuronen mit einer einzigen Elektrode simultan bestimmt wurden. Obwohl die rezeptiven Felder nie allzuweit entfernt lagen, fanden sie Beispiele dafür, daß ein solches Neuronenpaar nicht überlappende rezeptive Felder haben kann. CREUTZFELDT et al. (1975) fanden in Area 17 ebenfalls dicht benachbarte Neurone, die keine gemeinsamen Afferenzen besitzen und sich auch gegenseitig nicht signifikant beeinflussen.

Zur Beschreibung solcher Phänomene und auch des gegenteiligen Effektes - der Ähnlichkeit benachbarter Zellen - führten wir den Begriff der *lokalen Homogenität* ein. Vor allem die Streuung der Bestfrequenzen an einem Punkt der Tonotopie läßt sich darunter einordnen. Die von uns gefundene mittlere Bestfrequenzdifferenz von 0,54 Oktaven deckt sich gut mit der Literatur. Bei CREUTZFELDT (1983) wird der Unterschied zwischen benachbarten Zellen mit durchschnittlich 0,5 Oktaven angegeben. HEIERLI und RIBAUPIERRE (1987) führten eine ähnliche Untersuchung im ventralen Kern des MGB durch, der in das corticale Feld AI projiziert, durch. Sie verglichen die Bestfrequenzen von benachbarten Neuronen und fanden einen Korrelationskoeffizienten von 0,82, was sehr gut unserem Wert von 0,80 entspricht.

Überraschend ist die praktisch fehlende Korrelation bei den Latenzen (Abbildung 17). Im MGB dagegen sind zumindest im lateralen Teil (*Pars Lateralis*) laut HEIERLI die Antwortzeiten von Zellpaaren noch schwach korreliert. ($r=0,41$). Dies bedeutet, daß zeitliche Informationen auf dem Weg vom Thalamus zum Cortex sowohl verzögert als auch zeitlich *und räumlich* verschmiert werden. Die Verzögerung beträgt ca. 7 ms, die corticale Neurone später als thalamische reagieren (wir fanden mittlere Latenzzeiten von 26 ms gegenüber 19 ms bei HEIERLI). Lokal streuen Latenzen im Cortex um 15 ms, im MGB um ca. 8 ms (von uns geschätzt aus Abbildungen bei HEIERLI). Dies ist sicher das Resultat eines Verarbeitungsvorganges, bei dem zeitliche Auflösung zugunsten anderer komplexerer Features geopfert wird, da die Signallaufzeit zwischen Thalamus und Cortex nur ca. 2 ms beträgt, wie CREUTZFELDT et al. (1980) durch Kreuzkorrelationsanalyse an gleichzeitig abgeleiteten thalamischen und corticalen Neuronen zeigten. Wie gering selbst der Einfluß einer starken direkten synaptischen Verbindung im Verhältnis zum Gesamtinput eines Neurons ist, zeigt Abbildung 24: Ein Neuron treibt deutlich einzelne Spikes des anderen, aber auf die Gesamtreaktion - speziell die Latenzzeit - hat es praktisch keinen Einfluß.

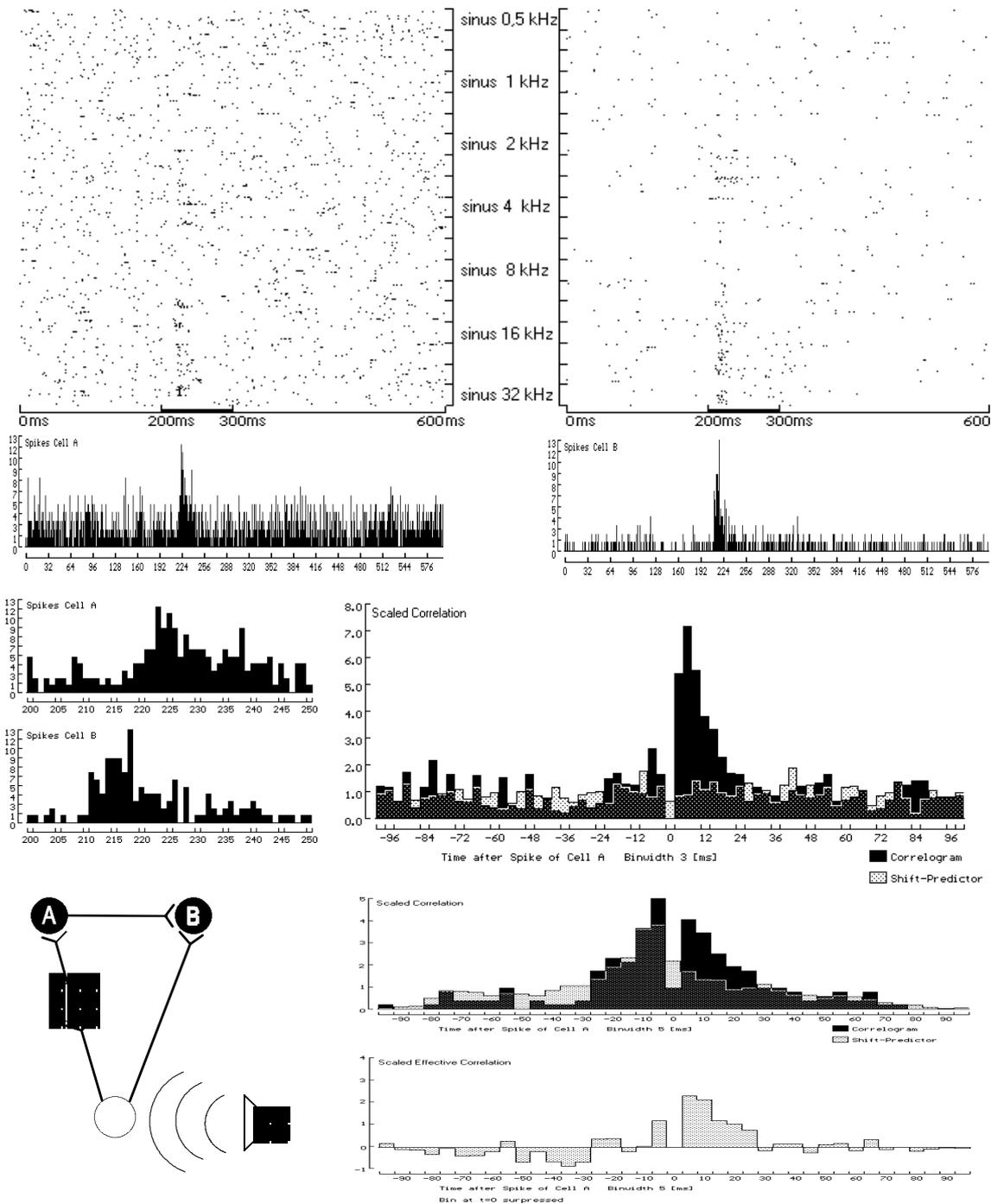


Abbildung 24 Ein "paradoxes" Zellpaar. **Oben:** Beide Neurone reagieren auf Töne in einem gewissen Frequenzbereich, deutlich sichtbar im Dot-Display und im PSTH. Die Latenzzeit von Zelle A ist um ca. 20 ms länger als die von B, d.h. B reagiert *vor* A auf den Reiz (**Mitte links**). Im Kreuzkorrelogram (**Mitte rechts**) dagegen kann man ablesen, daß Zelle B gehäuft in den 20 ms *nach* einem Spike von A feuert, was für eine exzitatorische Verschaltung von A nach B spricht. **Unten links:** Die minimale Verschaltung von Neuronen, die zu diesen Ergebnissen führen könnte. Beide Neurone werden auf getrennten Afferenzen vom Sinnesorgan getrieben. Allerdings liegt auf dem Weg zu A ein Interneuron mehr. Außerdem liegt noch eine synaptische Verbindung der beiden Zellen vor, allerdings ist der Einfluß dieser direkten Koppelung auf B so gering, daß die postsynaptische Zelle in ihrer Reaktion auf den Sinnesreiz praktisch nicht beeinflusst wird. **Unten rechts:** Wenn man das Correlogram nur in dem Bereich der Stimulation (200-300 ms) bildet, scheint es verändert: Aus dem streng asymmetrischen Peak wird eine symmetrische Verteilung, die allerdings zum größten Teil auf äußerer Synchronisation durch Stimulation beruht, wie der Shift-Predictor zeigt. Das effektive Correlogram (unten) zeigt, daß auch während der Reizung die interne Beeinflussung zwischen den Zellen praktisch gleich bleibt.

Zunächst scheint es nicht verwunderlich, daß unsere Messungen für gleichzeitig abgeleitete Zellen ähnliche Spontanraten anzeigen. Zum einen ändert sich die mittlere Aktivität bei einem Tier abhängig vom physiologischen Zustand: Natürliche Schwankungen wie der Wechsel zwischen Schlaf und Wachen und experimentelle Einflüsse wie die Tiefe der Narkose und fortschreitende Erschöpfung beeinflussen alle Neurone gleichzeitig. Zum anderen gibt es Unterschiede zwischen den cortikalen Schichten und da mit einer einzelnen Elektrode meist nur aus einer Schicht abgeleitet wird, zeigt sich zwangsläufig so etwas wie *lokale Homogenität*.

Keine so einfache Erklärung gibt es allerdings für die Tatsache, daß sich verbundene Neurone in ihrer Spontanaktivität mehr gleichen als nicht verschaltete. Daraus schließen wir, daß die Existenz einer solchen Korrelation nicht nur aus den Experimentalbedingungen resultiert, sondern daß es kleine Gebiete aus verbundenen Zellen mit erhöhter Aktivität als die Umgebung gibt.

DICKSON und GERSTEIN (1974) fanden synaptische Kopplungen in 28 von 30 Zellpaaren, also entspricht ihr Anteil an *No-Correlation*-Paaren etwa 7% gegenüber 36% in unserer Untersuchung (Tabelle 6). Größere Übereinstimmung besteht mit einer Untersuchung am auditorischen Cortex wacher Katzen von VAADIA und ABELES (1987): Sie fanden 40% NC-Paare, und 52% CI- und EXC-Paare. In der schon erwähnten Studie von HEIERLI et. al. finden sich Anteile von 40,4% NC-, 22,1% EXC-, 33,7% CI- und 3,6% inhibitorischen Paaren im thalamischen MGB. Unsere Ergebnisse für den Cortex lauten 36% NC, 22% EXC und 52% CI. - Thalamus und MGB scheinen sich in ihrer lokalen Verknüpfungsstruktur sehr zu ähneln.

Theoretische Modelle von Netzwerken ermöglichen Lernen durch Verstärkung von Korrelationen (HEBB, 1949 - HOPFIELD, 1982): Synaptische Verbindungen werden verstärkt, wenn bei prä- und postsynaptischem Neuron Aktionspotentiale zusammenfallen. Das führt zu einem erhöhten Einfluß: Die präsynaptische Zelle treibt die andere immer stärker. Ein Netzwerk, das diesem Effekt unterliegt, muß eine charakteristische Struktur aufweisen: Zellen, die auf denselben Reiz reagieren, sollten stärkere synaptische Verbindungen haben als andere (KOHONEN, 1984).

Eine Untersuchung von TS'O et al. (1986) im visuellen Cortex der Katze zeigte einen Zusammenhang zwischen der Stärke der Korrelation und dem Abstand der rezeptiven Felder der beobachteten Zellen. Neurone mit gleichen rezeptiven Feldern zeigten unabhängig vom Abstand der Zellen eine erhöhte Synchronisation.

HEIERLI et. al. fanden in ihrer Studie, daß auch im auditorischen Teil des Thalamus ein solcher Zusammenhang besteht: Neuronenpaare, die durch Synapsen verbunden sind, weisen öfter ähnliche Bestfrequenzen auf, als solche ohne Verbindung. Sie fanden Korrelationskoeffizienten von 0,66 für NC- 0,76 für CI- und 0,69 für EXC-Paare. Unsere

Ergebnisse zeigen, daß im Cortex eine noch stärkere Strukturierung stattfindet: 0,69 (NC), 0,83 (CI) und 0,89 (EXC).

Ein Prozeß wie das HEBB'sche Lernen könnte also durchaus zur Strukturierung des Cortex beitragen, und zwar stärker als im Thalamus.

5.3 Weiterführende Überlegungen

In vielen Theorien über neuronale Netzwerke spielt korrelierte Aktivität eine entscheidende Rolle. Neurone sind schließlich auch eine Art Koinzidenzdetektoren: Ein EPSP allein reicht in der Regel nicht aus, das Membranpotential bis über den Schwellwert zur Generierung eines Aktionspotentials zu depolarisieren. Wenn jedoch mehrere präsynaptische Neurone innerhalb kurzer Zeit feuern, führen die summierten EPSP's zu einem postsynaptischen Aktionspotential.

Sogar Strukturen, die eine Korrelationsfunktion über einen ganzen Bereich von Zeitverschiebungen auswerten, sind gefunden worden. Im *Nucleus Laminaris* der Eule wurde ein Netzwerk entdeckt, das einen binauralen Input in eine strickleiterartige Anordnung hinein erhält (MANLEY 1988). Die "Streben" sind eine Art Laufzeitketten und auf den "Sprossen" sitzen Koinzidenzdetektoren in Form von Neuronen, die nur durch gemeinsamen Input von beiden Streben erregt werden können. Zeitverschiebungen im Signalverlauf zwischen beiden Ohren werden so in ein räumliches Aktivierungsmuster übersetzt. Eine solche Anordnung bietet die morphologische Grundlage für Richtungshören und u.a. für die Erklärung des *Cocktailparty-Effekts*. VON DER MALSBURG (1983, 1986) geht sogar so weit, Korrelationen als eine wesentliche Datenstruktur des Gehirns anzusehen. In seiner Korrelationstheorie sind Korrelationen zwischen Bereichen, die elementare Symbole repräsentieren, der "Klebstoff", der sie in einer hierarchischen Anordnung zu komplexen Objekten verbindet. Die weitgestreute neuronale Aktivität, die von der Wahrnehmung eines Gegenstandes erzeugt wird und in vielfältige andere Reize eingebettet ist, wird dadurch als zusammengehörig gekennzeichnet, daß sie korreliert ist. Diese Theorie sagt damit die Existenz von stimulusabhängigen Korrelationen voraus. Untersuchungen von GRAY und SINGER (1989) fanden tatsächlich Neurone im visuellen Cortex, die nur dann eine Korrelation im Bereich von ca. 100 ms aufwiesen, wenn beide vom *selben* Objekt angeregt wurden.

Bemerkenswert ist der hohe Anteil an direkt oder indirekt verbundenen Zellen. Warum in fast allen Fällen eine breite Korrelation sichtbar ist, könnte mehrere Ursachen haben. Die einfachste Erklärung liegt in einer gemeinsamen akustischen Stimulierung der Zellen durch andere Reize, die nicht mit dem experimentell präsentierten Ton in Zusammenhang stehen und deshalb durch die Shift-Predictor-Prozedur nicht kompensiert werden können: z.B. das Atemgeräusch oder der Herzschlag, die, wie man leicht an sich

selbst feststellt, oft an der Hörschwelle liegen. Dagegen spricht bei vielen Aufnahmen die Tatsache, daß selbst Zellen, die keinerlei Beeinflussung durch akustische Reize zeigen (insbesondere nicht auf Rauschen reagieren), ein ähnliches Korrelationsverhalten zeigen.

Andererseits sieht man, daß im Hirn eine globale Synchronität existiert. Im EEG, das eine Mittelung der gesamten neuronalen Aktivität darstellt, zeigen sich verschiedene Rhythmen, die beweisen, daß zumindest ein Teil aller Neurone zeitlich korreliert sind. Eine von WIENER (1961) geäußerte Vermutung über die Funktion dieser Rhythmen im EEG besagt, sie beruhen auf einer Synchronisation der einzelnen Neurone zu dem Zweck, die Anzahl der Koinzidenzen zu erhöhen: Die Funktionalität eines Neurons, das heißt die Übertragungsfunktion, die die synaptischen Inputs mit der Folge der Aktionspotentiale verknüpft, ist von der mittleren Aktivität abhängig, also eine nichtlineare Funktion der Spikeraten. Wenn nun in manchen Zuständen - z.B. im tiefen Schlaf - die globale Aktivität absinkt, würden manche Netzwerke ihre Aufgabe nicht mehr erfüllen können. Ein Ausweg besteht darin, das Gehirn gleichsam zu "takten": Durch eine Modulation sämtlicher Aktivitäten mit gleicher Frequenz wäre in den Maxima die momentane Aktivität wieder in der richtigen Größenordnung. Dadurch würde das Netzwerk zwar langsamer rechnen - wäre in den Zeitpunkten minimaler Aktivität praktisch "eingefroren" - würde aber zu gleichen Ergebnissen kommen wie im Normalzustand. Tatsächlich zeigt das EEG ein solches Verhalten: Je geringer die Gesamtaktivität, desto größer wird die globale Synchronisation, wie es z.B. durch den verstärkten α - oder θ -Rhythmus während Entspannung oder Tiefschlaf demonstriert wird. In diesem Zusammenhang stellen sich vielfältige Fragen über den Mechanismus, der zu diesen Rhythmen führt. Sind es "Eigenschwingungen" des Netzwerkes oder gibt es ein "Schrittmachersystem", das in der Lage ist, die Aktivität des ganzen Hirns zu modulieren?

Diese Arbeit baute auf den Methoden der klassischen Elektrophysiologie auf, die zu einem weitgehenden Verständnis der Funktion von Einzelzellen geführt hat. Die nächsten Schritte auf dem Weg zum Verständnis der Funktion des Gehirns liegen zweifellos in der Analyse größerer Netzwerke im Zusammenhang. KRÜGER et al. (1988) stellten ein Multielektrodensystem vor, mit dem gleichzeitig 20 und mehr Neurone abgeleitet werden können. Damit wird es vielleicht möglich sein, ein weiteres Stück der Lücke von der schon sehr gut verstandenen Mikrostruktur des Hirns zur Ebene der kognitiven Leistungen zu schließen.

6. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde an der Entwicklung eines Laborsystems gearbeitet, das elektrophysiologische Untersuchungen von Zellgruppen im auditorischen Cortex der Katze ermöglichte. Durch einen selbstlernenden Algorithmus zur Mustererkennung konnten mit einer einzelnen Mikroelektrode bis zu fünf Neurone an den Formen ihrer Aktionspotentiale unterschieden und gleichzeitig abgeleitet werden. Durch den Einsatz mehrerer vernetzter Computer war eine weitgehende Automatisierung der Experimente möglich, von der Tonerzeugung bis zur Speicherung und grafischen Online-Darstellung der Daten.

Ziel der damit ausgeführten Untersuchungen war es, einen Zusammenhang zwischen der Funktion von Neuronen und der sie verbindenden Netzwerkstruktur nachzuweisen. Dazu wurde von allen gefundenen Zellen deren Reaktion auf Sinustöne aufgezeichnet und ausgewertet. Insbesondere Bestfrequenz, Latenzzeit und Spontanrate wurden bestimmt. Aussagen über die synaptischen Verbindungen zwischen den Zellen ermöglichte die Korrelationsanalyse. Dazu wurde die mathematische Methode des *Shift-Predictors* zur Korrektur von Kreuzkorrelationsfunktionen bei nichtstationären Punktprozessen an die Struktur der im Experiment gewonnenen Daten angepaßt und ein statistischer Test für die Signifikanz der damit gewonnenen Ergebnisse hergeleitet.

In der Auswertung wurden anhand der in über 30 Experimenten gewonnenen Daten drei Fragenkomplexe bearbeitet:

- *Die räumliche Homogenität des auditorischen Cortex*
- *Der Grad der lokalen Vernetzung*
- *Der Zusammenhang zwischen funktioneller Äquivalenz und struktureller Verknüpfung von Neuronen*

Dabei ergaben sich im wesentlichen folgende Ergebnisse:

Die Eigenschaften von Neuronen streuen lokal zum Teil erheblich: Man findet Zellen, die sehr stark auf Geräusche reagieren, direkt neben solchen, die sich überhaupt nicht akustisch reizen lassen; die Art der Reaktion wechselt innerhalb weniger μm von tonisch auf phasisch, und Bestfrequenzen streuen um bis zu drei Oktaven. Auch die Zeit vom Reiz bis zur neuronalen Reaktion schwankt lokal um bis zu 80 ms. Im Durchschnitt beträgt die Abweichung der Bestfrequenzen ca. 1/2 Oktave und die Latenzzeitdifferenz etwa 15 ms. Deutliche lokale Unterschiede finden sich auch in der Spontanaktivität: Bis zum hundertfachen übertreffen manche Neurone ihre Nachbarn; im Durchschnitt weichen die Aktivitäten um den Faktor 4 voneinander ab.

Allerdings ist auch ein Hang zur lokalen Ordnung vorhanden: Dicht beieinanderliegende Neurone zeigen mehr Gemeinsamkeiten als weit auseinanderliegende: Bestfrequenz und Spontanaktivität von zwei beliebig weit auseinanderliegenden Zellen weichen im Schnitt um 1,5 Oktaven bzw. um den Faktor 5 voneinander ab, während bei den Latenzzeiten ein solcher Effekt zunächst nicht sichtbar ist.

Die Auswertung der Korrelogramme ergab, daß 20% aller Zellen synaptische Verbindung zu einem benachbarten Neuron haben und ca. 50% aller Paare gemeinsame Afferenzen haben.

Theoretische Modelle von neuronalen Netzen ermöglichen Lernen durch Modifizierung von Synapsen: Die Leitfähigkeit steigert sich, wenn prä- und postsynaptisches Neuron oft zur gleichen Zeit aktiv sind und nimmt ab, wenn Zellen selten gemeinsam ein Aktionspotential produzieren. Ein durch diesen Mechanismus geprägtes Netzwerk müßte einen Zusammenhang zwischen Ähnlichkeit der Reaktion auf äußere Reize und Stärke der synaptischen Verbindung aufweisen. Tatsächlich sind direkt verbundene Zellen etwas weniger unterschiedlich in ihren Reaktionen als solche mit gemeinsamem Input und diese sind wiederum ähnlicher als solche ohne jede Verbindung. Sogar bei der Spontanaktivität zeigt sich dieses Phänomen: Die Feuerraten verbundener Neurone unterscheiden sich weniger voneinander als die von unabhängigen Zellen.

7. Literaturverzeichnis

- ABELES M. and GERSTEIN G.L. Detecting spatiotemporal firing patterns among simultaneously recorded single neurons. *Journal of Neurophysiology* **60**, 909-924 (1988)
- ABELES M. Local cortical circuits. *Springer, Berlin, Heidelberg, New York* (1982)
- AERTSEN A.M.H.J. and GERSTEIN G.L. Evaluation of neuronal connectivity: sensitivity of cross-correlation. *Brain Research* **340**, 341-354 (1985)
- AERTSEN A.M.H.J., GERSTEIN G.L., HABIB M.K. and PALM G. Dynamics of neuronal firing correlation: modulation of "effective connectivity." *Journal of Neurophysiology* **61**, 900-917 (1989)
- ARDUNI A. Principles of theoretical neurophysiology. *Springer, Berlin, Heidelberg, New York* (1987)
- BASAR E., FLOHR H., HAKEN H. MANDELL A.J. (Editors) *Synergetics of the Brain*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1983)
- BRANDNER S. Die Feinstruktur der auditorischen thalamocorticalen Projektion bei der Katze. *Dissertation, Göttingen* (1989)
- BRANDNER S. and REDIES H. The projection from medial geniculate to field ai in cat: a spatial gradient along the isofrequency axis. *J. Neurosci.* (1989)
- BRONSTEIN J.N. und SEMENDJAJEW, K.A. Taschenbuch der Mathematik. 20.Aufl. Verlag Harry Deutsch, Thun (1981)
- CAJAL R. Y. Histologie du Système Nerveux de L'homme et des Vertébrés. *Maloine, Paris* (1911)
- CREUTZFELDT O.D., KUHNT U. and BENEVENTO L.A. An intracellular analysis of visual cortical neurones to moving stimuli: responses in a cooperative neuronal network. *Exp. Brain. Res.* **21**, 251-274 (1974)
- CREUTZFELDT O.D., INNOCENTI, G.M. and BROOKS, D. Neurophysiological experiments on afferent and intrinsic connections in the visual cortex. In: *SANTINI (editor), Golgi Centennial Symposium; Proceedings*. Raven Press, New York (1975)
- CREUTZFELDT O.D., HELLWEG F.C. and SCHREINER CHR. Thalamo-cortical transformation of responses to complex auditory stimuli. *Exp. Brain Res.* **39**, 87-104 (1980)
- CREUTZFELDT O.D. *Cortex Cerebri*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1983)
- D'HOLLANDER E.H. and ORBAN G.A. Spike recognition and on-line classification by unsupervised learning system. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* **BME-26**, 279-284 (1979)
- DICKSON J.W. and GERSTEIN G.L. Interactions between neurons in auditory cortex of the cat. *Journal of Neurophysiology* **37**, 1239 -1261 (1974)
- DURBIN R. and MITCHISON G. A dimension reduction framework for understanding cortical maps. *Nature* **343**, 644-647 (1990)
- EGGERMONT J.J. and EPPING W.J.M. Coincidence detection in auditory neurons: A possible mechanism to enhance stimulus specificity in the grassfrog. *Hearing Research* **30**, 219-230 (1987)

- EGGERMONT J.J., EPPING W.J.M. and AERTSEN A.M.H.J. Stimulus dependent neural correlations in the auditory midbrain of the grassfrog. *Biol. Cybern.* **47**, 103-117 (1983)
- FROSTIG R.D., YECHEZKEL G., VAADIA E. and ABELES M. The effects of stimuli on the activity and functional connectivity of local neuronal groups in the cat auditory cortex. *Brain Research* **271**, 211-221 (1983)
- GERSTEIN G.L., PERKEL D.H. and DAYHOFF J.E. Cooperative firing activity in simultaneously recorded populations of neurons: Detection and measurement. *Journal of Neuroscience* **5**, 881-889 (1985)
- GRAY M., KÖNIG P., ENGEL A.K. AND SINGER, W. Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature* **338**, 334-337 (1989)
- HAKEN H. Information compression in biological systems. *Biol. Cybern.* **56**, 11-17 (1987)
- HEBB D.O. The organization of behavior. *Wiley, New York* (1949)
- HEIERLI P., RIBEAUPIERRE F. and RIBEAUPIERRE Y. Functional properties and interactions of neuron pairs simultaneously recorded in the medial geniculate body of the cat. *Hearing Research* **25**, 209-225 (1987)
- HODKIN A.L. and HUXLEY A.F. Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J.Physiol.* **116**, 449 (1952)
- HOPFIELD J.J. Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* Vol.**79**, 2554-2558 (1982)
- HUMPHREY D.R. Extracellular, single-unit recording methods. *Short Course: Department of Physiology Emory University School of Medicine, Atlanta, Ga 30322* (1979)
- JOHNSON D.H. and KIANG N.Y.S. Analysis of discharges recorded simultaneously from pairs of auditory nerve fibers. *Biophysical Journal* **16**, 719-733 (1976)
- KINDERMANN L., REDIES H. and SIEBEN U. Real-time analysis of the activity of small neuronal networks recorded with one multi-unit electrode. In: *ELSNER N., CREUTZFELDT O.D. (Editors) New Frontiers in Brain Research - Proceedings of the 15th Göttingen Neurobiology Conference. Thieme, Stuttgart, New York, 106* (1987)
- KOHONEN T. Self-organization and associative memory. *Springer Series in Information Sciences Vol 8, Berlin, Heidelberg, New York* (1984)
- KRÜGER J. and AIPLE F. Multimicroelectrode investigation of monkey striate cortex. *J.Neuropsychiol.* **60**, 798-828 (1988)
- KRÜGER J. Simultaneous recordings from many cerebral neurons: techniques and results. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **98**, 177-233 (1983)
- LEE B.B., CLELAND B.G. and CREUTZFELD O.D. The retinal input to cells in area 17 of the cat's cortex. *Exp. Brain Res.* **30**, 527-538 (1977)
- LIENERT G.A. Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik . (1975)
- LLORACH-FORNER V. Synaptische Übertragungseigenschaften an realistischen Neuronen-Modellen. *Diplomarbeit am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen* (1982)

- MALSBURG CH. V.D. Selforganization of orientation sensitive cells in the striate cortex. *Kybernetik* **14**, 85-100 (1981)
- MALSBURG CH. V.D. The Correlation Theory of Brain Function. *Internal report 81-2. Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen* (1981)
- MALSBURG CH. V.D. How are nervous structures organized? In: *BASAR E., FLOHR H., HAKEN H. MANDELL A.J. (Editors) Synergetics of the brain. Springer, Berlin, Heidelberg, New York* (1983)
- MALSBURG CH. V.D. Nervous structures with dynamical links. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **89**, 703-710 (1985)
- MALSBURG CH. V.D. and SCHNEIDER, W. A neural cocktail-party processor. *Biol. Cybern.* **54**, 29-40 (1986)
- MANLEY G., KÖPPL C. and KONISHI M. *J. Neurosci.* **8**, 2665-2676 (1988)
- McCLELLAND J.L. and RUMELHART D.E. Parallel distributed processing. *Bradford Book, MIT Press Cambridge* (1986)
- MELSSSEN W.J. and EPPING W.J.M. Detection and estimation of neural connectivity based on crosscorrelation analysis. *Biol. Cybern.* **57**, 403-414 (1987)
- MERZENICH M.M., KNIGHT P.L. and LINN-ROTH G. Representation of cochlea within primary auditory cortex in the cat. *J. Neurophysiol.* **38**, 231-249 (1975)
- MOORE D. Sound Localization Mechanisms. *Nature* **337**, 208-209 (1989)
- OPPENHEIM A.V. and SCHAFER R.W. Digital signal processing. *Prentice Hall, Englewood Cliffs* (1975)
- PALM G., AERTSEN A.M.H.J. and GERSTEIN G.L. On the significance of correlations Among neuronal spike trains. *Biol. Cybern.* **59**, 1-11 (1988)
- PERKEL D.H., GERSTEIN G.L. and MOORE, G.P. Neuronal spike trains and stochastic point processes. II. Simultaneous spike trains. *Biophys. J.* **7**, 419-440 (1967)
- PHILLIPS D.P. and IRVINE D.R.F. Responses of single neurons in physiologically defined primary auditory cortex (AI) of the cat: frequency tuning and responses to intensity. *J. Neurophysiol.* **45**, 48-58 (1981)
- REDIES H. Tonotope Strukturen im auditorischen Thalamus und Cortex des Meerschweinchens. *Dissertation, Göttingen* (1987)
- REDIES H., SIEBEN U. and CREUTZFELDT O.D. Functional subdivisions in the auditory cortex of the guinea pig. *J. Comp. Neurol.* **282**, 437-488 (1989)
- REDIES H, BRANDNER S and CREUTZFELDT O.D. Anatomy of the auditory thalamocortical system of the guinea pig. *J. Comp. Neurol.* **282**, 489-511 (1989)
- REINIS S., WEISS D.S. and LANDOLT J.P. Lack of homogeneity of receptive fields of visual neurons in the cortical area 18 of the cat. *Biol. Cybernetics* **59**, 41-48 (1988)
- REINIS S., WEISS D.S. and LANDOLT J.P. Mass correlograms of multiple neuronal activity in the cat's extrastriate cortex. *Biol. Cybernetics* **59**, 103-107 (1988)
- RIBEAUPIERRE F., GOLDSTEIN M.H. and YENI-KOMSHIAN G. Intracellular study of the cat's primary auditory cortex. *Brain Research* **48**, 185-204 (1972)

- RITTER H., MARTINEZ T. und SCHULTEN K. Neuronale Netze. *Addison-Wesley, Bonn* (1990)
- ROBERTS W.M. and HARTLINE D.K. Separation of multi-unit nerve impulse trains by a multi-channel linear filter algorithm. *Brain Research* **94**, 141-149 (1975)
- SCHMIDT E.M. Computer separation of multi-unit neuroelectric data: a review. *J. Neurosci. Meth.* **12**, 95-111 (1984)
- SHAW G.L., HARTH E. and SCHEIBEL A.B. Cooperativity in brain function: assemblies of approximately 30 neurons. *Experimental Neurology* **77**, 324-358 (1982)
- STEVENS K. and GERSTEIN G.L. Interactions between cat lateral geniculate neurons. *Journal of Neurophysiology* **39**, 239-256 (1976)
- SURMEIER D.S. and WEINBERG R.J. The relationship between cross-correlation measures and underlying synaptic events. *Brain Research* **331**, 180-184 (1985)
- SYKA J., RADINOVA E.A. and POPELÁR J. Discharge characteristics of neuronal pairs in the rabbit inferior colliculus. *Exp. Brain Res.* **44**, 11-18 (1981)
- TSÓ D. Y., GILBERT C.D. and WIESEL T.N. Relationships between horizontal interactions and functional architecture in cat striate cortex as revealed by cross-correlation analysis. *J. Neurosci.* **6**, 1160-1170 (1986)
- VAADIA E. and ABELES M. Temporal firing patterns of single units, pairs and triplets in the auditory cortex. *Israel Journal of Med.Sc.* **23**, 75-83 (1987)
- VAN STOKKUM I.H.M., JOHANNESMA P.I.M. and EGGERMONT J.J. Representation of time-dependent correlation and recurrence time functions. *Biol. Cybern.* **55**, 17-24 (1986)
- VIBERT J.F., ALBERT J.N. and COSTA J. Intelligent software for spike separation in multiunit recordings. *Medical & Biological Engineering & Computing* 366-372 July (1987)
- VOIGT H.F. and YOUNG E.D. Neural correlations in the dorsal cochlear nucleus: Pairs of units with similar response properties. *Journal of Neurophysiology* **59**, 1014-1032 (1988)
- VOIGT H.F. and YOUNG E.D. Stimulus dependent neural correlation: an example from the cochlear nucleus. *Exp. Brain Res.* **60**, 594-598 (1985)
- WHEELER B.C. and HEETDERKS W.J. A comparison of techniques for classification of multiple neural signals. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering BME-29*, 752-759 (1982)
- WIEGNER A.W. and WIERBICKA M.M. A method for assessing significance of peaks in cross-correlation histograms. *Journal of Neuroscience Methods* **22**, 125-131 (1987)
- WIENER N. *Cybernetics*. MIT Press Cambridge; Wiley, New York (1961)
- WILLSHAW D.J. and VON DER MALSBERG C. How patterned neural connections can be set up by self-organization. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **194**, 431-445 (1976)
- YANOVSKII E.SH. and KIENKO V.M. Neuronal interaction in the auditory cortex of alert cats. *Translated from Neurofiziologia, Vol.16 No.2* 161-167 (1983) in: *Neurophysiology* **16** 132-13 (1984)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. O.D. Creutzfeldt für die hervorragenden Arbeitsmöglichkeiten und das wohlwollende Interesse danken, daß er meiner Arbeit entgegengebracht hat. Außerdem danke ich Herrn Prof. M.R. Schroeder vom 3. physikalischen Institut, der die universitäre Betreuung dieser Arbeit übernahm. Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Hermann Redies, der sich immer mit größtem Engagement um diese Arbeit bemüht hat und die Experimente, aus denen die verwendeten Daten stammen, zusammen mit Herrn Sebastian Brandner durchgeführt hat. Ich danke auch Herrn Dr. Strube für die detaillierte Durchsicht des Manuskripts. Außerdem der Computercrew, speziell Dr. Dieter Michael und Dieter Feist, die mir vom Aufbau der Apparatur bis hin zum Ausdruck des Manuskripts stets eine große Hilfe waren. Besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir nicht nur in finanzieller Hinsicht das Studium der Physik ermöglicht haben.