

**Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten,
plastische und ästhetische Operationen**

der Universität Würzburg

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. Rudolf Hagen

**Auswirkungen von frühzeitiger Ertaubung auf den lateralen oberen
Olivenkern bei der mongolischen Wüstenrennmaus (*Meriones
unguiculatus*)**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Johanna Elisabeth Knorz

aus Lichtenfels

Würzburg, Februar 2018

Referent/Referentin:	PD Dr. med. Maike Vollmer
Koreferent/Koreferentin:	Prof. Dr. rer. nat. Erhard Wischmeyer
Dekan:	Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 19.10.2018

Die Promovendin ist Ärztin.

Inhalt

1. Einleitung	1
1.1. Neuroanatomie und Neurophysiologie	2
1.1.1. Hörbahn	2
1.1.2. Rolle des Olivenkomplexes.....	5
1.1.3. Lateraler oberer Olivenkern (LSO).....	6
1.2. Altersabhängige Veränderungen in Hirnstamm und Mittelhirn.....	8
1.3. Ertaubungsbedingte Veränderungen der zentralen Hörbahn.....	10
1.4. Arbeitshypothese und Zielsetzung der Studie	15
2. Material und Methoden.....	17
2.1.1. Ertaubung der Tiere	17
2.1.2. Anfertigung der Schnitte	18
2.1.3. Färbungen.....	20
2.1.4. Auswahl eines geeigneten Schnittes durch die LSO	22
2.1.5. Digitalisierung der LSO-Schnitte	24
2.1.6. Lichtmikroskopische Auswertung der LSO.....	25
2.1.7. Statistische Analyse	35
3. Ergebnisse.....	37
3.1. Auswirkung der Ertaubung auf die Fläche der LSO.....	37
3.1.1. Querschnittsfläche der LSO in der Nissl-Färbung.....	37
3.1.2. Querschnittsfläche der LSO in der GABA-Färbung	39
3.1.3. Querschnittsfläche der LSO in der Glycin-Färbung	41
3.2. Auswirkung der Ertaubung auf die Zellgrößen der Neurone der LSO	43
3.2.1. Zellgrößen in der Nissl-Färbung.....	43
3.3. Auswirkung der Ertaubung auf die Zellzahlen der LSO	49
3.3.1. Neuronenanzahl in der Nissl-Färbung.....	50
3.3.2. Neuronenanzahl in der GABA-Färbung	53
3.3.3. Neuronenanzahl in der Glycin-Färbung	56
3.4. Auswirkung der Ertaubung auf die Zelldichte der Neurone der LSO	59
3.4.1. Zelldichte in der Nissl-Färbung.....	59
4. Diskussion	65
4.1. Identifikation der Neurone der LSO mittels Nissl- und immunhistologischer Färbungen	65

4.2.	Effekte der Ertaubung	66
4.2.1.	Querschnittsfläche der LSO	66
4.2.2.	Zellgrößen der LSO in der Nissl-Färbung	68
4.2.3.	Zellzahlen der LSO in der Nissl-, GABA- und Glycin-Färbung und Zelldichte in der Nissl-Färbung	69
4.2.4.	Tonotope Anordnung der Neurone in der LSO	71
4.2.5.	Asymmetrien der Hemisphären	73
5.	Zusammenfassung	76
6.	Anhang	79
6.1.	Abkürzungen	79
6.2.	Tabellenverzeichnis	80
6.3.	Literaturverzeichnis	95
6.4.	Abbildungsverzeichnis	102
6.5.	Danksagung	103
6.6.	Lebenslauf	104

1. Einleitung

Das Gehör ist einer der fünf Sinne des Menschen und spielt eine essentielle Rolle in der Sprachentwicklung, Kommunikation und Interaktion des täglichen Lebens. Im Jahr 2017 belief sich die Zahl von Menschen mit Hörverlust laut Angaben der World Health Organization (WHO) auf 360 Millionen weltweit, davon waren 32 Millionen Kinder. Wie wichtig die Fähigkeit des Hörens ist, zeigen zahlreiche Studien, die eine erhebliche Benachteiligung tauber Menschen aufzeigen. So sind taube und schwerhörige Kinder nicht nur in ihrer Kommunikation gestört (Tait et al., 2001), sondern auch in ihren sozialen Fähigkeiten beeinträchtigt und weisen häufiger Verhaltensauffälligkeiten auf (Netten et al., 2015). Die Entwicklung der gesprochenen und geschriebenen Sprache im Kindesalter ist verlangsamt (Becker et al., 1994) und die Verständlichkeit der Sprache tauber Erwachsener ist stark herabgesetzt (Holzinger and Fellingner, 1997).

Diesen Beeinträchtigungen liegen ertaubungsbedingte Veränderungen auf anatomischer und funktioneller Ebene im auditorischen System zugrunde. Im Tierversuch können Forschungsarbeiten strukturelle histologische und funktionelle Veränderungen der Hörbahn nachweisen. Als Versuchstiere werden vielerorts Gerbils verwendet, da die Hörbahn der mongolischen Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*) über ein gut ausgebildetes Tiefton-Hörspektrum verfügt, das vergleichbar mit dem menschlichen ist (Lay, 1972, Ryan, 1976).

Auf peripherer und zentraler Ebene der Hörbahn findet die Verarbeitung von Schallsignalen statt. Der Olivenkomplex mit seinem größten Kernkomplex im superioren Anteil, dem lateralen oberen Olivenkern (LSO), spielt als erste binaurale Schaltstelle eine entscheidende Rolle in der Ermittlung des Richtungswinkels akustischer Reize zum Richtungshören. Zu diesem Kerngebiet liegen bereits einige Forschungsarbeiten zu altersbedingten Veränderungen vor. In histologischen Studien konnte beispielsweise bei einer konstanten Neuronenanzahl der LSO gealterter Gerbils (Radtke-Schuller et al.,

2015) eine Abnahme der Zellgrößen inhibitorischer Neurone im hochfrequenten Bereich der LSO festgestellt werden (Gleich et al., 2004). Diese altersbedingten Degenerationen deuten eine funktionelle Beeinträchtigung des Richtungshörens an, die ebenfalls in vielen Forschungsarbeiten beleuchtet ist.

Intensitätsunterschiede eintreffender akustischer Reize wurden bei älteren Menschen schlechter wahrgenommen (Strouse et al., 1998) und im Tierversuch mit der mongolischen Wüstenrennmaus konnte eine eingeschränkte binaurale Verarbeitung von Schallsignalen festgestellt werden (Laumen et al., 2016).

Doch welche anatomischen und funktionellen Auswirkungen ruft Taubheit in der LSO hervor? Im Gegensatz zu altersbedingten Veränderungen sind die Effekte der frühzeitigen bilateralen Ertaubung sehr wenig erforscht. Besonders zum Richtungshören gibt es noch nicht viele Studien, morphologische Arbeiten zum olivocochleären System und insbesondere zu strukturellen Veränderungen in der LSO bei bilateraler Taubheit liegen kaum vor. Auch die Rolle der inhibitorischen Wirkung der Neurotransmitter γ -Amino-Buttersäure (GABA) und Glycin bei Ertaubung ist noch nicht vollständig verstanden. In der vorliegenden Arbeit sollten die strukturellen histologischen Veränderungen der LSO bei frühzeitiger bilateraler Ertaubung untersucht werden.

1.1. Neuroanatomie und Neurophysiologie

1.1.1. Hörbahn

Im Folgenden soll die Hörbahn des Menschen kurz skizziert werden. Man unterscheidet den peripheren und zentralen Anteil der Hörbahn. Dabei umfasst der periphere Anteil das äußere Ohr, das Mittelohr und das Innenohr mit der Cochlea. Die trichterförmige Ohrmuschel und der Gehörgang dienen der Weiterleitung des Schalls zum Trommelfell, das das äußere Ohr begrenzt. Im Mittelohr wird der Schall über die Gehörknöchelchen Hammer, Amboss und Steigbügel auf das ovale Fenster übertragen. Durch die Impedanzanpassung und die Hebelwirkung der Gehörknöchelchenkette wird der Schalldruck um den Faktor 22 verstärkt (Silbernagl und Despopoulos, 2007). Im Corti-Organ des

Innenohrs findet eine Umwandlung der eintreffenden Schallsignale in elektrische Reize statt. Die Auslenkung der Sinneszellen, der Mechanorezeptoren der Haarzellen, ermöglicht letztendlich die Weiterleitung des akustischen Reizes an das Gehirn.

Die Somata der speziell-somatosensiblen Hörnervfasern liegen im Ganglion spirale cochleae und bilden das erste Neuron der Hörbahn. Über die Pars cochlearis des VIII. Hirnnerven (Nervus vestibulocochlearis) ziehen die Fortsätze zu den anterioren und posterioren Nuclei cochleares im Rhombencephalon, wo die Umschaltung auf das zweite Neuron und die Aufteilung in direkte und indirekte Hörbahn stattfindet (Benninghoff und Drenckhahn, 2004). Abbildung 1 zeigt eine Schematik der Schaltstätten der zentralen Hörbahn.

In der direkten Hörbahn kreuzen die Fortsätze des posterioren Nucleus cochlearis größtenteils im Boden des vierten Ventrikels nach kontralateral zum Lemniscus lateralis. Im Colliculus inferior (IC) in der Lamina tecti findet die Verschaltung auf das dritte Neuron statt. Die Fasern ziehen über das Brachium colliculi inferioris zum Corpus geniculatum mediale des Metathalamus, wo die Verschaltung auf das vierte Neuron vollzogen wird. Über die Hörstrahlung in der Capsula interna werden schließlich die Gyri temporales transversi der primären Hörrinde, die Heschl'schen Querwindungen des Temporallappens (Area 41 nach Brodmann), erreicht. Dort ist das fünfte Neuron der Hörbahn lokalisiert. Die indirekte Hörbahn nimmt ihren Ursprung im Wesentlichen im anterioren Nucleus cochlearis. Im Corpus trapezoideum kreuzen die Fasern nach kontralateral und werden im oberen Olivenkomplex auf das dritte Neuron verschalten. In diesem Kernkomplex enden sie ipsilateral oder kontralateral. Teilweise findet eine Verschaltung auf ein viertes Neuron statt.

Ein geringer Anteil der Fortsätze des anterioren Nucleus cochlearis wird ohne Verschaltung im oberen Olivenkomplex den kontralateralen Nuclei lemnisci lateralis zugeleitet, wo das dritte Neuron lokalisiert ist. Über die Decussatio lemniscorum lateraliu besteht eine Kreuzung zu den kontralateralen Nuclei lemnisci lateralis. Dort erfolgt eine Verschaltung auf das vierte Neuron.

Die indirekte Hörbahn erreicht darauf der direkten Hörbahn entsprechend über

den Lemniscus lateralis den IC. In Abhängigkeit vom vorangehenden Verlauf findet dort die Verschaltung auf das vierte oder fünfte Neuron statt. Im Corpus geniculatum mediale erfolgt die Verschaltung auf das fünfte oder sechste Neuron, bis schließlich das sechste oder siebte Neuron in der primären Hörrinde erreicht wird (Benninghoff und Drenckhahn, 2004).

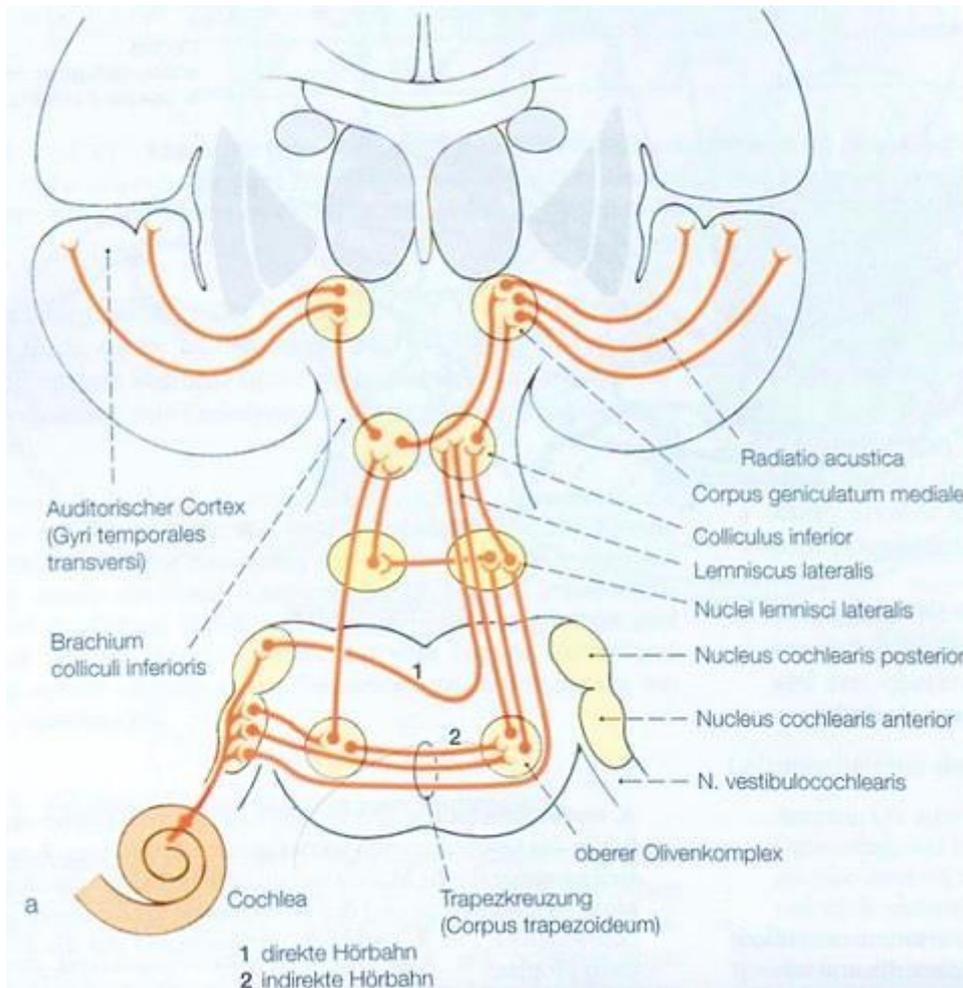


Abb. 1: Schematik der zentralen, afferenten Bahnen des auditorischen Systems des Menschen (Benninghoff und Drenckhahn, 2004). Das eintreffende Schallsignal wird über die afferenten Bahnen des VIII. Hirnnerven (Nervus vestibulocochlearis) bis zu den anterioren und posterioren Nuclei cochleares geleitet. Die Hörbahn verläuft darauf zum oberen Olivenkomplex, im Lemniscus lateralis, zum IC und zum Corpus geniculatum mediale, bis schließlich die primäre Hörrinde im Temporallappen erreicht wird. Es existieren zahlreiche Umschaltungen, Kreuzungen der Bahnen nach kontralateral sowie Verbindungen der einzelnen Kerngebiete untereinander.

1.1.2. Rolle des Olivenkomplexes

Die Nuclei olivares (Olivenkerne) umfassen eine beidseits angelegte Gruppe an Kerngebieten im Hirnstamm, die in den Nucleus olivaris inferior (unterer Olivenkern) in der Medulla oblongata und den Nucleus olivaris superior (oberer Olivenkern) im Pons gegliedert werden können.

Während der untere Olivenkern als größter Kernkomplex im Hirnstamm als wesentliche Funktion die Kontrolle der Motorik und Koordination hat und auch der Integration von sensorischen und zeitlichen Informationen dient (Ausim Azizi, 2007, De Zeeuw et al., 1998), stellt der obere Olivenkern einen Teil der Hörbahn dar. Er besteht aus zwei Hauptkernen, dem medialen oberen Olivenkern (MSO) und dem lateralen oberen Olivenkern (LSO) sowie zahlreichen kleineren periolivaren Kerngebieten, die Ursprung von auf- und absteigenden Bahnen sind (Schofield and Cant, 1991). Über die Neurone der MSO und LSO werden binaurale Laufzeitdifferenzen vornehmlich über die MSO und Intensitätsdifferenzen vor allem über die LSO ermittelt, was für die Lokalisation von Schallquellen und das Richtungshören von großer Bedeutung ist (Moore, 2000, Oliver, 2000).

Die MSO hat zur Funktion, den Zeitunterschied des Eintreffens eines tieffrequenten Schallsignals zwischen den beiden Ohren zu identifizieren (interaural time difference, ITD) und somit den Richtungswinkel von ankommenden Geräuschen zu bestimmen. Dies gelingt durch bipolare Nervenzellen, die exzitatorische Projektionen vom anteroventralen Nucleus cochlearis (AVCN) beider Ohren empfangen und lokalisieren. Der AVCN projiziert zu den ipsilateralen lateralen Dendriten der MSO, wohingegen Projektionen zur kontralateralen MSO an den medialen Dendriten des Kerngebiets zu finden sind. Zudem finden sich inhibitorische Signale besonders vom Nucleus medialis des Trapezkörpers (MNTB) und auch in geringerer Ausprägung vom Nucleus lateralis des Trapezkörpers (LNTB) in der MSO (Roberts et al., 2014, Couchman et al., 2010). Durch die Koinzidenz exzitatorischer und inhibitorischer Inputs können in der MSO interaurale

Zeitunterschiede von Mikrosekunden eintreffender tieffrequenter Schallsignale ermittelt werden.

1.1.3. Lateraler oberer Olivenkern (LSO)

Der laterale obere Olivenkern (LSO) ist ein Kerngebiet des oberen Olivenkomplexes. Die Annahme einer tonotopen Anordnung der Zellen der LSO hat sich durch zahlreiche Arbeiten gefestigt. Medial sind Zellen hoher Frequenzen, lateral Zellen tiefer Frequenzen angeordnet. Dies konnte sowohl beim Gerbil (Sanes et al., 1989) als auch bei der Ratte nachgewiesen werden (Kelly et al., 1998).

Die LSO dient der Ermittlung des Richtungswinkels hochfrequenter Schallsignale. Dies gelingt durch die Ermittlung des „Interaural Level Difference“ (ILD), des Intensitätsunterschieds beidseits eintreffender Schallsignale. Die LSO erhält ipsilaterale exzitatorische glutamaterge Inputs von den Spherical Bushy Cells (SBC) des AVCN und inhibitorische glycinerge Inputs vom ipsilateralen MNTB, der selbst von den Globular Bushy Cells (GBC) des kontralateralen AVCN exzitatorisch innerviert ist (Grothe and Pecka, 2014, Caird and Klinke, 1983). Auf Grund der tonotopen Anordnung der beiden Signalwege werden die binauralen Schallsignale frequenzspezifisch verarbeitet. Einzelne Neurone der LSO werden erregt und gehemmt von Axonen, die für dieselbe Frequenz kodiert sind (Sanes and Rubel, 1988). Das Eintreffen von ipsilateralen exzitatorischen und kontralateralen inhibitorischen Inputs ermöglicht die Ermittlung der ILDs (Grothe and Pecka, 2014, Tollin, 2003). Darüber hinaus verarbeitet die LSO auch ITDs. Über die Ankunftszeitdifferenzen des hemmenden glycinergen Inputs des MNTB kann in niedrigfrequenten Neuronen der LSO eine Aktivitätsänderung nachgewiesen und so eine Sensibilität für ITDs erreicht werden (Grothe and Pecka, 2014). Bei Chinchillas und Ratten konnte eine Abhängigkeit der Aktivität niedrigfrequenter Neurone der LSO durch interaurale Phasenunterschiede festgestellt werden (Finlayson and Caspary, 1991). Diese Sensitivität wurde auch bei einer Studie mit Katzen beschrieben (Joris and Yin, 1995). Abbildung 2 verdeutlicht die Leitungsbahnen, die für die Verarbeitung von ITDs und ILDs notwendig sind.

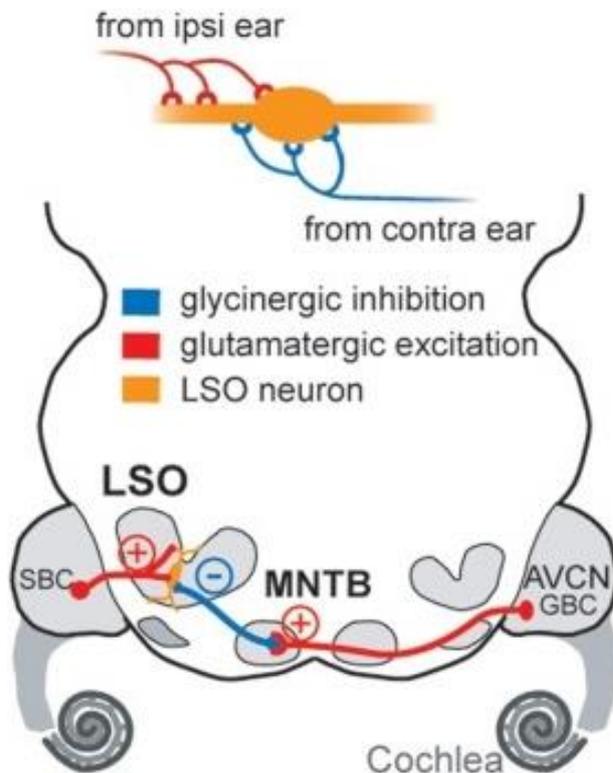


Abb. 2: Schematik der Leitungsbahnen der LSO zur ILD- und ITD-Detektion (Grothe and Pecka, 2014). LSO-Neurone erhalten exzitatorische Reize der Spherical Bushy Cells (SBCs) im ipsilateralen AVCN und inhibitorische Reize vom ipsilateralen MNTB, der selbst von Globular Bushy Cells (GBCs) vom kontralateralen AVCN exzitatorisch innerviert wird.

Die LSO hat bilaterale Projektionen zum IC, der ebenfalls ILD-sensitive Zellen enthält und selbst Einfluss auf die ILD-Ermittlung hat (Park, 1998). Die Bahnen, die zum kontralateralen IC laufen, sind exzitatorisch, wohingegen die Projektionen zum ipsilateralen IC über den Neurotransmitter Glycin inhibitorisch wirken (Glendenning et al., 1992). Zudem hat die LSO zum kontralateralen Nucleus dorsalis des Lemniscus lateralis (DNLL) GABAerge inhibitorische Projektionen. Der DNLL wiederum hemmt ebenfalls über GABAerge Neurone bilateral die ICs und den kontralateralen DNLL (Shneiderman et al., 1999).

Vom oberen Olivenkomplex projizieren inhibitorische Fasern über den achten Hirnnerven im olivocochleären Bündel wieder zurück zum Innenohr. Dort wird die Aktivität der äußeren Haarzellen intensitätsabhängig inhibiert und die Empfindlichkeit des Hörens an den inneren Haarzellen beeinflusst (Darrow et

al., 2006). So stellen diese von der oberen Olive ausgehenden Bahnen die wichtigste Quelle inhibitorischen Inputs zum Nucleus cochlearis (CN) dar (Ostapoff et al., 1997).

1.2. Altersabhängige Veränderungen in Hirnstamm und Mittelhirn

Bei den histologischen Untersuchungen von gealterten Wüstenrennmäusen wurden zahlreiche Veränderungen der zentralen Hörbahn beschrieben. Die genannten Beispiele beziehen sich lediglich auf altersbedingte Veränderungen im Bereich des Hirnstamms und Mittelhirns.

In lichtmikroskopischen Studien wies der MNTB bei gealterten Ratten eine Verminderung der Neuronenzahl auf (Casey, 1990). Nach einer Lebenszeit von 24 und 30 Monaten konnte im MNTB ein signifikanter Nervenzellverlust dargestellt werden, wohingegen die LSO und MSO im Alter zwischen drei und dreißig Monaten eine gleichbleibende Neuronenzahl aufzeigten. Auch bei 24-Monate alten Ratten einer anderen Rasse konnte ein 34%iger Neuronenverlust im MNTB im Vergleich zu jungen, zwei bis drei Monate alten Tieren nachgewiesen werden (Casey and Feldman, 1982). Im MNTB wurden zudem spongiforme Läsionen in glycinergen Neuronen des MNTB bei mindestens drei Jahre alten Gerbils festgestellt (Gleich and Strutz, 2002). Solche Läsionen lagen bei Tieren bis zu einem Lebensalter von einem Jahr nicht vor. In derselben Studie wurde zudem eine signifikante Abnahme der Zellgrößen des MNTB bei den gealterten Wüstenrennmäusen nachgewiesen.

GABAerge Neurone des IC wurden von jungen im Vergleich zu gealterten Gerbils untersucht. Es war eine Schrumpfung des Kerngebiets, aber kein Neuronenverlust festzustellen, was mit einer höheren Zelldichte GABAerger Neurone in gealterten Tieren einherging (Gleich et al., 2014). Eine Zellgrößenänderung im IC war bei gealterten Tieren nicht zu erheben.

Im olivocochleären System der gealterten Wüstenrennmaus (2,5 bis 3,5 Jahre) konnte im Vergleich zu jungen gesunden Tieren im Alter von zwei bis fünf Monaten eine Zellzahlabnahme der cholinergen Neurone festgestellt werden, wohingegen aber die gesamte Zellzahl der LSO keine signifikante Verringerung aufwies (Radtke-Schuller et al., 2015). Hier wurden allerdings frequenzabhängige Unterschiede festgestellt. Im medialen hochfrequenten Bereich der LSO kam es zu einem größeren Neuronenverlust als im lateralen mittel- bis tieffrequenten Bereich. Bereits in vorangehenden Arbeiten konnte diese Frequenzabhängigkeit aufgezeigt werden. Bei immunhistologischen Färbungen wurde beim Vergleich der LSO von mindestens drei Jahre alten Gerbils im Vergleich zu jungen Tieren (jünger als 15 Monate) zwar weder eine Veränderung der Dimensionen des Kerngebiets noch der Zellzahl und Zelldichte festgestellt, doch im medialen hochfrequenten Bereich der LSO konnte eine signifikante Abnahme der Zellgröße nachgewiesen werden (Gleich et al., 2004). Beim Vergleich von Bereichen verschiedener Frequenzen innerhalb der LSO war sowohl bei jungen als auch bei gealterten Tieren festzustellen, dass die Zelldichte GABA- und Glycin-exprimierender Zellen am niedrigsten im medialen hochfrequenten Bezirk war, während dort in der Nissl-Färbung, die alle Zellen kenntlich macht, die höchste Zelldichte zu erfassen war. Somit kann davon ausgegangen werden, dass normalhörende Gerbils im medialen hochfrequenten Bereich eine höhere Zelldichte als im ventralen und lateralen mittel- und tieffrequenten Bezirk aufweisen.

Elektrophysiologisch wird eine Presbyakusis durch eine ansteigende Hörschwelle nachgewiesen. Auch beim Gerbil konnte eine Beeinträchtigung des Hörens im Alter durch verringerte Amplituden in akustisch evozierten Potentialen (ABR) dargestellt werden (Boettcher et al., 1993). Bereits im Alter von 22 bis 24 Monaten war ein deutlicher Hörverlust von 10 dB fast aller Frequenzen zu verzeichnen, nach einer Lebenszeit von 36 Monaten stieg die Hörschwelle der mongolischen Wüstenrennmaus um bis zu 35 dB (Mills et al., 1990). Die Altersschwerhörigkeit beeinflusst die tonotope Anordnung der Nervenzellen. Die Ausprägung der Beeinträchtigung variierte in verschiedenen Kerngebieten wie beispielsweise im ventralen und dorsalen Nucleus cochlearis

(Willott, 1990). Hochfrequente Neurone im AVCN wiesen im Gegensatz zu tieffrequenten Neuronen des Kerngebiets eine verminderte und verlangsamte postsynaptische Verarbeitung von Schallsignalen bei alten Mäusen im Vergleich zur jungen Kontrollgruppe auf (Wang and Manis, 2005). Veränderungen der inhibitorischen Wirkung der Neurotransmitter GABA und Glycin wurden als mögliche Ursachen der beeinträchtigten auditorischen Verarbeitung angenommen. Im dorsalen CN wurde eine Verminderung der Hemmung durch den Neurotransmitter Glycin bei gealterten Ratten festgestellt (Casparly et al., 2005). Im IC konnte eine verringerte GABAerge Neuronenanzahl und Konzentration dieses inhibitorischen Neurotransmitters aufgezeigt werden (Casparly et al., 1995).

Altersabhängige Einbußen des Richtungshörens wurden ebenfalls dargelegt. Die Schwelle zur Ermittlung des Intensitätsunterschieds eintreffender Schallsignale stieg bei Älteren und die Sprachwahrnehmung verschlechterte sich (Strouse et al., 1998). Bei der Untersuchung akustisch evozierter Potentiale wurde im Tierversuch mit Gerbils eine Veränderung der binauralen Verarbeitung mit verlängerten Latenzen und verkleinerten Amplituden festgestellt (Laumen et al., 2016). Die „Gap Detection“ (Lückenerkennung), die ein Maß für das temporale Auflösungsvermögen eintreffender Schallsignale darstellt, zeigte sich bei Älteren ebenfalls beeinträchtigt. Die altersbedingte Abnahme der zeitlichen Verarbeitung ist bei der mongolischen Wüstenrennmaus (Boettcher et al., 1996, Hamann et al., 2004) und auch beim Menschen im Alter nachgewiesen (Schneider et al., 1994, Snell, 1997).

1.3. Ertaubungsbedingte Veränderungen der zentralen Hörbahn

Auch Ertaubung ruft vielschichtige Effekte in der zentralen Hörbahn hervor, was bereits in zahlreichen Tierversuchen gezeigt werden konnte. Uni- oder bilaterale Ertaubung stellt einen immensen Eingriff in die Verarbeitung eintreffender Schallsignale dar und führt zu umfassenden morphologischen und funktionellen

Veränderungen. Sowohl während der Entwicklung als auch im adulten auditorischen System wird eine Reorganisation der aufsteigenden Hörbahn hervorgerufen, die sich auch durch histologische Veränderungen nachweisen lässt.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine systemische, folglich bilaterale Ertaubung durchgeführt, die von einer unilateralen Ertaubung klar abzugrenzen ist. Während bei der bilateralen Ertaubung zumindest bis zur Hirnstammebene seitengleiche Veränderungen zu erwarten sind, nimmt die unilaterale Ertaubung vornehmlich Einfluss auf die Symmetrie der Hörbahn und lässt somit seitenspezifische Veränderungen erwarten.

Morphologische Studien zeigten, dass im ipsilateralen CN von Frettchen, die am fünften Lebensstag unilateral ertaubt wurden, nach drei Monaten ein mehr als 50%iger Neuronenverlust und eine Zellgrößenabnahme festzustellen war (Moore, 1990b). Das Volumen des CN von Frettchen zeigte sich ipsilateral im ventralen Bereich stärker reduziert als dorsal (Moore and Kowalchuk, 1988). Auch in einem Tierversuch mit Meerschweinchen war acht Wochen nach der Ertaubung im rostralen AVCN eine Größenabnahme der Neurone um 22% nachzuweisen (Lesperance et al., 1995).

In der LSO wurde bei unilateraler Ertaubung ipsilateral eine Volumenabnahme des Kerngebiets und eine Verringerung der Neuronenzahl festgestellt (Moore, 1992), in Teilen der ipsilateralen MSO fand sich eine Abnahme der Synapsenzanzahl (Russell and Moore, 2002).

Diese histologischen Veränderungen spiegeln sich auch in elektrophysiologischen Studien wider. Bei gesunden Individuen ruft eine monaurale Stimulation eine höhere Aktivierung des zentralen auditorischen Systems auf der kontralateralen im Vergleich zur ipsilateralen Hemisphäre hervor (Hine and Debener, 2007), während bei unilateraler Taubheit eine Abschwächung der normalen asymmetrischen Aktivierung der beiden Hemisphären aufgezeigt werden konnte (Bilecen et al., 2000, Ponton et al., 2001, Maslin et al., 2013). Die Neurone des IC der ipsilateralen Seite des intakten Ohres wiesen eine höhere Aktivität und Empfindlichkeit auf, die Antworten der Gegenseite blieben größtenteils unverändert (McAlpine et al.,

1997). In der LSO zeigte sich kontralateral zur ertaubten Seite eine erhöhte und ipsilateral eine verminderte glycinerge inhibitorische Transmission (Suneja et al., 1998).

In der vorliegenden Arbeit zu bilateraler Ertaubung ist hingegen keine Asymmetrie zu erwarten, der Erhalt der Symmetrie wird bei systemischer Ertaubung angenommen.

Kongenitale bilaterale Ertaubung ruft im zentralen auditorischen System vor allem degenerative Veränderungen hervor, die in der aufsteigenden Hörbahn festzustellen sind.

Im CN als erstes zentrales Kerngebiet, das cochleären Input empfängt, spiegelte sich diese Degeneration bei kongenital bilateral ertaubten Katzen in einer Volumenminderung des Kerngebiets um ungefähr die Hälfte und einer Zellgrößenabnahme der auditorischen Neurone wider (Saada et al., 1996). Bei Frettchen, die im Gegensatz zu den Katzen nicht kongenital, aber vor Ausbildung der normalen auditorischen Funktion im Alter von vier Wochen ertaubt wurden, zeigte sich nach drei Monaten keine signifikante Veränderung der Anzahl der Neurone des CNs, die zum IC projizieren. Auch die Symmetrie dieser Afferenzen unterschied sich nicht signifikant von normalhörenden Tieren (Moore, 1990a).

Am Menschen wurde eine Studie post mortem durchgeführt, in der bei sieben bilateral adult ertaubten Erwachsenen die Degenerationen der Kerngebiete des AVCN, der MSO und des IC in ähnlichem Ausmaß durch eine Zellschrumpfung dargelegt werden konnten (Moore et al., 1997). Im IC von bilateral ertaubten Katzen ist ebenfalls eine Größenabnahme der Neurone festzustellen (Nishiyama et al., 2000), die mit einer Abnahme der Innervationsdichte in diesem Kerngebiet einhergeht (Hardie et al., 1998). Im MNTB wurde eine Zunahme inhibitorischer Synapsen bei kongenital ertaubten Mäusen nachgewiesen, zudem konnte durch elektrophysiologische Untersuchungen ein Anstieg der Frequenzen und eine Verringerung der Amplituden inhibitorischer glycinerge Reize dargelegt werden (Leao et al., 2004). Die normale tonotope Anordnung der Neuronen im MNTB war bei kongenital ertaubten Mäusen nicht vorhanden (Leao et al., 2006). Die Neurone der LSO hingegen scheinen relativ

resistent und nach Ertaubung nur gering beeinträchtigt zu sein. Bei kongenital tauben Mäusen zeigten sich keinerlei Hinweise auf das Entstehen abnormaler Projektionen der LSO, die Projektionen des AVCN zur LSO und zum MNTB waren intakt (Youssoufian et al., 2008). Der inhibitorische glycinerge Input nahm bei kongenital tauben Mäusen eine normale Entwicklung und die Neurone der LSO schienen durch eine Anpassung ihrer elektrophysiologischen Aktivität die Fähigkeit zur Ermittlung der ILDs eintreffender Schallsignale zu erhalten (Couchman et al., 2011).

Der primär auditorische Kortex wies beim beeinträchtigten Gehör von Kleinkindern im anterioren Teil in der Magnetresonanztomographie eine Zunahme des Volumens der grauen Substanz, eine Abnahme der weißen Substanz und eine Abschwächung der Asymmetrie der bei Normalhörenden stärker ausgeprägten linken Gehirnhälfte auf (Smith et al., 2011). Andere Studien mit von Geburt an beidseits tauben Erwachsenen zeigte hingegen in Bildgebungsverfahren ein erhaltenes kortikales Volumen der Heschl'schen Querwindungen (Penhune et al., 2003, Emmorey et al., 2003).

Diese anatomischen Änderungen nehmen Einfluss auf die Funktionalität. Nach bilateraler kongenitaler Ertaubung wurden bei Cochlea-implantierten Katzen mittels monauraler Stimulation hochgradige Verschlechterungen in der zeitlichen Verarbeitung elektrischer intracochleärer Signale im IC und im primären auditorischen Kortex nachgewiesen (Beitel et al., 2011, Vollmer and Beitel, 2011, Vollmer et al., 2005). Auch wurden deutliche Degradationen in der spektral-selektiven Repräsentation von elektrischen Signalen im IC und Kortex beschrieben (Raggio and Schreiner, 2003, Vollmer et al., 2007). Derartige Veränderungen begründen möglicherweise Defizite in der Tonhöhenwahrnehmung und dem Sprachdiskriminationsvermögen von Cochlea-Implantat-Trägern. Weiterhin ließ sich im primär auditorischen Kortex von adult kongenital tauben Katzen mittels elektrischer Cochlea-Implantat-Stimulation eine verminderte synaptische Aktivität nachweisen (Kral et al., 2000), die sich vermutlich durch die Reorganisation und Änderung der Morphologie der Neurone des Mittelhirns und des primären auditorischen Kortex begründen (Harrison et al., 1993a, Harrison et al., 1993b, Bose et al.,

2010). Elektrophysiologische Studien zur Ertaubung von Gerbils legen eine erhöhte Erregbarkeit des auditorischen Kortex dar, was sich nicht zuletzt auf einen verminderten inhibitorischen GABAergen Input zurückführen lässt (Kotak et al., 2005). Mit Hilfe von bilateraler Cochlea-Implantat-Stimulation konnte in kongenital beidseits tauben Katzen eine Abnahme der ITD-Sensitivität im IC nachgewiesen werden, die Funktionalität zeigte sich um ungefähr die Hälfte herabgesetzt (Hancock et al., 2010). Eine geringere Sensitivität ITD-sensitiver Neurone wurde auch im auditorischen Kortex bei kongenital tauben Katzen im Vergleich zu normalhörenden Tieren bei einer Stimulation durch binaurale Cochlea-Implantate festgestellt (Tillein et al., 2010). Bei akut ertaubten, mit Cochlea-Implantat versorgten Katzen war hingegen die ITD-Verarbeitung im IC im Vergleich zur Kontrollgruppe kaum eingeschränkt (Smith and Delgutte, 2007).

Diese Studien legen bei ertaubten Tieren Degenerationen und Reorganisationen der Hörbahn dar, die bei kongenital ertaubten Tieren am stärksten ausgeprägt scheinen. Sowohl zu den funktionellen als auch morphologischen Auswirkungen von Ertaubung auf den oberen Olivenkomplex liegen nur wenige Arbeiten vor. Ziel der vorliegenden Studie ist es, die morphologischen Veränderungen nach frühzeitiger Ertaubung im Tiermodell der mongolischen Wüstenrennmaus zu untersuchen. Pathologische Veränderungen in der LSO nach Ertaubung könnten Defiziten in der ILD-Verarbeitung bei binaural versorgten Cochlea-Implantat-Trägern zugrunde liegen.

1.4. Arbeitshypothese und Zielsetzung der Studie

Zahlreiche vorangehende Studien beschreiben sowohl morphologische als auch funktionelle altersbedingte Veränderungen der zentralen Hörbahn. Auch Ertaubung ruft im auditorischen System vielschichtige Veränderungen hervor. Hier gibt es aber insbesondere zur bilateralen frühzeitigen Ertaubung nur wenige Arbeiten, die sich den morphologischen Veränderungen im Bereich des Hirnstamms und vor allem des oberen Olivenkomplexes widmen. Dieser beinhaltet die laterale obere Olive, die das Richtungshören mittels der präzisen Verarbeitung von ITDs und vor allem ILDs ermöglicht. In dieser Arbeit sollen im Tierversuch die morphologischen Auswirkungen von frühzeitiger binauraler Ertaubung in der LSO der mongolischen Wüstenrennmaus untersucht werden. Als Kontrollgruppe dienen normalhörende, adulte Gerbils.

Es wurden die Gehirne von zwölf ertaubten Tieren und zehn Kontrolltieren histologisch aufgearbeitet und anhand vorher festgelegter Kriterien die Querschnittsfläche des Kerngebiets, die Zellgrößen, die Zellzahlen und die Zelldichte ermittelt.

Eine tonotope Anordnung der Nervenzellen in der LSO ist bekannt. In dieser Studie wurden generelle frequenzabhängige Unterschiede in der Morphologie von LSO-Neuronen bei Normalhörigkeit untersucht und zudem mögliche frequenzspezifische Auswirkungen von Ertaubung evaluiert.

Auf Grund der früh in der Entwicklung einsetzenden kompletten auditorischen Deprivation sind stärkere strukturelle Effekte der Ertaubung in der LSO als bei altersbedingten Veränderungen zu erwarten. Eine Größenabnahme des Kerngebiets sowie eine Zellschrumpfung sind trotz der vorbeschriebenen geringen Einschränkungen der LSO-Neurone bei Ertaubung anzunehmen, während eine konstante Neuronenanzahl und –dichte erwartet werden kann.

Die Balance exzitatorischer und inhibitorischer Eingänge in die LSO ist eine wesentliche Voraussetzung für die präzise Verarbeitung von ILDs und ITDs und damit für die Lokalisation von Schallquellen im Raum. Veränderungen in den inhibitorischen Eingängen können dieses sensible System stören und damit die

binaurale Signalverarbeitung und folglich das Richtungshörens deutlich beeinträchtigen. Besonders Degenerationen im medialen Bezirk der LSO könnten durch die Modifikation des Hochtönenbereichs zu einer gestörten ILD-Verarbeitung führen. In der vorliegenden Studie sollten daher die Effekte von Ertaubung separat für inhibitorische LSO-Eingänge untersucht werden. Die Gehirne wurden mit drei verschiedenen Färbungen aufgearbeitet. In der Nissl-Färbung wurden alle Neurone der LSO untersucht, während in zwei immunhistologischen Färbungen die Veränderungen der inhibitorischen Nervenzellen für GABA und Glycin dargelegt wurden.

2. Material und Methoden

Die verwendeten Reagenzien, Lösungen, Puffer, Antikörper und Geräte sowie die Angaben zu den Tieren sind im Tabellenverzeichnis (Tabellen 1 bis 8) angefügt. Der Tierversuchsantrag wurde von den zuständigen Behörden der Universität Würzburg und der Regierung von Unterfranken genehmigt (AZ 55.2-2531.01-37/08).

2.1.1. Ertaubung der Tiere

In der vorliegenden Arbeit wurden Gehirne von früh ertaubten mit denen adulter normalhörender mongolischer Wüstenrennmäuse verglichen. Dazu wurde die Versuchsgruppe (Gruppe DKB) vor Ausbildung des Hörens dauerhaft ertaubt. Der Zeitpunkt der Ertaubung lag zwischen dem 13. und 20. Lebenstag, da die Tiere taub geboren werden und das Gehör bei mongolischen Wüstenrennmäusen erst gegen den 30. postnatalen Tag vollständig funktionsfähig wird (McFadden et al., 1996). Bis zum 10. bis 12. Lebenstag kann nur bei sehr hohen Intensitäten (90 bis 110 dB) mittels ABR in einem begrenzten Frequenzbereich von 0,25 bis 8 kHz eine akustisch evozierte Aktivität nachgewiesen werden, ab einem Lebensalter von 30 Tagen gilt das auditorische System als vollständig ausgebildet. Das Hörvermögen von normalhörenden Gerbils ist mit einem Frequenzbereich von 0,1 bis 60 kHz auf Grund einer besonderen Sensibilität im niederfrequenten Bereich im Frequenzbereich von 1 bis 10 kHz mit dem menschlichen vergleichbar (Ryan, 1976).

Gerbils haben eine Lebenserwartung von drei bis vier Jahren (Cheal, 1986, Vincent et al., 1980). Als Kontrolltiere (Gruppe OG) wurden adulte Wüstenrennmäuse im Alter zwischen 113 und 138 Lebenstagen verwendet. Dieses Alter war vergleichbar zum Lebensalter der DKBs (108 bis 138 Lebenstage). Die Angaben zu den Tieren und den Details der Ertaubung finden sich im Anhang in Tabelle 5 bis 8.

Für die systemische Ertaubung der Tiere wurden 150 mg Kanamycin in 2,5 ml 0,1 M Phosphatpuffer mit Natriumchlorid (PBS) gelöst und den Versuchstieren subkutan mit einer 30G Kanüle in die Nackenfalte verabreicht. Jedes der DKB-Tiere erhielt 0.017 ml dieser Lösung pro Gramm Körpergewicht (entspricht 1 mg Kanamycin pro Gramm Körpergewicht), was zum Verlust von Haarzellen im Innenohr führte (Abbas and Rivolta, 2015, Astbury and Read, 1982).

Aminoglykoside generieren freie Radikale im Innenohr, die die sensorischen Zellen und Neurone schädigen und letztendlich den Hörverlust verursachen (Selimoglu, 2007).

2 mg Bumetanid wurden in 4 ml 0,1 M PBS gelöst und 40 Minuten später wurden 0,1 ml/g KG dieser Lösung intraperitoneal appliziert. Die Kombination von Aminoglykosiden und Schleifendiuretika sollte die Wirkung der Aminoglykoside steigern. Der Verlust innerer (Jansen et al., 2013) und äußerer Haarzellen wird gefördert (Hirose and Sato, 2011), die Stria vascularis atrophiiert und die Makrophagenmigration im Spiralganglion wird erhöht (Hirose and Sato, 2011).

14 bis 49 Tage nach diesem Eingriff wurde die Ertaubung mittels akustisch evozierter Hirnstammpotentiale bestätigt. ABRs sind ein sehr sensitives Mittel, Hörschwellen zu bestimmen und damit funktionellen Hörverlust nachzuweisen. Die Ableitelektroden wurden am Vertex, retroaurikulär und am Rücken angebracht und Potentialdifferenzen gemessen, die bei akustischer Stimulation über die Cochlea entstehen. Ein Tier wurde als taub definiert, wenn bei einer Klickstimulation von 95 dB am rechten und linken Ohr keine reproduzierbare Antwort gemessen wurde. Bei allen Tieren der DKB-Gruppe wurde die Taubheit festgestellt.

2.1.2. Anfertigung der Schnitte

Die Tiere wurden durch die intraperitoneale Injektion von 0,3 ml Ketaminhydrochlorid (10%) und 0,4 ml Xylazinhydrochlorid (2%) getötet. Das Narkosegemisch bewirkte den Atemstillstand, woraufhin der Brustkorb eröffnet und nach Durchtrennung der Rippen das Herz dargestellt wurde. Die Perfusionskanüle wurde direkt im linken Ventrikel angebracht, der rechte Vorhof

eröffnet und das Blut des Gerbils mit Spüllösung über die Perfusionspumpe circa vier Minuten lang ausgewaschen.

Die Perfusion des Tieres erfolgte über 30 Minuten mit 240 ml Fixans in 0,1 M Phosphatpuffer bei pH 7,4. Bei dieser Fixierung wurde das Blutvolumen des Tieres durch die Perfusionspumpe dreimal gewechselt.

Die Schädelkalotte und Dura mater wurden durchtrennt, das Gehirn herauspräpariert. Dabei wurde die Beeinträchtigung wichtiger Strukturen wie der Cochlea vermieden.

Das Gehirn wurde zweimal in 0,1 M Phosphatpuffer und einmal in 30 % Saccharoselösung gespült, der vordere (rostrale) Abschnitt des Gehirns wurde auf mittlerer Höhe der Orbita senkrecht von dorsal nach ventral abgetrennt. Anschließend wurde es über Nacht in 30% Saccharoselösung im Kühlschrank bei +4°C auf dem Schüttler belassen. Am darauffolgenden Tag sollte das Gehirn in der Saccharoselösung abgesunken sein. Das Gehirn wurde bei -20°C senkrecht zu der rostralen vorderen Schnittfläche aufgefroren und mit Tissue Tek umschlossen. 25 µm dicke Kryoschnitte wurden angefertigt. Bei einer Kammerkühlung von -23°C wurden die Schnitte einzeln entsprechend ihrer Abfolge in vier verschiedene 24-Well-Platten mit 0,1 M Phosphatpuffer aufgenommen. Es wurde nur die erste waagerechte Reihe der Platte bestückt, die restlichen Reihen dienten zum Waschen. Aufeinander folgende Schnitte befanden sich immer in aufeinander folgenden Well-Platten. Als Ergebnis erhielt man in vier Platten vier von kaudal nach rostral verlaufende repräsentative alternierende Schnittserien mit einem Abstand von 100 µm. Dabei stand jeweils die erste und dritte Platte für eine der immunhistologischen Färbungen, die zweite und vierte Platte für die Nissl-Färbung zur Verfügung. Beim Gerbil enthielten die Schnitte den Bereich vom CN bis zum IC einschließlich der Olivenkerne.



Abb. 3: Blick von oben auf das zum Einbetten vorbereitete Gerbilhirn (Radtke-Schuller et al., 2016).

2.1.3. Färbungen

2.1.3.1. Immunhistologie (GABA, Glycin)

Die immunhistologischen Färbungen erfolgten nach der Anleitung der Arbeitsgruppe von Frau PD Dr. med. Maike Vollmer, Würzburg. Es lag für jeden Kryoschnitt, der mit Antikörpern gegen inhibitorische Rezeptoren in Well-Platten 1 und 3 (GABA und Glycin; siehe Tab. 3) behandelt wurde, ein Nachbarschnitt in Nissl-Färbung vor (siehe 2.1.3.2., Well-Platten 2 und 4). Die Platten wurden auf dem Schüttler angebracht und die Lösungen in den verschiedenen Wells vorgelegt. Die Schnitte wurden mit Glashäkchen in die jeweils folgenden Wells übertragen.

Die für die GABA- und Glycin-Immunfärbung bestimmten Schnitte wurden dreimal für 10 min in 0,1 M PBS gewaschen. Zur Blockierung der endogenen Peroxidase wurden die Schnitte mit 10% Methanol und 3% Wasserstoffperoxid in PBS 60 min bei Raumtemperatur (RT) auf dem Schüttler inkubiert und dreimal 10 min in PBS gewaschen. Die für die Glycin-Immunfärbung ausgewählten Schnitte wurden 10 min bei RT auf dem Schüttler in Natriumborhydridlösung reduziert und dreimal 10 min in PBS-Triton-Puffer (PBST) gewaschen. Anschließend wurden alle Schnitte 30 min mit der Blockierlösung für unspezifische Bindungen auf dem Schüttler bei RT inkubiert. Die entsprechende Primärantikörper-Verdünnung wurde auf die Schnitte aufgebracht und zwei Tage bei +4°C auf dem Schüttler belassen. Für die GABA-Immunfärbung wurde monoklonales Maus Anti-GABA, MAB316, 1:200,

ausgewählt, für die Glycin-Immunfärbung polyklonales Kaninchen Anti-Glycin, AB139, 1:150. Jeder sechste Schnitt diente als Kontrolle, hier fehlte bei der Inkubation der Primärantikörper.

Die Schnitte wurden dreimal 10 min in PBST gewaschen und die entsprechende Sekundärantikörper-Verdünnung (GABA: biotinylierter Esel gegen Maus Antikörper, 1:400; Glycin: biotinylierter Esel gegen Kaninchen Antikörper, 1:250) für zwei Stunden bei RT auf dem Schüttler aufgebracht. Die Schnitte wurden dreimal 10 min in PBST gewaschen und nach Gebrauchsanleitung des Herstellers mit Meerrettichperoxidase konjugiertem Avidin-Biotin-Komplex eine Stunde lang bei RT auf dem Schüttler inkubiert. Sie wurden dreimal 10 min mit PBST gewaschen und im Dunkeln mit Diamminobenzidin-Lösung (DAB) gefärbt. Die Inkubationszeit betrug 10 min mit 750 µl DAB-Lösung pro Well bei RT auf dem Schüttler. In jedes Well wurde jeweils im Dunkeln 750 µl aktiviertes DAB hinzupipettiert und für 10 min bei RT auf dem Schüttler belassen. Die Schnitte wurden dreimal 10 min in PBST gewaschen und über Nacht bei +4°C aufbewahrt, in eine Petrischale mit destilliertem Wasser (A. dest.) überführt und in richtiger Reihenfolge und Ausrichtung auf Objektträgern aufgezogen und getrocknet. Die getrockneten Schnitte wurden mit dem Einschlussmittel Entellan und einem Deckglas eingedeckt.

2.1.3.2. Nissl-Färbung

Die für die Nissl-Färbung bestimmten Schnitte, entsprechend jedem 2. und 4. Schnitt, wurden nach dem Protokoll der Fa. Merck dreimal in 0,1 M Phosphatpuffer gewaschen und wie in der Immunfärbung auf Objektträger aufgezogen. Die getrockneten Schnitte wurden 15 min in A. dest. rehydratisiert, 20 min in Kresylviolett-Lösung gefärbt und anschließend entwässert. Dazu wurden sie zweimal in 70% Ethanol eingetaucht, dann zweimal in 96% Ethanol, darauf zweimal je 2 min mit 100% Ethanol gespült. Die Schnitte wurden 3 bis 5 min in Xylol geklärt und mit Entellan und einem Deckglas eingedeckt.

Die Nissl-Färbung macht die Struktur von Neuronen kenntlich. Sie ist als histologische Färbetechnik fest etabliert und wird in zahlreichen

Forschungsarbeiten zum auditorischen System verwendet (Foster and Peterson, 1986, Kane and Barone, 1980). Kresylviolett bindet an basophile Verbindungen und ermöglicht somit die Darstellung des Nervenzellkörpers und die Abgrenzung von Gliazellen. In der LSO werden folglich alle Neurone aufgezeigt, sowohl glutamaterge exzitatorische als auch GABAerge und glycinerge inhibitorische Nervenzellen.

2.1.4. Auswahl eines geeigneten Schnittes durch die LSO

Für die Auswahl geeigneter Schnitte wurden die Nissl-, GABA- und Glycin-gefärbten Schnittserien mit dem Lichtmikroskop mit dem 10* Objektiv und dem 12,5* Okular beurteilt. Die relevanten Kerngebiete des CN und der Olivenregion konnten mit Hilfe des mikroskopischen Bildes eindeutig identifiziert werden. In der rostro-caudalen Position der Gehirne diente als Landmarke die Mitte des VII. Hirnnerven, des Nervus facialis. Circa 100 bis 200 µm von diesem entfernt, in Ausnahmefällen auch in einer Entfernung von 300 µm nach anterior befanden sich die Olivenkerne. Die Schnitte wurden für die rechte und linke Gehirnhälfte separat ausgewählt, denn die Olivenkerne lagen bei der histologischen Anfertigung der Schnitte nicht immer exakt auf einer Achse. So konnte der qualitativ beste Schnitt zur Auswertung herangezogen und Schnitte mit Verarbeitungsfehlern und Artefakten aussortiert werden.

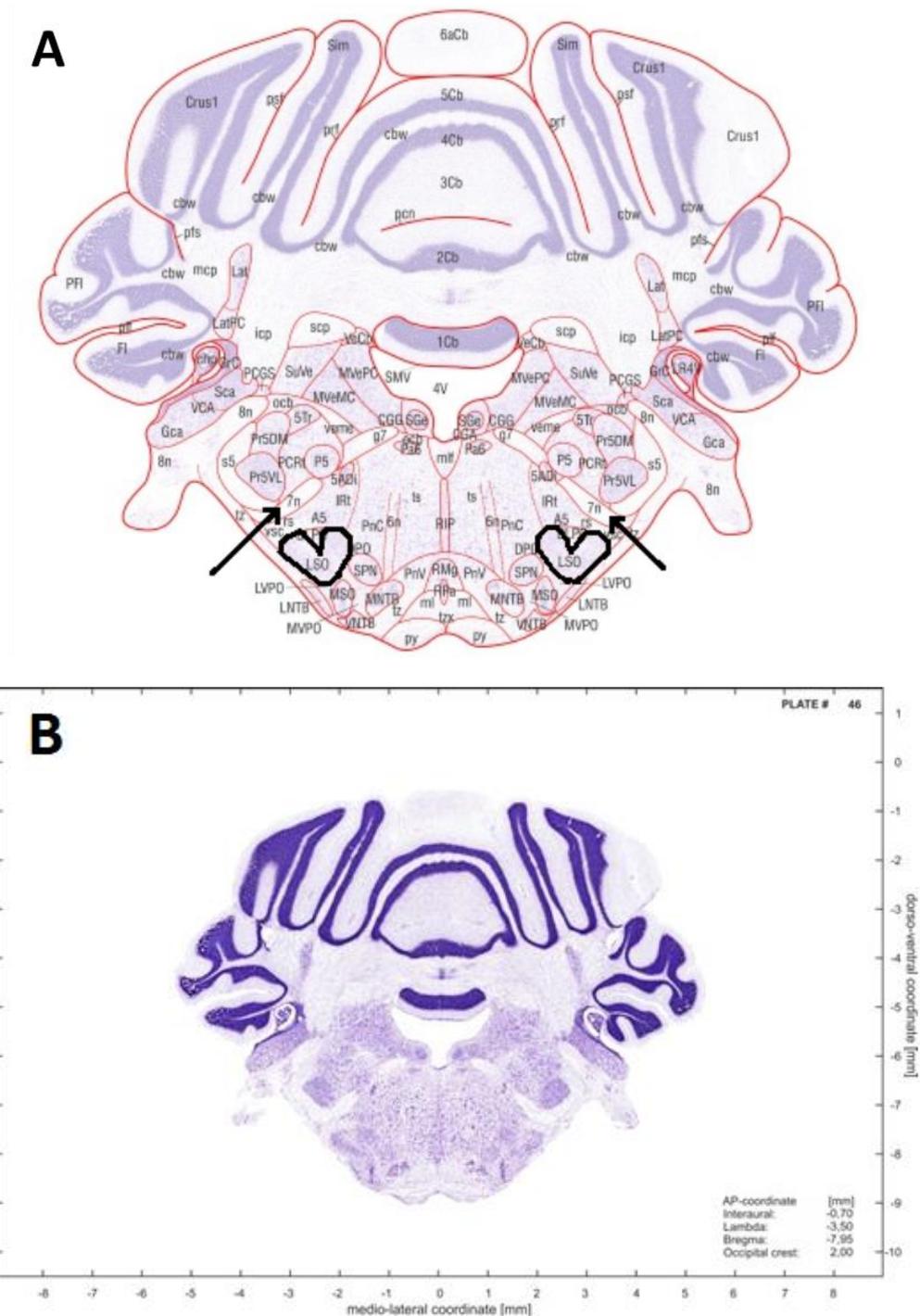


Abb. 4: Schnitt durch den Hirnstamm einer mongolischen Wüstenrennmaus auf Höhe des Olivenkomplexes (Radtke-Schuller et al., 2016). Abbildung (A) kennzeichnet die verschiedenen Kerngebiete. Für die vorliegende Arbeit ist besonders der Nucleus olivaris superior mit seinen Hauptkernen, der MSO und LSO, von Bedeutung. Er befindet sich circa 100 bis 200 μm vom Nervus facialis (7n) entfernt, der in Abbildung (A) beidseits mit einem schwarzen Pfeil markiert ist. Die LSO ist für beide Hemisphären in Abbildung (A) schwarz umrandet. Abb. B zeigt den korrespondierenden Schnitt in der Nissl-Färbung mit Angabe der stereotaktischen Koordinaten.

2.1.5. Digitalisierung der LSO-Schnitte

Die Digitalisierung erfolgte nach dem Protokoll der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. rer. nat. Otto Gleich, Regensburg. Das 20* Objektiv des Mikroskops wurde für die Digitalisierung eingesetzt. Um die Kalibrierung der Pixelgröße in digitalisierten Bildern zu bestimmen, wurden Bilder einer Blutzählkammer ebenfalls mit dem 20* Objektiv aufgenommen. Die Kantenlängen der Messquadrate der Blutzählkammer maßen 50 µm. Somit konnte im Bildbearbeitungsprogramm berechnet werden, wie viele µm einen Pixel bilden. Dazu wurde der Mittelwert aus je zehn horizontalen (Anzahl der Pixel über 400 und 500 µm) und zehn vertikalen (Anzahl der Pixel über 350 µm) Messungen gebildet, wodurch sich der Kalibrierungsfaktor 0,35953951 µm/Pixel ergab. Die Größe eines Einzelbildes maß 575,26 µm*431,45 µm. Zum Erreichen einheitlicher Bedingungen bei der Digitalisierung der Bilder musste vor dem Anfertigen von Aufnahmen der Strahlengang überprüft werden, um unerwünschte Filter auszuschließen und es wurde die Köhlersche Beleuchtung optimal eingestellt.

In der Software VisiView wurden die Einstellungen für das Mikroskop „Control Panel“ (50 % vis / 50 % L, TL Halogen Lamp 24 %, TL Aperture Stopp 0) und „Acquire“ Menu (Monochrom, Brightfield Beleuchtung, Belichtungszeit 20 ms) festgelegt. Um das gesamte Gehirnnareal mit den Olivenkernen einschließlich LSO, MSO, LNTB und MNTB einer Gehirnhälfte in hoher Auflösung zu digitalisieren, wurden maximal 20 leicht überlappende Einzelbilder mit der Digitalkamera aufgenommen. Dazu wurden vom dorso-lateralen Bereich der LSO beginnend drei bis vier Reihen und drei bis vier Säulen an Bildern angefertigt. Zwecks Verbesserung der Bildqualität wurde für jedes Einzelbild ein Z-Stapel mit 10 Bildern im Abstand von 1 µm angefertigt, der durch oberflächlich beginnendes Fokussieren auch die tieferen Schichten des Schnittes erfasste. Im Bildprogramm ImageJ konnten die Bilder durch das Plugin „Stack fokuser“ nachbearbeitet und fokussiert werden. So wurden Einzelbilder mit einer großen Tiefenschärfe erzeugt. Mit Hilfe des Plugins

„Stitching“ konnte aus den Reihen der Einzelbilder in mehreren Schritten („2 d stitching“, „use windowing“, „create merged image“, „linear blending“, „fusion alpha 1.5“) ein Bildstreifen zusammengesetzt werden, der nach Bedarf zugeschnitten („Crop“ unter dem Menüpunkt „Stitching“) und darauf als „.tif“-Datei gespeichert wurde. Die verbleibenden zwei bis drei Reihen wurden dementsprechend auch zusammengefügt. Ein Übersichtsbild entstand, indem die verschiedenen Bildstreifen ebenfalls mit dem Plugin „Stitching“ zusammengefügt wurden. Bei dieser Vorgehensweise entstanden spiegelverkehrte Bilder. Diese ließen sich durch „Image“, „Transform“ und „Flip Horizontally“ korrigieren.

Die angefertigten 16bit-Bilder beinhalteten je 65536 Graustufen, eine Nachbearbeitung hinsichtlich Helligkeit und Kontrast war möglich.

Anhand dieser Anleitung wurde bei allen ausgewählten Gehirnen der Tiere jeweils die rechte und linke Gehirnhälfte in allen drei Färbungen digitalisiert.

2.1.6. Lichtmikroskopische Auswertung der LSO

2.1.6.1. Bestimmung der Fläche der LSO und Unterteilung der LSO

Die Grenzen der LSO wurden im Bildverarbeitungsprogramm ImageJ per Computermaus umfahren und markiert. Aus vielen kleinen Linien entstand die „region of interest“ als geschlossene Form und wurde als LSO-Fläche gespeichert. Abbildung 5 zeigt beispielhaft für die linke Gehirnhälfte von DKB14 die Kerngebiete der oberen Olive. Das Programm errechnete die festgelegte Querschnittsfläche in Pixel. Dieser Wert wurde für jedes Tier und alle drei Färbungen in eine Excel-Tabelle überführt und in Quadratmikrometer [μm^2] entsprechend der Kalibrierung umgerechnet. In der Auswertung wurden die Rohdaten verwendet, für die tabellarische Auflistung wurden die Werte auf zwei Nachkommastellen gerundet. Die Flächenangaben der LSO für die Nissl- (Tab. 9), GABA- (Tab 10) und Glycin-Färbung (Tab. 11) finden sich im Anhang. Zur Berücksichtigung der Tonotopie wurde die LSO in drei gleichgroße Flächen aufgeteilt, die im Folgenden als „Bezirke“ bezeichnet werden. Dabei betrug jeder Bezirk zwischen 30 und 35% der Gesamtfläche der LSO und ist lateral, ventral oder medial lokalisiert. Die Größe jedes Bezirks wurde in eine Excel-

Tabelle überführt und in [μm^2] mittels Kalibrierungsfaktor berechnet. In Abbildung 6 ist für die linke Gehirnhälfte von DKB14 die Unterteilung der LSO in der Nissl-Färbung dargestellt.

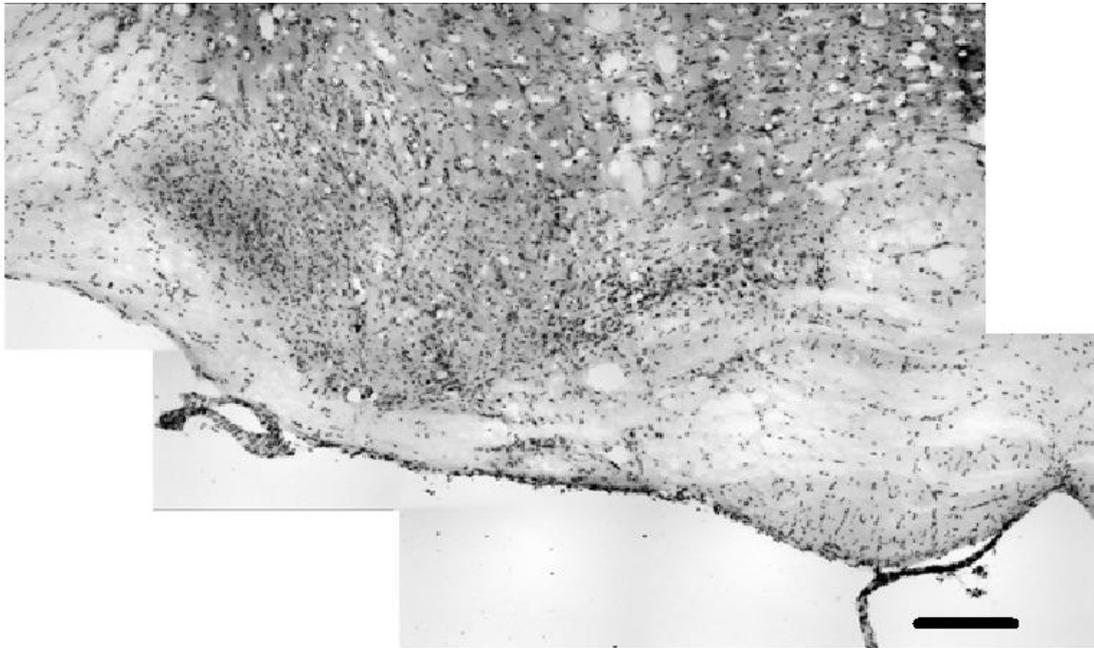


Abb. 5: Darstellung der linken Hirnhälfte des Versuchstiers DKB14 (Nissl-Färbung) mit Abbildung der Kerngebiete MSO, LNTB, MNTB und LSO. Der Maßstabsbalken entspricht 200 μm .

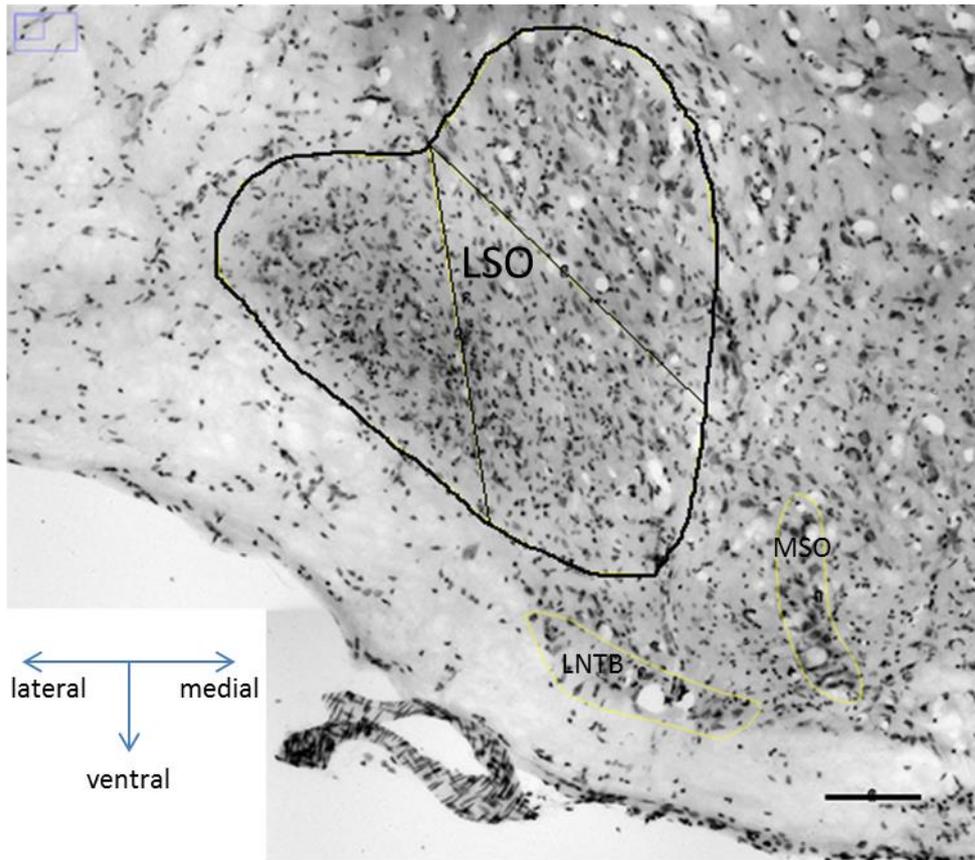


Abb. 6: Darstellung und schwarze Umrandung der linken LSO des Versuchstiers DKB14 (Nissl-Färbung) mit Unterteilung der drei Bezirke lateral, ventral (zwischen dem lateralen und medialen Bezirk) und medial. Der LNTB und die MSO sind gelb umrandet und ventral der LSO abgebildet. Der Maßstabsbalken entspricht 100 µm.

2.1.6.2. Messen der Zellgrößen

Die lateralen, ventralen und medialen Bezirke der LSO wurden jeweils separat bearbeitet. Das Messen der Zellgrößen erfolgte in der Nissl-Färbung. Als Grundlage zur Identifikation der Zellen diente das mikroskopische Bild, als Kontrolle das digitalisierte Bild am Monitor. Mit dem 10*, 20* und 40* Objektiv wurde der Schnitt vollständig durchfokussiert, sodass die Strukturen der einzelnen Zellen klar erschienen. Eine Zelle wurde nur erfasst, wenn das Zytoplasma homogen angefärbt war, ein Nukleus sich deutlich abgrenzen ließ und die Zellränder klar erschienen. Lag eine solche Zelle auf der vorab definierten Grenze der LSO, wurde sie auch erfasst. Die Zellen zeigten einen

klaren Kontrast zum Hintergrund, der durch die Anpassung von Helligkeit und Kontrast dargestellt wurde. Kleine Zellen, deren Durchmesser stark vom Durchschnitt abwichen und unter 15 Pixel lagen, wurden vernachlässigt. Diese Kriterien wurden bei der Beurteilung aller Schnitte mittels Mikroskop angewandt. Nur so konnte ein einheitliches Ergebnis erzielt werden. Im Bildverarbeitungsprogramm ImageJ wurden am Monitor die Zellgrößen als Fläche erfasst, als „region of interest“ abgespeichert und nummeriert. Entsprechend des Vorgehens bei der Flächenbestimmung der LSO erfolgte mit Hilfe des Kalibrierungsfaktors die Umrechnung in [μm^2]. Die Zellen sind für den lateralen, ventralen und medialen Bezirk der LSO sowie getrennt für die rechte und linke Gehirnhälfte in der Übersicht aufgeführt. Die Angaben zu den Zellgrößen finden sich in Tabelle 12 im Anhang. Abbildung 7 zeigt für die rechte LSO von DKB18 ein histologisches Bild als Beispiel zur Zellgrößenbestimmung.

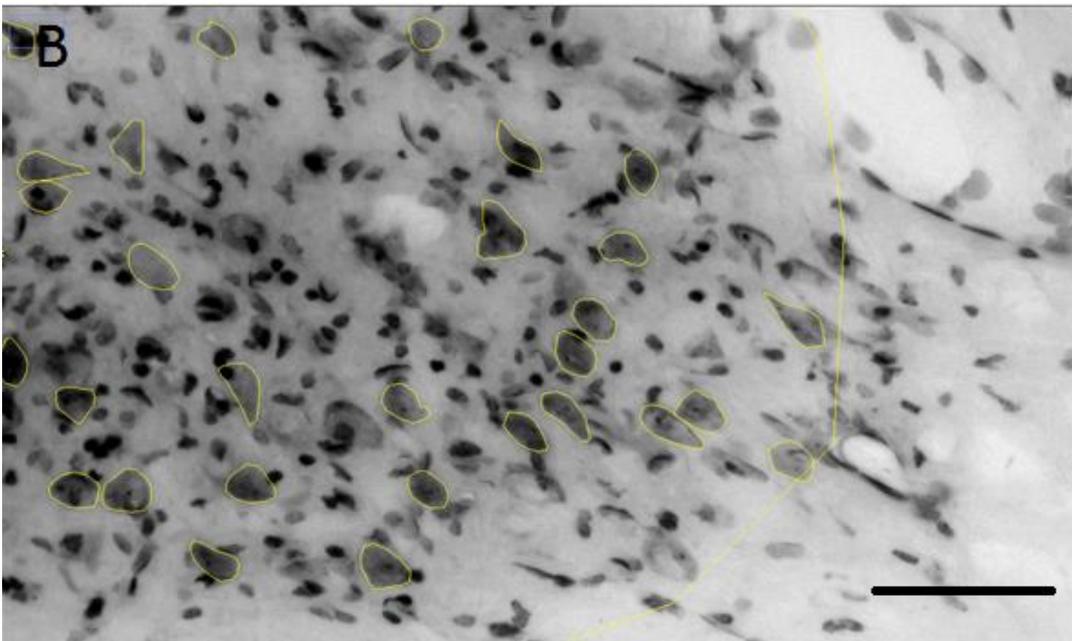
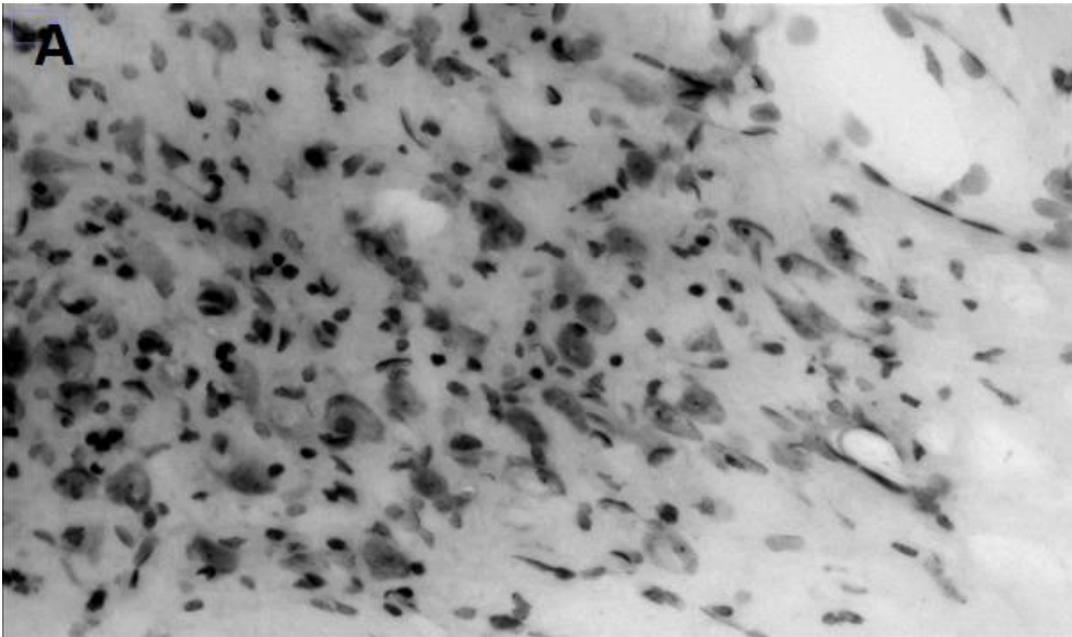


Abb. 7: Darstellung eines Ausschnitts des lateralen Bezirks der LSO der rechten Hirnhälfte des Versuchstieres DKB18 in der Nissl-Färbung, ohne Bildbearbeitung (Abb. A) und mit gelber Umrandung der Zellen zur Zellgrößenbestimmung (Abb. B). Der Maßstabsbalken entspricht 50 μm .

2.1.6.3. Bestimmung der Zellzahlen

Um eine Zelle in der Zählung berücksichtigen zu können, musste sie eindeutig als solche identifiziert werden, die Kriterien entsprachen denen der Zellgrößenmessung. Das Zytoplasma war homogen angefärbt und ein Nukleus deutlich darstellbar. Waren die Zellkonturen in der Nissl-Färbung gegenüber anderen Zellen nicht abgrenzbar und somit eine Umrandung nicht möglich, konnte eine Zelle dennoch gezählt und dem jeweiligen Teilgebiet der LSO zugeordnet werden. In der Excel-Tabelle wurde die Gesamtzahl der umrandeten und ausschließlich gezählten Zellen registriert. Die Angaben der Zellzahlen für die Nissl-Färbung sind in Tabelle 13 angefügt. Abbildung 8 zeigt den gleichen Schnitt wie Abbildung 7 und veranschaulicht die Zellzahlbestimmung in der Nissl-Färbung beispielhaft für die rechte LSO von DKB18.

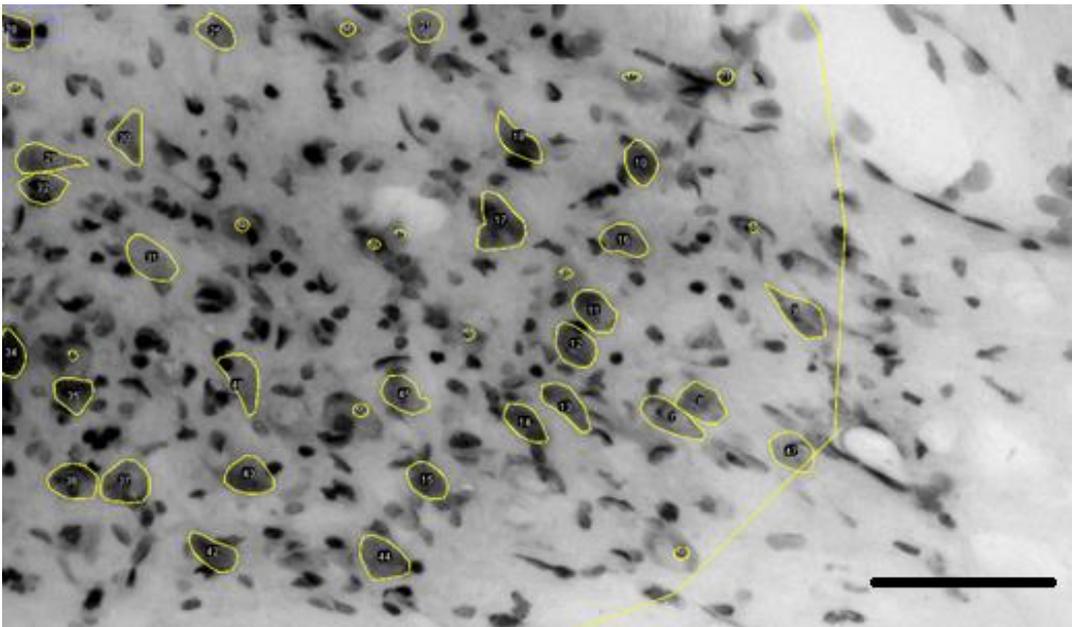


Abb. 8: Darstellung eines Ausschnitts des lateralen Bezirks der LSO der rechten Hirnhälfte des Versuchstieres DKB18 in der Nissl-Färbung mit gelber Umrandung der Zellen zur Zellgrößenbestimmung und Markierung der nicht zu umrandenden, aber zu zählenden Zellen zur Zellzahlbestimmung mit einem kleinen gelben Kreis. Der Maßstabsbalken entspricht 50 μm .

Für die GABA- und Glycin-Färbung galten dieselben Kriterien. Es erfolgte allerdings wegen der färbungsbedingten schlechten Abgrenzbarkeit der

Zellkonturen nur die Zellzählung, nicht aber die Größenbestimmung der Zellen. Die Zellzahlen für die GABA- und Glycin-Färbung sind in Tabelle 14 und 15 aufgeführt. Die Markierungen der Kerngebiete des oberen Olivenkomplexes sind in der GABA-Färbung beispielhaft für die linke Gehirnhälfte von OG04 in Abbildung 9 aufgezeigt. Abbildung 10 zeigt für dasselbe Tier den ventralen Bezirk der LSO ohne (A) und mit Markierung der zu zählenden Zellen (B). In der Glycin-Färbung veranschaulicht Abbildung 11 für die rechte Gehirnhälfte von OG27 die Ermittlung der Flächen der Kerngebiete der oberen Olive. Der ventrale Bezirk desselben Tieres ist in Abbildung 12 ohne (Abb. A) und mit Markierung der zur Zellzählung identifizierten Neurone (Abb. B) dargestellt.

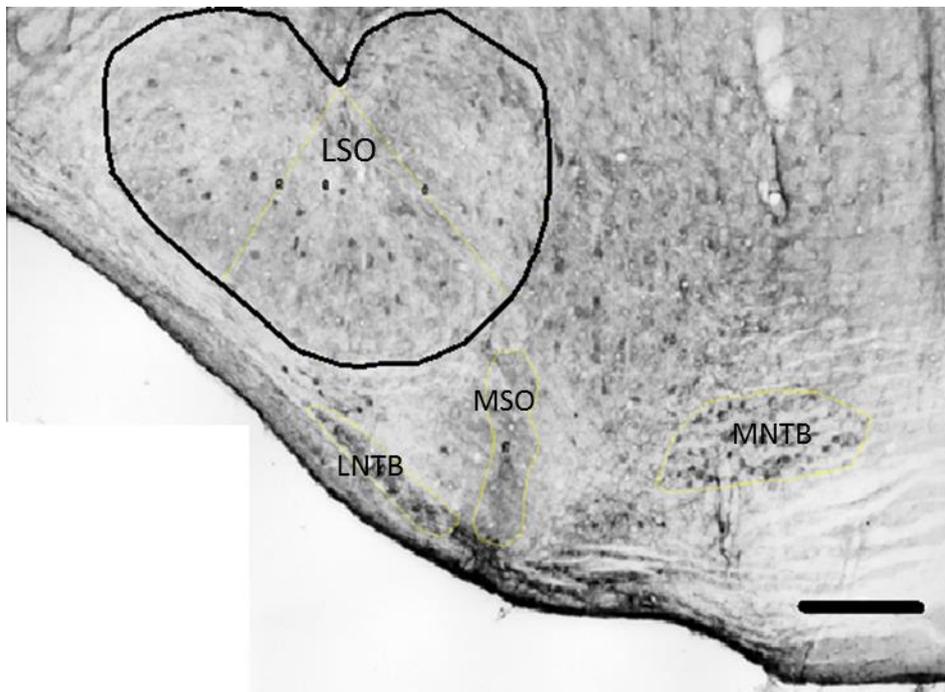


Abb. 9: Darstellung der linken Hirnhälfte des Kontrolltiers OG04 in der GABA-Färbung mit Abbildung der Kerngebiete MSO, LNTB, MNTB und LSO. Die gesamte Fläche der LSO ist schwarz umrandet und durch zwei gelbe Linien in die drei Bezirke unterteilt. Der LNTB, die MSO und der MNTB sind gelb umrandet. Der Maßstabsbalken entspricht 200 μ m.

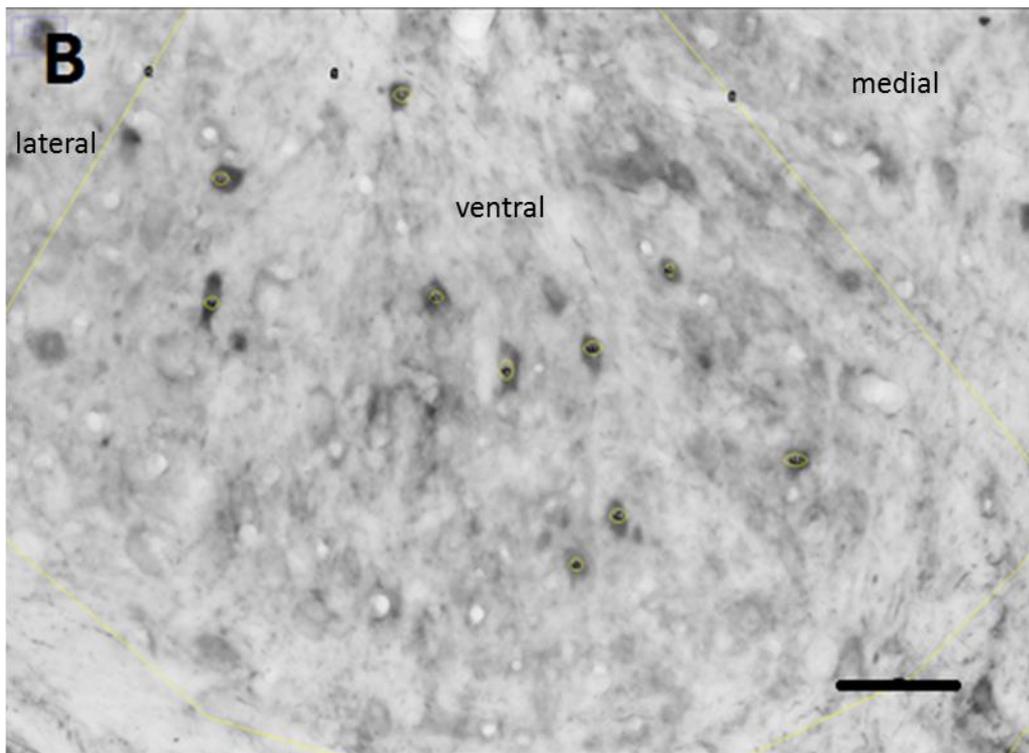
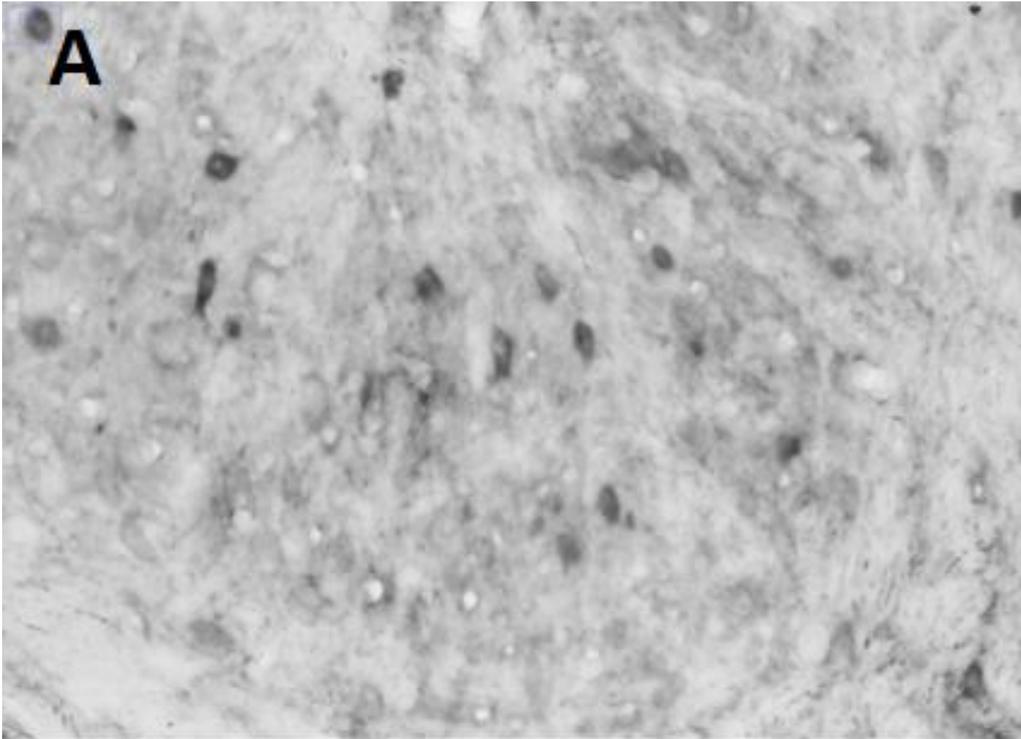


Abb. 10: Vergrößerte Ausschnitte aus Abb. 9 mit Darstellung des ventralen Bezirks der linken Hirnhälfte des Kontrolltiers OG04 in der GABA-Färbung ohne (Abb. A) und mit Markierung der für die Zellzählung relevanten Zellen mittels kleiner gelber Kreise (Abb. B). In Abbildung (B) sind die Unterteilung in die drei Bezirke und die Außengrenze der LSO durch die gelben Linien sichtbar. Der Maßstabsbalken entspricht 50 μm .

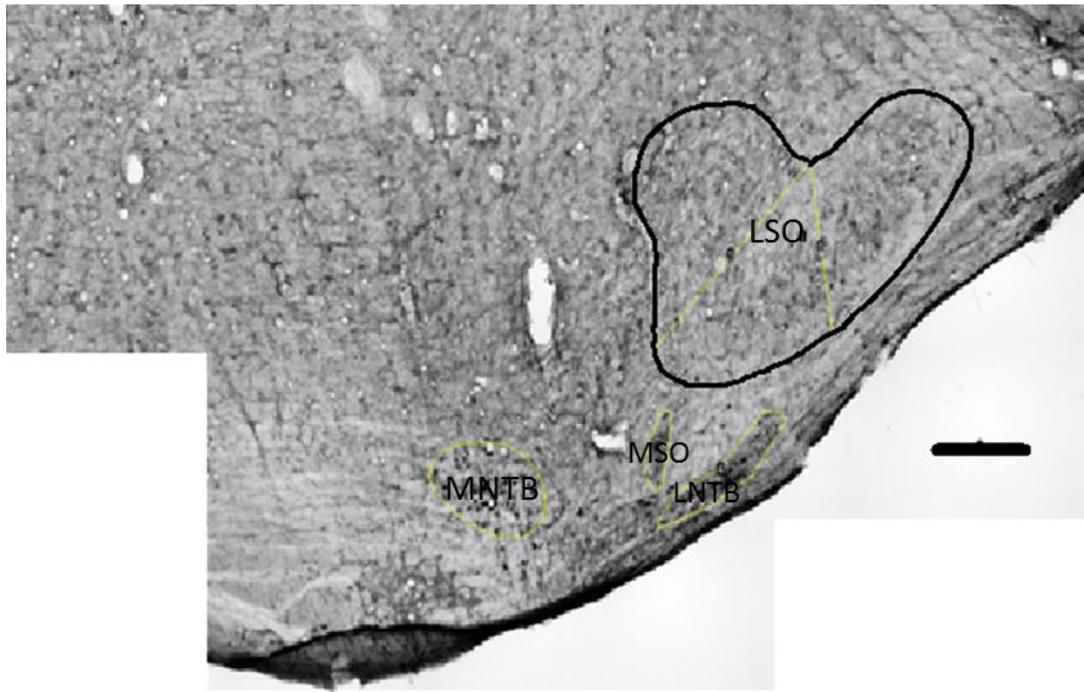


Abb. 11: Darstellung der rechten Hirnhälfte des Kontrolltiers OG27 in der Glycin-Färbung mit Abbildung der Kerngebiete MSO, LNTB, MNTB und LSO. Die gesamte Fläche der LSO ist schwarz umrandet und durch zwei gelbe Linien in die drei Bezirke unterteilt. Der LNTB, die MSO und der MNTB sind gelb umrandet. Der Maßstabsbalken entspricht 200 μm .

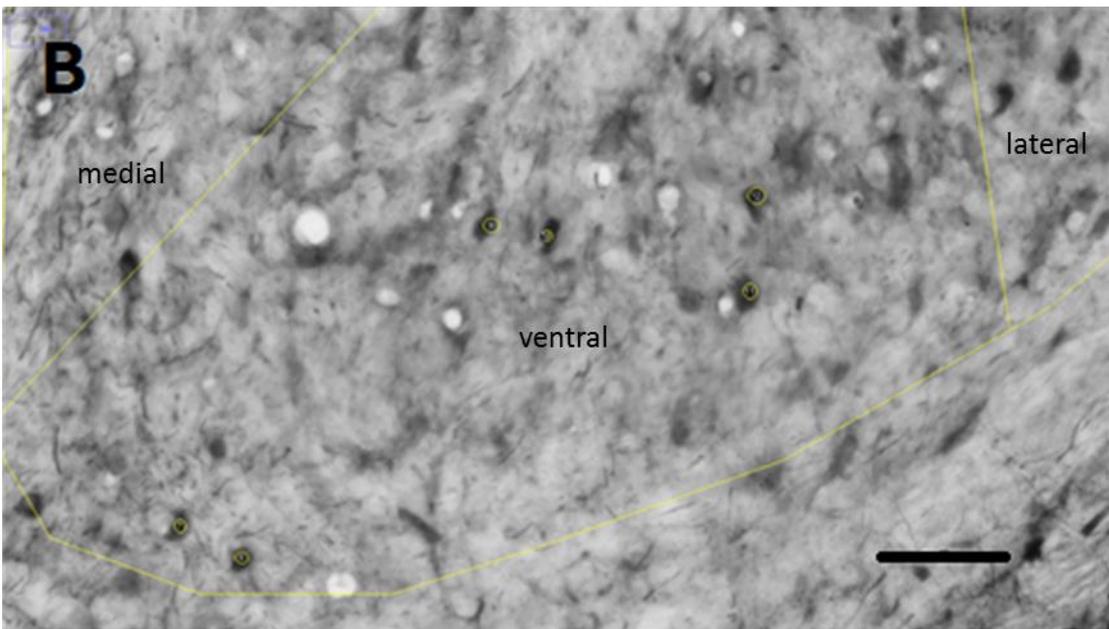
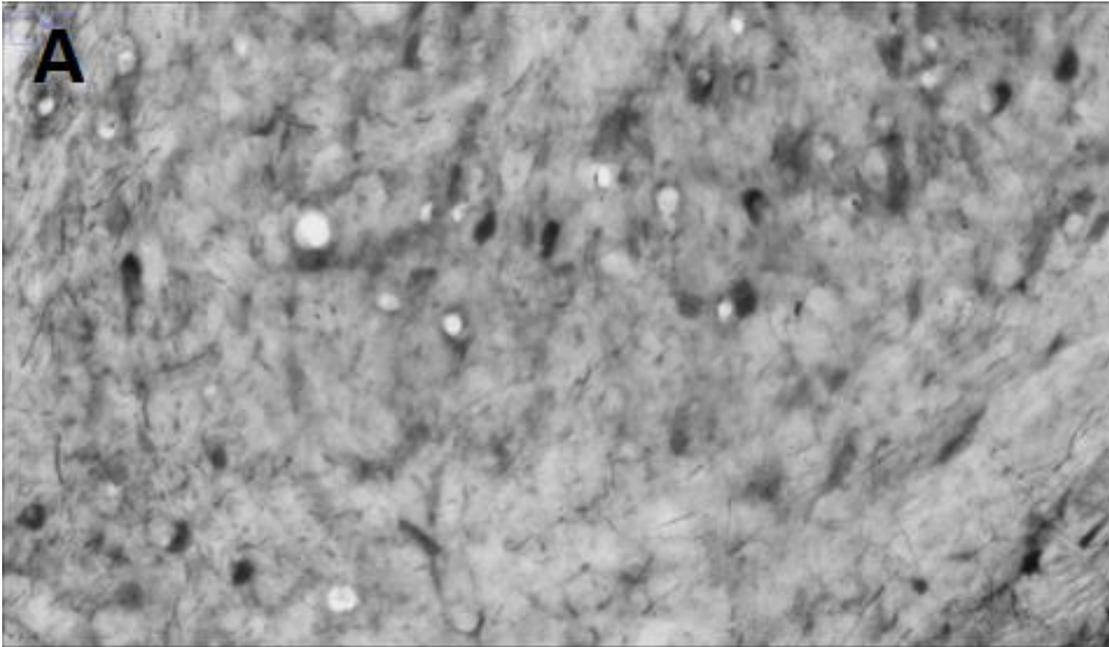


Abb. 12: Darstellung eines Ausschnitts des ventralen Bezirks der rechten Hirnhälfte des Kontrolltiers OG27 in der Glycin-Färbung ohne (Abb. A) und mit Markierung der für die Zellzählung relevanten Zellen mittels kleiner gelber Kreise (Abb. B). In Abbildung (B) sind die Unterteilung in die drei Bezirke und die Außengrenze der LSO durch die gelben Linien sichtbar. Der Maßstabsbalken entspricht 50 μm .

2.1.6.4. Bestimmung der Zelldichte

Zur Bestimmung der Zelldichte wurde der Quotient aus der vorab bestimmten Zellzahl und der Fläche des entsprechenden Bezirks in [μm^2] gebildet. Diese Berechnung erfolgte ausschließlich in der Nissl-Färbung.

2.1.7. Statistische Analyse

Die statistischen Tests wurden mit dem Programm SigmaSTAT durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde das Signifikanzlevel $P < 0,05$ im Vergleich zur Nullhypothese festgelegt. Der jeweilige P-Wert (two-tailed P-value) wurde in den zugehörigen Graphen durch Sterne markiert, *** entspricht $P < 0,001$, ** einem P-Wert $< 0,01$ und * einem P-Wert von $< 0,05$. Ein nicht-signifikantes Testergebnis wurde durch n.s. kenntlich gemacht. Als Graphen wurden entweder Boxplots oder Streudiagramme verwendet. In Streudiagrammen sollen lineare Korrelationen die Stärke des Zusammenhangs der Werte verdeutlichen, die in der zugehörigen Punktwolke dargestellt werden. Eine Regressionsgerade durch die Punktwolke gibt bei einer positiven Steigung einen gleichsinnigen, bei einer negativen einen gegensinnigen Zusammenhang an. Das Bestimmtheitsmaß „ R^2 “ beschreibt den Prozentsatz der Variabilität einer abhängigen Variable und gibt bei einem Wert von 1 einen starken, bei einem Wert von 0 einen schwachen Zusammenhang an. Der Boxplot wurde zur besseren Darstellung der Verteilung der Daten gewählt. Die Werte sind durch den Median und den Interquartilsabstand (IQR) beschrieben. Die Box bezeichnet die mittleren 50% der Daten, ihre untere und obere Begrenzung geben die 25%- und 75%-Perzentile an. Der Median wird durch den Strich in der Box gekennzeichnet. Die Antennen zeigen die außerhalb der Box liegenden Daten, die von der 5%- bis zur 95%-Perzentile reichen. Die schwarzen Punkte stellen Ausreißer dar.

Die Auswahl der statistischen Tests richtete sich nach den erhaltenen Daten. Mit dem Zweistichproben-t-Test wurden unabhängige Stichproben mit Normalverteilung auf einen signifikanten Unterschied geprüft, für abhängige Daten wurde der „Paired t-Test“ angewandt. Mit dem Saphiro-Wilk-Test wurden

die Daten auf Normalverteilung überprüft. Bei nicht normalverteilten Daten wurde der Varianzhomogenitätstest (Brown-Forsythe-Test) durchgeführt. Lag eine Normalverteilung vor, wurden der Mittelwert der Daten und die Standardabweichung SD angegeben. War die Bedingung der Normalverteilung nicht erfüllt, wurde der nichtparametrische Homogenitätstest „Mann-Whitney Rank Sum Test“ angewandt. Dieser Test prüft die Zugehörigkeit unabhängiger Stichproben zu einer gemeinsamen Grundgesamtheit. Der nichtparametrische „Wilcoxon Signed Rank Test“, der ebenfalls bei nicht normalverteilten Daten verwendet wurde, dient der Prüfung der zentralen Tendenzen der verbundenen Stichproben. Bei nichtnormalverteilten Daten wurden der Median und der IQR angegeben.

Um eine Analyse der Daten durchzuführen, die durch zwei verschiedene Faktoren beeinflusst sind, wurde die Varianzanalyse „Two Way Repeated Measures ANOVA (Two Factor Repetition)“ und die nachfolgende Holm-Sidak Methode (All Pairwise Multiple Comparison Procedures, Signifikanzlevel $P = 0,05$) herangezogen. Der Mittelwert und Standardfehler wurden im Zusammenhang mit der ANOVA angegeben.

3. Ergebnisse

Ziel dieser histologischen Arbeit war es, die LSO der hörenden Kontrollgruppe (OG-Tiere) und der tauben Versuchsgruppe (DKB-Tiere) miteinander zu vergleichen, um die Auswirkungen von bilateraler frühzeitiger Ertaubung zu untersuchen. Zudem sollte überprüft werden, ob Unterschiede zwischen den Hemisphären sowie den verschiedenen Bezirken der tonotop angeordneten LSO vorlagen und ob sich die Bezirke bei Ertaubung in Abhängigkeit von der Tonotopie verändern. Die Daten der drei verschiedenen Färbungen der Gehirne wurden für diese Analyse herangezogen, die Rohdaten der Messungen sind im Tabellenverzeichnis in den Tabellen 9 bis 16 angefügt.

3.1. Auswirkung der Ertaubung auf die Fläche der LSO

Um die Flächen der LSO der normalhörenden Kontrollgruppe und der ertaubten Versuchstiere vergleichen zu können, wurde in beiden Gruppen ein Mittelwert aus linker und rechter LSO-Fläche pro Tier gebildet und anschließend der t-test für unabhängige Stichproben verwendet. Darauf wurde zum Ausschluss von Hemisphärenunterschieden der abhängige (paired) t-test in allen drei Färbungen herangezogen.

3.1.1. Querschnittsfläche der LSO in der Nissl-Färbung

Die frühzeitig ertaubten Versuchstiere [N = 12; Mittelwert $0,254 \pm 0,040$ (SD) mm^2] zeigten in der Nissl-Färbung im Vergleich zu der normalhörenden Kontrollgruppe [N = 9; Mittelwert $0,303 \pm 0,059$ (SD) mm^2] eine signifikante Verringerung der Fläche der LSO (t-test; P = 0,0348; siehe Abb. 13).

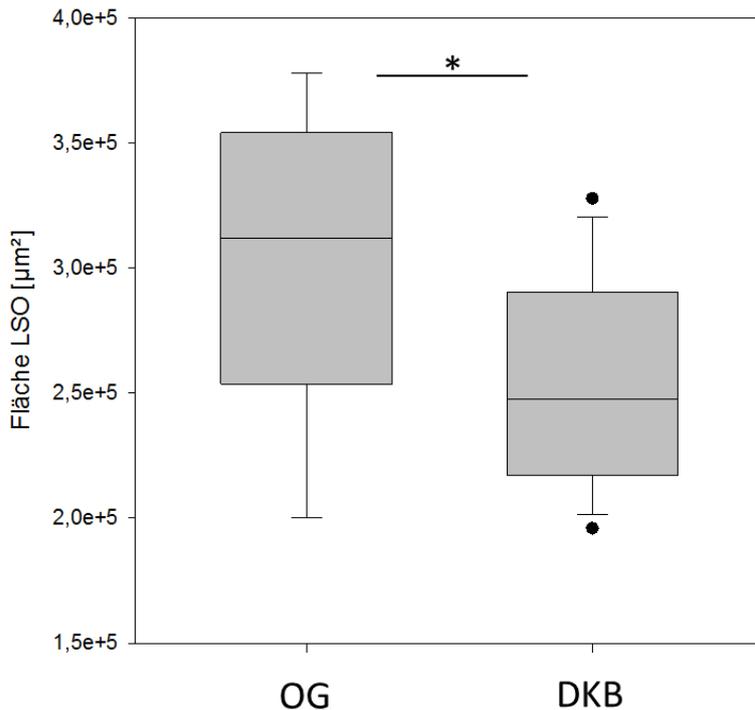


Abb. 13: Darstellung der signifikanten Verringerung der Fläche der LSO in der Nissl-Färbung bei frühzeitiger Ertaubung (DKB; N = 12; Median 0,248 mm²; IQR = 0,073 mm²) im Vergleich zur normalhörenden Kontrollgruppe (OG; N = 9; Median 0,312 mm²; IQR = 0,100 mm²; t-test; P = 0,0348).

In der Kontrollgruppe (N = 9) zeigte sich im paired t-test kein signifikanter Unterschied in der LSO-Fläche zwischen der linken [Mittelwert 0,308 ± 0,062 (SD) mm²] und rechten Gehirnhälfte [Mittelwert 0,298 ± 0,068 (SD) mm²; P = 0,605; siehe Abb. 14 B]. Die Versuchstiere (N = 12) wiesen ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen der linken [Mittelwert 0,250 ± 0,052 (SD) mm²] und rechten Gehirnhälfte [Mittelwert 0,258 ± 0,048 (SD) mm²] auf (paired t-test; P = 0,632; siehe Abb. 14 B). In Abbildung 14 (A) sind die Daten für die LSO-Querschnittsflächen der linken und rechten Gehirnhälften breit um die Diagonale verteilt und weisen für keine der beiden Gruppen eine signifikante Korrelation auf.

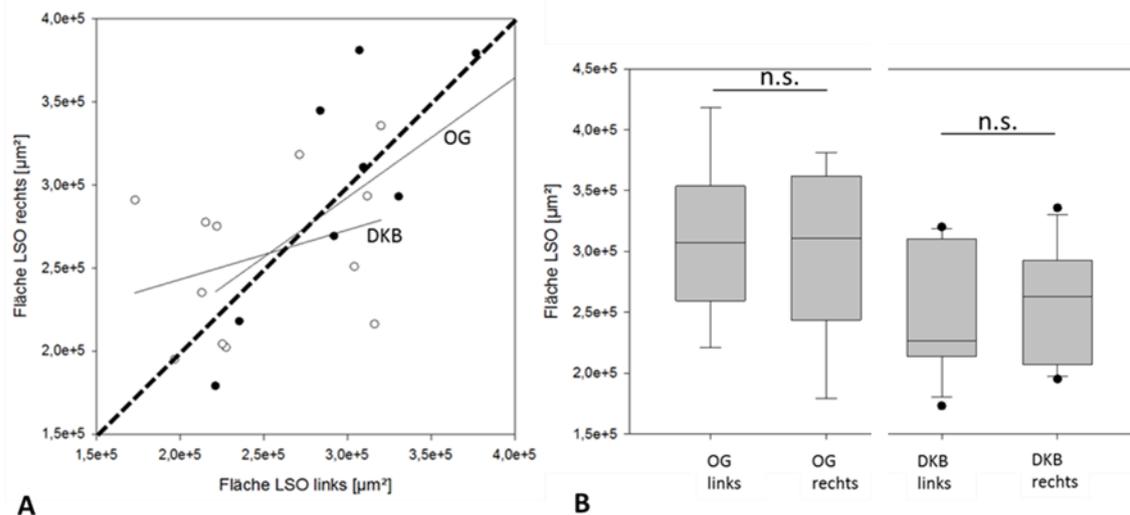


Abb. 14: (A): Korrelationen der LSO-Fläche zwischen linker und rechter Gehirnhälfte für Kontroll- (N = 9; $R^2 = 0,429$; $P = 0,056$; schwarzer Kreis) und Versuchstiere (N = 12; $R^2 = 0,106$; $P = 0,303$; offener Kreis) in der Nissl-Färbung. Die beiden dünnen schwarzen Linien stellen für jede der beiden Gruppen die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Flächenwerte für beide Hemisphären. (B): Darstellung der nicht-signifikanten Unterschiede zwischen den linken und rechten LSO-Flächen für die Kontroll- (links: Median $0,307 \text{ mm}^2$; IQR = $0,094 \text{ mm}^2$; rechts: Median $0,311 \text{ mm}^2$; IQR = $0,118 \text{ mm}^2$; paired t-test; $P = 0,605$) und Versuchsgruppe (links: Median $0,226 \text{ mm}^2$; IQR = $0,096 \text{ mm}^2$; rechts: Median $0,263 \text{ mm}^2$; IQR = $0,086 \text{ mm}^2$; paired t-test; $P = 0,632$).

3.1.2. Querschnittsfläche der LSO in der GABA-Färbung

Abbildung 15 zeigt die signifikante Verringerung der LSO-Fläche bei den erlaubten Versuchstieren [N = 11; Mittelwert $0,319 \pm 0,041$ (SD) mm^2] im Vergleich zu den normalhörenden Kontrollen [N = 8; Mittelwert $0,401 \pm 0,063$ (SD) mm^2] in der GABA-Färbung (t-test; $P = 0,00318$).

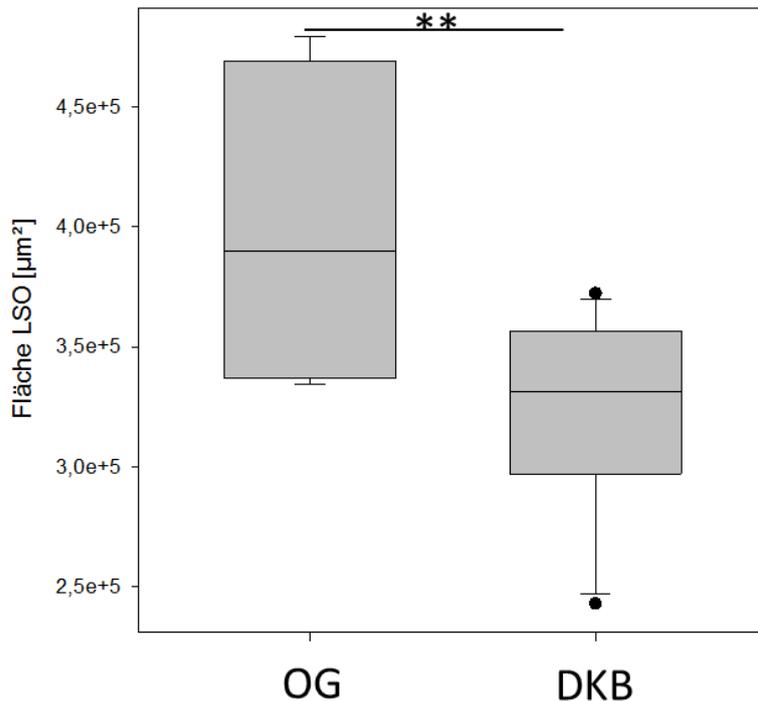


Abb. 15: Darstellung der signifikanten Verringerung der Fläche der LSO in der GABA-Färbung bei frühzeitiger Ertaubung (DKB; N = 11; Median 0,332 mm²; IQR = 0,059 mm²) im Vergleich zur normalhörenden Kontrollgruppe (OG; N = 8; Median 0,390 mm²; IQR = 0,132 mm²; t-test; P = 0,00318).

In der GABA-Färbung wurde mittels Wilcoxon Signed Rank Test bei den Kontrolltieren (N = 8) kein signifikanter Unterschied der LSO-Flächen der linken (Median 0,385 mm²; IQR = 0,134 mm²) und rechten Gehirnhälfte (Median 0,398 mm²; IQR = 0,108 mm²) nachgewiesen (P = 0,742; siehe Abb. 16 B). Bei den Versuchstieren (N = 11) zeigte der Vergleich der LSO-Flächen der linken [Mittelwert 0,307 ± 0,045 (SD) mm²] und rechten Gehirnhälfte [Mittelwert 0,331 ± 0,049 (SD) mm²] keinen signifikanten Unterschied (paired t-test; P = 0,0959; siehe Abb. 16 B). Abbildung 16 (A) zeigt für beide Gruppen breit um die Diagonale verteilte Werte der LSO-Flächen der linken und rechten Hemisphären. Es fand sich keine signifikante Korrelation zwischen den Werten der linken und rechten Gehirnhälften für die Kontroll- und Versuchsgruppe.

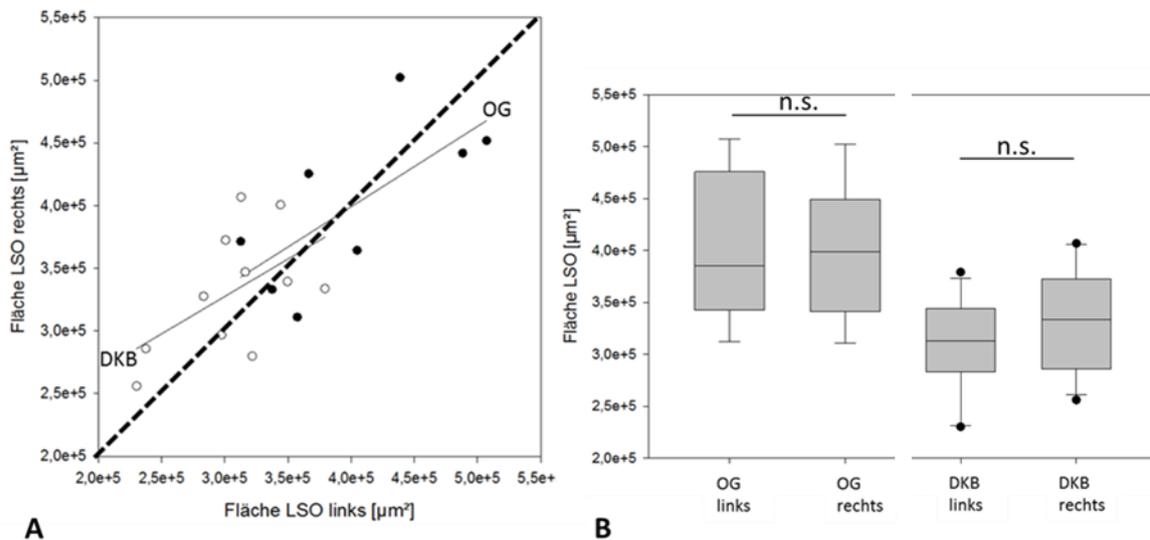


Abb. 16: (A): Korrelationen der LSO-Fläche zwischen linker und rechter Hirnhälfte für Kontroll- (N = 8; $R^2 = 0,485$; $P = 0,055$; schwarzer Kreis) und Versuchstiere (N = 11; $R^2 = 0,297$; $P = 0,083$; offener Kreis) in der GABA-Färbung. Die beiden dünnen schwarzen Linien stellen für jede der beiden Gruppen die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Flächenwerte für beide Hemisphären. (B): Darstellung der nicht-signifikanten Unterschiede zwischen den linken und rechten LSO-Flächen für die Kontroll- (links: Median $0,385 \text{ mm}^2$; IQR = $0,134 \text{ mm}^2$; rechts: Median $0,398 \text{ mm}^2$; IQR = $0,108 \text{ mm}^2$; Wilcoxon Signed Rank Test; $P = 0,742$) und Versuchsgruppe (links: Median $0,313 \text{ mm}^2$; IQR = $0,051 \text{ mm}^2$; rechts: Median $0,334 \text{ mm}^2$; IQR = $0,086 \text{ mm}^2$; paired t-test; $P = 0,0959$).

3.1.3. Querschnittsfläche der LSO in der Glycin-Färbung

Die Kontrollgruppe (N = 9) zeigte in der Glycin-Färbung signifikant größere Flächen der LSO [Mittelwert $0,381 \pm 0,070$ (SD) mm^2] im Vergleich zur erlaubten Versuchsgruppe [N = 9; Mittelwert $0,278 \pm 0,033$ (SD) mm^2 ; t-test; $P = 0,00101$]. Abbildung 17 verdeutlicht diese Abnahme der LSO-Querschnittsfläche bei frühzeitiger Ertaubung in der Glycin-Färbung.

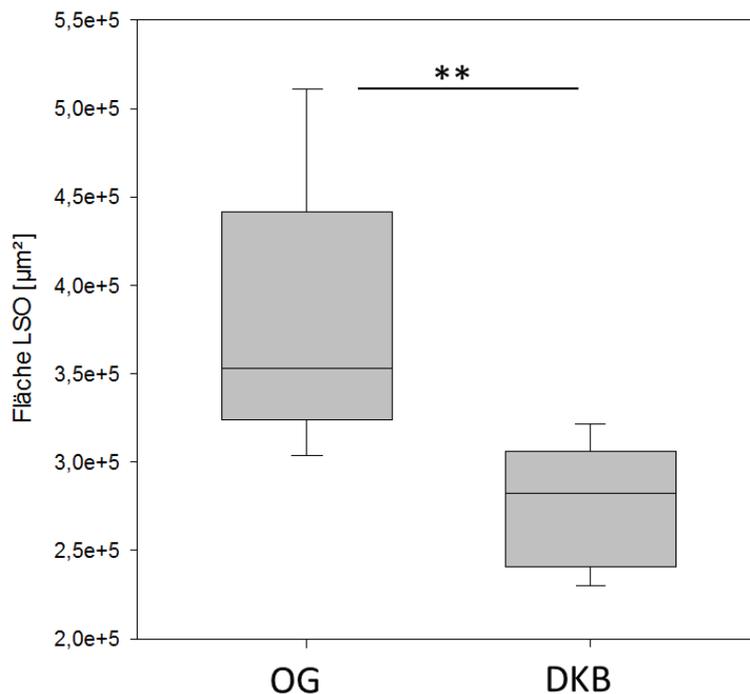


Abb. 17: Darstellung der signifikanten Verringerung der Fläche der LSO in der Glycin-Färbung bei frühzeitiger Ertaubung (DKB; N = 9; Median 0,283; IQR = 0,065 mm²) im Vergleich zur normalhörenden Kontrollgruppe (OG; N = 9; Median 0,353 mm²; IQR = 0,117 mm²; t-test; P = 0,00101).

In der Glycin-Färbung fand sich bei den Kontrolltieren (N = 9) zwischen der linken [Mittelwert 0,376 ± 0,058 (SD) mm²] und rechten Gehirnhälfte [Mittelwert 0,386 ± 0,087 (SD) mm²] kein signifikanter Unterschied (paired t-test; P = 0,533; siehe Abb. 18 B). Bei den Versuchstieren (N = 9) zeigte der Vergleich von linker [Mittelwert 0,267 ± 0,050 (SD) mm²] und rechter Gehirnhälfte [Mittelwert 0,288 ± 0,066 (SD) mm²] keinen signifikanten Unterschied (paired t-test; P = 0,541; siehe Abb. 18 B). In Abbildung 18 (A) wird die für die Kontrollgruppe signifikante Korrelation der LSO-Querschnittsflächen der linken und rechten Gehirnhälften graphisch dargestellt (R² = 0,723; P = 0,004), für die Versuchstiere war keine signifikante Korrelation feststellbar (R² = 0,139; P = 0,323). Im Graphen werden zudem geringere Werte der LSO-Flächen der Versuchstiere im Vergleich zu den Kontrolltieren nahe gelegt.

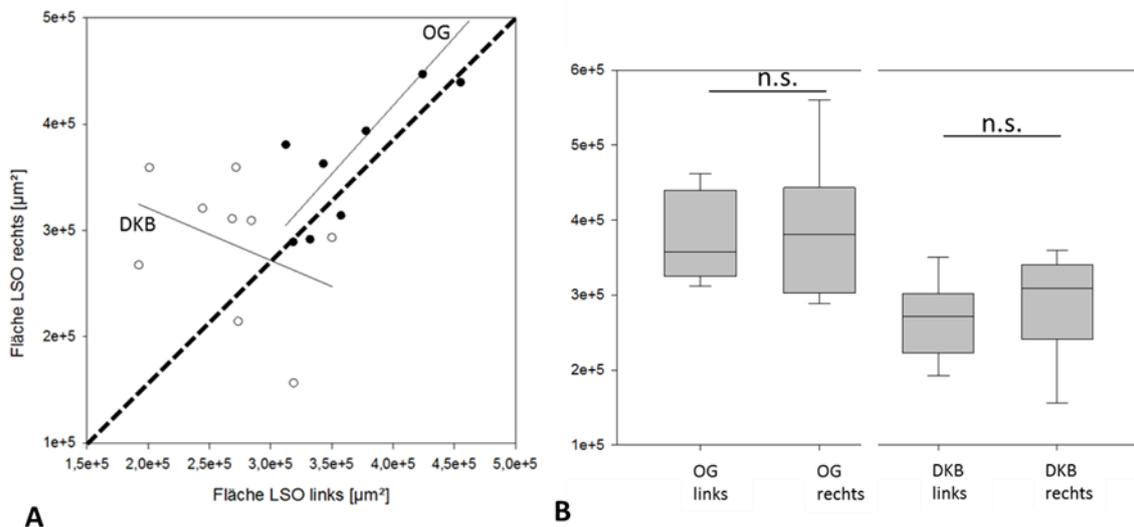


Abb. 18: (A): Korrelationen der LSO-Fläche zwischen linker und rechter Hirnhälfte für Kontroll- (N = 9; $R^2 = 0,723$; $P = 0,004$; schwarzer Kreis) und Versuchstiere (N = 9; $R^2 = 0,139$; $P = 0,323$; offener Kreis) in der Glycin-Färbung. Die beiden dünnen schwarzen Linien stellen für jede der beiden Gruppen die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Flächenwerte für beide Hemisphären. (B): Darstellung der nicht-signifikanten Unterschiede zwischen den linken und rechten LSO-Flächen für die Kontroll- (links: Median $0,357 \text{ mm}^2$; IQR = $0,115 \text{ mm}^2$; rechts: Median $0,381 \text{ mm}^2$; IQR = $0,140 \text{ mm}^2$; paired t-test; $P = 0,533$) und Versuchsgruppe (links: Median $0,272 \text{ mm}^2$; IQR = $0,078 \text{ mm}^2$; rechts: Median $0,309 \text{ mm}^2$; IQR = $0,099 \text{ mm}^2$; paired t-test; $P = 0,541$).

Der Vergleich der LSO-Fläche der Kontroll- und Versuchsgruppe zeigte in allen drei Färbungen eine Verringerung bei den Versuchstieren, sodass eine Abnahme der LSO-Fläche bei frühzeitiger Ertaubung anzunehmen ist. Unabhängig von der angewandten Färbung ließ sich kein Unterschied zwischen der LSO-Fläche der jeweiligen Hemisphären feststellen.

3.2. Auswirkung der Ertaubung auf die Zellgrößen der Neurone der LSO

3.2.1. Zellgrößen in der Nissl-Färbung

Die Zellgrößen in der Nissl-Färbung sollten auf Veränderungen bei frühzeitiger Ertaubung im Vergleich zu den Zellgrößen normalhörender Kontrolltiere

überprüft werden. Pro Tier wurde ein Mittelwert aus allen gemessenen Zellgrößen der linken und der rechten LSO berechnet. Mittels Mann-Whitney Rank Sum Test konnte im Vergleich zu den hörenden Gerbils (Median 136,17 μm^2 ; IQR = 23,96 μm^2) eine signifikante Verringerung der Zellgrößen bei Ertaubung (Median 106,96 μm^2 ; IQR = 15,07 μm^2) aufgezeigt werden (t-test; P = 0,004; siehe Abb. 19).

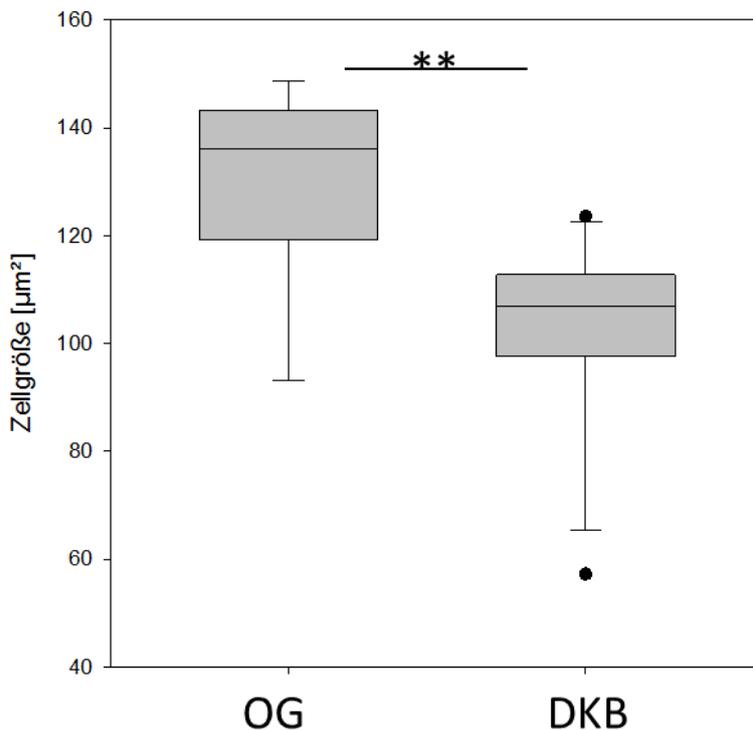


Abb. 19: Darstellung der signifikanten Verringerung der über die Hemisphären gepoolten Zellgrößen bei frühzeitiger Ertaubung (DKB; N = 12; Median 106,96 μm^2 ; IQR = 15,07 μm^2) im Vergleich zu den über die Hemisphären gepoolten Zellgrößen der normalhörenden Kontrolltiere (OG; N = 9; Median 136,17 μm^2 ; IQR = 23,96 μm^2) in der Nissl-Färbung (t-test; P = 0,004).

Ein Unterschied der Zellgrößen der beiden Hemisphären sollte für beide Gruppen ausgeschlossen werden.

Bei den Kontrolltieren (N = 9) konnte kein signifikanter Unterschied der linken [Mittelwert 123,33 \pm 18,48 (SD) μm^2] und rechten Gehirnhälfte [Mittelwert 139,68 \pm 25,03 (SD) μm^2] aufgezeigt werden (paired t-test; P = 0,0891; siehe Abb. 20 B). Bei den Versuchstieren (N = 12) lag ebenfalls kein signifikanter

Unterschied der linken [Mittelwert $106,29 \pm 21,85$ (SD) μm^2] und rechten Zellgrößen [Mittelwert $99,84 \pm 17,27$ (SD) μm^2] vor (paired t-test; $P = 0,167$; siehe Abb. 20 B). Abbildung 20 (A) zeigt die signifikante Korrelation der Zellgrößen der linken und rechten Gehirnhälften für die Versuchsgruppe ($R^2 = 0,498$; $P = 0,010$). Für die Kontrollgruppe wurde keine signifikante Korrelation festgestellt ($R^2 = 0,0924$; $P = 0,427$).

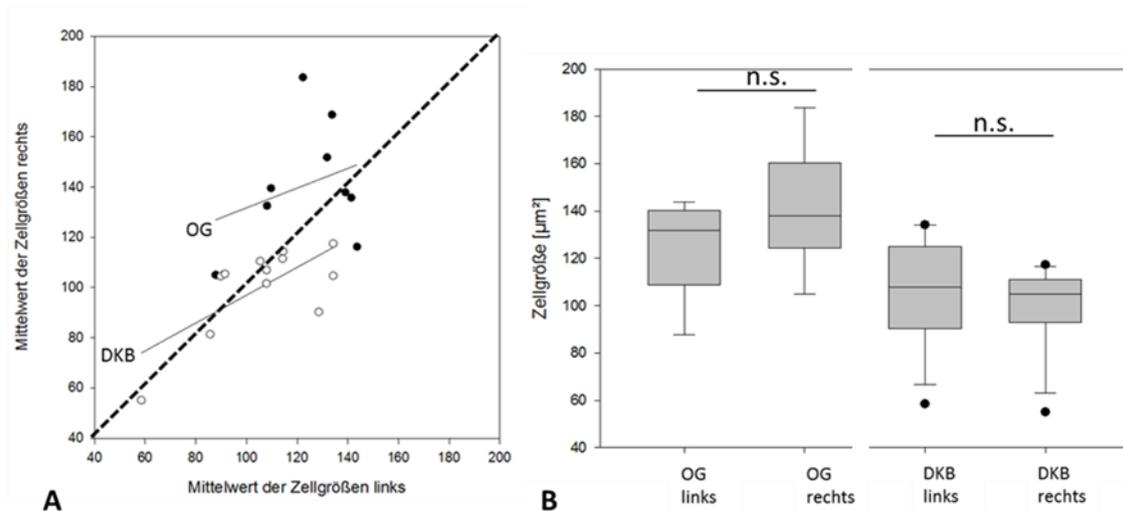


Abb. 20: (A): Korrelationen zwischen den Zellgrößen der linken und rechten Gehirnhälfte [μm^2] für Kontroll- ($N = 9$; $R^2 = 0,0924$; $P = 0,427$; schwarzer Kreis) und Versuchstiere ($N = 12$; $R^2 = 0,498$; $P = 0,010$; offener Kreis) in der Nissl-Färbung. Die beiden dünnen schwarzen Linien stellen für jede der beiden Gruppen die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Zellgrößen für beide Hemisphären. (B): Darstellung der nicht-signifikanten Unterschiede zwischen den linken und rechten Zellgrößen für die Kontroll- (links: Median $131,80 \mu\text{m}^2$; IQR = $31,33 \mu\text{m}^2$; rechts: Median $137,87 \mu\text{m}^2$; IQR = $35,91 \mu\text{m}^2$; paired t-test; $P = 0,0891$) und Versuchsgruppe (links: Median $107,90 \mu\text{m}^2$; IQR = $34,72 \mu\text{m}^2$; rechts: Median $105,00 \mu\text{m}^2$; IQR = $18,13 \mu\text{m}^2$; paired t-test; $P = 0,167$).

Um die Morphologie der LSO auf ihre tonotope Organisation genauer zu untersuchen, war die Suche nach Unterschieden zwischen den beiden Hirnhälften eines Tieres und den Bezirken lateral, ventral und medial durchzuführen. Dazu wurde der statistische Test Two Way Repeated Measures ANOVA für abhängige Daten herangezogen.

Beim Seitenvergleich der Zellgrößen der Kontrolltiere konnte zwischen der linken [Mittelwert $124,17 \pm 21,84$ (SD) μm^2] und rechten Hemisphäre [Mittelwert

141,22 ± 25,80 (SD) µm²] kein signifikanter Unterschied (P = 0,083) festgestellt werden. Auch beim Bezirksvergleich von lateral [Mittelwerte 137,35 ± 24,24 (SD) µm²], ventral [Mittelwert 131,68 ± 26,84 (SD) µm²] und medial [Mittelwert 129,06 ± 24,24 (SD) µm²] zeigte sich kein Unterschied (P = 0,202). Es lag keine statistisch signifikante Interaktion zwischen den beiden Faktoren Seite und Bezirk vor (P = 0,054).

Bei den Zellgrößen der Versuchstiere wurde eine signifikante Interaktion zwischen den beiden Faktoren Seite und Bezirk festgestellt (P = 0,008). Dabei belief sich der Mittelwert der Zellgrößen der linken Hirnhälfte auf 106,03 ± 24,45 (SD) µm², rechts auf 100,26 ± 18,63 (SD) µm², der Mittelwert der Zellgrößen für lateral betrug 102,98 ± 21,01 (SD) µm², ventral 97,76 ± 20,93 (SD) µm² und medial 108,70 ± 22,42 (SD) µm². Die Holm-Sidak-Methode wurde zum paarweisen Vergleich angewandt. Es zeigten sich in der linken Hirnhälfte medial signifikant größere Zellen als rechts medial (P = 0,009). Auch beim Bezirksvergleich auf der linken Seite waren die Zellen medial im Vergleich zu ventral (P = 0,002) und zu lateral (P = 0,003) signifikant größer. Der Vergleich der Zellgrößen von lateral und ventral wies hingegen keinen signifikanten Unterschied auf (P = 0,748). Beim Bezirksvergleich auf der rechten Seite fanden sich keine Unterschiede (lateral versus ventral P = 0,151; medial versus ventral P = 0,430; lateral versus medial P = 0,421). Der Vergleich von lateral links und lateral rechts zeigte keinen signifikanten Unterschied (P = 0,593), der Vergleich von ventral links und ventral rechts (P = 0,420) wies ebenfalls keinen signifikanten Unterschied auf.

Trotz der signifikanten Asymmetrie der Hemisphären im medialen Bezirk der Versuchsgruppe wurde das Poolen der Daten durchgeführt, um den signifikanten Unterschied der Zellgrößen von Kontroll- und Versuchsgruppe genauer zu analysieren. Die Bezirke wurden einzeln überprüft. Es wurde pro Tier ein Mittelwert der Zellgrößen von linker und rechter Gehirnhälfte für jeden der drei Bezirke gebildet und die Daten der beiden Gruppen wurden verglichen. Im lateralen Bezirk zeigte der Vergleich der Zellgrößen der Kontroll- [Mittelwert 137,35 ± 18,35 (SD) µm²] und Versuchsgruppe [Mittelwert 102,98 ± 18,65 (SD)

μm^2] einen hochsignifikanten Unterschied (t-test; $P = 0,000476$). Abbildung 21 verdeutlicht die Zellgrößenabnahme im lateralen Bezirk bei Ertaubung.

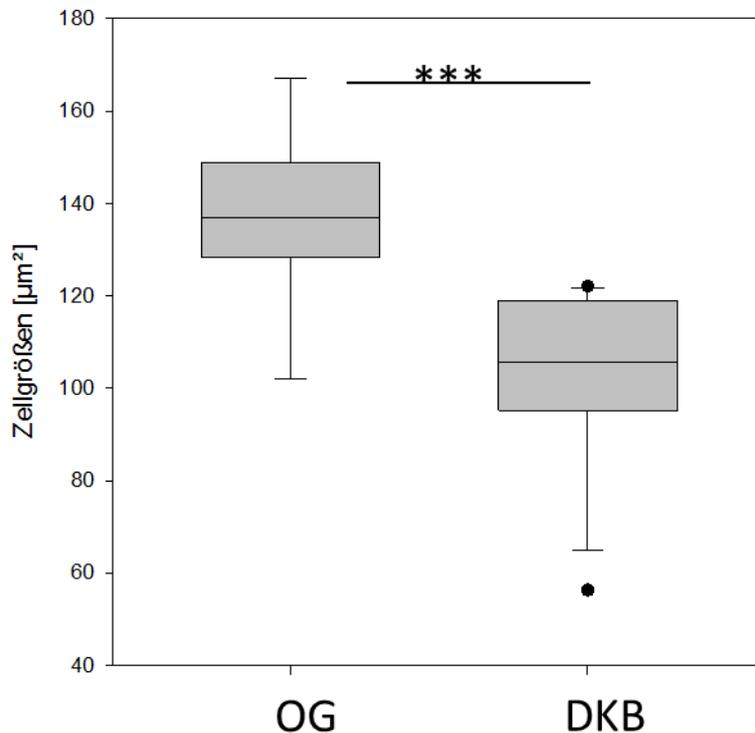


Abb. 21: Darstellung der signifikanten Verringerung der Zellgrößen im lateralen Bezirk bei frühzeitiger Ertaubung (DKB; $N = 12$; Median $105,57 \mu\text{m}^2$; IQR = $23,86 \mu\text{m}^2$) im Vergleich zu den normalhörenden Kontrolltieren (OG; $N = 9$; Median $136,88 \mu\text{m}^2$; IQR = $20,55 \mu\text{m}^2$; t-test; $P = 0,000476$).

Beim Vergleich der ventralen Zellgrößen von Kontroll- [Mittelwert $131,68 \pm 19,68$ (SD) μm^2] und Versuchsgruppe [Mittelwert $97,76 \mu\text{m}^2 \pm 19,58$ (SD) μm^2] wurde ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den Zellgrößen von hörenden und ertaubten Tieren festgestellt (t-test; $P = 0,000922$). Eine Verkleinerung der Zellgrößen im ventralen Bezirk kann bei frühzeitiger Ertaubung angenommen werden (siehe Abb. 22).

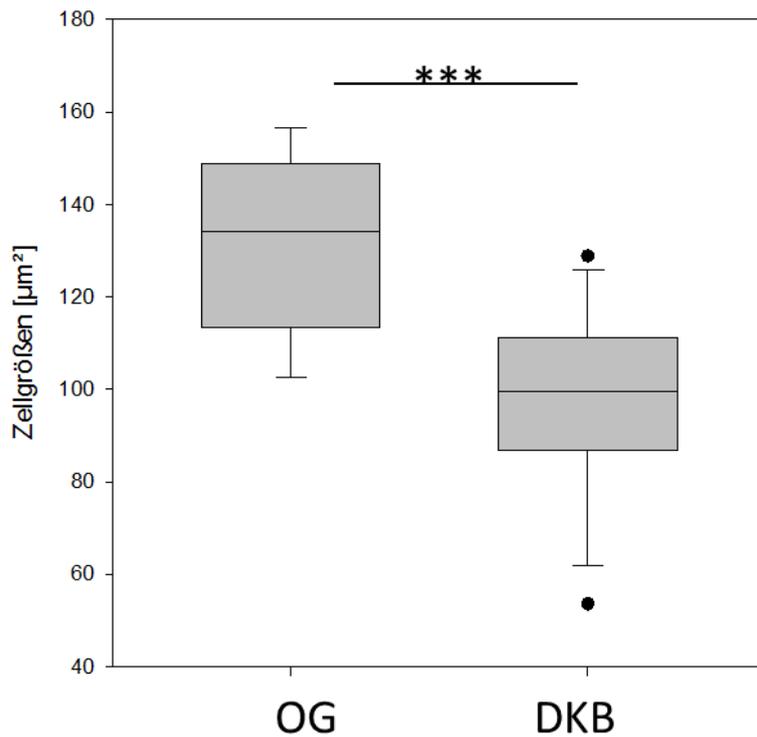


Abb. 22: Darstellung der signifikanten Verringerung der Zellgrößen im ventralen Bezirk bei frühzeitiger Ertaubung (DKB; N = 12; Median 99,49 µm²; IQR = 24,38 µm²) im Vergleich zu den normalhörenden Kontrolltieren (OG; N = 9; Median 134,04 µm²; IQR = 35,29 µm²; t-test; P = 0,000922).

Im medialen Bezirk erfolgte die Analyse der Zellgrößen mittels Mann-Whitney Rank Sum Test. Die frühzeitig ertaubten Versuchstiere (Median 110,93 µm²; IQR = 22,16 µm²) wiesen im Vergleich zu den normalhörenden Kontrolltieren (Median 132,32 µm²; IQR = 18,97 µm²) signifikant kleinere Zellgrößen im medialen Bezirk auf (P = 0,025; siehe Abb. 23).

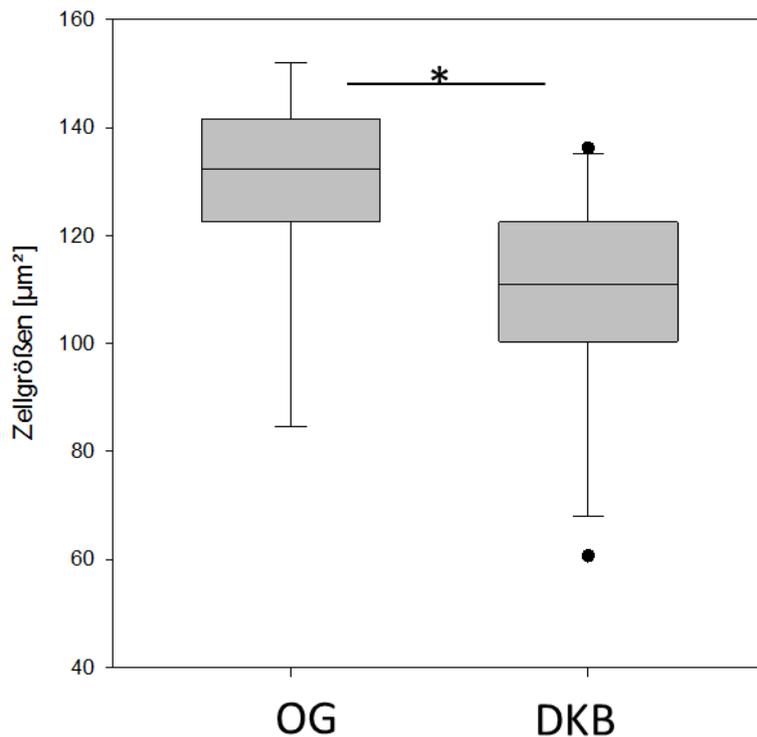


Abb. 23: Darstellung der signifikanten Verringerung der Zellgrößen im medialen Bezirk bei frühzeitiger Ertaubung (DKB; N = 12; Median 110,93 µm²; IQR = 22,16 µm²) im Vergleich zu den normalhörenden Kontrolltieren (OG; N = 9; Median 132,32 µm²; IQR = 18,97 µm²; Mann-Whitney Rank Sum Test; P = 0,025).

Zusammenfassend weist die Analyse der LSO-Bezirke auf eine ertaubungsbedingte Verringerung der Zellgrößen hin. In allen drei Bezirken zeigte sich eine Schrumpfung der Zellen bei den frühzeitig ertaubten Versuchstieren.

3.3. Auswirkung der Ertaubung auf die Zellzahlen der LSO

Die Kontroll- und Versuchstiere sollten auf Veränderungen hinsichtlich der Zellzahl innerhalb der LSO überprüft werden. Es wurde die gesamte Zellzahl der linken und rechten LSO zwischen den beiden Gruppen verglichen, um eine Tendenz des Effekts der frühzeitigen Ertaubung zu ermitteln. Zudem wurde

überprüft, welche Auswirkung die Ertaubung auf die tonotope Anordnung der LSO in allen drei Färbungen hatte.

3.3.1. Neuronenzahl in der Nissl-Färbung

Der Vergleich der gesamten Zellzahlen der LSO von Kontroll- [N = 9; Mittelwert $348,22 \pm 46,17$ (SD) Zellen] und Versuchstieren [N = 12; Mittelwert $327,75 \pm 42,04$ (SD) Zellen] zeigte keine signifikante Abnahme bei den ertaubten Tieren (t-test; P = 0,303; siehe Abb. 24).

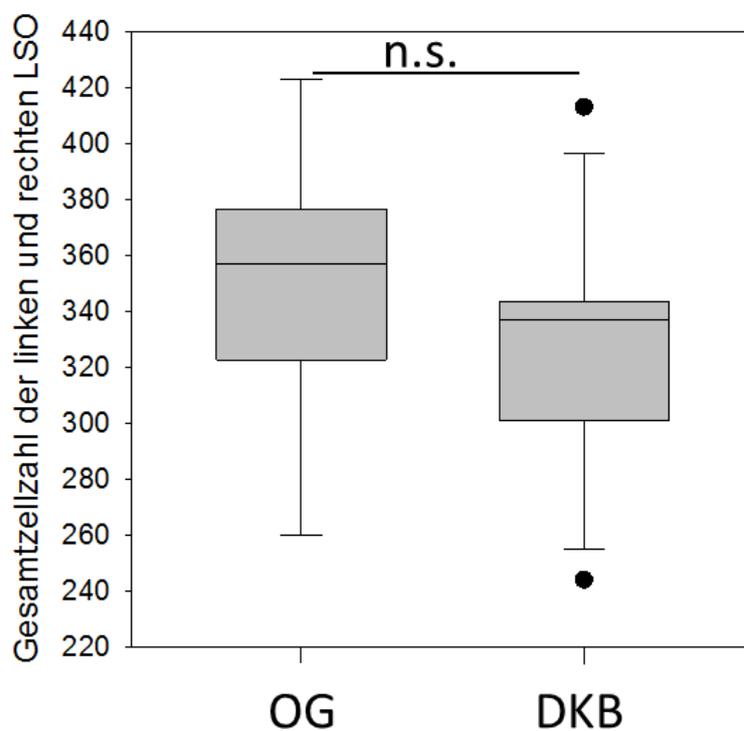


Abb. 24: Darstellung der gesamten Zellzahl der linken und rechten LSO der Kontroll- (OG; N = 9; Median 357,00 Zellen; IQR = 54,00 Zellen) und Versuchstiere (DKB; N = 12; Median 337,00 Zellen; IQR = 42,50 Zellen) in der Nissl-Färbung; keine signifikante Zellzahlverringerung der frühzeitig ertaubten Tiere im Vergleich zu den normalhörenden Tieren (t-test; P = 0,303).

Die Daten wurden mittels Two Way Repeated Measures ANOVA auf Unterschiede zwischen den Bezirken und Seiten überprüft. Die Kontrolltiere zeigten beim Vergleich der linken [Mittelwert $61,44 \pm 11,47$ (SD) Zellen] und rechten Hirnhälfte [Mittelwert $54,63 \pm 12,98$ (SD) Zellen] keinen signifikanten

Unterschied in der Anzahl der Neurone ($P = 0,085$; siehe Abb. 25 B). Abbildung 25 (A) weist für die Zellzahlen der linken und rechten Gehirnhälften der Kontrolltiere keine signifikante Korrelation auf ($R^2 = 0,141$; $P = 0,318$). Beim Vergleich der Bezirke der Kontrollgruppe war eine signifikant höhere Zellzahl im medialen Anteil festzustellen. Lateral betrug die Zellzahl $54,28 \pm 10,62$ (SD), ventral $52,00 \pm 9,60$ (SD) und medial $67,83 \pm 11,54$ (SD). Im medialen Bezirk fanden sich signifikant mehr Zellen als ventral ($P < 0,001$) und als lateral ($P < 0,001$). Der Vergleich der Zellzahlen des lateralen und ventralen Bezirks zeigte keinen signifikanten Unterschied ($P = 0,232$). Eine statistisch signifikante Interaktion zwischen Seite und Bezirk war nicht festzustellen ($P = 0,428$). Bei der Analyse der Bezirke und Seiten der Versuchstiere mittels Two Way Repeated Measures ANOVA zeigte sich ein schwach signifikanter Unterschied in der Anzahl der Neurone zwischen linken [Mittelwert $52,11 \pm 11,46$ (SD) Zellen] und rechten Gehirnhälften [Mittelwert $57,14 \pm 11,87$ (SD) Zellen; $P = 0,049$]. In Abbildung 25 (A) werden die höheren Zellzahlen der rechten Hemisphäre im Vergleich zur linken durch die größtenteils über der Diagonale liegenden Werte für die DKB-Tiere nahe gelegt. Im Boxplot zeigen sich die signifikant höheren Zellzahlen der rechten Hemisphäre im Vergleich zur linken für die ertaubte Versuchsgruppe (paired t-test; $P = 0,049$; Abb. 25 B). In der Holm-Sidak Methode wies der mediale Bezirk [Mittelwert $62,17 \pm 11,28$ (SD) Zellen] signifikant mehr Zellen auf als ventral [Mittelwert $51,13 \pm 11,64$ (SD); $P < 0,001$] und lateral [Mittelwert $50,58 \pm 8,90$ (SD) Zellen; $P < 0,001$], während der Vergleich von lateral und ventral nicht signifikant war ($P = 0,841$). Bei der Überprüfung einer Interaktion zwischen Seite und Bezirk ließ sich keine Signifikanz aufzeigen ($P = 0,153$). Zusammenfassend waren in beiden Gruppen im medialen hochfrequenten Bezirk signifikant mehr Zellen festzustellen.

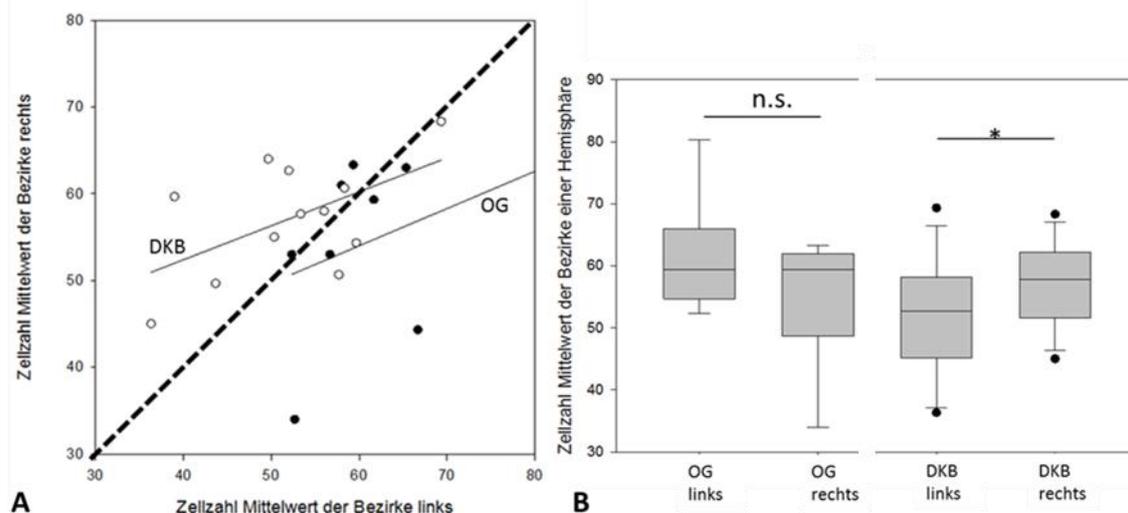


Abb. 25: (A): Korrelationen zwischen den Zellzahlen der linken und rechten Gehirnhälfte für Kontroll- (N = 9; $R^2 = 0,141$; $P = 0,318$; schwarzer Kreis) und Versuchstiere (N = 12; $R^2 = 0,302$; $P = 0,064$; offener Kreis) in der Nissl-Färbung. Die beiden dünnen schwarzen Linien stellen für jede der beiden Gruppen die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Zellzahlen für beide Hemisphären. (B): Darstellung der Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Bezirke der linken und rechten Zellzahlen für die Kontroll- (links: Median 59,33 Zellen; IQR = 11,33 Zellen; rechts: Median 59,33 Zellen; IQR = 13,33 Zellen; Wilcoxon Signed Rank Test; $P = 0,203$) und Versuchsgruppe (links: Median 52,67 Zellen; IQR = 13,00 Zellen; rechts: Median 57,83 Zellen; IQR = 10,59 Zellen; paired t-test; $P = 0,049$).

Die Zellzahlen der Bezirke von Kontroll- und Versuchsgruppe wurden einzeln verglichen. Je Tier wurde ein Mittelwert der Zellzahlen vom lateralen, ventralen und medialen Bezirk über beide Hemisphären gebildet und anschließend mittels t-test ein Vergleich zwischen den Zellzahlen der hörenden und der ertaubten Gruppe angestellt. Bei keiner dieser Überprüfungen zeigte sich ein signifikanter Unterschied. Weder lateral [OG-Mittelwert $54,28 \pm 7,59$ (SD) Zellen; DKB-Mittelwert $50,58 \pm 7,20$ (SD) Zellen; $P = 0,270$], noch ventral [OG-Mittelwert $52,00 \pm 6,59$ (SD) Zellen; DKB-Mittelwert $51,13 \pm 10,76$ (SD) Zellen; $P = 0,832$], noch medial [OG-Mittelwert $67,83 \pm 10,34$ (SD) Zellen; DKB-Mittelwert $62,17 \pm 8,05$ (SD) Zellen; $P = 0,173$] lag ein signifikanter Unterschied in den Zellzahlen zwischen OG und DKB vor.

Die Tatsache, dass beim Vergleich der einzelnen Bezirke der beiden Gruppen ebenfalls kein signifikanter Unterschied festzustellen ist, bestärkt die Annahme

der Nullhypothese beim Vergleich der gesamten Zellzahl zwischen den hörenden und ertaubten Tieren. Frühzeitige Ertaubung führt bei der mongolischen Wüstenrennmaus in der LSO unabhängig von den tonotopen Bezirken zu keiner Verringerung der Zellzahlen in der Nissl-Färbung.

3.3.2. Neuronenzahl in der GABA-Färbung

Beim Vergleich der in der GABA-Färbung identifizierten Neurone zeigte sich zwischen der gesamten Zellzahl der LSO beider Gehirnhälften der Kontroll- [N = 8; Mittelwert $48,00 \pm 16,39$ (SD) Zellen] und Versuchsgruppe [N = 11; Mittelwert $41,55 \pm 15,27$ (SD) Zellen] kein signifikanter Unterschied (t-test; P = 0,390; siehe Abb. 26).

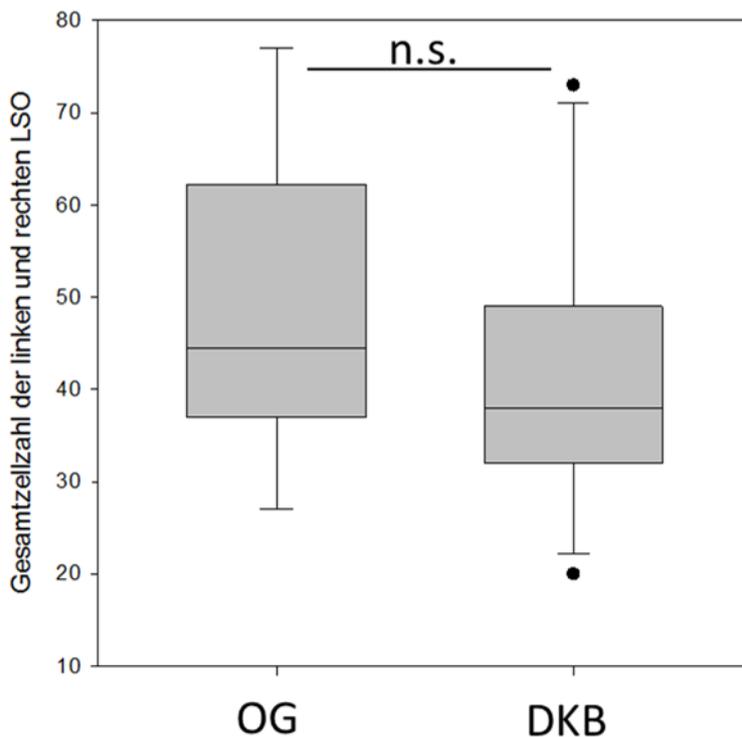


Abb. 26: Darstellung der gesamten Zellzahl der linken und rechten LSO der Kontroll- (OG; N = 8; Median 44,50 Zellen; IQR = 25,25 Zellen) und Versuchstiere (DKB; N = 11; Median 38,00 Zellen; IQR = 17,00 Zellen) in der GABA-Färbung; keine signifikante Zellzahlverringering der frühzeitig ertaubten Tiere im Vergleich zu den normalhörenden Tieren (t-test; P = 0,390).

Bei der Überprüfung der Kontrolltiere auf Unterschiede in den Zellzahlen zwischen Seite und Bezirk mittels Two Way Repeated Measures ANOVA wurde

die Varianzhomogenität der Daten durch den Brown-Forsythe-Test bestätigt ($P = 0,749$). Es war weder ein signifikanter Unterschied zwischen der linken [Mittelwert $7,74 \pm 3,79$ (SD) Zellen] und rechten Hirnhälfte [Mittelwert $8,29 \pm 3,98$ (SD) Zellen; $P = 0,582$; siehe Abb. 27 B] noch zwischen den Bezirken lateral [Mittelwert $6,35 \pm 3,97$ (SD) Zellen], ventral [Mittelwert $9,06 \pm 3,88$ (SD) Zellen] und medial [Mittelwert $8,65 \pm 3,23$ (SD) Zellen; $P = 0,133$] noch eine statistisch signifikante Interaktion zwischen den beiden Faktoren Seite und Bezirk ($P = 0,634$) festzustellen.

Bei der Überprüfung der Versuchstiere auf Unterschiede zwischen den Gehirnhälften links [Mittelwert $6,79 \pm 2,92$ (SD) Zellen] und rechts [Mittelwert $7,06 \pm 3,69$ (SD) Zellen] und den Bezirken lateral [Mittelwert $6,82 \pm 2,94$ (SD) Zellen], ventral [Mittelwert $7,64 \pm 3,78$ (SD) Zellen] und medial [Mittelwert $6,32 \pm 3,07$ (SD) Zellen] wurde eine signifikante Interaktion zwischen den beiden Faktoren Seite und Bezirk festgestellt ($P = 0,044$). Die Holm-Sidak Methode zeigte beim Vergleich der Bezirke der linken Seite keinen signifikanten Unterschied (lateral vs. medial $P = 0,607$; lateral vs. ventral $P = 0,687$; ventral vs. medial $P = 0,731$). Auch auf der rechten Seite konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (ventral vs. lateral $P = 0,073$; ventral vs. medial $P = 0,073$; medial vs. lateral $P = 0,863$). Der Vergleich von lateral links versus lateral rechts war nicht signifikant ($P = 0,166$). Auch der Vergleich von medial links und medial rechts zeigte keinen signifikanten Unterschied ($P = 0,920$). Ein signifikanter Unterschied fand sich beim Vergleich der Zellzahlen von ventral links und ventral rechts ($P = 0,033$). Für die Versuchstiere war eine signifikante Korrelation der gepoolten Zellzahlen der linken und rechten Hemisphäre festzustellen ($R^2 = 0,598$; $P = 0,005$), während diese Korrelation für die Kontrolltiere nicht signifikant war ($R^2 = 0,325$; $P = 0,140$). Die Korrelationen sind in Abbildung 27 (A) graphisch dargestellt, die Vergleiche der Zellzahlen der beiden Hemisphären finden sich im Boxplot in Abbildung 27 (B). Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der Überprüfung der Versuchstiere eine signifikant höhere Zellzahl nur im Bezirk ventral rechts.

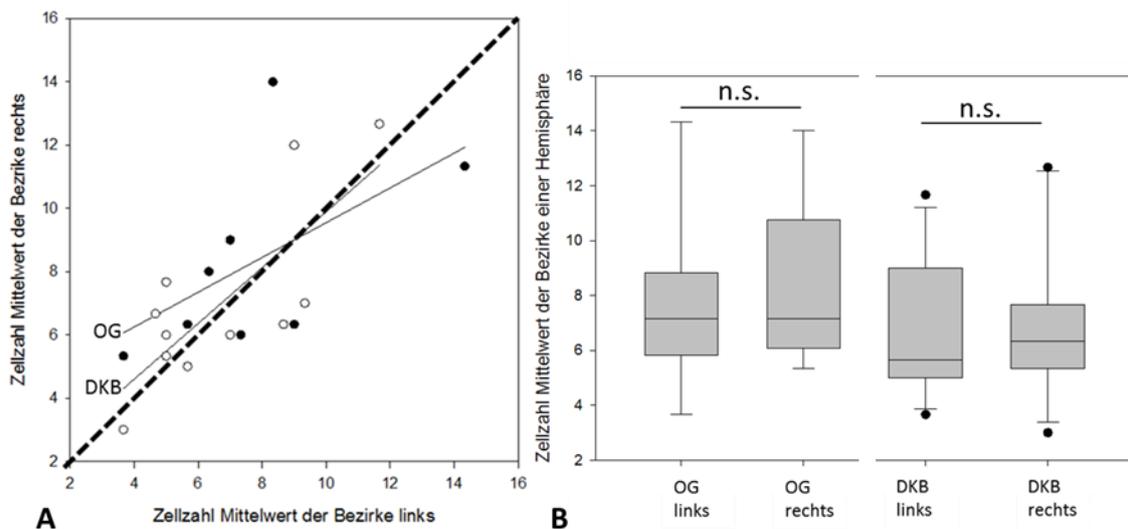


Abb. 27: (A): Korrelationen zwischen den Zellzahlen der linken und rechten Gehirnhälfte für Kontroll- (N = 8; $R^2 = 0,325$; $P = 0,140$; schwarzer Kreis) und Versuchstiere (N = 11; $R^2 = 0,598$; $P = 0,005$; offener Kreis) in der GABA-Färbung. Die beiden dünnen schwarzen Linien stellen für jede der beiden Gruppen die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Zellzahlen für beide Hemisphären. (B): Darstellung der nicht-signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Bezirke der linken und rechten Zellzahlen für die Kontroll- (links: Median 7,17 Zellen; IQR = 3,00 Zellen; rechts: Median 7,17 Zellen; IQR = 4,67 Zellen; paired t-test; $P = 0,582$) und Versuchsgruppe (links: Median 5,67 Zellen; IQR = 4,00 Zellen; rechts: Median 6,33 Zellen; IQR = 2,34 Zellen; paired t-test; $P = 0,635$).

Die Zellzahlen der einzelnen Bezirke wurden separat zwischen den beiden Gruppen verglichen. Dazu wurde pro Tier der Mittelwert der Zellzahl von linker und rechter Gehirnhälfte für jeden der drei Bezirke gebildet. Mittels Mann-Whitney Rank Sum Test fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den lateralen Zellzahlen der Kontroll- (Median 5,00 Zellen; IQR = 3,25 Zellen) und Versuchstiere (Median 6,00 Zellen; IQR = 4,50 Zellen; $P = 0,431$). Zwischen den ventralen Zellzahlen der Kontroll- [Mittelwert $9,06 \pm 3,69$ (SD) Zellen] und Versuchsgruppe [Mittelwert $7,64 \pm 3,37$ (SD) Zellen] zeigte sich kein signifikanter Unterschied (t-test; $P = 0,393$). Auch im medialen Bezirk wurde kein signifikanter Unterschied zwischen der Zellzahl der Kontroll- [Mittelwert $8,63 \pm 2,79$ Zellen] und Versuchsgruppe [Mittelwert $6,32 \pm 2,85$ (SD) Zellen] festgestellt (t-test; $P = 0,0967$).

Bei allen drei Bezirken wurde im Vergleich zwischen den beiden Gruppen kein

Unterschied der Zellzahl gefunden. Dies bestärkt auch bei der geringen Zellzahl in der GABA-Färbung die Annahme, dass sich die Zellzahl in der LSO auch hinsichtlich der inhibitorischen Zellen bei Ertaubung nicht vermindert.

3.3.3. Neuronenzahl in der Glycin-Färbung

Beim Vergleich der gesamten Zellzahl der linken und rechten LSO zwischen den normalhörenden Kontroll- [N = 9; Mittelwert $53,33 \pm 11,55$ (SD) Zellen] und den frühzeitig ertaubten Versuchstieren [N = 9; Mittelwert $41,56 \pm 16,23$ (SD) Zellen] in der Glycin-Färbung zeigte sich keine signifikante Abnahme der Zellzahlen (t-test; $P = 0,0951$; siehe Abb. 28).

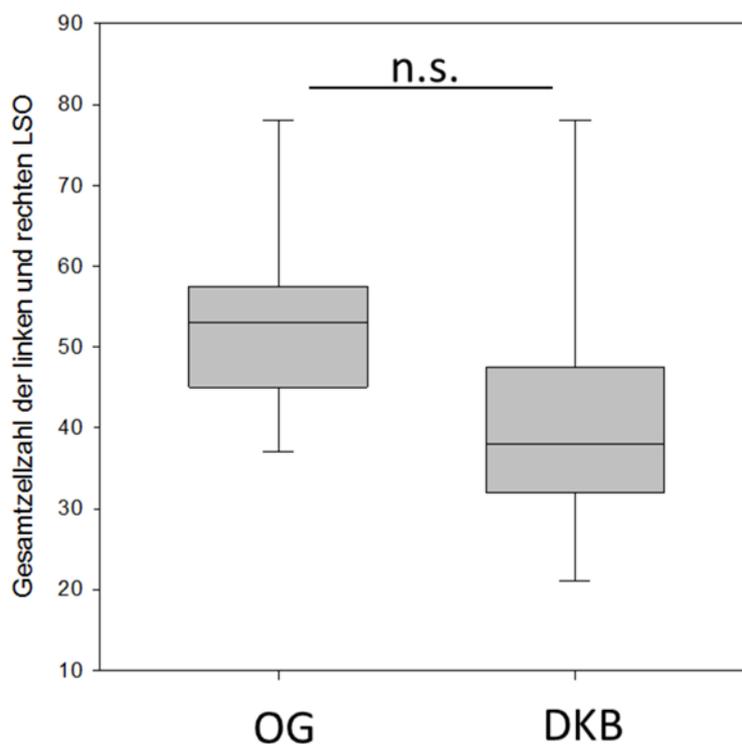


Abb. 28: Darstellung der gesamten Zellzahl der linken und rechten LSO der Kontroll- (OG; N = 9; Median 53,00 Zellen; IQR = 12,50 Zellen) und Versuchstiere (DKB; N = 9; Median 38,00 Zellen; IQR = 15,50 Zellen) in der Glycin-Färbung; keine signifikante Zellzahlverringering der frühzeitig ertaubten Tiere im Vergleich zu den normalhörenden Tieren (t-test; $P = 0,0951$).

Es wurde der Test Two Way Repeated Measures ANOVA angewandt, um die Neuronenzahl in der Glycin-Färbung auf den Einfluss der beiden Faktoren Seite und Bezirk zu überprüfen.

Bei den Kontrolltieren fand sich zwischen den Zellzahlen der linken [Mittelwert $9,48 \pm 3,58$ (SD) Zellen] und rechten Hirnhälfte [Mittelwert $8,30 \pm 2,48$ (SD) Zellen] kein signifikanter Unterschied ($P = 0,125$; siehe Abb. 29 B). In Abbildung 29 (A) ist die signifikante Korrelation der linken und rechten Zellzahlen für die OG-Tiere veranschaulicht ($R^2 = 0,660$; $P = 0,008$). Zwischen den Bezirken lateral [Mittelwert $10,06 \pm 3,81$ (SD) Zellen], ventral [Mittelwert $8,44 \pm 2,61$ (SD) Zellen] und medial [Mittelwert $8,17 \pm 2,48$ (SD) Zellen] wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt ($P = 0,201$).

Bei den Versuchstieren war kein signifikanter Unterschied zwischen der linken [Mittelwert $7,78 \pm 4,83$ (SD) Zellen] und rechten Gehirnhälfte [Mittelwert $6,07 \pm 2,94$ (SD) Zellen] darstellbar ($P = 0,147$; siehe Abb. 29 B). Eine signifikante Korrelation der linken und rechten Zellzahlen ließ sich für die DKB-Tiere nicht aufzeigen ($R^2 = 0,291$; $P = 0,134$), wie aus Abbildung 29 (A) hervorgeht. Beim Vergleich der Bezirke lateral [Mittelwert $8,94 \pm 4,61$ (SD) Zellen], ventral [Mittelwert $6,44 \pm 3,64$ (SD) Zellen] und medial [Mittelwert $5,39 \pm 3,00$ (SD) Zellen] fand sich ein signifikanter Unterschied ($P = 0,005$). In der Holm-Sidak Methode waren im lateralen Bezirk der LSO signifikant mehr Zellen als im medialen Bezirk ($P = 0,005$) feststellbar. Im lateralen Bezirk fanden sich signifikant mehr Zellen als ventral ($P = 0,034$). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Zellzahlen des ventralen und medialen Bezirks ($P = 0,277$). Eine Interaktion der beiden Faktoren Seite und Bezirk lag nicht vor ($P = 0,085$). Beim Vergleich der unterschiedlichen Bezirke zeigte sich bei den Versuchstieren somit eine erhöhte Neuronenanzahl in den lateralen LSO-Bezirken.

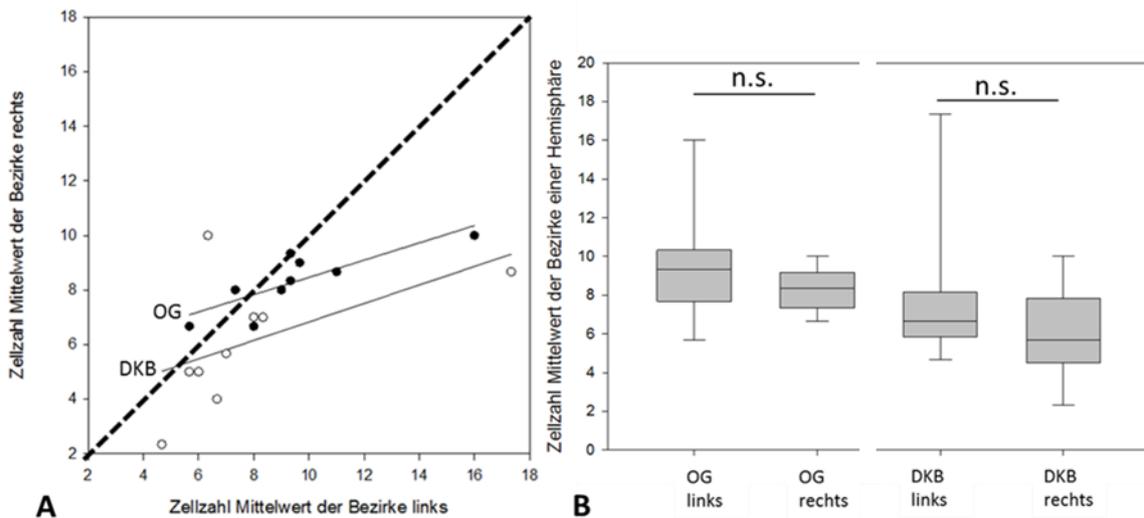


Abb. 29: (A): Korrelationen zwischen den Zellzahlen der linken und rechten Gehirnhälfte für Kontroll- ($N = 9$; $R^2 = 0,660$; $P = 0,008$; schwarzer Kreis) und Versuchstiere ($N = 9$; $R^2 = 0,291$; $P = 0,134$; offener Kreis) in der Glycin-Färbung. Die beiden dünnen schwarzen Linien stellen für jede der beiden Gruppen die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Zellzahlen für beide Hemisphären. (B): Darstellung der nicht-signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Bezirke der linken und rechten Zellzahlen für die Kontroll- (links: Median 9,33 Zellen; IQR = 2,66 Zellen; rechts: Median 8,33 Zellen; IQR = 1,84 Zellen; paired t-test; $P = 0,125$) und Versuchsgruppe (links: Median 6,67 Zellen; IQR = 2,34 Zellen; rechts: Median 5,67 Zellen; IQR = 3,33 Zellen; Wilcoxon Signed Rank Test; $P = 0,098$).

Die Bezirke wurden einzeln zwischen den Gruppen verglichen. Pro Tier und Bezirk wurde ein Mittelwert aus der Zellzahl der linken und rechten Gehirnhälfte berechnet, sodass sich pro Bezirk ein Wert pro Tier ergab. Beim Vergleich der lateralen Bezirke zwischen den Kontroll- und Versuchstieren zeigte sich mittels Mann-Whitney Rank Sum Test kein signifikanter Unterschied zwischen den Zellzahlen der Kontroll- (Median 9,00 Zellen; IQR = 1,75 Zellen) und Versuchstiere (Median 9,00 Zellen; IQR = 3,75 Zellen; $P = 0,419$). Beim Vergleich der ventralen Zellzahlen der Kontroll- [Mittelwert $8,44 \pm 2,46$ (SD) Zellen] und Versuchsgruppe [Mittelwert $6,44 \pm 2,99$ (SD) Zellen] lag kein signifikanter Unterschied vor (t-test; $P = 0,141$). Im medialen Bezirk waren bei den Versuchstieren [Mittelwert $5,39 \pm 2,45$ (SD) Zellen] signifikant weniger Zellen als bei den Kontrolltieren [Mittelwert $8,17 \pm 2,14$ (SD) Zellen] festzustellen (t-test; $P = 0,0207$). Abbildung 30 zeigt für keinen der drei Bezirke

eine signifikante Korrelation zwischen den Werten der Kontroll- und Versuchsgruppe in der Glycin-Färbung. Die Daten liegen größtenteils unter der Diagonalen und lassen eine höhere Zellzahl bei den Kontrolltieren im Vergleich zu den Versuchstieren vermuten. Eine signifikante Verminderung der Zellzahlen ist aber nur im medialen Bezirk in der Glycin-Färbung bei frühzeitiger Ertaubung festzuhalten (t-test; $P = 0,0207$).

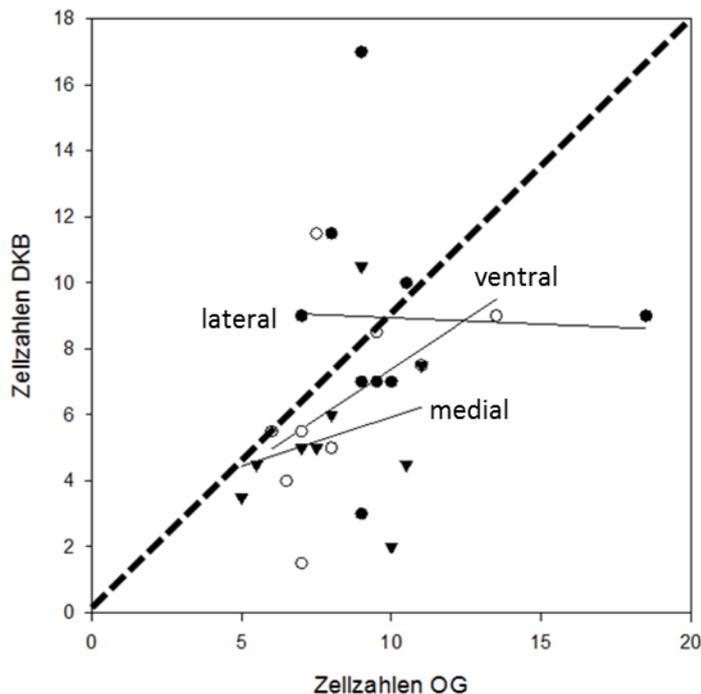


Abb. 30: Korrelationen zwischen den Zellzahlen der Mittelwerte von linker und rechter Gehirnhälfte für die einzelnen Bezirke lateral ($R^2 = 0,00114$; $P = 0,931$; schwarzer Kreis), ventral ($R^2 = 0,247$; $P = 0,174$; offener Kreis) und medial ($R^2 = 0,0682$; $P = 0,497$; schwarzes Dreieck) von Kontroll- (OG, $N = 9$) und Versuchstieren (DKB, $N = 9$) in der Glycin-Färbung. Die drei dünnen schwarzen Linien stellen für jeden der drei Bezirke die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Zellzahlen.

3.4. Auswirkung der Ertaubung auf die Zelldichte der Neurone der LSO

3.4.1. Zelldichte in der Nissl-Färbung

Die Bestimmung der Zelldichte ermöglicht eine zusätzliche Aussage über den Einfluss von frühzeitiger Ertaubung auf die verschiedenen Bezirke der LSO. Der Vergleich der Mittelwerte der Zelldichte der Bezirke von Kontroll- [Mittelwert

0,000591 ± 0,000103 (SD) / μm^2 ; N = 9] und Versuchsgruppe [Mittelwert 0,000659 ± 0,000075 (SD) / μm^2 ; N = 12] zeigte keinen signifikanten Unterschied (t-test; P = 0,0951; siehe Abb. 31), obwohl eine Verringerung der LSO-Fläche bei den erlaubten Versuchstieren und eine gleichbleibende Zellzahl in der Nissl-Färbung in vorangehenden Tests nachgewiesen werden konnte.

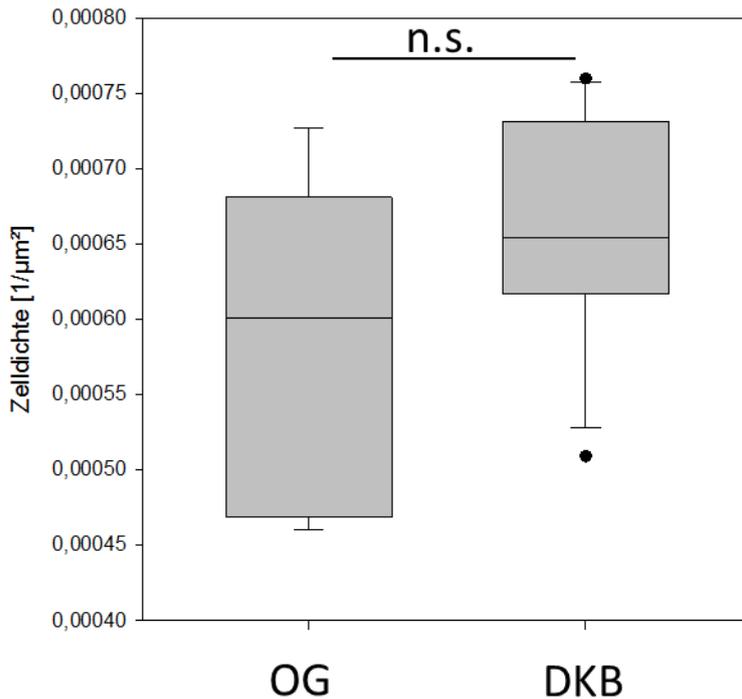


Abb. 31: Darstellung der gepoolten Zelldichte der Kontroll- (OG; N = 9; Median 0,000601 / μm^2 ; IQR = 0,000213 / μm^2) und Versuchstiere (DKB; N = 12; Median 0,000654 / μm^2 ; IQR = 0,000114 / μm^2) in der Nissl-Färbung; keine signifikante Zelldichtenabnahme bei frühzeitiger Ertaubung im Vergleich zu den normalhörenden Tieren (t-test; P = 0,0951).

Mit der Two Way Repeated Measures ANOVA wurde der Einfluss der beiden Faktoren Seite und Bezirk überprüft. Bei der Kontrollgruppe war die Zelldichte der linken Hemisphäre [Mittelwert 0,000617 ± 0,00015 (SD) / μm^2] schwach signifikant höher als rechts [Mittelwert 0,000565 ± 0,000144 (SD) / μm^2 ; P = 0,047; siehe Abb. 32 C]. Sowohl bei den für die linke und rechte Seite gepoolten Daten (siehe Abb. 32 A) als auch bei den für die Bezirke gepoolten Daten (siehe Abb. 32 B) liegen die meisten Werte unter der Diagonalen und

legen somit eine höhere Zelldichte für die linke Hemisphäre im Vergleich zur rechten nahe. Es fand sich eine signifikante Korrelation der für die linken und rechten Hemisphären gepoolten Zelldichten ($R^2 = 0,656$; $P = 0,008$; siehe Abb. 32 A) und auch beim Bezirksvergleich (siehe Abb. 32 B) für lateral ($R^2 = 0,496$; $P = 0,034$) und ventral ($R^2 = 0,724$; $P = 0,004$), nicht aber für den medialen Bezirk ($R^2 = 0,0906$; $P = 0,431$).

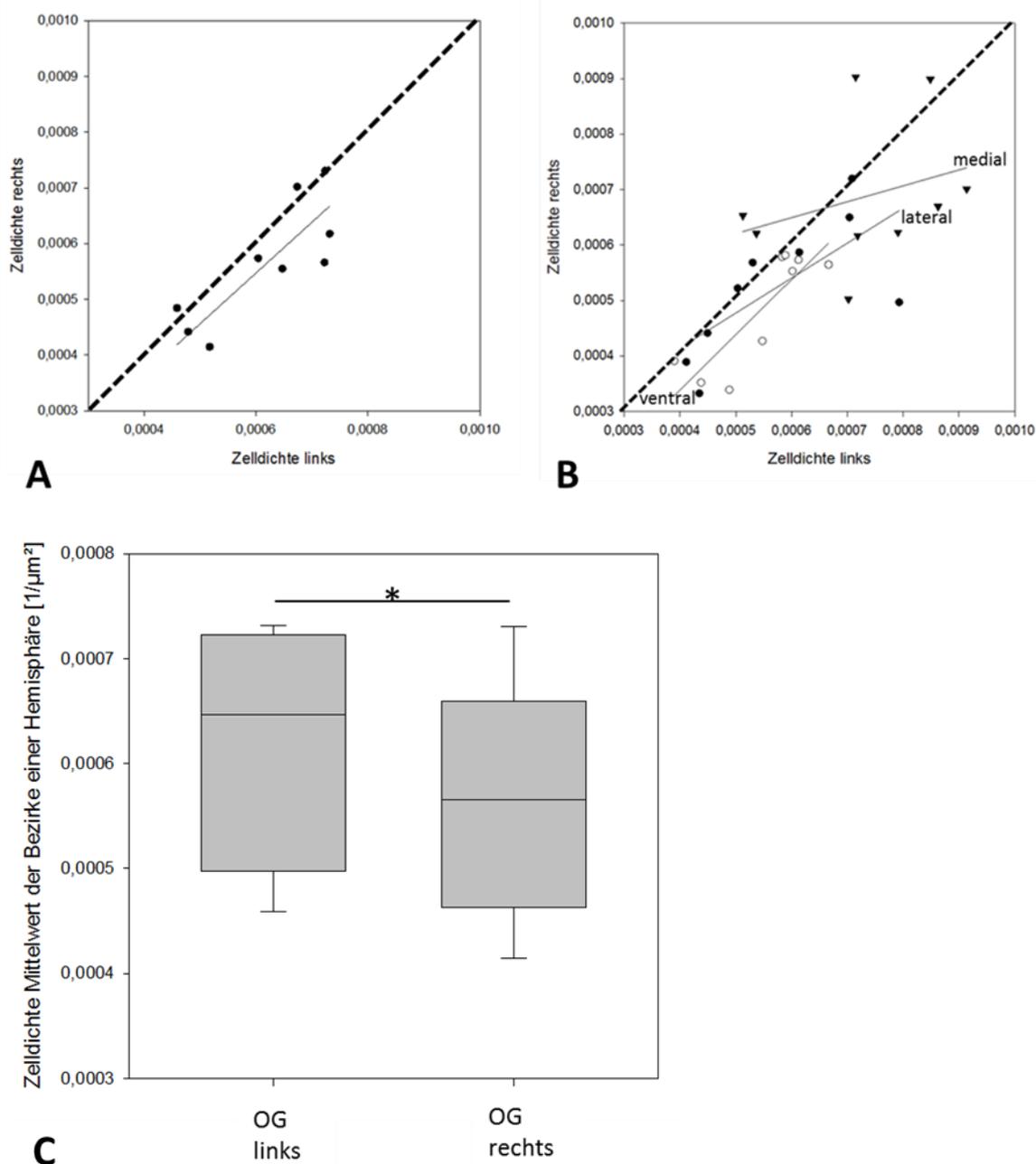


Abb. 32: Korrelationen zwischen der Zelldichte von linker und rechter Gehirnhälfte [$1/\mu\text{m}^2$] für die gepoolten Daten (Abb. A; $R^2 = 0,656$; $P = 0,008$) und für die einzelnen Bezirke (Abb. B) lateral ($R^2 = 0,496$; $P = 0,034$; schwarzer Kreis), ventral ($R^2 = 0,724$; $P = 0,004$; offener Kreis) und medial ($R^2 = 0,0906$; $P = 0,431$; schwarzes Dreieck) für die Kontrollgruppe ($N = 9$) in der Nissl-Färbung. Die dünnen schwarzen Linien stellen die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Werte der Zelldichte für beide Hemisphären. (C): Darstellung des signifikanten Unterschieds zwischen den Mittelwerten der Bezirke der linken und rechten Zelldichte für die Kontrollgruppe (links: Median $0,000647 / \mu\text{m}^2$; IQR = $0,000225 / \mu\text{m}^2$; rechts: Median $0,000566 / \mu\text{m}^2$; IQR = $0,000197 / \mu\text{m}^2$; paired t-test; $P = 0,047$).

Zudem wurde bei der Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied zwischen der Zelldichte des lateralen Bezirks [Mittelwert $0,000547 \pm 0,00013$ (SD) / μm^2], des ventralen [Mittelwert $0,000515 \pm 0,000097$ (SD) / μm^2] und des medialen Bezirks [Mittelwert $0,000710 \pm 0,00013$ (SD) / μm^2] festgestellt ($P < 0,001$). Bei der Überprüfung der Bezirke mit der Holm-Sidak Methode zeigte sich beim Vergleich von medial und lateral im medialen Bezirk eine signifikant höhere Zelldichte ($P < 0,001$). Der Vergleich der Zelldichte des medialen und ventralen Bezirks wies ebenfalls im medialen Bezirk eine signifikant höhere Zelldichte auf ($P < 0,001$), der Vergleich von lateral und ventral war nicht signifikant ($P = 0,128$). Eine statistisch signifikante Interaktion zwischen den beiden Faktoren Seite und Bezirk lag nicht vor ($P = 0,952$).

Bei der Versuchsgruppe zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Zelldichte von linker [Mittelwert $0,000638 \pm 0,000134$ (SD) / μm^2] und rechter Hirnhälfte [Mittelwert $0,000680 \pm 0,000161$ (SD) / μm^2 ; $P = 0,200$; siehe Abb. 33 C]. Es bestand keine signifikante Korrelation zwischen den Werten der Hemisphären (siehe Abb. 33 A; $R^2 = 0,120$; $P = 0,270$). Beim Vergleich der Bezirke lateral [Mittelwert $0,000615 \pm 0,000127$ (SD) / μm^2], ventral [Mittelwert $0,000609 \pm 0,000145$ (SD) / μm^2] und medial [Mittelwert $0,000754 \pm 0,000128$ (SD) / μm^2] wies mittels Holm-Sidak Methode der mediale Bezirk im Vergleich zum ventralen Bezirk eine signifikant höhere Zelldichte auf ($P = 0,003$), auch der Vergleich von medial und lateral zeigte im medialen Bezirk eine signifikant höhere Zelldichte ($P = 0,003$). Zwischen den Zelldichten des lateralen und ventralen Bezirks war kein signifikanter Unterschied festzustellen ($P = 0,878$). Es fand sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen den Faktoren Seite und Bezirk ($P = 0,433$). Für keinen der drei Bezirke konnte eine signifikante Korrelation der Zelldichte der linken und rechten Hemisphäre gefunden werden (siehe Abb. 33 B).

Zusammenfassend ist eine erhöhte Zelldichte im medialen Bezirk sowohl der Kontroll- als auch der Versuchsgruppe in der Nissl-Färbung festzuhalten.

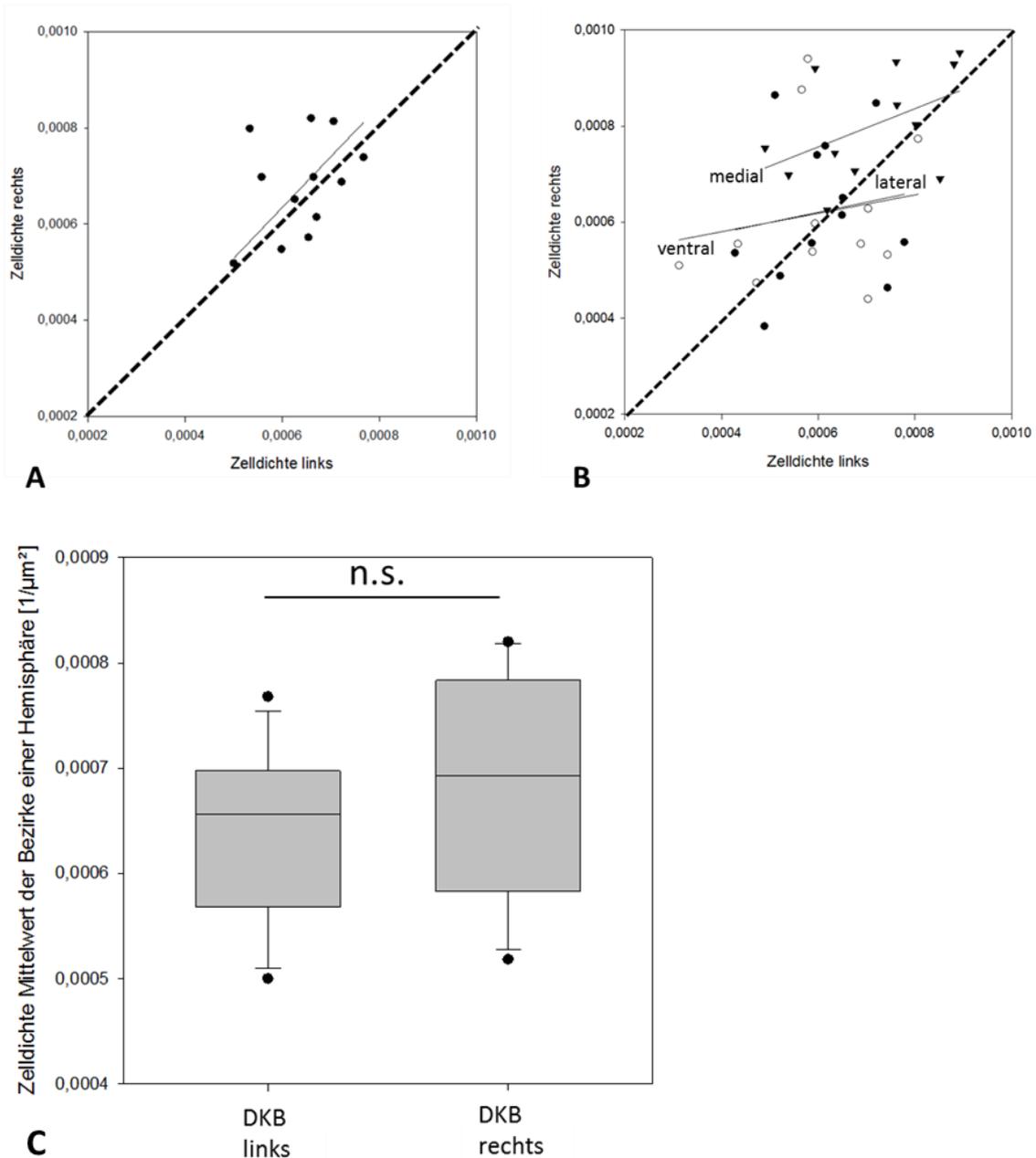


Abb. 33: Korrelationen zwischen der Zelldichte von linker und rechter Gehirnhälfte [$1/\mu\text{m}^2$] für die gepoolten Daten (Abb. A; $R^2 = 0,120$; $P = 0,270$) und für die einzelnen Bezirke (Abb. B) lateral ($R^2 = 0,0219$; $P = 0,646$; schwarzer Kreis), ventral ($R^2 = 0,0290$; $P = 0,597$; offener Kreis) und medial ($R^2 = 0,228$; $P = 0,116$; schwarzes Dreieck) für die Versuchsgruppe ($N = 12$) in der Nissl-Färbung. Die drei dünnen schwarzen Linien stellen die Korrelation dar, die dicke gestrichelte Linie bezeichnet gleiche Werte der Zelldichte für beide Hemisphären. (C): Darstellung des nicht-signifikanten Unterschieds zwischen den Mittelwerten der Bezirke der linken und rechten Zelldichte für die Versuchsgruppe (links: Median $0,000657 / \mu\text{m}^2$; IQR = $0,000129 / \mu\text{m}^2$; rechts: Median $0,000693 / \mu\text{m}^2$; IQR = $0,000201 / \mu\text{m}^2$; paired t-test; $P = 0,200$).

4. Diskussion

4.1. Identifikation der Neurone der LSO mittels Nissl- und immunhistologischer Färbungen

In der vorliegenden Arbeit wurden drei verschiedene Färbungen der Gehirne der normalhörenden Kontrollgruppe und der bilateral frühzeitig ertaubten Versuchsgruppe vorgenommen. Durch die Untersuchung der angefärbten Zellen sollten die morphologischen Unterschiede der Neurone der LSO herausgearbeitet werden.

Während die Nissl-Färbung alle Zellen kenntlich macht (siehe Kapitel 2.1.3.2.), identifizieren die immunhistologischen Färbungen mit GABA und Glycin nur die inhibitorischen Neurone. Es ist bekannt, dass nicht alle Zellen der LSO inhibitorische Neurotransmitter exprimieren (Gleich et al., 2004). In der Nissl-Färbung konnte in der LSO eine höhere Zellzahl als in der GABA- und Glycin-Färbung festgestellt werden. Diese Beobachtung steht im Einklang mit der vorliegenden Studie (siehe Kapitel 3.3.).

Die Neurotransmitter GABA und Glycin haben im zentralnervösen System eine hemmende Wirkung (Roberts and Kuriyama, 1968, Dutertre et al., 2012), dabei spielt besonders GABA eine tragende Rolle in der Verarbeitung von Schallsignalen im Hirnstamm (Roberts and Ribak, 1987, Muller, 1987, Thompson et al., 1985). Glycin ist für die ITD-Verarbeitung bedeutend, in der MSO von Gerbils konnte durch die Blockade glycinerner Reize eine Beeinträchtigung der binauralen exzitatorischen Wirkung dargestellt werden (Pecka et al., 2008). In der LSO ist das Gleichgewicht zwischen den exzitatorischen glutamatergen und den inhibitorischen glycinergen Inputs für die Ermittlung der ILDs essentiell. Es ist anzunehmen, dass bereits geringfügige Änderungen die Funktion des Richtungshörens beeinflussen. In anderen Kerngebieten wurde eine Beeinträchtigung der Funktion der inhibitorischen Wirkung durch Einflussfaktoren wie auch das Alter nachgewiesen. Im dorsalen Nucleus cochlearis konnte bei gealterten Ratten im Vergleich zur jungen Kontrollgruppe ein funktioneller Inhibitionsverlust durch die Abnahme der

glycinergen Inputs gezeigt werden (Caspary et al., 2005, Schatteman et al., 2008). Im IC wurde die altersbedingte Abnahme der GABA-Konzentration und eine verminderte GABAerge Neuronenzahl festgestellt (Caspary et al., 1995).

Viele Neurone in der LSO exprimieren sowohl GABA als auch Glycin, doch nicht alle GABA-positiven Zellen sind auch Glycin-positiv (Wenthold et al., 1987, Vater, 1995). Diese Koexpression ist dank eines gemeinsamen vesikulären Transportmoleküls möglich (Wojcik et al., 2006). Vorangehende Studien zeigten, dass die Mehrheit der Neurone mit hemmender Wirkung in der LSO GABA-positiv war und diese sich schwächer ausgeprägt in der Glycin-Färbung darstellen ließen (Helfert et al., 1989, Helfert et al., 1992). Eine bedeutsame Interaktion der beiden Neurotransmitter und die Möglichkeit der simultanen Aktivierung ihrer Rezeptoren ist bekannt (Amakhin and Veselkin, 2012). Durch die Veränderung der Chlorid-Ionen-Konzentration an der postsynaptischen Membran kann eine gegenseitige Beeinflussung der inhibitorischen Wirkung von GABA und Glycin hervorgerufen werden (Fischl and Burger, 2014), co-exprimiertes GABA konnte die Dauer der inhibitorischen Wirkung von Glycin herabsetzen (Lu et al., 2008).

Die vorliegende Arbeit untersuchte die morphologischen Veränderungen der Neurone der LSO. Die inhibitorischen GABAergen und glycinergen Nervenzellen wurden separat betrachtet, denn bisher liegen nur wenige Studien zur Rolle der Inhibition in der LSO bei bilateral kongenitaler Ertaubung vor.

4.2. Effekte der Ertaubung

4.2.1. Querschnittsfläche der LSO

Die vorliegende Arbeit zeigte mit hohen Signifikanzwerten eine Abnahme der Querschnittsfläche der LSO bei den frühzeitig ertaubten Versuchstieren in allen drei Färbungen (siehe Kapitel 3.1.). Dies deutet eine Schrumpfung des Kerngebiets bei bilateraler frühzeitiger Ertaubung in beiden Hirnhälften an. Die strukturelle und funktionelle Integrität von Neuronen ist abhängig von afferenten Projektionen. Bereits 1949 wurde im Tierversuch die Bedeutung afferenter Bahnen für die Entwicklung auditorischer Zentren beschrieben (Levi-

Montalcini, 1949). In der LSO können die ILDs und ITDs auf der Grundlage des Gleichgewichts von ipsilateralen exzitatorischen glutamatergen und kontralateralen inhibitorischen glycinergen Inputs ermittelt werden (siehe Kapitel 1.1.3.) und sind somit abhängig von bilateralen Funktionen der LSO (Grothe and Pecka, 2014). Werden Leitungsbahnen beschädigt, können Atrophien in den Zellen entstehen, die die Signale empfangen. Die Atrophien können sich in der Schrumpfung der LSO widerspiegeln. Dies ginge parallel mit Studien, die bei unilateraler Ertaubung von Frettchen eine ipsilaterale Verkleinerung des Kerngebiets der LSO feststellten (Moore, 1992). In anderen Kerngebieten des auditorischen Systems wurden ebenfalls degenerative Veränderungen bei Ertaubung beschrieben. Eine Volumenverringerung des CN wurde bei bilateral tauben Katzen festgestellt (Saada et al., 1996), bei der frühzeitigen Ertaubung von neugeborenen Katzen zeigte sich im gleichen Kerngebiet zudem eine verringerte Zellgröße und Zelldichte (Lustig et al., 1994). Bei Mäusen, die am sechsten Lebenstag unilateral ertaubt wurden, entwickelte sich bis zum 45. Lebenstag eine ipsilaterale Größenabnahme des CN, die mit einer Zellzahlabnahme der Kerngebiets einherging (Trune, 1982). Auch Frettchen, die am 12. Lebenstag unilateral ertaubt wurden, wiesen ipsilateral im Vergleich zu kontralateral ein vermindertes Volumen des CN auf (Moore and Kowalchuk, 1988).

Hinsichtlich der Funktionalität der LSO ist eine Beeinträchtigung des sensiblen Systems, das das Richtungshören ermöglicht, anzunehmen. Atrophien gehen meist mit einem Funktionsverlust einher. Diese Vermutung legt eine Abnahme der Funktionalität von Projektionskernen der LSO im auditorischen System nahe.

Bei kongenitaler bilateraler Taubheit wurde im IC bei von Geburt an vollständig tauben, beidseits Cochlea-implantierten Katzen im Vergleich zu akut ertaubten Tieren eine stark herabgesetzte ITD-Sensitivität festgestellt (Hancock et al., 2010). Auch im adulten Kortex kongenital tauber Katzen zeigte sich im Vergleich zur hörenden Kontrollgruppe ein verringertes Ansprechen auf die binaurale elektrische Stimulation, die auf eine beeinträchtigte kortikale Repräsentation der ITDs hinweist (Tillein et al., 2010). Bei kongenitaler

Taubheit gibt es auch Hinweise auf eine Anpassung der neuronalen Aktivität in der LSO, die auf den Erhalt der ILD-Verarbeitung abzielt. In der LSO wurde in elektrophysiologischen Arbeiten bei kongenital tauben Mäusen eine Zunahme an Single-Spiking-Neuronen festgestellt und die Entwicklung des inhibitorischen glycinergen Inputs schien einen normalen Verlauf zu nehmen (Couchman et al., 2011). Ipsilaterale Projektionen vom AVCN zur LSO und kontralaterale Projektionen vom AVCN zum MNTB waren bei kongenital tauben Mäusen intakt (Youssofian et al., 2008). Auch die altersbedingte Abnahme der zur LSO projizierenden Neurone des MNTB spiegelte sich nicht in einer veränderten Funktion der LSO wider (Finlayson, 1995). Im Vergleich zu anderen Kerngebieten des zentralen auditorischen Systems könnten diese Studien zumindest für Mäuse ein Hinweis auf nur gering ausgeprägte Veränderungen und eine stärkere Resistenz der LSO bei frühzeitiger Ertaubung sein. In der vorliegenden Studie hingegen deutet die Verringerung der LSO-Querschnittsfläche eine Beeinträchtigung der Verarbeitung der ITDs und vor allem der ILDs bei Gerbils an.

4.2.2. Zellgrößen der LSO in der Nissl-Färbung

Analog zu den Auswirkungen der Ertaubung auf die LSO-Querschnittsfläche ist auch die Zellgrößen betreffend eine Schrumpfung anzunehmen. Tatsächlich zeigte die vorliegende Arbeit eine hochsignifikante Reduktion der Zellgrößen in der Nissl-Färbung bei Ertaubung (siehe Kapitel 3.2.). Innerhalb der ertaubten Versuchsgruppe waren die Zellen zudem im medialen hochfrequenten linken Bezirk größer als in den anderen Bezirken. Unter Berücksichtigung eines möglichen frequenzabhängigen Effekts wurden die einzelnen Bezirke von Kontroll- und Versuchsgruppe verglichen. Es zeigte sich lateral, ventral und medial eine hochsignifikante Abnahme der Zellgrößen bei Ertaubung. Diese statistisch signifikante Größenminderung der Neurone ist vereinbar mit den Ergebnissen anderer Forschungsarbeiten zu morphologischen Veränderungen im auditorischen System, die ebenfalls eine Verkleinerung der Nervenzellen sowohl bei unilateraler als auch bilateraler Ertaubung im CN und IC bei Ertaubung feststellten (Moore and Kowalchuk, 1988, Lesperance et al.,

1995, Saada et al., 1996, Nishiyama et al., 2000, Lustig et al., 1994). Eine Zellschrumpfung zeigte sich auch nach Taubheit beim erwachsenen Menschen. Die Zellgrößen des AVCN, der MSO und des IC wiesen beim Erwachsenen innerhalb eines Individuums ein ähnliches Ausmaß der degenerativen Veränderungen auf, die sich besonders in einer Abnahme der Zellgröße äußerten (Moore et al., 1997). Diese Degenerationen gehen einher mit der in der vorliegenden Arbeit festgestellten abnehmenden Zellgröße der Neurone in der LSO bei frühzeitiger bilateraler Ertaubung.

4.2.3. Zellzahlen der LSO in der Nissl-, GABA- und Glycin-Färbung und Zelldichte in der Nissl-Färbung

Über die gesamte LSO zeigte die vorliegende Arbeit in allen drei Färbungen keine Abnahme der Zellzahlen bei Ertaubung (siehe Kapitel 3.3.). Bei der Überprüfung der gesamten LSO-Zelldichte wurde keine signifikante Abnahme zwischen der normalhörenden und der ertaubten Gruppe festgestellt. Die separate Betrachtung des hochfrequenten Bezirks war besonders in dieser Arbeit bedeutsam, da gezeigt werden konnte, dass Aminoglykoside, die in der vorliegenden Studie zur Ertaubung verwendet wurden, zuerst die Degenerationen der Haarzellen im hochfrequenten Bereich der Cochlea herbeiführten (Leake et al., 1997). Daher sollte neben der Beurteilung ertaubungsbedingter morphologischer Veränderungen über die gesamte LSO überprüft werden, ob auch für die Zellzahlen und -dichte der Effekt des Fortschreitens der Degenerationen vom hoch- zum niedrigfrequenten Bereich der LSO zutreffend ist. In der vorliegenden Arbeit wies der Vergleich der Zellzahlen der einzelnen Bezirke keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen auf. Allein in der Glycin-Färbung wurde im medialen Bereich eine Abnahme der Zellzahlen für die ertaubten Tiere festgestellt (siehe Kapitel 3.3.3.). Dies könnte ein Hinweis auf die Abhängigkeit degenerativer Veränderungen glycinerge Zellen von der Tonotopie sein (siehe Kapitel 4.2.4.).

Arbeiten zu altersbedingten Veränderungen der LSO in Tierversuchen zeigten hinsichtlich der Neuronenanzahl keine Veränderung, dies konnte für gealterte Ratten (Casey, 1990) und Wüstenrennmäuse (Radtke-Schuller et al., 2015)

gezeigt werden. In Abhängigkeit von der Tonotopie wurde allerdings bei alten Tieren eine stärker ausgeprägte Zellzahlabnahme der cholinergen efferenten Neurone im medialen hochfrequenten Bereich im Vergleich zum lateralen niedrigfrequenten Bereich dargestellt (Radtke-Schuller et al., 2015). In anderen Studien konnte dieser frequenzabhängige Unterschied der Neuronenzahl zwischen den Altersgruppen für inhibitorische Zellen in der LSO nicht festgestellt werden (Gleich et al., 2004). Die GABAerge und glycinerge Zellzahl sowie die Dimensionen der LSO und die Zelldichte zeigten sich bei gealterten Gerbils konstant. Die Frequenzabhängigkeit spiegelte sich in der Abnahme der Somagröße der Neurone im medialen hochfrequenten Bereich wider.

In der vorliegenden Arbeit konnte die Abnahme der Nervenzellzahlen im medialen Bezirk nur in der Glycin-Färbung nachgewiesen werden. Deshalb ist die Aussagekraft dieses singulären Ereignisses auch angesichts der geringen Zellzahl in der Glycin-Färbung eingeschränkt. Der glycinerge inhibitorische Input in der LSO bei kongenitaler Taubheit nahm im Tierversuch mit kongenital tauben Mäusen auch ohne Aktivität des Hörnervs eine normale Entwicklung (Couchman et al., 2011). Um die Auswirkungen von frühzeitiger Ertaubung bei Gerbils auf die glycinergen Neurone des medialen Bezirks genauer beschreiben zu können, müssten weitere Studien durchgeführt werden.

Lichtmikroskopische Studien, die sich den Auswirkungen von Ertaubung auf die Neuronenzahl in der zentralen Hörbahn widmeten, legten eine verminderte Zellzahl im CN dar. Bei unilateraler Ertaubung konnte dieser Neuronenverlust im ipsilateralen CN bei der mongolischen Wüstenrennmaus (Hashisaki and Rubel, 1989, Tierney et al., 1997) und auch beim Frettchen (Moore, 1990b) aufgezeigt werden.

Auch in der LSO war bei kongenitaler unilateraler Ertaubung bei Frettchen auf der ipsilateralen im Vergleich zur kontralateralen Seite eine Abnahme der Neuronenzahl, eine Verringerung der Größe des Kerngebiets und eine Schrumpfung der verbleibenden Neurone festzustellen (Moore, 1992).

In der vorliegenden Arbeit konnte keine systematische Abnahme der Neuronenzahl in der LSO bei frühzeitiger bilateraler Ertaubung festgestellt

werden. Eine unveränderte Zellzahl bei Ertaubung gibt aber noch keine Auskunft über die Funktionalität der Neurone. Die verringerte Neuronengröße (siehe Kapitel 3.2.) kann selbst bei gleichbleibender Zellzahl auf eine gestörte Funktion hinweisen. Zudem ist der Zelluntergang ein längerfristiger Prozess, der bei der in dieser Studie vorgenommenen Ertaubungsdauer nicht abgedeckt sein könnte. Weitere elektrophysiologische Studien sind nötig, um die funktionellen Konsequenzen der beobachteten morphologischen Veränderungen insbesondere auf die ILD-Ermittlung beurteilen zu können.

4.2.4. Tonotope Anordnung der Neurone in der LSO

Die LSO ist ein tonotop angeordneter Kernkomplex im Hirnstamm (siehe Kapitel 1.1.3.). In der vorliegenden Arbeit wurden die Bezirke und die beiden Gehirnhälften innerhalb einer Gruppe separat verglichen, um einen frequenz- oder seitenabhängigen Effekt der Ertaubung zu überprüfen. In vorangehenden Studien wurden bereits frequenzabhängige Degenerationen bei Ertaubung beschrieben. Beim Menschen wurde im basalen Bereich der Cochlea eine stärkere Degeneration des Spiralganglions als apikal festgestellt (Zimmermann et al., 1995, Nadol, 1997). Auch im Tierversuch mit einem tauben Rottweiler-Welpen konnte diese Beobachtung bestätigt werden (Coppens et al., 2001). Es ist bekannt, dass durch die Ertaubung mit Aminoglykosiden die Degeneration der Haarzellen vom hochfrequenten Bereich an der Basis der Cochlea zum niedrigfrequenten Bereich am Apex fortschreitet (Leake et al., 1997). Deshalb sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, ob auch in der LSO morphologische Veränderungen in Abhängigkeit von der Tonotopie vorliegen, die sich in bezirksabhängigen Unterschieden der Neuronengröße und –anzahl widerspiegeln würden.

Bei der Analyse der Zellgrößen wies in der Nissl-Färbung die Kontrollgruppe weder Seiten- noch Bezirksunterschiede auf, doch die Versuchsgruppe zeigte im medialen linken Bezirk größere Neurone auf als im lateralen und ventralen Bezirk der linken Hemisphäre. Rechts wurde bei den DKBs kein signifikanter Unterschied zwischen den lateralen, ventralen und medialen Zellgrößen festgestellt. Im lateralen und auch ventralen Bezirk fand sich kein signifikanter

Unterschied zwischen den beiden Gehirnhälften der Versuchsgruppe. Die Zellen des linken medialen Bezirks waren allerdings signifikant größer als im rechten medialen Bezirk (siehe Kapitel 3.2.). Der signifikante Unterschied der Bezirke war nur in der Versuchsgruppe und als unilateraler Effekt festzustellen. Die Auswirkung auf die Funktionalität der hochfrequenten medialen Zellen ist fraglich. Die LSO verarbeitet hochfrequente binaurale Schallsignale zur Ermittlung der ILDs, die bei einer Beeinträchtigung der Zellen des medialen Bezirks besonders gestört wäre. Doch ob ein unilateraler Effekt in der Versuchsgruppe als ertaubungsbedingt eingestuft werden kann, muss durch weitere Studien untersucht werden.

Beim Vergleich der Zellzahlen der drei Bezirke wurde in der Nissl-Färbung sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den ertaubten Gerbils im medialen hochfrequenten Bezirk eine signifikant höhere Anzahl an Neuronen festgestellt (siehe Kapitel 3.3.1.), was auch mit der Analyse der Zelldichte in der Kontroll- und Versuchsgruppe im Einklang stand (siehe Kapitel 3.3.4.). Bereits in vorangehenden Studien wurde eine höhere Neuronendichte im medialen hochfrequenten Bereich der LSO in der Nissl-Färbung dargestellt, die dort mit einer niedrigeren Zelldichte in der GABA- und Glycin-Färbung einherging und einen verminderten Effekt der beiden inhibitorischen Neurotransmitter in den Zielgebieten dieser hochfrequenten LSO-Neurone andeutet (Gleich et al., 2004). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit könnten als Hinweis auf den Erhalt der Tonotopie in der LSO bei Ertaubung und ihre Spezialisierung auf hochfrequente Schallsignale zur ILD-Ermittlung gewertet werden, bedürfen aber zur Bewertung der Funktionalität noch weiterer elektrophysiologischer Untersuchungen.

In der GABA-Färbung zeigte sich für die OG-Tiere keinerlei Unterschied zwischen den Zellzahlen der drei Bezirke, für die DKB-Tiere wurde im rechten ventralen Bezirk im Vergleich zum linken ventralen Bezirk eine erhöhte Neuronenzahl festgestellt, der Rechts-Links-Vergleich für den lateralen und medialen Bezirk sowie der Vergleich der Bezirke einer Gehirnhälfte blieb ohne signifikanten Unterschied (siehe Kapitel 3.3.2.).

In der Glycin-Färbung war bei den Kontrolltieren kein Unterschied der Zellzahlen von Seite und Bezirk nachzuweisen. Die Versuchstiere zeigten keinen Seiteneffekt, aber eine höhere Neuronenzahl im lateralen Tieftondominanten Anteil im Vergleich zum ventralen und medialen Bezirk (siehe Kapitel 3.3.3.). Auch in einer vorangehenden Studien zu den immunhistologischen Färbungen wurde in der LSO von gealterten Wüstenrennmäusen im hochfrequenten medialen Bezirk eine niedrigere Neuronendichte für GABA und Glycin als in den mittel- und niedrigfrequenten Bereichen des Kerngebiets festgestellt (Gleich et al., 2004). Bei normalhörenden mongolischen Wüstenrennmäusen wurde aber auch eine Abhängigkeit der inhibitorischen Wirkung von Glycin von der Tonotopie und einer darin begründeten stärkeren Ausprägung der Glycin-positiven Neurone in hochfrequenten Bezirken der LSO aufgezeigt (Sanes et al., 1987). Hinsichtlich der geringen Anzahl von Zellen innerhalb eines Bezirks in der vorliegenden Arbeit könnte das statistische Ergebnis der höheren Zellzahl im rechten ventralen im Vergleich zum linken ventralen Bezirk der Versuchsgruppe in der GABA-Färbung und der höheren Zellzahl im lateralen Bezirk der Versuchsgruppe in der Glycin-Färbung als singuläre Abweichung eingestuft werden. Dennoch besteht die Möglichkeit, die relative Erniedrigung im hochfrequenten medialen Bezirk gegenüber dem tieffrequenten lateralen Anteil als ertaubungsbedingten Effekt zu werten.

4.2.5. Asymmetrien der Hemisphären

Das Gehirn weist zahlreiche strukturelle Asymmetrien und Lateralisationen hinsichtlich vieler Funktionen auf (Geschwind and Galaburda, 1985, Corballis, 2014). So findet sich die Verarbeitung von Sprache bei den meisten Menschen in der linken Hemisphäre (Bishop, 2013), während die räumliche Vorstellungskraft vornehmlich rechts lokalisiert ist (Floel et al., 2005).

In der vorliegenden Arbeit wurde die LSO der beiden Hemisphären untersucht. Im Rechts-Links-Vergleich der erhobenen Daten konnte zum Teil eine Asymmetrie festgestellt werden. Beim Vergleich der Querschnittsflächen der LSO (siehe Kapitel 3.1.) zeigte sich in der Nissl- sowie den

immunhistologischen Färbungen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gehirnhälften in beiden Gruppen. Hinsichtlich der Zellgrößen der gesamten LSO der Kontroll- und Versuchsgruppe fand sich ebenfalls keine Asymmetrie bei der Betrachtung der Mittelwerte der rechten und der linken Hirnhälfte (siehe Kapitel 3.2.1.). Dennoch wurde bei den frühertaubten Versuchstieren eine Asymmetrie auf Bezirksebene festgestellt. Der mediale Bezirk links wies größere Zellen als rechts auf. Die Zellzahlen in der Nissl-Färbung zeigten bei der normalhörenden Kontrollgruppe keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Hemisphären. Bei der ertaubten Versuchsgruppe war hingegen ein schwach signifikanter Unterschied zwischen der linken und rechten Gehirnhälfte darstellbar (siehe Kapitel 3.3.1.), rechts wurde eine höhere Neuronenzahl festgestellt. Dieses Ergebnis spiegelte sich allerdings nicht durch die Testung der Zelldichte wider, die Zelldichte steht auch in Abhängigkeit der Fläche des Kerngebiets. Die Kontrollgruppe zeigte auf der linken Seite eine schwach signifikante höhere Dichte als rechts (siehe Kapitel 3.4.1.), die DKB-Tiere wiesen bei der Überprüfung der Zelldichte keine Asymmetrien auf.

In der GABA-Färbung (siehe Kapitel 3.3.2.) war bei den Kontrolltieren weder auf Seiten- noch Bezirksebene ein signifikanter Unterschied der Zellzahlen festzustellen. Bei den Versuchstieren hingegen war eine Asymmetrie auf Bezirksebene darstellbar. Während die Vergleiche der Bezirke innerhalb einer Gehirnhälfte nicht signifikant waren, zeigte sich beim separaten Vergleich der einzelnen Bezirke der linken und rechten Gehirnhälfte eine signifikant höhere Zellzahl im ventralen rechten Anteil im Vergleich zum ventralen linken. Ein Unterschied zwischen den lateralen und medialen Bezirken der beiden Seiten war jeweils nicht darstellbar.

In der Glycin-Färbung konnte sowohl für die OGs als auch für die DKBs kein Hinweis auf Asymmetrien beim Vergleich der Zellzahlen der beiden Gehirnhälften sowie auf Bezirksebene aufgezeigt werden (siehe Kapitel 3.3.3.).

Wie sind die beobachteten Asymmetrien nun zu interpretieren? Die erhobenen Unterschiede wiesen meist ein geringes Signifikanzniveau auf, dies gilt besonders für die Nissl-Färbung in Zellgröße und -anzahl. Auch beim

Überprüfen der Zelldichte zeigte sich nur eine schwach signifikant höhere Dichte der linken im Vergleich zur rechten Hemisphäre, die sich allein für die Kontrollgruppe aufweisen ließ. Dennoch muss dieser signifikante Unterschied berücksichtigt werden, in der Nissl-Färbung wurden die gesamten vorhandenen Neurone der LSO der 9 Kontroll- und 12 Versuchstiere untersucht. Bezüglich GABA- und Glycin-Färbung muss die geringe Zellzahl in den einzelnen Bezirken bedacht werden. Sind die auszuwertenden Daten gering, fallen Unterschiede mehr ins Gewicht und es finden sich häufiger falsch positive Ergebnisse. Insgesamt lässt sich keine einheitliche Tendenz einer Asymmetrie in der LSO anhand der vorliegenden Arbeit feststellen. Allerdings bedarf es weiterer Studien, um ertaubungsbedingte hemisphärenspezifische Unterschiede in den Zellparametern für die Nissl-gefärbten und besonders für GABAerge und glycinerge Neurone in der LSO abschließend beurteilen zu können.

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der systemisch vorgenommenen bilateralen Ertaubung. Bei unilateraler Ertaubung sind in der Literatur Asymmetrien in der zentralen Hörbahn beschrieben (siehe Kapitel 1.3.), doch die systemische bilaterale Ertaubung ist klar davon abzugrenzen. Auswirkungen auf die Symmetrie der zentralen Hörbahn werden nicht erwartet und sind bisher auch nicht in der Literatur beschrieben. Welchem Zweck würde eine Lateralisation im auditorischen System im Sinne eines einseitig stärker ausgeprägten Kernkomplexes im Hirnstamm dienen? Schallsignale können von allen Richtungen eintreffen, in der bewegten Natur gibt es keine Präferenz. Dementsprechend wäre bei der ILD- und ITD-Verarbeitung durch die LSO ebenfalls eine Symmetrie zu erwarten. Beide Hirnhälften müssten genauso sensibel für ankommende akustische Reize sein, um deren Lokalisation vornehmen zu können. Es müssen weitere Studien vollzogen werden, um die Frage nach den Auswirkungen frühzeitiger Ertaubung auf die Symmetrie zwischen den linken und rechten Kerngebieten des Hirnstamms zu verfolgen.

5. Zusammenfassung

Der Verlust des Hörens geht mit gravierenden Einschränkungen in der Kommunikation und den sozialen Fähigkeiten Betroffener einher. Die Beeinträchtigung von Menschen mit Hörverlust weist auf die enorme Bedeutung des Hörens im täglichen Leben hin. Es gibt bereits viele Studien, die sich mit den morphologischen und physiologischen Veränderungen im auditorischen System im Alter oder bei uni- und bilateraler Ertaubung beschäftigen, die sowohl im peripheren als auch im zentralen Hörsystem entstehen. Wenig bekannt ist jedoch das Ausmaß ertaubungsbedingter morphologischer Veränderungen in der LSO. Solche Veränderungen könnten einen wesentlichen Einfluss auf die ILD-Verarbeitung haben und somit zu Defiziten in der Lokalisation hochfrequenter Schallsignale führen.

Die vorliegende Arbeit untersuchte daher die morphologischen Auswirkungen der frühzeitigen bilateralen Ertaubung auf die LSO. In einem Tierversuch mit insgesamt 22 Versuchstieren wurde die Mongolische Wüstenrennmaus herangezogen, deren Hörspektrum einen Vergleich zum menschlichen Frequenzbereich zulässt. Es wurden zehn gesunde Kontrolltiere und zwölf frühzeitig bilateral ertaubte Gerbils verwendet.

Das Richtungshören steht unter dem Einfluss der Interaktion von inhibitorischen und exzitatorischen Neurotransmittern. In der vorliegenden Arbeit wurden die Gehirne der Tiere zur histologischen Auswertung mit drei Färbungen aufgearbeitet. Die Nissl-Färbung identifiziert alle vorhandenen Neurone, während die immunhistologischen Färbungen (GABA und Glycin) die inhibitorischen Nervenzellen kenntlich machen.

In der LSO wurde der Einfluss frühzeitiger Ertaubung auf die gesamte Querschnittsfläche und die Zellzahl in allen drei Färbungen sowie auf die Zellgröße und Zelldichte in der Nissl-Färbung histologisch untersucht. Die Effekte der Ertaubung auf dieses Kerngebiet wurden auch im Hinblick auf Hemisphärenunterschiede und Veränderungen der Tonotopie untersucht. Für jedes Tier und jede Färbung wurde die LSO beider Gehirnhälften dargestellt

und entsprechend ihrer bekannten tonotopen Gliederung in drei gleichgroße Bezirke unterteilt. Zellen hoher Frequenzen sind medial, Zellen mittlerer Frequenzen ventral und Zellen tiefer Frequenzen lateral lokalisiert.

Eine signifikante Schrumpfung des Kerngebiets der LSO war bei Ertaubung festzustellen. Dieser Effekt konnte in der Nissl- und auch in den immunhistologischen Färbungen inhibitorischer Neurone beobachtet werden. Die Zellgrößen in der Nissl-Färbung nahmen bei ertaubten Tieren ebenfalls signifikant ab. Hinsichtlich der Zellzahlen wurde jedoch keine Verminderung festgestellt, die Zelldichte in der Nissl-Färbung zeigte ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe.

Um den Einfluss der frühzeitigen bilateralen Ertaubung auf die Tonotopie der LSO zu untersuchen, wurden die LSO-Bezirke der beiden Gruppen (OG und DKB) einzeln verglichen. Im medialen hochfrequenten Bereich waren in der Nissl-Färbung eine höhere Zellzahl und Zelldichte in beiden Gruppen festzustellen und innerhalb der Versuchsgruppe auf der linken Seite ebenfalls im medialen Bezirk größere Zellen zu erheben. Bei den immunhistologischen Färbungen war allein in der Glycin-Färbung der Versuchsgruppe im lateralen Bezirk eine signifikant höhere Zellzahl als medial und ventral darzustellen. Die statistischen Ergebnisse zum medialen hochfrequenten Bezirk in der Nissl-Färbung könnten auf die Spezialisierung der LSO auf hochfrequente Schallsignale zur ILD-Ermittlung und den Erhalt der Tonotopie nach Ertaubung hinweisen.

Beim Vergleich der Bezirke der Kontroll- und Versuchsgruppe sind alle separaten statistischen Tests im Einklang mit der Veränderung der gesamten LSO. Die Zellgrößen weisen in allen drei Bezirken und über die gesamte LSO bei Ertaubung eine Schrumpfung auf, die Zellzahlen verändern sich nicht in einem signifikanten Ausmaß. Einzig beim medialen Bezirk in der Glycin-Färbung war eine Verminderung der Zellzahlen nach Ertaubung darzustellen, alle anderen Bezirksvergleiche waren nicht signifikant.

Beim Überprüfen der Asymmetrien in der LSO zeigte sich keine einheitliche Tendenz. Für die LSO-Querschnittsfläche wurde in beiden Gruppen und den

drei Färbungen keinerlei Asymmetrie festgestellt. In der Nissl-Färbung wurde für die ertaubten Tiere eine höhere Zellzahl auf der rechten Gehirnhälfte im Vergleich zur linken Seite dargelegt, die Zelldichte war in der Kontrollgruppe auf der linken Gehirnhälfte signifikant höher als auf der Gegenseite. Auf Bezirksebene konnten für die Versuchstiere in der Nissl-Färbung im medialen linken Bezirk größere Zellen dargestellt werden als auf der rechten Seite. In der GABA-Färbung zeigten sich im ventralen rechten Bezirk mehr Zellen als im gleichen Bezirk der linken Hemisphäre. Bei einer systemischen bilateralen Ertaubung sind keine Hemisphärenunterschiede zu erwarten. Der Erhalt der Symmetrie der Hörbahn ist anzunehmen und steht auch im Einklang mit den erhobenen Daten unter Berücksichtigung der fehlenden Konsistenz der Asymmetrien und den geringen Zellzahlen in den immunhistologischen Färbungen.

In der vorliegenden Arbeit wurden deutliche ertaubungsbedingte Veränderungen festgestellt, die auch im Vergleich zu altersbedingten Degenerationen stärker ausgeprägt sind. Bei Ertaubung wurde eine Schrumpfung des Kerngebiets und der Zellgrößen aufgezeigt, doch kein Effekt eines Zelluntergangs der Neurone. Nun stellt sich die Frage, in welchem Ausmaß diese beobachteten pathologischen Veränderungen die Funktionsfähigkeit der LSO beeinflussen. Spiegeln sich die Degenerationen in einer Verringerung der Funktionstüchtigkeit der Nervenzellen wider und führen zu einer Beeinträchtigung des Richtungshörens? Zukünftige elektrophysiologische und psychophysische Studien sind notwendig, um diese Fragen beantworten zu können.

Die vorliegende Arbeit leistet einen Beitrag zur genaueren Beleuchtung der morphologischen zentralen Veränderungen im Hörsystem bei frühzeitiger bilateraler Ertaubung und gibt Anreiz zu weiteren Forschungsarbeiten.

6. Anhang

6.1. Abkürzungen

A. dest.	Destilliertes Wasser
ABC	Avidin-Biotin-Komplex
ABR	Akustisch evozierte Potentiale
AVCN	Anteroventraler Nucleus cochlearis
CN	Nucleus cochlearis
DAB	Diammininobenzidin-Lösung
DKB	Versuchstiere
DNLL	Nucleus dorsalis des Lemniscus lateralis
GABA	γ -Amino-Buttersäure
GBC	Globular bushy cell
IC	Colliculus inferior
ILD	Interaural Level Difference
IQR	Interquartilsabstand
ITD	Interaural time difference
LNTB	Nucleus lateralis des Trapezkörpers
LSO	Lateraler oberer Olivenkern
MNTB	Nucleus medialis des Trapezkörpers
MSO	Medialer oberer Olivenkern
NDS	Normal-Donkey-Serum
OG	Kontrolltiere
PBS	Phosphatpuffer mit Natriumchlorid
PBST	PBS-Triton-Puffer
RT	Raumtemperatur
SBC	Spherical bushy cell
SD	Standardabweichung

6.2. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht der verwendeten Reagenzien mit Firmenangaben

Avidin-Biotin-Komplex	Fa. Linaris, Dossenheim, Deutschland
Bumetanid	Fa. Leo Pharmaceutical Products, Ballerup, Dänemark
D(+)-Saccharose	Fa. Roth, Karlsruhe, Deutschland
DAB	Fa. Sigma-Aldrich, St. Louis, Vereinigte Staaten
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Entellan	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Essigsäure	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Ethanol 100%	Fa. Th. Geyer, Renningen, Deutschland
Glutardialdehyd	Fa. Roth, Karlsruhe, Deutschland
Kanamycinsulfat	Fa. Sigma-Aldrich, St. Louis, Vereinigte Staaten
Ketaminhydrochlorid	Fa. Parke-Davis, Detroit, USA
Kresylviolett	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Magermilchpulver	Fa. Milupa, Bad Homburg vor der Höhe, Deutschland
Methanol	Fa. Sigma-Aldrich, St. Louis, Vereinigte Staaten
Natriumacetat	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumborohydrid	Fa. Sigma-Aldrich, St. Louis, Vereinigte Staaten
Natriumchlorid	Fa. Sigma-Aldrich, St. Louis, Vereinigte Staaten
Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumnitrit	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Nickelammoniumsulfat	Fa. Sigma-Aldrich, St. Louis, Vereinigte Staaten
Normal-Donkey-Serum (NDS)	Fa. Dianova, Hamburg, Deutschland
Paraformaldehyd	Fa. Roth, Karlsruhe, Deutschland
Tissue Tek	Fa. Sakura, Alphen aan den Rijn,

	Niederlande
Triton-X-100	Fa. Serva Electrophoresis, Heidelberg, Deutschland
Wasserstoffperoxid	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Xylazinhydrochlorid	Fa. cp-Pharma, Burgdorf, Deutschland
Xylol	Fa. Riedel de Haen, Seelze, Deutschland

Tab. 2: Übersicht der verwendeten Lösungen und Puffer

0,1 M PBS-Triton-Puffer (PBST)	500 ml 0,1 M PBS 200 µl Triton-X-100
0,1 M Phosphatpuffer mit Natriumchlorid (PBS)	166,67 ml Phosphatpuffer-Stammlösung 0,3 M ad 500 ml A. dest. 4,5 g Natriumchlorid
0,1 mol Acetat-Puffer pH 3,6	15 ml Natriumacetat 0,1 mol 185 ml Essigsäure 0,1 mol
0,3 M Phosphatpuffer-Stammlösung, pH 7,4	106,8 g Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat ad 2000 ml A. dest. 20,7 g Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat in 500 ml A.dest.
Avidin-Biotin-Komplex (ABC)	ABC 2 Tropfen Lösung A (Avidin DH) in 10 ml 0,1 M PBST 2 Tropfen Lösung B (biotinylierte Meerrettichperoxidase H)
Blockierlösung der endogenen Peroxidase	1 ml 10% Methanol 1 ml 30% Wasserstoffperoxid ad 10 ml PBS
Blockierlösung für unspezifische Bindungen	11 ml Magermilchlösung (1g Magermilchpulver in 40 ml 0,1 M PBST) 1,341 µl Normal-Donkey-Serum (NDS)
DAB-Lösung	10 mg DAB in 1 ml A. dest. 17,6 ml PBST

	400 µl 1% Nickelstammlösung (0,5 g Nickelammoniumsulfat in 50 ml A. dest.)
DAB-Lösung aktiviert	10 ml DAB-Lösung 9 µl Wasserstoffperoxid 1%
Kresylviolett-Lösung	0,1 g Kresylviolett (Acetat) in 75 ml A. dest. 24 ml dieser Lösung mit 200 ml Acetat-Puffer 0,1 mol/l, pH 3,6 verdünnen
Perfusionsspüllösung: 0,9% Natriumchlorid mit 100 mg/ml Natriumnitrit	2,25 g Natriumchlorid 25 mg Natriumnitrit in 250 ml A. dest.
Reduktionslösung	25 mg Natriumborohydrid in 6,578 µl PBS
Saccharoselösung 30%	15 g D(+)-Saccharose 50 ml 0,1 M Phosphat-Puffer aus 0,3 M Phosphatpuffer-Stammlösung
Transkardiales Fixativum: 4% Paraformaldehyd (PFA), 0,1% Glutardialdehyd	225 ml 8% Paraformaldehyd 1,8 ml Glutardialdehyd 150 ml 0,3 M Phosphatpuffer-Stammlösung ad 450 ml A. dest.
Waschpuffer	4,8 ml Magermilchlösung 50 µl NDS 150 µl Triton 10%

Tab. 3: Übersicht der für die GABA- und Glycin-Färbung verwendeten Antikörper

Primärantikörper-Verdünnung GABA 1:200	10 µl Mouse Anti-GABA (Fa. Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland) 1990 µl Waschpuffer
Primärantikörper-Verdünnung Glycin 1:150	13 µl Rabbit Anti-Glycin (Fa. Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland) 1937 µl Waschpuffer
Sekundärantikörper-Verdünnung GABA 1:400	15 µl Donkey Anti-Mouse (Fa. Dianova, Hamburg, Deutschland)

	in 6 ml PBST-Puffer
Sekundärantikörper-Verdünnung Glycin 1:250	20 µl Donkey Anti-Rabbit (Fa. Dianova, Hamburg, Deutschland) in 5 ml PBST-Puffer

Tab. 4: Übersicht der verwendeten Geräte:

Bildverarbeitungsprogramm	ImageJ 1.43r, Rasband, W., U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Vereinigte Staaten
Blutzählkammer	Neubauer, Fa. Brand, Wertheim, Germany
Computerprogramm	Excel 2010, Windows 7, Fa. Microsoft, Redmond, Vereinigte Staaten
Kamera	Spot RT 3 Slider, Fa. Diagnostic Instruments, Sterling Heights, USA
Mikroskop	Axio Imager, Fa. Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Mikroskop	Axio Observer.Z1, Fa. Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Objektiv	EC Plan-Neofluar 20x/0,5, Fa. Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Perfusionspumpe	Fa. Ismatec, Wertheim, Deutschland
Schüttler	IKA-Werke, Staufen, Deutschland
Software	VisiView Version 2.0.3, Visitron Systems, Puchheim, Deutschland
Statistikprogramm	SigmaPlot 14, Systat Software, Erkrath, Deutschland

Tab. 5: Übersicht zu den Tieren der Kontroll- (OG) und Versuchsgruppe (DKB): Angabe des Geschlechts (männlich / weiblich), des Geburtsdatums und des Geburtsgewichts in Gramm [g]. Für die nicht ausgefüllten Felder der Tabelle lagen die genauen Angaben zu den Tieren nicht vor; die Tiere waren adult und wiesen alle ein Alter von mehr als 90 und weniger als 140 Tagen auf.

Tier	Geschlecht	Geburtsdatum	Geburtsgewicht
OG04			
OG05			
OG08			
OG11			
OG12			
OG14	männlich	30.11.2011	
OG15	männlich	30.11.2011	
OG17	weiblich	20.05.2012	
OG19	weiblich	20.05.2012	
OG21	weiblich	20.05.2012	
DKB07	männlich	07.05.2010	20,0
DKB14	weiblich	01.07.2010	15,0
DKB18	männlich	28.12.2010	12,0
DKB19	männlich	28.12.2010	12,0
DKB24	männlich	01.07.2011	21,0
DKB25	weiblich	01.07.2011	21,0
DKB26	weiblich	29.08.2011	18,0
DKB27	männlich	28.09.2011	
DKB28	männlich	28.09.2011	
DKB30	männlich	28.09.2011	
DKB32	männlich	25.01.2012	14,0
DKB33	männlich	25.01.2012	15,0

Tab. 6: Angabe des Ertaubungstages und des Alters der Tiere zum Zeitpunkt der Ertaubung in Tagen [d] für die Versuchsgruppe (DKBs), Angabe des Todeszeitpunkts und des Alters zum Zeitpunkt des Todes in Tagen [d] für die Kontroll- (OGs) und Versuchsgruppe (DKBs). Für die nicht ausgefüllten Felder der Tabelle lagen die genauen Angaben zu den Tieren nicht vor; die Tiere waren adult und wiesen alle ein Alter von mehr als 90 und weniger als 140 Tagen auf.

Tier	Ertaubungstag	Alter bei Ertaubung	Todestag	Alter zum Todeszeitpunkt
OG04	/	/		
OG05	/	/		
OG08	/	/		
OG11	/	/		
OG12	/	/		

OG14	/	/	27.03.2012	118
OG15	/	/	16.04.2012	138
OG17	/	/	10.09.2012	113
OG19	/	/	17.09.2012	120
OG21	/	/	24.09.2012	127
DKB07	27.05.2010	20	23.08.2010	108
DKB14	19.07.2010	18	09.11.2010	131
DKB18	14.01.2011	17	18.04.2011	111
DKB19	14.01.2011	17	02.05.2011	125
DKB24	20.07.2011	19	25.10.2011	116
DKB25	20.07.2011	19	31.10.2011	122
DKB26	15.09.2011	17	10.01.2012	134
DKB27	17.10.2011	19	17.01.2012	111
DKB28	17.10.2011	19	23.01.2012	117
DKB30	17.10.2011	19	06.02.2012	131
DKB32	07.02.2012	13	21.05.2012	117
DKB33	07.02.2012	13	11.06.2012	138

Tab. 7: Übersicht zu den Details der Ertaubung für die Versuchsgruppe (DKB): Angabe der Menge in Milliliter [ml] und Konzentrationen in Milliliter pro Gramm Körpergewicht [ml/g KG] von Kanamycin und Bumetanid. Für die nicht ausgefüllten Felder der Tabelle lagen die genauen Angaben zur Menge von Kanamycin und Bumetanid nicht vor.

Tier	Kanamycin (ml)	Bumetanid (ml)	Kanamycin (ml/g KG)	Bumetanid (ml/g KG)
DKB07	0,34	2	0,017	0,1
DKB14	0,26	1,1	0,017	0,075
DKB18	0,2	0,9	0,017	0,075
DKB19	0,2	0,9	0,017	0,075
DKB24	0,357	1,575	0,017	0,075
DKB25	0,357	1,575	0,017	0,075
DKB26	0,3	1,35	0,017	0,075
DKB27			0,017	0,075
DKB28			0,017	0,075
DKB30			0,017	0,075
DKB32	0,24	1,05	0,017	0,075
DKB33	0,255	1,125	0,017	0,075

Tab. 8: Angabe des Zeitpunkts der Überprüfung der Ertaubung mittels ABR (auditory brainstem response) und der Zeitspanne zwischen Ertaubung und ABR in Tagen [d] für die Versuchstiere (DKBs); für DKB 33 lagen keine genauen Informationen zur Durchführung der ABR vor.

Tier	ABR	Zeitraum zwischen Ertaubung und ABR
DKB07	11.06.2010	15
DKB14	17.08.2010	29
DKB18	03.03.2011	48
DKB19	03.03.2011	48
DKB24	24.08.2011	35
DKB25	24.08.2011	36
DKB26	03.11.2011	49
DKB27	03.11.2011	17
DKB28	03.11.2011	17
DKB30	03.11.2011	17
DKB32	21.02.2012	14
DKB33		

Tab. 9: Übersicht der gemessenen Fläche der LSO in Quadratmikrometer [μm^2] in der Nissl-Färbung unter Berücksichtigung des Tieres und der Hemisphäre des Gehirns; Mittelwert aus der rechten und linken Gehirnhälfte pro Tier. Zum Kontrolltier OG05 lagen keine Nissl-gefärbten Schnitte vor.

Tier	LSO-Fläche links	LSO-Fläche rechts	Mittelwert
OG04	221099,05	179055,32	200077,18
OG05	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	
OG08	307178,01	381088,66	344133,34
OG11	418040,75	310807,23	364423,99
OG12	235402,75	217984,58	226693,66
OG14	291944,61	269271,53	280608,07
OG15	376915,87	379360,21	378138,04
OG17	330666,39	293158,70	311912,54
OG19	283719,63	344793,38	314256,51
OG21	309569,61	310789,52	310179,57
DKB7	196772,24	195053,87	195913,05
DKB14	221995,14	275200,31	248597,72
DKB18	212964,43	235190,75	224077,59
DKB19	227468,24	202291,10	214879,67
DKB24	271287,34	318324,72	294806,03
DKB25	304089,01	250871,04	277480,02
DKB26	320111,08	335796,80	327953,94

DKB27	215271,62	277679,68	246475,65
DKB28	173066,82	290984,79	232025,80
DKB30	311987,97	293383,50	302685,73
DKB32	316293,78	216343,38	266318,58
DKB33	225299,37	204346,86	214823,12

Tab. 10: Übersicht der gemessenen Fläche der LSO in Quadratmikrometer [μm^2] in der GABA-Färbung unter Berücksichtigung des Tieres und der Hemisphäre des Gehirns; Mittelwert aus der rechten und linken Gehirnhälfte pro Tier. Die Gehirne der Tiere OG11 (rechts) und OG17 (rechts) konnten in der GABA-Färbung nicht eindeutig histologisch ausgewertet werden. Zum Versuchstier DKB33 (links und rechts) lagen keine GABA-gefärbten Schnitte vor.

Tier	LSO-Fläche links	LSO-Fläche rechts	Mittelwert
OG04	357331,28	311029,44	334180,36
OG05	404582,98	364231,64	384407,31
OG08	366271,89	425466,33	395869,11
OG11	440015,00	Nicht verwendbar	440015,00
OG12	312500,00	371363,39	341931,70
OG14	438623,43	502091,88	470357,65
OG15	488297,62	441876,34	465086,98
OG17	392611,67	Nicht verwendbar	392611,67
OG19	337428,30	333161,01	335294,66
OG21	507174,08	451834,17	479504,12
DKB7	349587,70	339393,57	344490,64
DKB14	297387,59	296898,57	297143,08
DKB18	300619,44	372460,88	336540,16
DKB19	230140,61	256023,69	243082,15
DKB24	321659,59	279880,48	300770,04
DKB25	283203,59	327643,70	305423,64
DKB26	237493,03	285874,93	261683,98
DKB27	344023,98	400732,71	372378,34
DKB28	316132,45	347047,96	331590,20
DKB30	312870,75	406803,82	359837,28
DKB32	379211,81	333731,22	356471,51
DKB33	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	

Tab. 11: Übersicht der gemessenen Fläche der LSO in Quadratmikrometer [μm^2] in der Glycin-Färbung unter Berücksichtigung des Tieres und der Hemisphäre des Gehirns; Mittelwert aus der rechten und linken Gehirnhälfte pro Tier. Die Gehirne der Tiere OG12 (rechts), DKB14 (rechts), DKB18 (links und rechts) und DKB33 (links und rechts) konnten in der Glycin-Färbung nicht eindeutig histologisch ausgewertet werden.

Tier	LSO-Fläche links	LSO-Fläche rechts	Mittelwert
OG04	332136,17	291525,78	311830,97
OG05	357372,13	314171,83	335771,98
OG08	312265,77	380640,23	346453,00
OG11	455182,10	439309,20	447245,65
OG12	322467,26	Nicht verwendbar	322467,26
OG14	462021,05	559798,32	510909,69
OG15	424202,73	446907,74	435555,24
OG17	342989,31	362839,03	352914,17
OG19	377949,11	393523,27	385736,19
OG21	318345,92	289009,17	303677,55
DKB7	201026,98	359139,23	280083,11
DKB14	286690,22	Nicht verwendbar	
DKB18	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	
DKB19	192302,51	267383,69	229843,10
DKB24	268550,86	311043,53	289797,19
DKB25	318767,21	156436,92	237602,07
DKB26	350007,30	293226,82	321617,06
DKB27	244354,61	320835,12	282594,86
DKB28	284182,54	309273,46	296728,00
DKB30	271779,60	359343,86	315561,73
DKB32	273520,20	214401,51	243960,86
DKB33	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	

Tab. 12: Übersicht der Messwerte der Zellgrößen in Quadratmikrometer [μm^2] in der Nissl-Färbung für Kontroll- (OGs) und Versuchstiere (DKBs). Separate Betrachtung der gemittelten Zellgrößen in den Bezirken lateral, ventral und medial und der beiden Gehirnhälften der linken und rechten Hemisphäre. Zum Kontrolltier OG05 lagen keine Nissl-gefärbten Schnitte vor.

Tier	Hemisphäre	Lateral	Ventral	Medial
OG04	Links	109,78	109,16	110,04
OG04	Rechts	162,22	133,76	122,42
OG05	Links	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden
OG05	Rechts	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden
OG08	Links	114,21	77,44	132,69
OG08	Rechts	127,32	138,35	131,96
OG11	Links	158,69	110,31	162,09
OG11	Rechts	113,47	127,91	107,16

OG12	Links	94,36	86,71	82,35
OG12	Rechts	109,74	118,17	86,95
OG14	Links	136,41	126,49	132,50
OG14	Rechts	158,88	171,32	125,16
OG15	Links	136,90	153,54	126,75
OG15	Rechts	136,86	143,81	132,93
OG17	Links	148,41	120,90	131,91
OG17	Rechts	186,04	170,98	149,24
OG19	Links	123,85	127,86	115,10
OG19	Rechts	176,56	185,37	188,99
OG21	Links	150,31	134,48	139,37
OG21	Rechts	128,25	133,60	145,49
DKB7	Links	54,92	57,59	63,08
DKB7	Rechts	57,54	49,56	58,25
DKB14	Links	73,59	74,52	121,48
DKB14	Rechts	115,45	97,73	100,10
DKB18	Links	97,33	107,69	118,60
DKB18	Rechts	96,69	96,17	111,74
DKB19	Links	91,27	84,19	98,98
DKB19	Rechts	122,99	93,42	99,69
DKB24	Links	109,67	95,32	111,26
DKB24	Rechts	109,94	116,80	104,46
DKB25	Links	110,48	104,33	128,44
DKB25	Rechts	130,74	103,68	108,66
DKB26	Links	103,90	137,44	161,33
DKB26	Rechts	103,09	99,68	111,14
DKB27	Links	118,25	115,66	108,80
DKB27	Rechts	125,94	110,08	98,22
DKB28	Links	126,26	137,75	138,71
DKB28	Rechts	105,93	119,97	126,36
DKB30	Links	106,80	89,99	127,02
DKB30	Rechts	101,22	98,81	120,73
DKB32	Links	143,28	112,93	129,34
DKB32	Rechts	96,64	81,15	92,80
DKB33	Links	82,03	82,90	92,08
DKB33	Rechts	87,55	78,88	77,59

Tab. 13: Übersicht der Zellzahlen in der Nissl-Färbung für Kontroll- (OGs) und Versuchstiere (DKBs). Separate Betrachtung der zwei Gehirnhälften der linken und der rechten Hemisphäre sowie der Bezirke lateral, ventral und medial. Zum Kontrolltier OG05 lagen keine Nissl-gefärbten Schnitte vor.

Tier	Hemisphäre	Lateral	Ventral	Medial
OG04	Links	57	47	54
OG04	Rechts	29	35	38
OG05	Links	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden

OG05	Rechts	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden
OG08	Links	42	48	67
OG08	Rechts	49	45	65
OG11	Links	64	73	63
OG11	Rechts	37	36	60
OG12	Links	55	49	66
OG12	Rechts	50	43	66
OG14	Links	68	59	69
OG14	Rechts	58	50	81
OG15	Links	57	48	69
OG15	Rechts	55	53	75
OG17	Links	75	68	98
OG17	Rechts	58	55	69
OG19	Links	50	59	69
OG19	Rechts	65	50	75
OG21	Links	52	61	72
OG21	Rechts	56	57	65
DKB7	Links	39	22	48
DKB7	Rechts	48	36	51
DKB14	Links	52	34	45
DKB14	Rechts	44	48	57
DKB18	Links	37	56	56
DKB18	Rechts	67	63	62
DKB19	Links	50	43	58
DKB19	Rechts	44	57	64
DKB24	Links	47	60	68
DKB24	Rechts	50	59	73
DKB25	Links	62	55	62
DKB25	Rechts	50	50	63
DKB26	Links	50	51	59
DKB26	Rechts	44	52	77
DKB27	Links	43	50	63
DKB27	Rechts	53	54	81
DKB28	Links	48	42	27
DKB28	Rechts	54	50	75
DKB30	Links	65	72	71
DKB30	Rechts	73	62	70
DKB32	Links	45	61	62
DKB32	Rechts	38	67	69
DKB33	Links	55	53	65
DKB33	Rechts	56	30	66

Tab. 14: Übersicht der Zellzahlen in der GABA-Färbung für Kontroll- (OGs) und Versuchstiere (DKBs). Separate Betrachtung der zwei Gehirnhälften der linken und der rechten Hemisphäre sowie der Bezirke lateral, ventral und medial. Die Gehirne der Tiere OG11 (rechts) und OG17 (rechts) konnten in der GABA-Färbung nicht eindeutig histologisch ausgewertet werden. Zum Versuchstier DKB33 (links und rechts) lagen keine GABA-gefärbten Schnitte vor.

Tier	Hemisphäre	Lateral	Ventral	Medial
OG04	Links	4	10	7
OG04	Rechts	5	15	7
OG05	Links	7	6	6
OG05	Rechts	4	11	9
OG08	Links	8	11	8
OG08	Rechts	6	8	5
OG11	Links	2	6	3
OG11	Rechts	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar
OG12	Links	3	5	3
OG12	Rechts	6	2	8
OG14	Links	2	9	11
OG14	Rechts	4	6	8
OG15	Links	19	16	8
OG15	Rechts	12	12	10
OG17	Links	7	8	9
OG17	Rechts	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar
OG19	Links	2	5	10
OG19	Rechts	5	5	9
OG21	Links	6	9	10
OG21	Rechts	8	15	19
DKB7	Links	11	9	8
DKB7	Rechts	7	9	5
DKB14	Links	8	8	5
DKB14	Rechts	4	9	5
DKB18	Links	4	2	5
DKB18	Rechts	1	4	4
DKB19	Links	10	2	5
DKB19	Rechts	8	6	1
DKB24	Links	13	11	11
DKB24	Rechts	11	12	15
DKB25	Links	5	5	5
DKB25	Rechts	6	9	8
DKB26	Links	4	5	6
DKB26	Rechts	5	3	10
DKB27	Links	9	10	8
DKB27	Rechts	10	18	8
DKB28	Links	7	11	8
DKB28	Rechts	8	6	5
DKB30	Links	7	6	1
DKB30	Rechts	4	12	4
DKB32	Links	4	4	7

DKB32	Rechts	4	7	5
DKB33	Links	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden
DKB33	Rechts	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden

Tab. 15: Übersicht der Zellzahlen in der Glycin-Färbung für Kontroll- (OGs) und Versuchstiere (DKBs). Separate Betrachtung der zwei Gehirnhälften der linken und der rechten Hemisphäre sowie der Bezirke lateral, ventral und medial. Die Gehirne der Tiere OG12 (rechts), DKB14 (rechts), DKB18 (links und rechts) und DKB33 (links und rechts) konnten in der Glycin-Färbung nicht eindeutig histologisch ausgewertet werden.

Tier	Hemisphäre	Lateral	Ventral	Medial
OG04	Links	10	9	9
OG04	Rechts	6	10	12
OG05	Links	8	8	12
OG05	Rechts	11	6	8
OG08	Links	12	7	8
OG08	Rechts	6	8	10
OG11	Links	12	6	6
OG11	Rechts	8	8	4
OG12	Links	12	10	8
OG12	Rechts	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar
OG14	Links	7	8	7
OG14	Rechts	11	5	8
OG15	Links	22	16	10
OG15	Rechts	15	11	4
OG17	Links	13	8	12
OG17	Rechts	8	8	10
OG19	Links	7	5	5
OG19	Rechts	7	7	6
OG21	Links	9	12	8
OG21	Rechts	9	10	8
DKB7	Links	11	4	4
DKB7	Rechts	12	13	5
DKB14	Links	10	3	3
DKB14	Rechts	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar
DKB18	Links	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar
DKB18	Rechts	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar
DKB19	Links	9	1	4
DKB19	Rechts	5	2	0
DKB24	Links	24	15	13
DKB24	Rechts	10	8	8
DKB25	Links	7	7	6
DKB25	Rechts	7	4	1
DKB26	Links	9	2	6
DKB26	Rechts	5	6	4

DKB27	Links	12	11	2
DKB27	Rechts	6	7	8
DKB28	Links	11	3	10
DKB28	Rechts	9	7	5
DKB30	Links	11	6	4
DKB30	Rechts	7	5	5
DKB32	Links	4	8	6
DKB32	Rechts	2	7	6
DKB33	Links	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar
DKB33	Rechts	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar	Nicht verwendbar

Tab. 16: Übersicht der Zelldichte in der Nissl-Färbung in [$1/\mu\text{m}^2$] für Kontroll- (OGs) und Versuchstiere (DKBs). Separate Betrachtung der zwei Gehirnhälften der linken und der rechten Hemisphäre sowie der Bezirke lateral, ventral und medial. Zum Kontrolltier OG05 lagen keine Nissl-gefärbten Schnitte vor.

Tier	Hemisphäre	Lateral	Ventral	Medial
OG04	Links	7,93E-04	5,83E-04	7,91E-04
OG04	Rechts	4,97E-04	5,78E-04	6,23E-04
OG05	Links	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden
OG05	Rechts	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden	Nicht vorhanden
OG08	Links	4,11E-04	4,38E-04	7,02E-04
OG08	Rechts	3,89E-04	3,52E-04	5,02E-04
OG11	Links	4,35E-04	4,88E-04	5,13E-04
OG11	Rechts	3,32E-04	3,39E-04	6,53E-04
OG12	Links	7,08E-04	6,12E-04	8,49E-04
OG12	Rechts	7,20E-04	5,73E-04	8,99E-04
OG14	Links	7,04E-04	6,01E-04	7,15E-04
OG14	Rechts	6,50E-04	5,53E-04	9,03E-04
OG15	Links	4,49E-04	3,90E-04	5,37E-04
OG15	Rechts	4,41E-04	3,91E-04	6,21E-04
OG17	Links	6,14E-04	6,66E-04	9,14E-04
OG17	Rechts	5,87E-04	5,65E-04	7,01E-04
OG19	Links	5,30E-04	5,48E-04	8,63E-04
OG19	Rechts	5,68E-04	4,27E-04	6,70E-04
OG21	Links	5,03E-04	5,89E-04	7,18E-04
OG21	Rechts	5,22E-04	5,81E-04	6,17E-04
DKB7	Links	5,98E-04	3,12E-04	7,63E-04
DKB7	Rechts	7,40E-04	5,10E-04	8,44E-04
DKB14	Links	7,43E-04	4,34E-04	6,18E-04
DKB14	Rechts	4,63E-04	5,55E-04	6,25E-04
DKB18	Links	5,10E-04	8,06E-04	8,02E-04
DKB18	Rechts	8,64E-04	7,74E-04	8,03E-04
DKB19	Links	6,51E-04	5,66E-04	7,61E-04
DKB19	Rechts	6,51E-04	8,76E-04	9,34E-04
DKB24	Links	5,21E-04	5,88E-04	8,52E-04

DKB24	Rechts	4,88E-04	5,38E-04	6,90E-04
DKB25	Links	6,49E-04	5,93E-04	6,34E-04
DKB25	Rechts	6,15E-04	5,97E-04	7,44E-04
DKB26	Links	4,89E-04	4,72E-04	5,39E-04
DKB26	Rechts	3,83E-04	4,74E-04	6,98E-04
DKB27	Links	5,86E-04	6,88E-04	8,93E-04
DKB27	Rechts	5,56E-04	5,55E-04	9,53E-04
DKB28	Links	7,78E-04	7,43E-04	4,90E-04
DKB28	Rechts	5,58E-04	5,32E-04	7,54E-04
DKB30	Links	6,14E-04	7,03E-04	6,76E-04
DKB30	Rechts	7,59E-04	6,28E-04	7,06E-04
DKB32	Links	4,28E-04	5,78E-04	5,93E-04
DKB32	Rechts	5,36E-04	9,40E-04	9,20E-04
DKB33	Links	7,20E-04	7,03E-04	8,81E-04
DKB33	Rechts	8,48E-04	4,40E-04	9,29E-04

6.3. Literaturverzeichnis

Bücher:

Silbernagl, S. & Despopoulos A.: Taschenatlas Physiologie, 7. Aufl., Thieme, Stuttgart, S. 370-373 (2007)

Benninghoff, A. & Drenckhahn, D.: Anatomie, Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen.: Band 2: Herz-Kreislauf-System, Lymphatisches System, Endokrine Drüsen, Nervensystem, Sinnesorgane, Haut, 16. Aufl., Elsevier GmbH, München, S. 740-745 (2004)

Internet:

WHO Media Centre: „Deafness and Hearing Loss“, unter:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs300/en/> (abgerufen am 05.01.2018)

- ABBAS, L. & RIVOLTA, M. N. 2015. Aminoglycoside ototoxicity and hair cell ablation in the adult gerbil: A simple model to study hair cell loss and regeneration. *Hear Res*, 325, 12-26.
- AMAKHIN, D. V. & VESELKIN, N. P. 2012. [Effect of GABA and glycine neuromediator interaction in the central nervous system]. *Tsitologija*, 54, 469-77.
- ASTBURY, P. J. & READ, N. G. 1982. Kanamycin induced ototoxicity in the laboratory rat. A comparative morphological and audiometric study. *Arch Toxicol*, 50, 267-78.
- AUSIM AZIZI, S. 2007. . . . And the olive said to the cerebellum: organization and functional significance of the olivo-cerebellar system. *Neuroscientist*, 13, 616-25.
- BECKER, R., SCHILDHAMMER, A. & RUOSS, M. 1994. [Language performance of deaf children and adolescents in verbal and written retelling of a picture story]. *Z Exp Angew Psychol*, 41, 349-77.
- BEITEL, R. E., VOLLMER, M., RAGGIO, M. W. & SCHREINER, C. E. 2011. Behavioral training enhances cortical temporal processing in neonatally deafened juvenile cats. *J Neurophysiol*, 106, 944-59.
- BILECEN, D., SEIFRITZ, E., RADU, E. W., SCHMID, N., WETZEL, S., PROBST, R. & SCHEFFLER, K. 2000. Cortical reorganization after acute unilateral hearing loss traced by fMRI. *Neurology*, 54, 765-7.
- BISHOP, D. V. 2013. Cerebral asymmetry and language development: cause, correlate, or consequence? *Science*, 340, 1230531.
- BOETTCHER, F. A., MILLS, J. H. & NORTON, B. L. 1993. Age-related changes in auditory evoked potentials of gerbils. I. Response amplitudes. *Hear Res*, 71, 137-45.
- BOETTCHER, F. A., MILLS, J. H., SWERDLOFF, J. L. & HOLLEY, B. L. 1996. Auditory evoked potentials in aged gerbils: responses elicited by noises separated by a silent gap. *Hear Res*, 102, 167-78.
- BOSE, M., MUNOZ-LLANCAO, P., ROYCHOWDHURY, S., NICHOLS, J. A., JAKKAMSETTI, V., PORTER, B., BYRAPUREDDY, R., SALGADO, H., KILGARD, M. P., ABOITIZ, F., DAGNINO-SUBIABRE, A. & ATZORI, M. 2010. Effect of the environment on the dendritic morphology of the rat auditory cortex. *Synapse*, 64, 97-110.

- CAIRD, D. & KLINKE, R. 1983. Processing of binaural stimuli by cat superior olivary complex neurons. *Exp Brain Res*, 52, 385-99.
- CASEY, M. A. 1990. The effects of aging on neuron number in the rat superior olivary complex. *Neurobiol Aging*, 11, 391-4.
- CASEY, M. A. & FELDMAN, M. L. 1982. Aging in the rat medial nucleus of the trapezoid body. I. Light microscopy. *Neurobiol Aging*, 3, 187-95.
- CASPARY, D. M., MILBRANDT, J. C. & HELFERT, R. H. 1995. Central auditory aging: GABA changes in the inferior colliculus. *Exp Gerontol*, 30, 349-60.
- CASPARY, D. M., SCHATTEMAN, T. A. & HUGHES, L. F. 2005. Age-related changes in the inhibitory response properties of dorsal cochlear nucleus output neurons: role of inhibitory inputs. *J Neurosci*, 25, 10952-9.
- CHEAL, M. L. 1986. The gerbil: a unique model for research on aging. *Exp Aging Res*, 12, 3-21.
- COPPENS, A. G., KISS, R., HEIZMANN, C. W., DELTENRE, P. & PONCELET, L. 2001. An original inner ear neuroepithelial degeneration in a deaf Rottweiler puppy. *Hear Res*, 161, 65-71.
- CORBALLIS, M. C. 2014. Left brain, right brain: facts and fantasies. *PLoS Biol*, 12, e1001767.
- COUCHMAN, K., GARRETT, A., DEARDORFF, A. S., RATTAY, F., RESATZ, S., FYFFE, R., WALMSLEY, B. & LEO, R. N. 2011. Lateral superior olive function in congenital deafness. *Hear Res*, 277, 163-75.
- COUCHMAN, K., GROTHE, B. & FELMY, F. 2010. Medial superior olivary neurons receive surprisingly few excitatory and inhibitory inputs with balanced strength and short-term dynamics. *J Neurosci*, 30, 17111-21.
- DARROW, K. N., MAISON, S. F. & LIBERMAN, M. C. 2006. Cochlear efferent feedback balances interaural sensitivity. *Nat Neurosci*, 9, 1474-6.
- DE ZEEUW, C. I., SIMPSON, J. I., HOOGENRAAD, C. C., GALJART, N., KOEKKOEK, S. K. & RUIGROK, T. J. 1998. Microcircuitry and function of the inferior olive. *Trends Neurosci*, 21, 391-400.
- DUTERTRE, S., BECKER, C. M. & BETZ, H. 2012. Inhibitory glycine receptors: an update. *J Biol Chem*, 287, 40216-23.
- EMMOREY, K., ALLEN, J. S., BRUSS, J., SCHENKER, N. & DAMASIO, H. 2003. A morphometric analysis of auditory brain regions in congenitally deaf adults. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 10049-54.
- FINLAYSON, P. G. 1995. Decreased inhibition to lateral superior olive neurons in young and aged Sprague-Dawley rats. *Hear Res*, 87, 84-95.
- FINLAYSON, P. G. & CASPARY, D. M. 1991. Low-frequency neurons in the lateral superior olive exhibit phase-sensitive binaural inhibition. *J Neurophysiol*, 65, 598-605.
- FISCHL, M. J. & BURGER, R. M. 2014. Glycinergic transmission modulates GABAergic inhibition in the avian auditory pathway. *Front Neural Circuits*, 8, 19.
- FLOEL, A., JANSEN, A., DEPPE, M., KANOWSKI, M., KONRAD, C., SOMMER, J. & KNECHT, S. 2005. Atypical hemispheric dominance for attention: functional MRI topography. *J Cereb Blood Flow Metab*, 25, 1197-208.
- FOSTER, R. E. & PETERSON, B. E. 1986. The inferior olivary complex of guinea pig: cytoarchitecture and cellular morphology. *Brain Res Bull*, 17, 785-800.
- GESCHWIND, N. & GALABURDA, A. M. 1985. Cerebral lateralization. Biological mechanisms, associations, and pathology: I. A hypothesis and a program for research. *Arch Neurol*, 42, 428-59.
- GLEICH, O., NETZ, J. & STRUTZ, J. 2014. Comparing the inferior colliculus of young and old gerbils (*Meriones unguiculatus*) with an emphasis on GABA. *Exp Gerontol*, 57, 155-62.
- GLEICH, O. & STRUTZ, J. 2002. Age dependent changes in the medial nucleus of the trapezoid body in gerbils. *Hear Res*, 164, 166-78.

- GLEICH, O., WEISS, M. & STRUTZ, J. 2004. Age-dependent changes in the lateral superior olive of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Hear Res*, 194, 47-59.
- GLENDENNING, K. K., BAKER, B. N., HUTSON, K. A. & MASTERTON, R. B. 1992. Acoustic chiasm V: inhibition and excitation in the ipsilateral and contralateral projections of LSO. *J Comp Neurol*, 319, 100-22.
- GROTHER, B. & PECKA, M. 2014. The natural history of sound localization in mammals--a story of neuronal inhibition. *Front Neural Circuits*, 8, 116.
- HAMANN, I., GLEICH, O., KLUMP, G. M., KITTEL, M. C. & STRUTZ, J. 2004. Age-dependent changes of gap detection in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Assoc Res Otolaryngol*, 5, 49-57.
- HANCOCK, K. E., NOEL, V., RYUGO, D. K. & DELGUTTE, B. 2010. Neural coding of interaural time differences with bilateral cochlear implants: effects of congenital deafness. *J Neurosci*, 30, 14068-79.
- HARDIE, N. A., MARTSI-MCCLINTOCK, A., AITKIN, L. M. & SHEPHERD, R. K. 1998. Neonatal sensorineural hearing loss affects synaptic density in the auditory midbrain. *Neuroreport*, 9, 2019-22.
- HARRISON, R. V., STANTON, S. G., IBRAHIM, D., NAGASAWA, A. & MOUNT, R. J. 1993a. Neonatal cochlear hearing loss results in developmental abnormalities of the central auditory pathways. *Acta Otolaryngol*, 113, 296-302.
- HARRISON, R. V., STANTON, S. G., NAGASAWA, A., IBRAHIM, D. & MOUNT, R. J. 1993b. The effects of long-term cochlear hearing loss on the functional organization of central auditory pathways. *J Otolaryngol*, 22, 4-11.
- HASHISAKI, G. T. & RUBEL, E. W. 1989. Effects of unilateral cochlea removal on anteroventral cochlear nucleus neurons in developing gerbils. *J Comp Neurol*, 283, 5-73.
- HELFERT, R. H., BONNEAU, J. M., WENTHOLD, R. J. & ALTSCHULER, R. A. 1989. GABA and glycine immunoreactivity in the guinea pig superior olivary complex. *Brain Res*, 501, 269-86.
- HELFERT, R. H., JUIZ, J. M., BLEDSOE, S. C., JR., BONNEAU, J. M., WENTHOLD, R. J. & ALTSCHULER, R. A. 1992. Patterns of glutamate, glycine, and GABA immunolabeling in four synaptic terminal classes in the lateral superior olive of the guinea pig. *J Comp Neurol*, 323, 305-25.
- HINE, J. & DEBENER, S. 2007. Late auditory evoked potentials asymmetry revisited. *Clin Neurophysiol*, 118, 1274-85.
- HIROSE, K. & SATO, E. 2011. Comparative analysis of combination kanamycin-furosemide versus kanamycin alone in the mouse cochlea. *Hear Res*, 272, 108-16.
- HOLZINGER, D. & FELLINGER, J. 1997. [Competence in verbal communication of deaf adults in Austria. I: On the intelligibility of spoken language]. *Rehabilitation (Stuttg)*, 36, 185-91.
- JANSEN, T. T., BREMER, H. G., TOPSAKAL, V., HENDRIKSEN, F. G., KLIS, S. F. & GROLMAN, W. 2013. Deafness induction in mice. *Otol Neurotol*, 34, 1496-502.
- JORIS, P. X. & YIN, T. C. 1995. Envelope coding in the lateral superior olive. I. Sensitivity to interaural time differences. *J Neurophysiol*, 73, 1043-62.
- KANE, E. S. & BARONE, L. M. 1980. The dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the cat: neuronal types and their distributions. *J Comp Neurol*, 192, 797-826.
- KELLY, J. B., LISCUM, A., VAN ADEL, B. & ITO, M. 1998. Projections from the superior olive and lateral lemniscus to tonotopic regions of the rat's inferior colliculus. *Hear Res*, 116, 43-54.
- KOTAK, V. C., FUJISAWA, S., LEE, F. A., KARTHIKEYAN, O., AOKI, C. & SANES, D. H. 2005. Hearing loss raises excitability in the auditory cortex. *J Neurosci*, 25, 3908-18.

- KRAL, A., HARTMANN, R., TILLEIN, J., HEID, S. & KLINKE, R. 2000. Congenital auditory deprivation reduces synaptic activity within the auditory cortex in a layer-specific manner. *Cereb Cortex*, 10, 714-26.
- LAUMEN, G., TOLLIN, D. J., BEUTELMANN, R. & KLUMP, G. M. 2016. Aging effects on the binaural interaction component of the auditory brainstem response in the Mongolian gerbil: Effects of interaural time and level differences. *Hear Res*, 337, 46-58.
- LAY, D. M. 1972. The anatomy, physiology, functional significance and evolution of specialized hearing organs of gerbilline rodents. *J Morphol*, 138, 41-120.
- LEAKE, P. A., KUNTZ, A. L., MOORE, C. M. & CHAMBERS, P. L. 1997. Cochlear pathology induced by aminoglycoside ototoxicity during postnatal maturation in cats. *Hear Res*, 113, 117-32.
- LEAO, R. N., OLESKEVICH, S., SUN, H., BAUTISTA, M., FYFFE, R. E. & WALMSLEY, B. 2004. Differences in glycinergic mIPSCs in the auditory brain stem of normal and congenitally deaf neonatal mice. *J Neurophysiol*, 91, 1006-12.
- LEAO, R. N., SUN, H., SVAHN, K., BERNTSON, A., YOUSOUFIAN, M., PAOLINI, A. G., FYFFE, R. E. & WALMSLEY, B. 2006. Topographic organization in the auditory brainstem of juvenile mice is disrupted in congenital deafness. *J Physiol*, 571, 563-78.
- LESPERANCE, M. M., HELFERT, R. H. & ALTSCHULER, R. A. 1995. Deafness induced cell size changes in rostral AVCN of the guinea pig. *Hear Res*, 86, 77-81.
- LEVI-MONTALCINI, R. 1949. The development to the acoustico-vestibular centers in the chick embryo in the absence of the afferent root fibers and of descending fiber tracts. *J Comp Neurol*, 91, 209-41, illust, incl 3 pl.
- LU, T., RUBIO, M. E. & TRUSSELL, L. O. 2008. Glycinergic transmission shaped by the corelease of GABA in a mammalian auditory synapse. *Neuron*, 57, 524-35.
- LUSTIG, L. R., LEAKE, P. A., SNYDER, R. L. & REBSCHER, S. J. 1994. Changes in the cat cochlear nucleus following neonatal deafening and chronic intracochlear electrical stimulation. *Hear Res*, 74, 29-37.
- MASLIN, M. R., MUNRO, K. J. & EL-DEREDY, W. 2013. Source analysis reveals plasticity in the auditory cortex: evidence for reduced hemispheric asymmetries following unilateral deafness. *Clin Neurophysiol*, 124, 391-9.
- MCALPINE, D., MARTIN, R. L., MOSSOP, J. E. & MOORE, D. R. 1997. Response properties of neurons in the inferior colliculus of the monaurally deafened ferret to acoustic stimulation of the intact ear. *J Neurophysiol*, 78, 767-79.
- MCFADDEN, S. L., WALSH, E. J. & MCGEE, J. 1996. Onset and development of auditory brainstem responses in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Hear Res*, 100, 68-79.
- MILLS, J. H., SCHMIEDT, R. A. & KULISH, L. F. 1990. Age-related changes in auditory potentials of Mongolian gerbil. *Hear Res*, 46, 201-10.
- MOORE, D. R. 1990a. Auditory brainstem of the ferret: bilateral cochlear lesions in infancy do not affect the number of neurons projecting from the cochlear nucleus to the inferior colliculus. *Brain Res Dev Brain Res*, 54, 125-30.
- MOORE, D. R. 1990b. Auditory brainstem of the ferret: early cessation of developmental sensitivity of neurons in the cochlear nucleus to removal of the cochlea. *J Comp Neurol*, 302, 810-23.
- MOORE, D. R. 1992. Trophic influences of excitatory and inhibitory synapses on neurones in the auditory brain stem. *Neuroreport*, 3, 269-72.
- MOORE, D. R. & KOWALCHUK, N. E. 1988. Auditory brainstem of the ferret: effects of unilateral cochlear lesions on cochlear nucleus volume and projections to the inferior colliculus. *J Comp Neurol*, 272, 503-15.

- MOORE, J. K. 2000. Organization of the human superior olivary complex. *Microsc Res Tech*, 51, 403-12.
- MOORE, J. K., NIPARKO, J. K., PERAZZO, L. M., MILLER, M. R. & LINTHICUM, F. H. 1997. Effect of adult-onset deafness on the human central auditory system. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 106, 385-90.
- MULLER, C. M. 1987. gamma-Aminobutyric acid immunoreactivity in brainstem auditory nuclei of the chicken. *Neurosci Lett*, 77, 272-6.
- NADOL, J. B., JR. 1997. Patterns of neural degeneration in the human cochlea and auditory nerve: implications for cochlear implantation. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 117, 220-8.
- NETTEN, A. P., RIEFFE, C., THEUNISSEN, S. C., SOEDE, W., DIRKS, E., KORVER, A. M., KONINGS, S., OUDESLUYS-MURPHY, A. M., DEKKER, F. W. & FRIJNS, J. H. 2015. Early identification: Language skills and social functioning in deaf and hard of hearing preschool children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 79, 2221-6.
- NISHIYAMA, N., HARDIE, N. A. & SHEPHERD, R. K. 2000. Neonatal sensorineural hearing loss affects neurone size in cat auditory midbrain. *Hear Res*, 140, 18-22.
- OLIVER, D. L. 2000. Ascending efferent projections of the superior olivary complex. *Microsc Res Tech*, 51, 355-63.
- OSTAPOFF, E. M., BENSON, C. G. & SAINT MARIE, R. L. 1997. GABA- and glycine-immunoreactive projections from the superior olivary complex to the cochlear nucleus in guinea pig. *J Comp Neurol*, 381, 500-12.
- PARK, T. J. 1998. IID sensitivity differs between two principal centers in the interaural intensity difference pathway: the LSO and the IC. *J Neurophysiol*, 79, 2416-31.
- PECKA, M., BRAND, A., BEHREND, O. & GROTHE, B. 2008. Interaural time difference processing in the mammalian medial superior olive: the role of glycinergic inhibition. *J Neurosci*, 28, 6914-25.
- PENHUNE, V. B., CISMARU, R., DORSAINT-PIERRE, R., PETITTO, L. A. & ZATORRE, R. J. 2003. The morphometry of auditory cortex in the congenitally deaf measured using MRI. *Neuroimage*, 20, 1215-25.
- PONTON, C. W., VASAMA, J. P., TREMBLAY, K., KHOSLA, D., KWONG, B. & DON, M. 2001. Plasticity in the adult human central auditory system: evidence from late-onset profound unilateral deafness. *Hear Res*, 154, 32-44.
- RADTKE-SCHULLER, S., SCHULLER, G., ANGENSTEIN, F., GROSSER, O. S., GOLDSCHMIDT, J. & BUDINGER, E. 2016. Brain atlas of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) in CT/MRI-aided stereotaxic coordinates. *Brain Struct Funct*, 221 Suppl 1, 1-272.
- RADTKE-SCHULLER, S., SEELER, S. & GROTHE, B. 2015. Restricted loss of olivocochlear but not vestibular efferent neurons in the senescent gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Front Aging Neurosci*, 7, 4.
- RAGGIO, M. W. & SCHREINER, C. E. 2003. Neuronal responses in cat primary auditory cortex to electrical cochlear stimulation: IV. Activation pattern for sinusoidal stimulation. *J Neurophysiol*, 89, 3190-204.
- ROBERTS, E. & KURIYAMA, K. 1968. Biochemical-physiological correlations in studies of the gamma-aminobutyric acid system. *Brain Res*, 8, 1-35.
- ROBERTS, M. T., SEEMAN, S. C. & GOLDING, N. L. 2014. The relative contributions of MNTB and LNTB neurons to inhibition in the medial superior olive assessed through single and paired recordings. *Front Neural Circuits*, 8, 49.
- ROBERTS, R. C. & RIBAK, C. E. 1987. GABAergic neurons and axon terminals in the brainstem auditory nuclei of the gerbil. *J Comp Neurol*, 258, 267-80.
- RUSSELL, F. A. & MOORE, D. R. 2002. Ultrastructural transynaptic effects of unilateral cochlear ablation in the gerbil medial superior olive. *Hear Res*, 173, 43-61.

- RYAN, A. 1976. Hearing sensitivity of the mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *J Acoust Soc Am*, 59, 1222-6.
- SAADA, A. A., NIPARKO, J. K. & RYUGO, D. K. 1996. Morphological changes in the cochlear nucleus of congenitally deaf white cats. *Brain Res*, 736, 315-28.
- SANES, D. H., GEARY, W. A., WOOTEN, G. F. & RUBEL, E. W. 1987. Quantitative distribution of the glycine receptor in the auditory brain stem of the gerbil. *J Neurosci*, 7, 3793-802.
- SANES, D. H., MERICKEL, M. & RUBEL, E. W. 1989. Evidence for an alteration of the tonotopic map in the gerbil cochlea during development. *J Comp Neurol*, 279, 436-44.
- SANES, D. H. & RUBEL, E. W. 1988. The ontogeny of inhibition and excitation in the gerbil lateral superior olive. *J Neurosci*, 8, 682-700.
- SCHATTEMAN, T. A., HUGHES, L. F. & CASPARY, D. M. 2008. Aged-related loss of temporal processing: altered responses to amplitude modulated tones in rat dorsal cochlear nucleus. *Neuroscience*, 154, 329-37.
- SCHNEIDER, B. A., PICHORA-FULLER, M. K., KOWALCHUK, D. & LAMB, M. 1994. Gap detection and the precedence effect in young and old adults. *J Acoust Soc Am*, 95, 980-91.
- SCHOFIELD, B. R. & CANT, N. B. 1991. Organization of the superior olivary complex in the guinea pig. I. Cytoarchitecture, cytochrome oxidase histochemistry, and dendritic morphology. *J Comp Neurol*, 314, 645-70.
- SELIMOGLU, E. 2007. Aminoglycoside-induced ototoxicity. *Curr Pharm Des*, 13, 119-26.
- SHNEIDERMAN, A., STANFORTH, D. A., HENKEL, C. K. & SAINT MARIE, R. L. 1999. Input-output relationships of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus: possible substrate for the processing of dynamic spatial cues. *J Comp Neurol*, 410, 265-76.
- SMITH, K. M., MECOLI, M. D., ALTAYE, M., KOMLOS, M., MAITRA, R., EATON, K. P., EGELHOFF, J. C. & HOLLAND, S. K. 2011. Morphometric differences in the Heschl's gyrus of hearing impaired and normal hearing infants. *Cereb Cortex*, 21, 991-8.
- SMITH, Z. M. & DELGUTTE, B. 2007. Sensitivity to interaural time differences in the inferior colliculus with bilateral cochlear implants. *J Neurosci*, 27, 6740-50.
- SNELL, K. B. 1997. Age-related changes in temporal gap detection. *J Acoust Soc Am*, 101, 2214-20.
- STROUSE, A., ASHMEAD, D. H., OHDE, R. N. & GRANTHAM, D. W. 1998. Temporal processing in the aging auditory system. *J Acoust Soc Am*, 104, 2385-99.
- SUNEJA, S. K., BENSON, C. G. & POTASHNER, S. J. 1998. Glycine receptors in adult guinea pig brain stem auditory nuclei: regulation after unilateral cochlear ablation. *Exp Neurol*, 154, 473-88.
- TAIT, M., LUTMAN, M. E. & NIKOLOPOULOS, T. P. 2001. Communication development in young deaf children: review of the video analysis method. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 61, 105-12.
- THOMPSON, G. C., CORTEZ, A. M. & LAM, D. M. 1985. Localization of GABA immunoreactivity in the auditory brainstem of guinea pigs. *Brain Res*, 339, 119-22.
- TIERNEY, T. S., RUSSELL, F. A. & MOORE, D. R. 1997. Susceptibility of developing cochlear nucleus neurons to deafferentation-induced death abruptly ends just before the onset of hearing. *J Comp Neurol*, 378, 295-306.
- TILLEIN, J., HUBKA, P., SYED, E., HARTMANN, R., ENGEL, A. K. & KRAL, A. 2010. Cortical representation of interaural time difference in congenital deafness. *Cereb Cortex*, 20, 492-506.
- TOLLIN, D. J. 2003. The lateral superior olive: a functional role in sound source localization. *Neuroscientist*, 9, 127-43.
- TRUNE, D. R. 1982. Influence of neonatal cochlear removal on the development of mouse cochlear nucleus: I. Number, size, and density of its neurons. *J Comp Neurol*, 209, 409-24.

- VATER, M. 1995. Ultrastructural and immunocytochemical observations on the superior olivary complex of the mustached bat. *J Comp Neurol*, 358, 155-80.
- VINCENT, A. L., RODRICK, G. E. & SODEMAN, W. A. 1980. The Mongolian gerbil in aging research. *Exp Aging Res*, 6, 249-60.
- VOLLMER, M. & BEITEL, R. E. 2011. Behavioral training restores temporal processing in auditory cortex of long-deaf cats. *J Neurophysiol*, 106, 2423-36.
- VOLLMER, M., BEITEL, R. E., SNYDER, R. L. & LEAKE, P. A. 2007. Spatial selectivity to intracochlear electrical stimulation in the inferior colliculus is degraded after long-term deafness in cats. *J Neurophysiol*, 98, 2588-603.
- VOLLMER, M., LEAKE, P. A., BEITEL, R. E., REBSCHER, S. J. & SNYDER, R. L. 2005. Degradation of temporal resolution in the auditory midbrain after prolonged deafness is reversed by electrical stimulation of the cochlea. *J Neurophysiol*, 93, 3339-55.
- WANG, Y. & MANIS, P. B. 2005. Synaptic transmission at the cochlear nucleus endbulb synapse during age-related hearing loss in mice. *J Neurophysiol*, 94, 1814-24.
- WENTHOLD, R. J., HUIE, D., ALTSCHULER, R. A. & REEKS, K. A. 1987. Glycine immunoreactivity localized in the cochlear nucleus and superior olivary complex. *Neuroscience*, 22, 897-912.
- WILLOTT, J. F. 1990. Central physiological correlates of ageing and presbycusis in mice. *Acta Otolaryngol Suppl*, 476, 153-5; discussion 156.
- WOJCIK, S. M., KATSURABAYASHI, S., GUILLEMIN, I., FRIAUF, E., ROSENMUND, C., BROSE, N. & RHEE, J. S. 2006. A shared vesicular carrier allows synaptic corelease of GABA and glycine. *Neuron*, 50, 575-87.
- YOUSSEOUFIAN, M., COUCHMAN, K., SHIVDASANI, M. N., PAOLINI, A. G. & WALMSLEY, B. 2008. Maturation of auditory brainstem projections and calyces in the congenitally deaf (dn/dn) mouse. *J Comp Neurol*, 506, 442-51.
- ZIMMERMANN, C. E., BURGESS, B. J. & NADOL, J. B., JR. 1995. Patterns of degeneration in the human cochlear nerve. *Hear Res*, 90, 192-201.

6.4. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Aus: Benninghoff, Drenckhahn, Anatomie, Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen, Band 2, 16.Auflage 2004 © Elsevier GmbH, Urban & Fischer, München

Bildausschnitt der originalen Abbildung entnommen, Verwendungserlaubnis von Elsevier GmbH erteilt am 30.01.2018

Abb. 2: Grothe, B. and M. Pecka (2014). "The natural history of sound localization in mammals--a story of neuronal inhibition." Front Neural Circuits **8**: 116.; Bildausschnitt der originalen Abbildung entnommen;

Verwendungserlaubnis entsprechend der Creative Commons Attribution License (CC BY), abgerufen am 10.01.2018

Abb. 3: Radtke-Schuller, S., G. Schuller, F. Angenstein, O. S. Grosser, J. Goldschmidt and E. Budinger (2016). "Brain atlas of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) in CT/MRI-aided stereotaxic coordinates." Brain Struct Funct **221 Suppl 1**: 1-272.; Bildausschnitt der originalen Abbildung entnommen; Verwendungserlaubnis nach <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> (abgerufen am 10.01.2018)

Abb. 4: Radtke-Schuller, S., G. Schuller, F. Angenstein, O. S. Grosser, J. Goldschmidt and E. Budinger (2016). "Brain atlas of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) in CT/MRI-aided stereotaxic coordinates." Brain Struct Funct **221 Suppl 1**: 1-272.; Bildausschnitt der originalen Abbildung entnommen und um schwarze Markierungen ergänzt; Verwendungserlaubnis nach <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> (abgerufen am 10.01.2018)

Alle hier nicht eigens aufgeführten Abbildungen stammen von der Autorin.

6.5. Danksagung

An erster Stelle danke ich meinen Eltern und meinem Bruder für all ihre Unterstützung in meinem Studium und zahlreichen anderen Projekten. Ohne sie wäre vieles nicht möglich gewesen!

Die Qualität meiner Arbeit wurde durch einige Menschen verbessert, an dieser Stelle möchte ich meinen Dank dafür aussprechen:

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. Hagen, der mir die Promotion an der Universitäts-HNO-Klinik in Würzburg durch die Bereitstellung meines Arbeitsplatzes und der finanziellen Mittel ermöglichte.

Meine Betreuerin Frau PD Dr. med. Maike Vollmer, engagierte sich konsequent in meinem Projekt und war meine ständige Ansprechpartnerin, die mir regelmäßig Feedback gab.

Besonders danken möchte ich der medizinisch-technischen Laboratoriumsassistentin unserer Arbeitsgruppe, Frau Barbara Kellner, die mich während der Erarbeitung meiner Dissertation begleitet und unterstützt hat. Auch meine Kollegen im Labor, Herr Dr. rer. nat. Armin Wiegner und Herr Martin Kempe sorgten immer für eine gute Stimmung.

Ein großer Dank geht an Herrn Prof. Dr. rer. nat. Otto Gleich, der nicht nur zur Aufarbeitung der Gehirnschnitte viel beigetragen hat, sondern auch mit seinem fachlichen Rat besonders zur histologischen Auswertung mit immenser Hingabe und Geduld zur Seite stand.

Bester Dank geht an alle Beteiligten des Forschungsteams der HNO-Klinik sowohl in Regensburg als auch in Würzburg, die die histologischen Schnitte angefertigt und mir die Auswertung der Gehirne letztendlich ermöglicht haben.

Die statistische Beratung des Lehrstuhls für medizinische Epidemiologie und Biometrie hat mir beim Erstellen der Statistik enorm weitergeholfen; besonders Frau Viktoria Rücker engagierte sich mit großer Geduld und beantwortete umfassend meine zahlreichen Fragen.

6.6. Lebenslauf

SCHULE UND STUDIUM

1998 bis 2002	Grundschule Bad Neustadt
2002 bis 2010	Johann-Philipp-von-Schönborn-Gymnasium Münnerstadt: sprachliches und humanistisches Gymnasium, Ganztagsgymnasium Abschluss Juni 2010: Abitur
Oktober 2010 bis August 2012	Medizinstudium an der Julius-Maximilians- Universität Würzburg, Abschluss des ersten Abschnitts der ärztlichen Prüfung (Physikum)
September 2012 bis Juni 2013	Studium an der Universität Basse-Normandie Caen in Frankreich
Juli 2013 bis Oktober 2016	Klinischer Abschnitt des Medizinstudiums in Würzburg, Abschluss des zweiten Abschnitts der ärztlichen Prüfung
November 2016 bis Oktober 2017	Praktisches Jahr am Uniklinikum Würzburg (Wahlfach Augenheilkunde), der Universität Basse-Normandie Caen (Chirurgie) und dem Lehrkrankenhaus Juliusspital in Würzburg (Innere Medizin)
Dezember 2017	Abschluss des dritten Abschnitts der ärztlichen Prüfung und Erhalt der Approbation

SPRACHKENNTNISSE

Französisch	in Wort und Schrift (Dalf C1)
Englisch	in Wort und Schrift (Certificate in Advanced English: Grade B)
Spanisch	Niveau A2
Kiswahili	Grundkenntnisse

HOBBIES

Schwimmen im Verein, Joggen, Zeichnen, Sprachen lernen

