

**Aus dem Zentrum für Neurologie
Neurologische Universitätsklinik Tübingen/
Hertie Institut für Klinische Hirnforschung
Abteilung Kognitive Neurologie
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H.-P. Thier**

**Psychophysik und neuronale Kodierung
vibratiler Stimuli im Tastaarsystem der Ratte**

**Inaugural- Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Christa-Caroline Gertrud Bergner
aus Halle/Saale**

2012

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. C. Schwarz
2. Berichterstatter: Professor Dr. B. Antkowiak

Meinen Eltern, meinem Mann, meinen Brüdern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen.....	5
1. Generelle Einführung in das Thema der Dissertation.....	6
1.1 Das Tasthaarsystem der Ratte - Anatomische Grundlagen.....	7
a) Die Vibrissen.....	7
b) Haarfollikel-Rezeptoren und Neurone der Somatosensorischen Bahn....	8
1.2. Das Tasthaarsystem der Ratte: Neuronale Antworten im Ganglion Trigem- minale.....	11
1.3 Interaktion von Tasthaar und Oberflächen bei taktiler Exploration.....	12
1.4 Codierung von Tasthaarbewegung im somatosensorischen System.....	14
1.5 Signaldetektionstheoretische Vergleiche von psychophysischen und neu- ronalen Daten.....	16
1.6 Frequenzdiskrimination bei Primaten.....	18
1.6 Ziel und Fragestellung der Dissertation.....	21
2. Discrimination of Vibrotactile Stimuli in the Rat Whisker System : Behavior and Neurometrics.....	23
2.1 Summary.....	24
2.2 Introduction.....	24
2.3 Experimental Procedures.....	26
2.4 Results.....	33
2.5 Discussion.....	48
3. Zusammenfassung und abschließende Diskussion.....	52
3.1. Ergebnis des Verhaltensexperimentes und Konsequenzen.....	52
3.2 Kritische Beurteilung der Ergebnisse des Verhaltensexperiments.....	54
3.3 Neuronale Codierung vibratiler Stimuli.....	56
3.4 Ausblick und weiterführende Experimente.....	59
3.5 Zusammenfassung der Dissertation.....	60
5. Literaturverzeichnis.....	63
6. Erklärung zum Eigenanteil einzelner Autoren.....	70

Abkürzungen

Nucleus posterior des Thalamus	POm
Ventrolateraler Teil des Ventralen posteriomedialen Nucleus	VPMvl
Dorsomedialer Teil des Ventralen posteriomedialen Nucleus	VPMdm
Belohnter Stimulus	CS+
Unbelohnter Stimulus	CS-
Zeitfenster für die Belohnung einer Antwort – Window of Opportunity	WOP
Schnelladaptierende Neurone (Rapidly Adapting)	RA
Langsamadaptierende Neurone (Slowly Adapting)	SA
Falsch Positive	FP
Richtig Positive	RP
Area under the Receiver Operating Characteristic	AUROC

1. Generelle Einführung in das Thema der Dissertation

Wahrnehmung ist ein aktiver Prozess. Wir sind sensorischen Eindrücken nicht hilflos ausgeliefert, vielmehr sind wir selbst in der Lage das empfundene Bild unserer Außenwelt zu gestalten. Dies geschieht z.B., indem wir unsere Sinnesorgane aktiv auf bestimmte Bestandteile der Außenwelt ausrichten oder unsere Aufmerksamkeit selektiv bestimmten Bereichen zuwenden.

Die motorischen Programme, die die Explorationsstrategie der sensorischen Organe bei einer aktiven Wahrnehmung bestimmen, werden dabei an internen Hypothesen über die Struktur der Außenwelt ausgerichtet. Bei den aufgenommenen sensorischen Daten muss die aktive Bewegung des Sensors berücksichtigt und es muss der Einfluss des abgelaufenen Motorprogramms vom Einfluss der Umgebungsstruktur auf das ein-kommende Signal unterschieden werden. Gleichzeitig müssen die internen Hypothesen und das motorische Programm an den neu gewonnenen Eindrücken bezüglich der Struktur der Außenwelt ausgerichtet werden.

Ein Modellsystem zur Untersuchung der aktiven Wahrnehmung ist das Vibrissensystem der Ratte. Ratten explorieren mit ihren Tasthaaren aktiv die Umgebung. In Verhaltensexperimenten konnte gezeigt werden, dass die Tiere in der Lage sind, mit Hilfe der Tasthaare Grabenweiten (Hutson und Masterton, 1986), Öffnungsbreiten (Krupa et al., 2001), Objektlokalisationen (Metha et al., 2007) oder Texturen von Objekten (Carvel und Simons, 1990; Guic-Robles et al., 1989) wahrzunehmen und zu differenzieren. Die Fähigkeit von Ratten, durch ihre Tasthaare Oberflächenstrukturen zu unterscheiden, ähnelt der taktilen Diskriminationsfähigkeit der menschlichen Fingerspitzen (Carvell und Simons, 1990). Jedoch bietet das Tasthaarsystem der Ratte einige Vorteile, die die systematische Untersuchung erleichtern.

So erfolgt die aktive Bewegung der Tasthaare der Ratte in nahezu eindimensionaler Vorwärts-Rückwärts Bewegung, also mit im Vergleich zur Bewegung der menschlichen Hand eingeschränkten Freiheitsgraden. Darüber hinaus ist das Tasthaar der gezielten Untersuchung und Manipulation leicht zugänglich. Die

neuronale Repräsentation der Tasthaare nimmt einen großen Raum ein und weist eine ausgeprägte Somatotopik auf (s. unten). Dadurch, sowie durch den linsenzephalen Aufbau des Rattenhirns (mit weitgehender Abwesenheit von Gyri und Sulci) zeigen sich die neuronalen Bestandteile des Vibrissensystems einer physiologischen Untersuchung besonders zugänglich.

Aus diesen Gründen erscheint es lohnenswert das Vibrissensystem der Ratte als Modell für die aktive Wahrnehmung zu verwenden und seine Funktionsweise genauer zu erschließen. Die vorliegende Arbeit leistet, dieser Motivation folgend, einen Beitrag zum Verständnis der Wahrnehmung und neuronalen Codierung vibratiler Stimuli im Vibrissensystem der Ratte. Im Folgenden soll zunächst einleitend auf anatomische und physiologische Grundlagen des Systems eingegangen und die Fragestellung der Arbeit genauer umrissen werden.

1.1 Das Tasthaarsystem der Ratte - Anatomische Grundlagen

a) Die Vibrissen

Der Aufbau des Tasthaarfeldes der Ratte zeigt über verschiedene Individuen eine einheitliche Struktur (Rice et al., 1986; Brecht et al., 1997). Es setzt sich aus ca. 26 Makrovibrissen zusammen sowie aus 40-70 Mikrovibrissen, welche bevorzugt frontal und kaudal der Makrovibrissen gelegen sind. Die Makrovibrissen sind in fünf dorso-ventral orientierten Reihen organisiert (bezeichnet als Reihe A bis E), die 4-7 Vibrissen enthalten (nummeriert von 1 bis 7 in kaudokranialer Richtung, siehe Abbildung 1). Am kaudalen Ende des Tasthaarfeldes finden sich jeweils zwischen diesen Vibrissenreihen insgesamt vier als Stradler (α - δ) bezeichnete zusätzliche Tasthaare. Makrovibrissen unterscheiden sich von Mikrovibrissen durch ihre größere Länge und geringere Verteilungsdichte, wobei eine exponentielle Abnahme der Vibrissenlänge von kaudal nach kranial zu verzeichnen ist (Brecht et al., 1997). In funktioneller Hinsicht wurde vermutet, dass die langen Makrovibrissen für die Information über Objektdistanz, die kürzeren Mikrovibrissen für die Wahrnehmung der Oberfläche und die Differenzierung der Objekte verantwortlich sind (Brecht et al., 1997). Eine alternative Hypothese, nach der die langen Makrovibrissen zur Oberflächenexploration, die kür-

zeren Vibrissen als Lokalisationsdetektoren verwendet werden, findet sich jedoch in Carvell und Simons, 1990 sowie Sachdev et al., 2001).

b) Haarfollikel-Rezeptoren und Neurone der Somatosensorischen Bahn

Der Haarfollikel an der Basis des Tasthaares ist in einem Gefäßsinus eingebettet und wird von einer Kollagenkapsel umschlossen. Im Sinus-Haarfollikel-Komplex erfolgt zugleich die Verankerung der Makro- und Mikrovibrissen im dermalen Bindegewebe sowie die Transformation der mechanischen Parameter der Tasthaarbewegung in neuronale Signale durch verschiedene Tastrezeptoren. Die Innervierung des Follikels wird über einen kaliberstarken tiefen und mehrere dünne oberflächliche Vibrissennerven gewährleistet (Rice et. al, 1997). Der Haarfollikel ist auf diese Weise mit über 200 Nervenfasern (Waite und Cragg, 1982) versorgt. Längere, weiter posterior gelegene Tasthaare erhalten mehr Fasern als kurze anteriore. Diese graduelle Zunahme der neuronalen Repräsentation findet sich auch auf höheren Relaisstationen wieder (Woolsey und Van der Loos, 1970; Welker und Van der Loos, 1986; Leiser und Moxon, 2006).

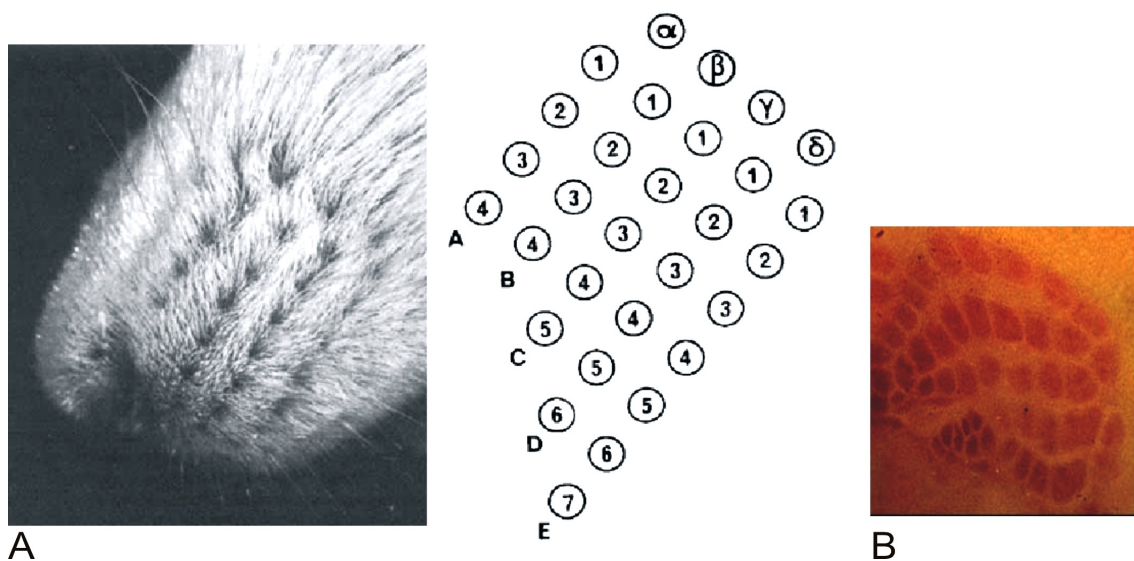


Abbildung 1: Aufbau des Tasthaarfeldes der Ratte. A) Ansicht der Tasthaare von lateral, fünf horizontale Reihen, in dorsoventraler Richtung bezeichnet als A-E, einzelne Tasthaare der jeweiligen Reihen werden in kaudo-kranialer Richtung von 1-7 durchnummeriert. B) Cytochromoxidase Färbung der IV. Kortexschicht des primären somatosensorischen Kortex der Ratte. Es zeigen sich separierte Felder, sogenannte Barrels. Die Neurone dieser Felder haben jeweils ein identisches Tasthaar als Zentrum ihres rezeptiven Feldes. (Modifiziert übernommen aus Arvidsson, 1982 sowie Petersen, 2003.)

Die Nervenfasern enden an (bzw. als) verschiedene(n) Tastrezeptoren, unter anderem Merkel-, stachelige, retikuläre und lanzettförmige Rezeptoren (Mosconi et al., 1993; Rice et al., 1997; Ebara et al., 2002), die die Transformation der Tastaarbewegung in neuronale Signale vermitteln.

Die Afferenzen der Tastrezeptoren des Follikels verlaufen über den infraorbitalen bzw. maxillären Nerv zum Ganglion Trigeminale. Dieses findet sich an der Basis der mittleren Schädelgrube und enthält die Zellkörper der pseudounipolaren somatosensorischen Neurone. Nach Umschaltung auf das zweite Neuron der somatosensorischen Bahn innerhalb der trigeminalen Hirnstamm-Nuclei erfolgt die Weiterleitung des taktilen Signals zum Thalamus in weitgehend getrennten Bahnen: Die *lemniscale Bahn* verläuft von dem Nucleus principalis Nervi Trigemini des Hirnstamms zum dorsomedialen Teil des ventralen postero-medialen Nucleus (VPMdm) des Thalamus und projiziert von hier aus hauptsächlich in Schicht IV der sogenannten „Barrel“-Einheiten (s. unten) des primären somatosensorischen Kortex. In der *paralemniscalen Bahn* werden Signale über den Nucleus spinalis Nervi Trigemini des Hirnstamms zum medialen Teil des Nucleus posterior des Thalamus (POm) und im Hauptteil weiter in Schicht IV der Septen zwischen den Barrel-Einheiten des primären somatosensorischen Kortex geleitet. Eine sogenannte extralemniscale Bahn verbindet den Nucleus spinalis Nervi Trigemini mit dem ventrolateralen Teil des ventralen posteriomedialen Thalamuskerns (VPMvl) und dem sekundären somatosensorischen Kortex (Ebner und Popescu, 2009, siehe Abbildung 2C). Die Neurone der lemniscalen Bahn haben kleine rezeptive Felder und kurze Antwortlatenzen. Sie dienen vermutlich der hochauflösenden Verarbeitung von Tastaarauslenkungen. In der paralemniscalen Bahn finden sich größere rezeptive Felder und es wird eine vorrangige Bedeutung für die Verarbeitung von Bewegungssignalen nach räumlicher Integration und Integration von motorischen und sensorischen Informationen angenommen (Brecht, 2007).

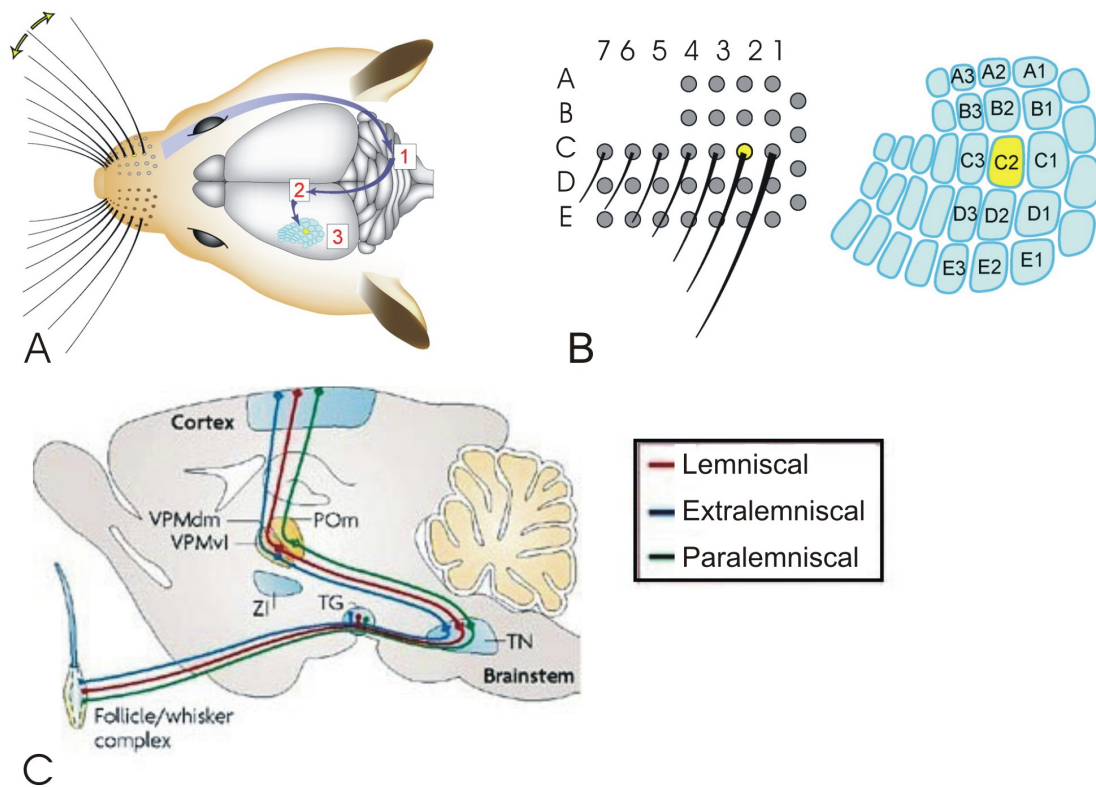


Abbildung 2: Anatomie des Somatosensorischen Systems der Ratte. A) Allgemeiner Verlauf der somatosensorischen Bahnen des Tasthaarsystems: Nervenimpulse vom Ganglion Trigeminales werden zu Hirnstammkernen (1), Thalamus (2) und Kortex (3) weitergeleitet. B) Somatotopische Gliederung des primären somatosensorischen Kortex: Das Tasthaarfeld ist in fünf Reihen (A-E) mit bis zu sieben Tasthaaren gegliedert. Jedem Tasthaar entspricht eine Barrekkolumne auf Ebene des primären somatosensorischen Kortex. C) Verschiedene Bahnen des somatosensorischen Systems verlaufen nach Umschaltung im Ganglion Trigeminales (TG) und den Trigeminalem Nuclei des Hirnstamms (TN) zum Kortex: Die lemniscale Bahn über VPMdm, die extralemniscale Bahn über den VPMvl und die paralemniscale über den POm. (Modifiziert übernommen aus Diamond et al., 2008 und Petersen, 2007.)

Histologische und elektrophysiologische Studien zeigen bereits auf Ebene des Ganglion Trigeminales eine gewisse somatotopische Gliederung in der Anordnung der Neurone (hauptsächlich in Bezug auf die kranio-caudale Achse: Arvidsson, 1982; Lichtenstein et al., 1990; Leiser und Moxon, 2006). Diese Gliederung findet sich in ausgeprägterer Form auf höheren Ebenen des trigeminalen Systems. Durch Cytochrom Oxidase Färbungen lässt sich die Organisation

der Neurone in „whisker maps“, mit räumlich separierten Neuronenverbänden, die einzelnen Tasthaaren zugeordnet werden können, sichtbar machen: Als „Barrelettes“ im Hirnstamm (Ma, 1991), „Barreloids“ im VPM des Thalamus (Van der Loos, 1976) und schließlich als „Barrels“ – fassförmige Neuroneneinheiten – in Schicht IV des primären somatosensorischen Kortex (Woolsey und Van der Loos, 1970, siehe Abbildung 1B und 2B). Innerhalb einer Barrel-Kolumne stimmen die Neurone in ihrem rezeptiven Feld weitgehend überein. Das Zentrum des rezeptiven Feldes entspricht dem korrespondierenden Tasthaar, das die stärkste Antwort mit kürzester Latenz hervorruft. Die Umgebung des rezeptiven Feldes bilden benachbarte Tasthaare, die ebenfalls exzitatorische Wirkung auf das Neuron haben.

1.2. Das Tasthaarsystem der Ratte: Neuronale Antworten im Ganglion Trigeminale

Das Antwortverhalten der primären Neurone des trigeminalen Systems ist vielfach studiert und beschrieben worden (Zucker und Welker, 1969; Gibson und Welker, 1983 a;b; Lichtenstein et al., 1990; Shoyket et al., 2000; Stüttgen et al., 2006; 2008). Die rezeptiven Felder der Neurone beziehen sich auf ein Tasthaar, selten beobachtete Spontanaktivität der Zellen ist vermutlich auf Gewebshysteresiseffekte und minimale Auslenkung der Haare aus der Nullposition zurückzuführen.

Die Neurone wurden anhand verschiedener Parameter ihres Antwortverhaltens (auf Rampenstimuli variierender Geschwindigkeit und Amplitude) in Subtypen unterteilt: So gruppierte man die Neurone in „schnelladaptierende“ (Rapidly Adapting – RA) und „langsamadaptierende“ (Slowly Adapting – SA) Neurone. SA Neurone generieren im Gegensatz zu RA Neuronen auch während der tonischen Auslenkungsphase eines Rampenstimulus Antworten (Lichtenstein et al., 1990; Shoyket et al., 2000). Des Weiteren lässt sich in einigen SA Neuronen eine Richtungsselektivität des Antwortverhaltens verzeichnen. Bei diesen Neuronen unterscheidet sich die Stärke der Antwort des Neurons für verschiedene Auslenkungsrichtungen (Lichtenstein et al., 1990). Den einzelnen Neuronen las-

sen sich Schwellen-Amplituden und -geschwindigkeiten eines Rampenstimulus zuordnen. Bei Überschreiten dieser Schwellenwerte kommt es mit hoher Wahrscheinlichkeit zur Generierung von einem bzw. konsekutiven Antwortspikes. Diese Schwellenwerte zeigten sich in der neuronalen Population kontinuierlich verteilt (Gibson und Welker, 1983a; Shoyket et al., 2000)¹. Die Geschwindigkeitsschwellen für SA Neurone liegen dabei eher im niedrigen, die für RA Neurone eher im hohen Geschwindigkeitsbereich (Stüttgen et al., 2006). Genaue Daten über die relative Häufigkeit der Amplituden- bzw. Geschwindigkeitsschwellen von Neuronen innerhalb des Ganglion Trigeminale fehlen jedoch. Schwierigkeiten für die Klassifikation der Neurone mittels Rampenstimuli ergeben sich daraus, dass Adaptationsphänomene und physikalische Schwellenparameter stark von der Auslenkungsrichtung und Ausgangsposition des Tasthaares abhängen (Zucker und Welker, 1969; Lichtenstein et al., 1990; Stüttgen et al., 2008).

Erste Erkenntnisse über spezifische Rollen, die RA und SA Neurone für Verhalten und Wahrnehmung spielen, konnten in einer psychophysischen Studie gewonnen werden. Hierin ließen sich zwei getrennte psychophysische Kanäle mit unterschiedlicher Sensitivität für spezifische Bereiche des Stimulusspektrums bestimmen, die diesen beiden Neuronentypen zugeordnet werden konnten (Stüttgen et al., 2006). Es ist möglich, dass in Zukunft weitere Unterteilungskriterien der neuronalen Population gefunden werden, die mit spezifischen Wahrnehmungskanälen in Verbindung gebracht werden können. (Vergleiche dazu auch Erkenntnisse über die spezifische Rolle verschiedener Rezeptortypen und Neurone des taktilen Systems des Primaten (Johnson et al., 2000; Johnson, 2001)).

1.3 Interaktion von Tasthaar und Oberflächen bei taktiler Exploration

Bei der aktiven Bewegung eines Tasthaars über Oberflächen entstehen durch die Interaktion von Haar und Oberfläche Mikrobewegungen an dessen Basis. So wird das Tasthaar beispielsweise vorübergehend an Oberflächenstrukturen

¹ Kontinuierlich bedeutet in diesem Fall, dass für alle im Experiment untersuchten Stimuli Beispiele von Neuronen gefunden wurden, für die die Geschwindigkeiten/Amplituden des jeweiligen Stimulus Schwellenwerte darstellten.

arretiert und löst sich anschließend, was zu sogenannten „Stick-und-Slip“ Ereignissen führt. Diese bestehen aus Phasen hoher negativer und positiver Beschleunigung (Ritt et al., 2008; Wolfe et al., 2008).

In Verhaltensstudien konnte gezeigt werden, dass Ratten in der Lage sind, mit Hilfe von einem einzelnen Tasthaar die Lokalisation eines Objektes zu bestimmen (Metha et al., 2007), Stimuli zu detektieren (Hutson und Masterton, 1986, Stüttgen et al., 2006) oder Grabenweiten wahrzunehmen (Hutson und Masterton 1986). Entsprechende Erkenntnisse für die Texturdiskrimination mittels eines Einzelhaares fehlen bisher. Jedoch konnte theoretisch gezeigt werden, dass die verschiedenen Bewegungstrajektorien eines einzelnen Tasthaares über verschieden raue Oberflächen die Differenzierung dieser Oberflächen erlauben (Hipp et al., 2006; Arabzadeh et al., 2005). Es erscheint daher wahrscheinlich, dass die Trajektorie eines Einzelhaares der Diskrimination von Texturen zu Grunde liegen kann. Sie lässt sich durch verschiedene physikalische Parameter und in unterschiedlicher zeitlicher Genauigkeit beschreiben:

1. Einzelne *kinematische Ereignisse* können das Profil charakterisieren. Dies sind Bestandteile der Bewegungstrajektorie, während derer hohe Schwellenwerte für Geschwindigkeit und Amplitude überschritten werden (Arabzadeh et al., 2005; Jadhav et al., 2009; Wolfe et al., 2008). Die Trajektorie wird auf diese Weise zeitlich hochauflösend beschrieben.
2. Die *Frequenz* des Profils entspricht im Falle von repetitiven Stimulationen (sinusoidale oder repetitive pulsatile Stimuli) der Häufigkeit von Tasthaarauslenkungen pro Zeiteinheit. Allgemein lässt sich die (vorrangige) Frequenz eines Stimulus außerdem nach Fouriertransformation des Bewegungsprofils ermitteln.
3. Die *Intensität* eines Bewegungsprofils ist ein physikalischer Parameter, der durch Integration von Potenzen der Geschwindigkeit der Bewegungstrajektorie bestimmt wird. Bei einfacher Integration des Geschwindigkeitsprofils entspricht sie der mittleren Geschwindigkeit der Trajektorie. Wird das Quadrat der Geschwindigkeit verwendet, ergibt sich ein zur

mittleren kinetischen Energie proportionaler Wert² (Arabdazeh et al., 2003). Frequenz und Intensität beschreiben das Bewegungsprofil in geringer zeitlicher Auflösung.

Es stellt sich die Frage, welcher dieser verschiedenen Parameter der Diskrimination von Texturen zu Grunde liegt. Die unterschiedlichen Parameter vermitteln jeweils einen unterschiedlich großen Informationsgehalt (Hipp et al. 2006). Es ist jedoch zu beachten, dass die Relevanz der jeweiligen physikalischen Parameter nicht nur auf Grundlage dessen beurteilt werden darf, welcher Parameter den höchsten theoretischen Informationsgehalt hat. Die entscheidende Frage ist zunächst, auf welchen Parameter die Rezeptoren des Follikelkomplexes sensibel reagieren, d.h. welcher im Antwortprofil der Neurone des somatosensorischen Systems repräsentiert wird.

1.4 Codierung von Tasthaarbewegung im somatosensorischen System

Welcher der soeben genannten physikalischen Parameter von Bewegungstrajektorien des Tasthaars findet sich in der Antwort der Neurone des somatosensorischen Systems repräsentiert?

Die Genauigkeit des Antwortverhaltens der Neurone des somatosensorischen Systems ist beeindruckend. *Frequenzen* können bis zu einer Größe von ca. 300Hz in 1:1-Relation phasen-fixiert (mit Spikeantworten zu identischen Stimulusphasen für aufeinander folgende Pulse) von Neuronen des Ganglion Trigeminales, Hirnstamm, Thalamus und Kortex in anästhesierten Tieren beantwortet werden (Ewert et al., 2008; Deschênes et al., 2003).

Die Rezeptorneurone des Ganglion Trigeminales zeigen präzise reproduzierbare Antworten auf *kinematische Ereignisse* (mit bestimmter Geschwindigkeit und Auslenkungsrichtung) von Stimuli mit zufällig variierenden Bewegungstrajektorien (Jones et al., 2004). Die Antworten von Rezeptoren und kortikalen Neuronen

² Kinetische Energie = $\frac{1}{2} * \text{Masse} * \text{Geschwindigkeit}^2$. Höhere Potenzen der Geschwindigkeit können prinzipiell auch zur Berechnung der Intensität verwendet werden.

auf passive Tasthaarbewegungen lassen sich unter Bezug auf ihre jeweilige Sensitivität für Geschwindigkeitsereignisse zufriedenstellend vorhersagen (Arabzadeh et al., 2005). Auf der anderen Seite ermöglicht das Antwortmuster der Neurone des Ganglion Trigeminale eine zeitlich genaue Rekonstruktion komplexer Trajektorien des Stimulus (Jones et al., 2004). Wird dieses Antwortmuster zeitlich unpräzise beschrieben, so verschlechtert sich eine solche Vorhersage zunehmend. Sie ist auf der Grundlage mittlerer Feuerraten gar nicht möglich. Auch wenn mittlere Feuerraten also wenig informativ bezüglich des zeitlich präzise bestimmten Geschwindigkeitsprofil sind, korrelieren sie mit der *Intensität* des Stimulus (der mittleren Geschwindigkeit und deren Potenzen; Arabzadeh et al., 2003).

Die hier erwähnten Experimente deuten darauf hin, dass die Neurone des somatosensorischen Systems auf alle drei der oben genannten Parameter der Tasthaarbewegung (Frequenz, Intensität, kinematische Ereignisse) sensibel reagieren. Dabei ist wie erwähnt eine zeitlich präzise Repräsentation der Bewegungstrajektorie nur durch eine zeitlich präzise Beschreibung der Antworten der trigeminalen Neurone möglich (Jones et al., 2004, Arabzadeh et al., 2005). Mittlere Feuerraten spiegeln den über die Bewegungstrajektorie gemittelten Wert der Intensität wieder. Zeitlich präzise Codierungssymbole scheinen dem Codierungssymbol der mittleren Feuerrate in der Diskrimination verschiedener Bewegungstrajektorien damit überlegen zu sein.

Die Bedeutung der Codierungssymbole und der physikalischen Parameter der Tasthaartrajektorie lässt sich jedoch nicht durch eine Untersuchung der neuronalen Antwortmuster in Isolation bestimmen. Diese Antwortmuster müssen vielmehr mit Erkenntnissen über das tatsächliche Verhalten der wachen Tiere in Beziehung gesetzt werden. So ist es möglich, dass eine zeitlich hochauflösende Beschreibung der Trajektorie sich zwar theoretisch in den neuronalen Antworten repräsentiert findet, diese hochauflösende Information jedoch nicht genutzt wird. Dies würde sich darin zeigen, dass Ratten die präzisen Unterschiede des kinematischen Profils der Bewegungstrajektorie nicht wahrnehmen und unter-

scheiden können, sondern vielmehr gemittelte Charakteristika differenzieren. Um diese Frage zu beantworten, sind Verhaltensexperimente nötig, die eine getrennte Beurteilung der Bedeutung der jeweiligen physikalischen Parameter für die Diskrimination ermöglichen.

Bisherige Verhaltensstudien zeigen sich in dieser Hinsicht defizitär. Ältere Experimente, bei denen frei bewegliche Ratten aktiv Oberflächen diskriminieren, erlauben nur eine ungenaue Rekonstruktion der Tasthaartrajektorie (Carvel und Simons, 1990; 1995; Guic-Robles et al., 1989). In neueren Verhaltensstudien wird diese Problematik durch moderne hochauflösende Videoaufzeichnungen angegangen (Von Heimendahl et al., 2007; Wolfe et al., 2008; Ritt et al., 2008; Jadhav et al., 2010). Für eine genaue Untersuchung der Verhaltensrelevanz der verschiedenen Parameter ist es jedoch wünschenswert, diese im Verlauf des Experimentes systematisch zu manipulieren und damit ihre spezifische Bedeutung für eine Diskrimination zu bestimmen. Dies wird nur im Rahmen einer passiven Stimulation möglich. Zur Bearbeitung der Fragestellung eignen sich dabei repetitive vibratorische Stimuli (sinusoidale oder pulsatile Stimuli), da sie sich ebenfalls mit Hilfe der genannten physikalischen Parameter beschreiben lassen. Pulsatile Stimuli haben gegenüber sinusoidalen Stimuli den Vorteil, dass die Parameter bei einer Manipulation nicht notwendig kovariieren. Der Übergang von einem Versuchsaufbau mit frei beweglichen Ratten zu kopffixierten Tieren ist dabei vorteilhaft, da er es ermöglicht die Stimulusapplikation in zeitlicher und räumlicher Dimension sehr genau zu kontrollieren.

1.5 Signaldetektionstheoretische Vergleiche von psychophysischen und neuronalen Daten

Um neuronale Daten mit den psychophysischen Erkenntnissen des Verhaltensexperimentes in Beziehung zu setzen, sind Beschreibungssysteme nötig, die sich auf die verschiedenen Untersuchungsergebnisse gleichermaßen anwenden lassen. Signaldetektionstheoretische Methoden ermöglichen es, die Diskriminationsfähigkeit des Individuums mit der Genauigkeit neuronaler Antworten vergleichbar zu machen (Green und Swets, 1966).

Die neuronalen Antworten auf zwei gegebene Stimuli A (grün) und B (blau in Abbildung 3) erfolgen nicht uniform, sondern durch stochastische Prozesse bedingt für wiederholte Präsentationen unterschiedlich. Es ergibt sich für die Stimuli jeweils eine bestimmte Verteilung der Wahrscheinlichkeiten möglicher neuronaler Antworten. Die Signaldetektionstheorie stellt Hypothesen darüber auf, wie gut ein idealer Beobachter bei gegebenen Wahrscheinlichkeitsverteilungen von der Beobachtung einzelner neuronaler Antworten auf den präsentierten Stimulus schließen kann. Dabei wird angenommen, dass der ideale Beobachter einer einfachen Regel für die Entscheidung zwischen den beiden möglichen Stimuli folgt: Wenn der Wert der neuronalen Antwort ein bestimmtes Kriterium „N“ übersteigt, entscheidet der Beobachter sich für Stimulus A, liegt er unterhalb dieses Kriteriums entscheidet er sich für Stimulus B.

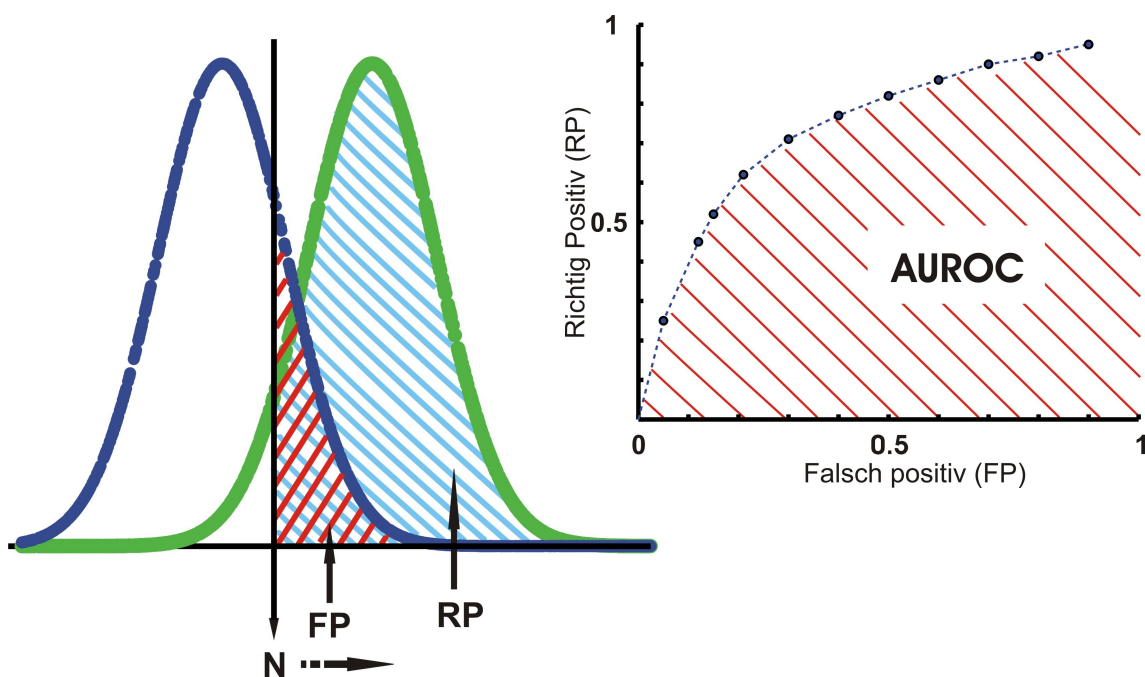


Abbildung 3: Signaldetektionstheorie und Area under the Receiver operating Characteristic. Verteilungen der neuronalen Antworten auf zwei verschiedene Stimuli werden mittels des Entscheidungskriteriums N differenziert. N kann von liberalen zu konservativen Kriterien verschoben werden (siehe linke Abbildungshälfte). Die sich dabei jeweils ergebenden Werte für RP und FP werden dann zur Bestimmung der Fläche unter der Receiver Operating Characteristic (AUROC, siehe rechte Abbildungshälfte) in Beziehung gesetzt.

Der Beobachter wird damit für die verschiedenen Kriterien einen bestimmten Prozentsatz der Verteilung richtig als Stimulus A klassifizieren (Richtig Positive – RP). Dabei nimmt er in Kauf, bestimmte neuronale Antworten auf den Stimulus A, die unterhalb des Kriteriums liegen, falsch nicht als Stimulus A zu klassifizieren. Außerdem wird er einen bestimmten Prozentsatz der Antwortverteilung auf Stimulus B, der oberhalb des Kriteriums liegt, falsch als Stimulus A beantworten (Falsch Positive – FP). Der Beobachter kann verschiedene Werte für das Kriterium „N“ annehmen. Konservative Kriterien (im Beispielfall höhere Werte für „N“) erzeugen eine geringe Anzahl FP, verringern aber auch die RP, liberale Kriterien befördern dagegen eine hohe Anzahl FP und gleichzeitig viele RP. In einer Receiver Operating Characteristic (ROC) wird für die verschiedenen Kriterien das Verhältnis von FP und RP dargestellt. Die Fläche unter der resultierenden Kurve (Area under the ROC- AUROC) liefert damit ein Maß, das unabhängig von dem durch den Beobachter gewählten Entscheidungskriterium die Separierbarkeit der beiden Verteilungen der neuronalen Antworten widerspiegelt. Dieser Wert kann mit den Resultaten der psychophysischen Experimente verglichen werden, die sich ebenfalls als AUROC-Werte darstellen lassen.³

Da es möglich ist Verteilungen von *Feuerraten* und präzisen *Zeitintervallen* einer neuronalen Antworten separat zu berechnen, können für diese beiden Codierungssymbole getrennt AUROC Werte ermittelt werden. Anschließend kann verglichen werden, welches Codierungssymbol die größere Übereinstimmung mit dem Tierverhalten befördert.

1.6 Frequenzdiskrimination bei Primaten

Um deutlich zu machen, wie Verhaltensdaten Schlussfolgerungen über neuronale Codierungssymbole für sensorische Stimuli beeinflussen, soll an dieser

³ Dabei wird für ein zu unterscheidendes Stimuluspaar (z.B. 60Hz vs. 90Hz) die Rate von Richtig-Positiven und Falsch-Positiven Antworten im psychophysischen Test bestimmt. Nimmt man nun an, dass diesem Verhalten normalverteilte neuronale Antworten auf die Stimuli zu Grunde liegen und sich die Tiere wie ein idealer Beobachter verhalten, kann man die Verteilungen neuronaler Antworten aus den RP- und FP- Raten rekonstruieren. Cohens d' errechnet sich aus dem Abstand der Mittelwerte dieser Verteilungen, normiert auf deren Standardabweichung. Aus diesem Wert lässt sich die AUROC errechnen (für Details siehe Methodenteil).

Stelle kurz auf die Frequenzdiskrimination bei Primaten eingegangen werden. Diese Erläuterungen sind außerdem hilfreich, da sie zeigen, wie nach aktuellen Erkenntnissen vibratorische Stimuli in einem anderen Tiermodell neuronal repräsentiert werden⁴.

Im taktilen System des Primaten werden für die Wahrnehmung niedriger Frequenzen (<80Hz, höchste Sensitivität im Bereich von 30-40Hz, „Flutter“) schnelladaptierende Neurone, die an Meissner-Korpuskeln enden, verantwortlich gemacht. Hohe Frequenzen aktivieren dagegen bevorzugt Pacini-Körperchen-Rezeptoren (Talbot et al., 1968; Johnson, 2000). Ob die Frequenz eines Stimulus im niedrigen Frequenzbereich mit hoher zeitlicher Präzision als Inter-spikeintervall oder vielmehr als mittlere Feuerrate der Neurone repräsentiert ist, wurde kontrovers diskutiert.

Frühe Studien zeigten für das Antwortmuster der Rezeptorzellen des somatosensorischen Systems auf vibratorische Stimulationen eine sehr präzise Übereinstimmung zwischen der Periodendauer eines sinusoidalen Stimulus und neuronalen Interspikeintervallen (Mountcastle et al., 1969). Schnelladaptierende Neurone des primären somatosensorischen Kortex (S1) wiesen im niedrigen Frequenzbereich ebenfalls eine hohe zeitliche Präzision ihrer Antworten im Verhältnis zum Stimulus auf. Mittlere Feuerraten für primäre Afferenzen und S1-Neurone zeigten dagegen für zwei diskriminierbare Frequenzen keine signifikanten Unterschiede (Mountcastle et al., 1969; 1990; Talbot et al., 1968). Dies deutete auf eine vorrangige Bedeutung der präzisen Interspikeintervalle für die Codierung verschiedener Frequenzen hin.

In neueren Experimenten fanden sich jedoch S1-Neurone, deren mittlere Feuer-

⁴ Ein wichtiger Unterschied des somatosensorischen Systems des Primaten und des Tastsystems der Ratte ist jedoch, dass die Objektkontaktfläche des Sinnesorgans der Primaten (beispielsweise einer menschlichen Fingerspitze) im Vergleich zur Oberfläche, die durch die einzelnen Tastschilde abgedeckt wird, sehr viel größer ist. Der Information, die in der räumlichen Verteilung der aktivierten Tastschilde enthalten ist, wird bei ersterem daher eine Bedeutung für die Wahrnehmung von Oberflächenstrukturen beigemessen (Connor und Johnson, 1992), die sich nicht in gleichem Maß für Letztere postulieren lässt. (Im Primatensystem sind sehr grobe Texturunterscheidungen auch statisch möglich (Johnson und Hsiao, 1992), feinere erfordern eine aktive Exploration.) Die Verhaltensrelevanz vibratorischer Frequenzstimuli wiederum muss vor diesem Hintergrund unter Umständen ebenfalls anders eingeschätzt werden.

rate mit der Stimulusfrequenz korrelierte, wodurch diese wieder als Alternative zur zeitlichen Intervall-Codierung in Frage kam (Salinas et al., 2000). In höheren kortikalen somatosensorischen Zentren zeigte sich außerdem ein starker Verlust der zeitlichen Präzision neuronaler Antworten. Die Feuerrate korrelierte auch auf diesen Ebenen dagegen gut mit der Frequenz.

Die Berücksichtigung von Verhaltensdaten, die die Diskriminationsfähigkeit von Primaten für vibratorische Stimuli unterschiedlicher Frequenz beschreiben, erbrachte weitere Argumente für eine Codierung durch Feuerraten. Es wurde unter Verwendung signaldetektionstheoretischer Methoden ermittelt, wie gut ein idealer Beobachter auf der Basis der neuronalen Antworten unter Verwendung von Inter-spikesintervallen oder Feuerraten zwischen den verschiedenen Stimuli unterscheiden könnte. Es zeigte sich, dass eine Diskrimination mit Hilfe von Inter-spikesintervallen ein sehr viel besseres Diskriminationsverhalten als das real beobachtete erwarten ließ. Neurometrische Funktionen mittlerer Feuerraten konnten das Verhalten dagegen gut erklären (Hernandez et al., 2000). Für eine Analyse der Ergebnisse auf der Basis einzelner Stimuluspräsentationen ergab sich eine Kovariation zwischen Feuerrate und Verhaltensentscheidung, jedoch nicht zwischen Inter-spikesintervallen und Verhaltensentscheidung (Salinas et al., 2000). Aperiodische Frequenzstimuli mit variierenden Interpulsintervallen konnten von Testsubjekten darüber hinaus ähnlich gut unterschieden werden wie periodische. Die zeitlichen Abstände der auf einzelne Pulse generierten neuronalen Antworten boten hier im Gegensatz zu mittleren Feuerraten jedoch keine relevante Information über die Frequenz (Romo et al., 1998; Salinas et al., 2000).

Diese Daten sprechen dafür, dass die mittlere Feuerrate für Primaten als das Codierungssymbol niederfrequenter Stimuli anzusehen ist und machen anschaulich, welche Rolle Verhaltensexperimente für die Lösung von Fragen nach der Codierung in sensorischen Systemen spielen können.⁵

⁵ Zu beachten ist, dass in den beschriebenen Studien intensitätsadjustierte Stimuli, für höhere Frequenzen also niedrigere Amplituden der Stimulation verwendet wurden. Dies entspricht der Erkenntnis, dass Detektionsschwellen für höhere Frequenzen niedrigere Amplituden erfordern und auch die subjektiv wahrgenommene Intensität eines Stimulus mit höherer Frequenz bei gleicher Amplitude größer angegeben wird (Goff, 1967). Die Frage nach dem relevanten physikalischen Parameter der Stimulation stellt sich nicht in der gleichen Form, wie sie für das Vibrissensystem oben formuliert wurde.

1.6 Ziel und Fragestellung der Dissertation

In den vorangestellten Ausführungen wurde erläutert, warum die bisherigen Erkenntnisse über die neuronale Codierung von taktilen Stimuli im Vibrissensystem einer Ergänzung durch Verhaltensexperimente bedürfen.

Die vorliegende Arbeit basiert auf einer Studie, die in der Fachzeitschrift „Neuron“ im Februar 2010 veröffentlicht wurde. In dieser Studie wurden kopffixierte Ratten in einem Go/No-Go Task erstmals darauf trainiert, vibratile Stimuli zu differenzieren. Sie sollten dabei einen belohnten Stimulus hoher Frequenz (CS+) durch Lecken an einer Wasserröhre beantworten, durch die sie im Falle einer richtigen Antwort belohnt wurden. Fünf unbelohnte Stimuli (CS-) niedrigerer Frequenz wurden zusätzlich in zufälliger Reihenfolge mit dem CS+ Stimulus dargeboten. Während diesen sollte die Ratte keine Leckantwort generieren. Bei einer falschen Beantwortung dieser Stimuli wurde sie durch ein Licht milde bestraft. Bei der Etablierung dieses Verhaltensexperimentes ergab sich insbesondere die Schwierigkeit, dass die Ratten sehr impulsiv reagierten und unmittelbar nach Stimulusbeginn Antworten generierten. Dies verhinderte vermutlich die Wahrnehmung der Stimulusunterschiede, die erst im Verlaufe der Präsentation deutlich wurden, so dass die Ratten die Diskrimination nicht lernten. Ein erster Schritt zur Reduktion dieser Impulsivität war die Verwendung langer Intervalle zwischen den einzelnen Stimulation, während derer die Ratten keine impulsiven Antworten geben sollten. Generierten Ratten während dieser Intervalle spontan Leckantworten, so verschob sich der Zeitpunkt der nächsten Stimulation, so dass ein Intervall von mindestens 10 Sekunden zwischen spontaner Antwort und erneuter Stimulation lag (time-out). Eine weitere Strategie zur Reduktion der Impulsivität war es, die Tiere darauf zu trainieren, einen Stimulus erst während eines Belohnungszeitfensters (Window of opportunity - WOP) gegen Ende der Präsentation zu beantworten. Ich habe bei der Etablierung des Verhaltenstask und dem Versuch, der Impulsivität zu begegnen, mitgearbeitet. Dabei habe ich speziell versucht, durch Einführung eines Lichtsignals am Ende der vibratilen Stimulation den Tieren den Beginn des WOPs zu signalisieren. Proble-

matisch bei diesem Ansatz war jedoch, dass die Tiere das Lichtsignal nicht als zusätzlichen Hinweis für die Diskrimination der vibratilen Stimuli aufzufassen schienen. Vielmehr assoziierten sie es unabhängig von dieser Stimulation mit einer Belohnung, die Impulsivität reduzierte sich auf diese Weise nicht. (Die Daten dieser Experimente sind in der vorliegenden Arbeit nicht aufgeführt). Im Verlauf erwies es sich als zielführender, das WOP ohne ein zusätzliches Signal einzuführen. Durch Verlängerung der Präsentationsdauer des Stimulus (auf 5 Sekunden) und graduelle Verschiebung des Beginns des WOPs auf das letzte Zehntel der Stimulation gelang es, die Impulsivität der Ratten zu reduzieren und damit die Unterscheidung der verschiedenen Frequenzen zu ermöglichen (Schwarz et al., 2010). In dem vorliegenden Experiment wurden pulsatile Stimuli verwendet. Diese bestanden aus einzelnen Perioden einer 100Hz Sinus-schwingung (10 Sekunden Pulsdauer), die in unterschiedlicher zeitlicher Häufigkeit (15-90 mal pro Sekunde) auf das Tasthaar appliziert wurden.

Zu Beginn wurden die Ratten mit Stimulationen trainiert, die sich in Intensität und Frequenz unterschieden, deren kinematisches Profil jedoch identisch war. Nach Etablierung dieses Verhaltensexperimentes wurde eine psychometrische Funktion für diese Diskrimination bestimmt. Ich habe an der Datensammlung für diese psychometrische Funktion mitgearbeitet (48 Trainingssessions von insgesamt 101 für Abbildung 4 und 7 relevanten Sessions). Anschließend habe ich in Diskussion mit Cornelius Schwarz, Todor Gerdjikov und Maik Stüttgen zwei weitere Verhaltensexperimente entworfen und durchgeführt, in denen nacheinander Frequenz und Intensität der Stimulationen angeglichen wurden (Abbildung 5 und 9). Hierbei war es das Ziel, die jeweiligen Parameter nacheinander uninformativ bezüglich der zu unterscheidenden Stimuli zu machen. Auf diese Weise gelang es, ihre jeweilige Rolle für die Diskriminationsleistung des Tieres gezielt zu bestimmen.

In einem zweiten Schritt wurde nach der neuronalen Codierungs-Strategie für die physikalischen Parameter innerhalb des somatosensorischen Systems gefragt. Die unter 1.4 erwähnten bisherigen Erkenntnisse bezüglich der Repräsen-

tation verschiedener physikalischer Parameter im trigeminalen System, sollten durch die Stimuli des Verhaltensexperimentes evaluiert und erweitert werden. Dazu habe ich auf der ersten Ebene des somatosensorischen Systems im Ganglion Trigeminale, die neuronalen Antworten auf das im Verhaltensexperiment verwendete Stimulusspektrum aufgezeichnet. Dieses Spektrum wurde durch zusätzliche Stimuli im hohen Frequenzbereich erweitert, um die Entwicklung des Antwortverhaltens bei ansteigender Frequenz genauer bestimmen zu können. Die im Verhaltensexperiment gewonnenen Erkenntnisse erlaubten es, die Untersuchung nach dem geeigneten Codierungssymbol zu präzisieren: Es konnte nun gezielt gefragt werden, welches Symbol den *verhaltensrelevanten* Parameter am besten widerspiegelt. Dies ermöglichte es, Gründe dafür anzuführen, die Codierung mittels Feuerraten der Codierung durch zeitliche Intervalle vorzuziehen.

2. Discrimination of Vibrotactile Stimuli in the Rat Whisker System : Behavior and Neurometrics

Todor V. Gerdjikov,^{1,2,3,4} Caroline G. Bergner,^{1,2,4} Maik C. Stüttgen,^{1,2,5} Christian Waiblinger,^{1,2} and Cornelius Schwarz^{1,2}

¹ Werner Reichardt Center for Integrative Neuroscience,

² Hertie Institute for Clinical Brain Research University of Tübingen, 72076 Tübingen Germany,

³ School of Psychology, University of Leicester, Leicester LE1 9HN, UK,

⁴ These authors contributed equally to this work,

⁵ Present address: Department of Biopsychology, Ruhr University, D-44801 Bochum, Germany

published in Neuron. 65(4), pp 530-40. (2010), reprinted with permission from Elsevier

2.1 Summary

Understanding the neural code underlying perception requires the mapping of physical stimulus parameters to both psychophysical decisions and neuronal responses. Here, we employed a novel psychophysical task in head-fixed rats to measure discriminability of vibrotactile whisker deflections. Rats could discriminate 90Hz from 60Hz pulsatile stimuli if stimulus intensity covaried with frequency. To pin down the physical parameters used by the rats to discriminate these vibrations, we manipulated stimulus amplitude to arrive at pairs of non-discriminable stimuli. We found that vibrations matched in intensity (measured as mean absolute velocity), but differing in frequency, were no longer discriminable. Recordings of trigeminal ganglion neurons revealed that the distribution of neurometric sensitivities based on spike counts, but not interspike intervals, matched the rats' inability to discriminate intensity matched stimuli. In conclusion, we suggest that stimulus mean absolute velocity, encoded in primary afferent spike counts, plays a prominent role for whisker-mediated perception.

2.2 Introduction

Rats use active vibrissa movements to discriminate textures at an amazingly fine level (Carvell and Simons, 1990). However, it is largely unclear which of the physical parameters of vibrissa vibration is encoded by the ascending tactile system and serves as the basis for texture discrimination. There exist several parameters which describe different aspects of vibrotactile signals. First, kinematic events can be extracted instantaneously from the vibrotactile signal, e.g., events surpassing a threshold of high amplitude, velocity, or acceleration (Arabzadeh et al., 2005; Jadhav et al., 2009; Wolfe et al., 2008). Second, physical intensity (henceforth simply referred to as intensity) is conventionally assessed by variables proportional to temporal integration of powers of velocity (e.g., mean absolute velocity, power, kinetic energy, etc.) (Arabzadeh et al., 2003). Third, frequency can be defined as number of cycles per second for repetitive stimuli (present study) or, in the general case, by spectral analysis (e.g.,

spectral centroid as in Hipp et al. [2006] or best frequency). Like intensity, frequency requires temporal integration of the raw signal. Finally, vibrotactile stimuli may be described by referring to perceptual categories emerging in human descriptions of tactile experience such as pitch, roughness, and subjective intensity. These have been sometimes used in studies of the monkey tactile system (Hernandez et al., 1997; LaMotte and Mountcastle, 1975). However, as perceptual qualities of the whisker-related tactile sense are unknown, we will not use perceptual categories in the present report and focus on the first three physical parameters. To determine the dominant parameter for psychophysical discrimination we used pulsatile stimuli (Salinas et al., 2000) that are helpful for the disentanglement of physical cues because their intensity can be manipulated by changing either interpulse intervals (base frequency) or pulse waveform (kinematic events) independently. With sinusoids, this is not possible because frequency and kinematic events are necessarily interrelated. Besides the search for relevant stimulus cues, another significant question in the physiology of perception is which coding symbol is used to convey information to subsequent processing stages in the tactile pathway. Recordings from primary afferents in rats (Jones et al., 2004; Shoykhet et al., 2000; Stüttgen et al., 2006), from somatosensory thalamus (Petersen et al., 2008), and from primary somatosensory cortex neurons (“barrel cortex”; Pinto et al., 2000; Stüttgen and Schwarz, 2008) showed that kinematic events of whisker vibrations are represented by spikes with great temporal precision. Furthermore, repetitive whisker deflections up to 300Hz evoke one-by-one phase-locked responses in primary afferents, brainstem, thalamocortical, and even barrel cortex units in anesthetized rats (Deschênes et al., 2003; Ewert et al., 2008). This precision suggests that spike intervals may be used to encode vibrotactile signals. However, the issue must be considered to be unresolved, as perceptual measurements in the monkey fingertip system have shown that these animals are able to discriminate mean frequency of pulses given at regular as well as irregular intervals, hinting at the importance of spike counts rather than periodicity as the code for vibrotactile discrimination (Hernandez et al., 2000; Salinas et al., 2000). The

touchstone to identify the relevant encoded parameter and the associated coding symbol for texture discrimination will be the comparison of neuronal sensitivity and the animal's percept as measured by psychophysical performance. As a step toward this end, we established a novel paradigm in head-fixed rats to assess the rats' sensitivity in a vibration discrimination task. We compare the results gained from these experiments to responses of primary afferents obtained in acute experiments. We present evidence that rats use intensity (as opposed to frequency) cues to perform fine discriminations of stimuli in the range of 60 to 90Hz, a range that carries most of the power of vibrissa vibration elicited by a range of complex fine textures (Hipp et al., 2006). Sensitivity measures of spike counts in primary afferents matched the dependency on intensity for fine discriminations while spike intervals, a possible coding symbol encompassing precise temporal spike timing, failed to do so.

2.3 Experimental Procedures

Animals and Surgery: Three male Sprague Dawley rats (Harlan Winkelmann, Borchon, Germany) weighing between 250 and 350 g on arrival were housed together on a 12 hr reversed light-dark cycle (lights on at 8 p.m.). Food was always freely available. Water was freely available until the start of behavioral testing. Rats were handled for about 5 min every day for two consecutive weeks after arrival. All animals were treated in full compliance with the German Law for the Protection of Animals. To prevent infection, antibiotic solution (Baytril, Bayer HealthCare AG, Leverkusen, Germany) was added to the drinking water (0.2 mg/ml) for 3 days before and 7 days following surgery. Approximately 2 weeks after arrival at the colony, rats were anesthetized in an induction chamber using a volatile anesthetic (5% isoflurane; Abbott GmbH, Wiesbaden, Germany) mixed with oxygen in a vaporizer system (Drägerwerk AG, Lübeck Germany) and administered at 1.0 l/min. Body temperature was monitored rectally and maintained at 37°C using a homeothermic pad. For fluid replacement, 5% glucose was administered subcutaneously at regular intervals (5 ml total injection volume). Anesthetized animals were fitted to a stereotaxic apparatus and iso-

flurane was administered at a concentration needed to maintain anesthesia (typically around 1%). After shaving and disinfection, the skin was incised and the pericranium was retracted. Stainless steel screws screwed into predrilled holes in the skull served as anchors for the head mount that was formed by a light curing dental composite (Heliomolar Flow, Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Lichtenstein). A larger screw (5 x 25 mm) was embedded upside down to serve as the head post. Nebacetin antibiotic ointment (Yamanouchi Pharma GmbH, Heidelberg, Germany) was applied before closing the skin with sutures. For analgesia, buprenorphine hydrochloride in solution (0.1 mg/kg; Reckitt Benckiser, Hull, UK) was injected immediately after surgery and twice daily on 3 consecutive days postoperatively. Rats were housed singly after surgery and were given 3 weeks to recover before the start of behavioral testing. Handling resumed 1 week postoperatively and continued throughout the duration of the experiment.

Whisker Stimulation: The whisker stimulator was constructed from a glass capillary (1 mm o.d.) glued to a piezo bender (Physik Instrumente, Karlsruhe, Germany). The tip of the capillary was further thinned through heating until a whisker hair could rest snugly inside the tip opening. Voltage commands were programmed in Matlab (Mathworks, Natick, MA, USA) and delivered using custom-written Lab VIEW software (National Instruments, Austin, TX, USA). The stimuli consisted of brief pulsatile deflections (single-period sine wave, 100Hz, duration 10 ms) presented to the left C1 whisker for 5 s at interpulse intervals of 11 to 66 ms corresponding to frequencies of 15 to 90Hz (Figure 4A). The deflection amplitude was fixed at 11.3° (i.e., 1 mm at 5 mm distance from the whiskerbase), except for the second part of the control experiment, where reduced amplitudes were introduced. The stimulator was calibrated with a modified phototransistor with resolution of 20 ms and 1 mm (HLC1395, Honeywell, Morristown, NJ, USA) and an optoelectronic measuring device with a resolution of 1.4 ms and 11 mm (laser emitter and detector; PAS 11 MH; Hama Laboratories, Redwood City, CA, USA) (Stüttgen et al., 2006). Differences in amplitude and peak velocity between frequencies were smaller than three percent. The

length of the glass capillary and point of attachment of the piezo element were adjusted such that the ringing of the stimulator was minimal. The capillary tip was positioned 5 mm away from the skin and tilted at an angle of 155° to 175° against the whisker such that the vibrissa rested against the inside wall of the capillary, ensuring that the stimulator immediately engaged the whisker. Stimulation was delivered in the rostral direction. Intensity of the stimuli was calculated from the tracked movements using the phototransistor. The velocity trace was taken as is or taken to the powers of two and three and integrated.

Apparatus: To ensure precise whisker stimulation uncontaminated by body and head movements, rats were carefully habituated to tolerate head immobilization. During head fixation, the rats rested in a box, with the head protruding and fixed by the headpost to a metal bracket extending from the top of the boxfront. The testing box was placed inside a dark styrofoam-insulated chamber. The chamber was equipped with a water spout for delivering water reward, a metallic arm holding the whisker stimulator, and an infrared camera for monitoring behavior. A piezo element attached to the drinking spout monitored licks at the drinking spout. A data acquisition board and custom-written software were used for experimental control and data acquisition (Labview, National Instruments, Austin, TX, USA). Animals received earplugs (Oropax, Wehrheim, Germany) during behavioral testing and a constant white background noise (70 dB) was produced by an arbitrary waveform generator (W&R Systems, Vienna, Austria) to mask any sound emission of the piezo benders.

Behavioral Procedure: In a first step, the rats underwent a systematic habituation protocol lasting about a month, ensuring that animals were comfortable with head fixation and willing to retrieve rewards. During testing, water intake was restricted to the apparatus where animals were given the opportunity to earn water to satiety. If needed, daily water intake was supplemented after testing to prevent drops in body weight. Rats were initially trained to associate a 90Hz conditioned stimulus (S+) lasting 1 s with water reward (intertrial interval

15–25 s). To discourage licking during the intertrial interval, a 10 s time-out was introduced if the animal emitted a lick in the 10 s prior to stimulus presentation. The time-out clock was reset with every subsequent lick so that a lick never preceded a stimulus by less than 10 s. Once responding on this task was stable, the stimulus was extended to 5 s and reward was contingent on licking the spout in the period between 500 ms before and 2000 ms after stimulus offset (Figure 4B). Lastly, a range of non rewarded frequencies was introduced (S-). Responding to the non rewarded frequencies was discouraged by switching the house light on for 5 s if a lick was emitted during the window of opportunity. Psychophysical testing was conducted using the method of constant stimuli. The behavioral experiment was separated in three different parts, in each of which a different set of stimuli was used. Stimuli were always presented in blocks of ten. Stimulus order was chosen randomly within each block and across blocks. One block consisted of five rewarded stimuli at 90Hz (at full or reduced amplitudes, respectively) and five non rewarded stimuli. None of the animals responded consistently in control sessions that were identical to experimental sessions, except that the whisker was detached from the stimulator, assuring that nontactile cues did not play a role in their performance. In the first part of the experiment, the rewarded stimuli were 90Hz at 11.3° amplitude and the non rewarded stimuli consisted of one single presentation of each of the S- stimuli (15, 30, 45, 60, and 75Hz) at identical amplitude. In a set of rats trained to establish the discrimination task, preliminary results (not presented here) were obtained on the discrimination between the two most extreme stimuli (15 versus 90Hz) that indicated that the difference between these stimuli was clearly suprathreshold and the discrimination between them was an easy task for the animals. Assuming discriminability, the actual discrimination performance of the rat on this pair, was used to monitor the rats' compliance in the task. To this end, a difference index d_i was calculated using response probabilities $p(r|s)$ conditional to a stimulus s :

$$(1) d_i = p(r|90\text{Hz}) - p(r|15\text{Hz})$$

Response probabilities are given by $p(r|s) = n_r / n_s$, where n_r is the number of responded stimuli, and n_s is the number of presentations of stimulus s . Only sessions entered the data set that contained d_i larger than 0.19, 0.25, and 0.29 corresponding to the upper 80% of the sessions. Response probabilities of the entire data set yielded false alarm rates of 17.7%, 27.4%, and 27.9% with 15Hz, the lowest unrewarded frequency (14.9%, 23.6%, and 24.1% for the data selection), 42.9%, 57.1%, and 54.7% with 60Hz (46.3%, 56.6%, and 56.4%) and hit rates of 67.5%, 77.8%, and 70.1% with the rewarded 90Hz stimulus (71.8%, 79.5%, and 71.4% for the selected data, each value for one of the three animals). Thus, the behavioral results were not changed significantly by the data selection. In order to measure active whisker movements that could occur when rats performed the discrimination task, we measured active movements using the modified phototransistor (HLC1395, Honeywell, Morristown, NJ, USA) used for calibration. For this purpose, a small polyimide tube was attached to the whisker between the skin and the tip of the glass tube used for stimulation. The photodiode was then set to measure the movement of this tube in rostro-caudal direction. To extract the trajectory due to active movement, a low pass filter (edge frequency 40Hz) was passed across the measured trajectory, which would readily remove the fast pulsatile deflections and leave the much slower active movements. Measurements of whisking before the pulsatile deflections showed that active movements do not occur in most of the trials. If they occurred, they typically contained frequencies lower than 5Hz (in two trials, power up to 15Hz was detected) and median peak amplitudes of 1.12° . The trajectories stripped of the piezo-induced deflections were used to test the neurometric sensitivity of trigeminal ganglion neurons, assuming a worst case scenario that active whisker movements are present in all trials (Figure 7).

Electrophysiological Recordings and Analysis: Acute experiments were performed under urethane anesthesia (1.5 mg/kg i.p.), and the animals were killed at the end of the experiment with an overdose of pentobarbital. The procedures, except the stimulation protocol, were exactly the same as reported previously

(Stüttgen et al., 2006). Briefly, single units were recorded in the trigeminal ganglion using an extracellular amplifier (MultiChannel Systems, Reutlingen, Germany, band-pass filtering 300–5,000Hz; A/D conversion at 20kHz). Electrodes consisted of glass-coated platinum tungsten wires pulled and ground to custom-shapes in our laboratory (shank diameter 80 μ m; diameter of the metal core 23 μ m; free tip length 8 mm; impedance, 3–6M Ω ; Thomas Recording, Giessen, Germany). Only clear single unit spikes entered the present data set. For stimulation, the piezo element was attached to the whisker in exactly the same way as done in the awake animals. The stimuli included the ones used for the psychometric investigations of the first part of the behavioral experiment plus five additional frequencies (65, 70, 80, 85, and 88Hz). In some experiments (26 neurons out of 56), an additional set of three 90Hz stimuli at reduced intensity (Amplitude: 7.6°, 8.7°, and 9.6°) was presented. Blocks thus consisted of 11 or 14 different stimuli that lasted 1 s and were repeated each ten times in a pseudorandom order with interstimulus intervals of 3 s. In some experiments, the stimuli presented were the sum of the pulsatile deflection and the trajectories of active whisker movement as measured in two awake behaving animals performing the same discrimination task (see above).

Burst Elimination: Multiple spike responses to a single pulse were generated at short time intervals. They were eliminated by leaving the first spike and deleting the consecutive spikes at interspike intervals smaller than 6 ms from the train.

Comparison of Neurometric and Psychometric Sensitivity: Psychophysical data assessed as response-probabilities was converted into sensitivity d' using the following equation:

$$(2) d' = \Phi^{-1}p_{\text{hit}} - \Phi^{-1}p_{\text{FA}}$$

where p_{hit} signifies the probability of correct responses, p_{FA} the probability of false alarms, and Φ^{-1} is the probit function (Stüttgen and Schwarz, 2008). In or-

der to compare psychometric with neurometric sensitivities d' values were converted to area under the receiver operating curve (AUROC) (Stanislaw and Todorov, 1999):

$$(3) \text{ AUROC} = \Phi(d'/\sqrt{2})$$

Neuronal sensitivities were computed for two possible coding symbols: spike count and interspike intervals. In both cases, the probability distributions for the occurrence of spike numbers or spike intervals were computed. Then ROC curves were constructed by shifting a criterion c in steps of one spike or 1 ms intervals to yield hit and false alarm rates. This was done for all pairs of S+ and S- stimuli. Neuronal sensitivity was then calculated as the AUROC which corresponds to the percentage correct responses of an unbiased, ideal observer under the conditions of a two alternative forced choice procedure (Green and Swets, 1966). The discrimination rule was the following: if the neurometric variable (spike count or interval) is larger than c , choose S+; otherwise, choose S-. This rule has been a standard for the analysis of spike counts (Britten et al., 1992; Parker and Newsome, 1998) and was adapted here in addition for the use with spike intervals. It should be noted that it is based on a yes/no task (or go/no go, for that matter) and, thus, demanded the division by $\sqrt{2}$ in Equation (3) to yield comparable psychometric and neurometric variables (cf. Green and Swets, 1966, section 3.2.4). Our procedure for intervals implies that the observer generates a decision after the occurrence of each interval, while in the experimental reality, the rat only makes a decision toward the end of the stimulus—after having observed many intervals. We opted, nevertheless, for this procedure because it reflects the temporal properties of the spike train better than any variable that can be extracted from a set of intervals occurring in response to a single stimulus presentation. Thus, it seems best suited to answer the question whether or not information in precise timing is used by the animal to generate its percept—our prime goal in the present study. Nevertheless, in order to generate an intuition about sensitivities based on variables that distill one number from all

intervals generated during a single stimulus presentation, we repeated the ROC analysis using several approaches. First, we computed power-spectra from the spike trains and calculated AUROC values from the median frequencies around the maximum of the spectrum in the same way as has been done before (Hernandez et al., 2000; Luna et al., 2005). Second, we used the median interval (the mean interval is not an appropriate alternative because it is equivalent with the spike rate). These calculations yielded sensitivities that were near optimal (sensitivity of 1) for most neurons across all frequencies tested. Most importantly, this was the case also for the stimulus pair (60-full, 90-reduced) (data not shown). Therefore, calculating neuronal sensitivities on these alternatives, despite being more realistic about the number of intervals on which a decision is based, would not change the major conclusions of the study, that the distribution of neuronal sensitivities based on intervals does not reflect the decline of psychometric sensitivity for intensity-matched stimuli (cf. Figure 9).

Error bars of psychometric data in this study signify 95% confidence intervals calculated from a binomial model setting the animals response probability to the probability of a Bernoulli trial, except for Figure 5A, where error bars display 95% confidence intervals calculated from a t distribution. All calculations were done in Matlab (MathWorks, Natick, MA, USA).

2.4 Results

Psychometric Performance: As a first approach, we employed a set of pulsatile stimuli that varied the interpulse interval while keeping the waveform of the pulses constant. In these stimuli, frequency and intensity covary while kinematic events — maximal amplitude, maximal velocity, and maximal acceleration — are constant across the stimulus array (Figure 4A). We trained three animals on a go-no-go task (Figure 4B) to indicate the presence of a pulsatile stimulus at 90Hz and 11.3° (“go”, rewarded, S+) by licking from a waterspout in front of their snout during a window of opportunity at the end of the stimulus, while abstaining from responding to frequencies of 15, 30, 45, 60, and 75Hz having the

same amplitude (“no-go”, nonrewarded, S-). To achieve good discrimination, it was important to prevent impulsive licking (seen with both S+ and S-) shortly after stimulus onset, a behavior observed with all rats in the early phases of training. To this end, the window of opportunity, which initially started simultaneously with the stimulus, was shifted (across several training sessions) toward the end of the stimulus. Figure 4C demonstrates licking events emitted by a well-trained animal with respect to onset of stimulus (time 0) and the window of opportunity (4.5 s). It can be appreciated that the animal typically only emitted the first licks a few seconds following stimulus onset, which allowed it to concentrate well on the features of the vibration. Only sessions that were recorded after the animals regularly generated this type of responses and that met a criterion of minimal discrimination between the two most different stimuli (15 versus 90Hz, see Experimental Procedures) entered the present data set. From the trials of these sessions, psychometric curves were calculated (Figure 4D; sessions: $n = 38, 36,$ and 27 ; trials: $n = 4004, 3971,$ and 2408 for each of the three rats). Response probability increased monotonically with increasing stimulus frequency, indicating increasingly poorer discriminability for S- stimuli with frequencies closer to 90Hz. Hit rates reached 71.8%, 79.5%, and 71.4% with the rewarded stimulus (90Hz) and 14.9%, 23.6%, and 24.1% with the nonrewarded stimulus at lowest frequency (15Hz; each value for one of the three animals).

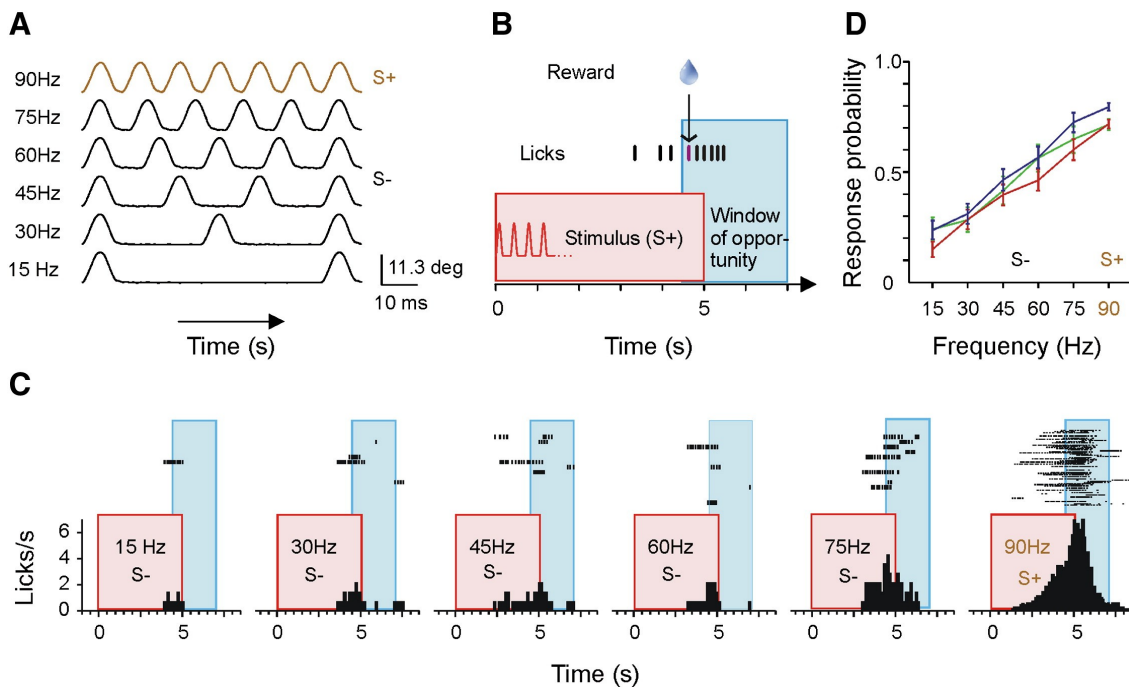


Figure 4. Vibrotactile Discrimination Psychophysics. (A) Cutouts from the pulsatile stimulus waveforms as measured with photodiodes (see Experimental Procedures). One pulse approximated a single period of a sinusoid starting from the curve’s minimum. The 90Hz stimulus was used as rewarded stimulus (S+); the others were unrewarded (S-). (B) Behavioral paradigm. The presentation of a S+ stimulus is shown schematically. The first lick (marked violet) inside a window of opportunity (blue box) with onset 4.5 s after stimulus onset (red box) produced a drop of water. (C) Lick histograms and raster plots of responses to S- and S+ stimuli (box colors as in B). Note that the late onset of licking responses after stimulus presentation was deliberately conditioned and does not reflect minimal reaction times. (D) Psychometric performance of three rats (colors match the ones used in Figure 5C). Error bars are 95% confidence intervals estimated from a binomial model of responses.

These findings demonstrated that a difference in kinematic events is not a necessary condition for discrimination—all stimuli used so far featured identical peak amplitude, velocity, and acceleration. Our next goal was, therefore, to shed light on the respective roles of intensity and frequency cues. Before doing this, it had to be clarified which unit of measurement the tactile system actually uses to assess intensity. In general, intensity can be defined by the integral of different powers of velocity. For instance, “mean velocity” is the integral of the first power of velocity while “kinetic energy” and “power” are proportional to integrated squared velocity (throughout this article, we use the term “mean velo-

city” as a short for “mean absolute velocity”). The use of powers of velocity higher than two seems feasible as well (Arabzadeh et al., 2003). It is important to note that calculating intensity of one and the same vibrotactile stimulus yields different values, depending on which power of velocity is used. On the other hand, two physically different stimuli may feel the same to a subject if they match in intensity. Consequently, determining such a stimulus pair should reveal the relevant physical parameter that is used by the animals. Following this strategy, we employed a behavioral paradigm similar to prior work in the primate tactile system designed to match stimuli for subjective intensity (Goff, 1967; LaMotte and Mountcastle, 1975; Mountcastle et al., 1990; Salinas et al., 2000). We modified our original psychophysical experiment by substituting the 75Hz stimuli in our stimulus array with several 90Hz stimuli at different reduced amplitudes (tested amplitudes ranged from 5.7° – 8.5° in consecutive blocks of sessions) that would approximate the rats’ response probabilities to the well-discriminable pulsatile stimulus of 60Hz at full amplitude (tagged “60-full”; Figure 5A). As before, the rewarded stimulus was 90Hz at the full pulse amplitude of 11.3° (tagged “90-full”). The best match of response probabilities to the different 90-reduced and 60-full was determined for each rat individually using regression analysis and were found with stimuli at 8.8° , 7.7° , and 7.6° amplitude (henceforth, the tag “90-reduced” will be used for these best-matching stimuli). To find out if measures of intensity are matched in these stimulus pairs, we analyzed trajectories of all stimuli as tracked by photo diodes (see Experimental Procedures). Comparing the response-matched 90-reduced and 60-full stimuli, as obtained from the three animals, revealed that the mean velocity of both stimuli did in fact match, whereas intensity measures based on higher powers of velocity deviated more and more with higher powers (Figure 5B). This strongly suggested that the whisker-related tactile system measures intensity as mean velocity rather than energy or power. The fact that intensity as defined by mean velocity was equal in the response-matched stimuli but frequency and kinematic events diverged sharply allowed us to confront the subject with a task to directly discriminate 60-full and 90-reduced (note that in the previous experiment, 60-full

and 90-reduced were both presented within the group of nonrewarded stimuli) with the aim to clarify whether the equality of mean velocity of the two stimuli would abolish the ability to discriminate them. In this case, we would conclude that mean velocity is the cue on which discrimination between 60-full and 90-full is based. We retrained the three rats to directly discriminate between the two stimuli using 90-reduced as the new rewarded stimulus. To avoid frustration of the rats when confronted with potentially nondiscriminable stimuli, we first set up an easy task: the discrimination between 90-reduced (rewarded) and 15-full (unrewarded). Once the discrimination performance on this task was good, we introduced the (unrewarded) test stimulus 60-full. In one block of stimuli, 15-full was presented three times, 60-full two times, and 90-reduced five times. The animals were trained to the new task over 14, 9, and 7 additional training sessions over 10, 6, and 6 days to reach criterion performance (computed as difference between the mean of 90-red versus 60-full and 15-full). Two of the animals reached superior discrimination performance as demonstrated by the large difference of response probability to 15-full and 90-reduced (Figure 5C). One rat did not perform as well on this task as on the original one but still reached a highly significant level of discrimination between 15-full and 90-reduced (green curve and confidence intervals in Figure 5C). Despite the high level of general discrimination performance, all rats failed to discriminate between 60-full (unrewarded) and 90-reduced (rewarded; mean differences in response probability < 0.09 for all animals). This suggests that the rats based their discrimination performance on mean velocity, or equivalently, that the distinct frequencies and kinematic events of the stimuli were not used (60-full: 60Hz, amplitude 11.3; peak velocity 3600°/s; 90-reduced: 90Hz, amplitude 7.6° to 8.8°; peak velocity 2600°/s). We thus suggest that fine discrimination of pulsatile frequencies is carried predominantly by intensity cues.

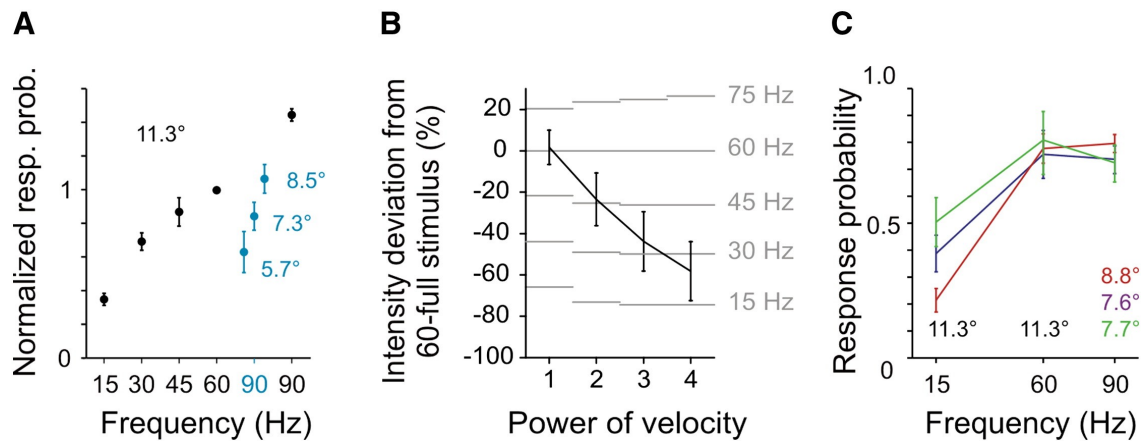


Figure 5. Psychophysical Experiments to Find Intensity-Matched Stimuli. (A) Psychophysical experiment using stimuli as in Figure 4A, except that a 90Hz stimulus at reduced amplitudes (blue) was substituted for the 75Hz. Response rates were normalized to the response rate to the 60Hz stimulus in each session and averaged across rats. (B) Intensity of full-amplitude stimuli at different frequencies (gray lines and labels) and the mean 90-reduced as measured from three animals (see C, black line, error bars are standard deviation), plotted as deviations from the intensity of the 60-full (ordinate). Different powers of velocity were used to calculate the intensities (abscissa). Trivially, the deviation calculated for the 60-full is 0 for all powers of velocity. The intensity of the 90-reduced stimuli matches the one of 60-full only with velocity taken to the power one, but diverges with higher powers. Using a power of 2, the intensity of the 90-reduced compares to the 45-full and reaches levels below 30-full for the power of 4. (C) Psychophysical experiment that used 90Hz stimuli at amplitudes of 7.6°, 7.7°, and 8.8° (“90-reduced”) that were found for each rat to match the response probability of 60Hz at full amplitude (11.3°) (“60-full”). The performance of all three rats is shown in colors corresponding to Figure 4D. All rats readily discriminated 15-full from 90-reduced but failed to discriminate 60-full from 90-reduced. All error bars in (A) and (C) correspond to 95% confidence intervals estimated from a binomial response model.

Neurometric Performance of Primary Afferent Neurons: As the trigeminal ganglion shows a coarse somatotopy and the receptive fields of its neurons encompass only one whisker (Leiser and Moxon, 2006), we refrained from trying to sample a sufficient number of unit recordings that respond to whisker C1 in chronically implanted and trained animals. Pooling of neurons with different receptive fields was not an option either, as our experimental design requires

highly overtrained animals to obtain asymptotic threshold conditions. Thus, the animals would need to go through complex and lengthy behavioral training in order to make them generalize the discrimination performance across a large fraction of macrovibrissa (some 25–30 of which are present, Brecht et al., 1997) and subsequently work them down to stable thresholds. Therefore, we opted to compare the animals' psychometric performance with neurometric data collected in anesthetized animals, a strategy that has proven fruitful in the past (e.g., Stüttgen et al., 2006). For these experiments, we presented identical stimuli as used in behaving animals plus additional ones between 60 and 90Hz, while recording from single units in the trigeminal ganglion. Spike counts as well as interspike intervals that occurred during the entire stimulus presentation were assessed from 56 neurons, all showing strictly single-vibrissa receptive fields. It is important to note that only a minority of primary afferents showed reliable spike response to the pulses contained within all stimuli, characterized by a monotonically ascending tuning curve across frequencies (exemplified by neuron 1 in Figure 6A, 13 out of 56 cases). A majority of cells showed slow latency shifts (36 out of 56) that, in many cases, led to permanent loss of spikes from doublets (triplets) across subsequent stimulus pulses in a highly frequency-dependent way (29 out of 56, exemplified by neuron 2 in Figure 6A). Out of 56, 32 cells showed irregular dips in the tuning curve, and another 10 showed an inverse U-shape of the tuning curve. These slow effects evolving across several pulses within one stimulus presentation may not be relevant given that the presence of complex structures in the whisker-follicle assembly, like blood-filled sinus, etc., may prevent them in awake, actively moving rats. Furthermore, it has been shown that for detection of pulsatile stimuli, only the very first few pulses are evaluated by rats (Stüttgen and Schwarz, 2010). We, therefore, recalculated tuning curves based on spike counts obtained after the first four pulses of a frequency stimulus. As expected, this manipulation removed many instances of spike loss of the sort shown in Figure 6A (neuron 2; 12 out of 29). Accordingly, some nonmonotonic curves were removed by this procedure — a subset of tuning curves straightened and approached a linear course (n = 27). However, an-

other subset of neurons lost their monotonic tuning curve ($n = 15$): the sample of tuning curves, therefore, still contained a significant number of curves with kinks, most conspicuously for frequencies above 60Hz. The upper left panel of Figure 6B shows all tuning curves obtained from the first four pulses. Next, we asked if the amplitude of our stimuli drives the neurons into saturation, thus causing the observed nonmonotonic curves. It is clear that varying response properties within the population of trigeminal afferents cover a wide range of naturally occurring vibrotactile stimuli. Thus, for example, cells exist that either show low or high velocity thresholds (Stüttgen et al., 2006). The kinematic events of our stimuli were designed to recruit most of the primary afferents; thus, the kinematic events contained in the pulses were presumably in the upper reaches of the dynamic range covered by the trigeminal ganglion as a whole. If the observed nonmonotonic curves emerge because the neurons with lower thresholds are driven into saturation, we would expect to find a relationship between nonmonotonicity and kinematic threshold (e.g., velocity threshold). We assessed velocity thresholds in 40 cells of our sample using ramp and hold stimuli at an amplitude of 11.3° as described before (Stüttgen et al., 2006). It turned out that, contrary to the expectation, nonmonotonicity was independent of the velocity threshold of the neuron: low ($62^\circ/\text{s}$), as well as high ($>2000^\circ/\text{s}$), threshold cells showed kinks in the tuning curves (Figure 6B).

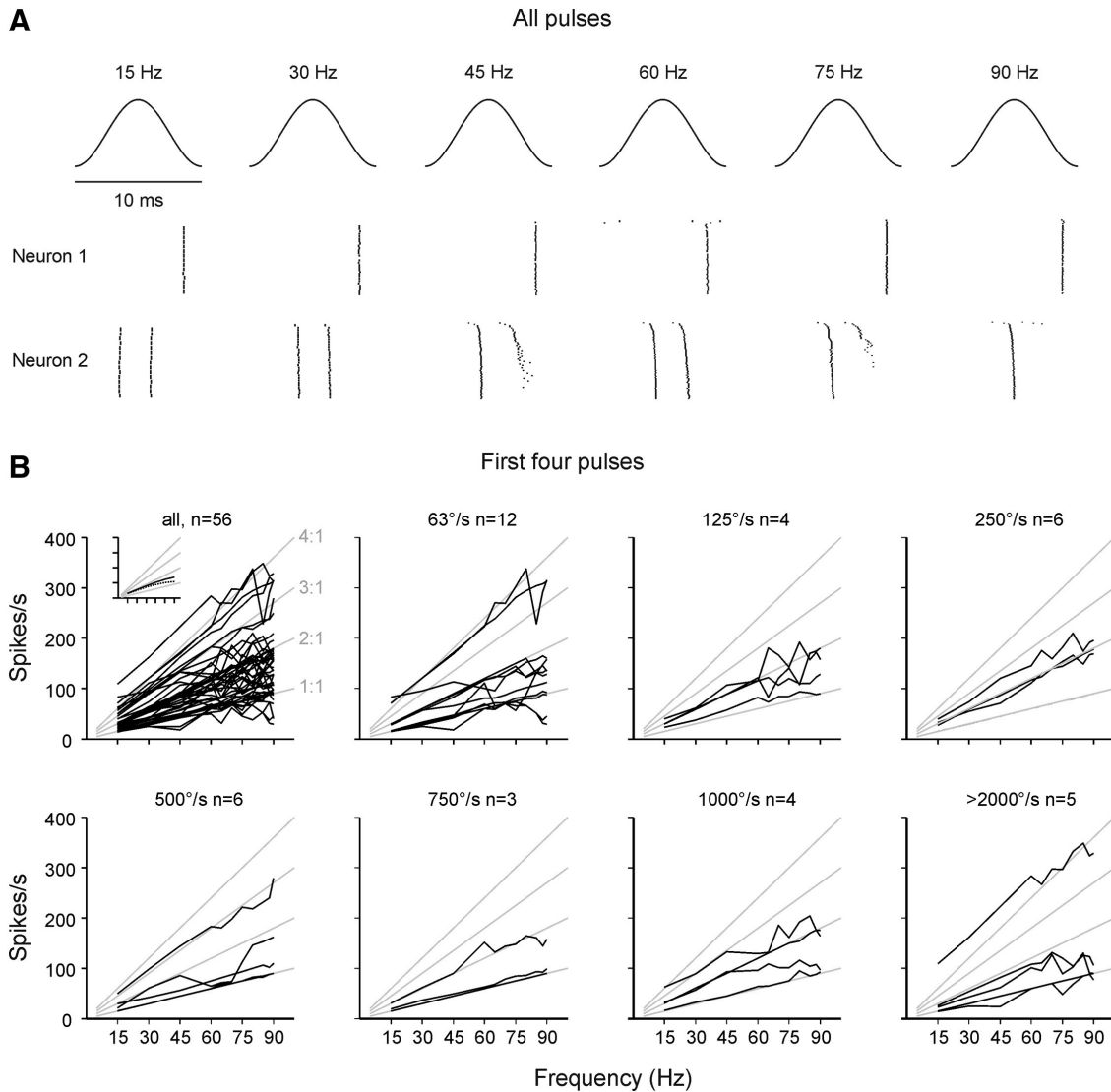


Figure 6. Tuning Curves of Trigeminal Primary Afferents. (A) Two representative neuronal responses to single pulses within the pulsatile stimuli. On top, the waveform of single pulses are shown. The raster plots show spike responses of two neurons to all pulses within each stimulus aligned to the waveforms. The topmost row in the raster plots corresponds to the response to the first pulse in the series, the second row to the second, etc. The first neuron shows spikes at stable latencies, while the second shows systematic shifts in latencies and failure of spiking. For the remainder of the study, we therefore used tuning curves calculated from the first four pulses of a stimulus. (B) Tuning curves. The panel on the top left shows all tuning curves obtained from the first four stimulus pulses in the present study. The inset shows the mean tuning curves averaged over 56 neurons (continuous line, first 4 pulses; broken line, all pulses) using the same axis scaling as the larger plots. Gray lines indicate the form of hypothetical tuning curves that show exact 1:1 to 4:1 locking ratios as marked in the upper left graph (e.g., 4:1 indicates four spikes per pulse). Tuning curves even within the response to the first four pulses are irregular mostly for frequencies above 60Hz. The other plots break down a subset ($n = 40$) of the tuning curves according to their velocity threshold in response

to ramps (Stüttgen et al., 2006). The threshold is given in the title of the graphs. Tuning curves wholly or partly deviating from integer locking ratios are observed with cells throughout the ranges of velocity thresholds (across panels) and response strengths (across gray lines within panels).

Next, we applied ROC analysis to convert the distributions of spike counts and spike intervals contained in stimulus-evoked responses to neurometric sensitivity, i.e., the ability of an ideal observer to discriminate the rewarded stimulus (90Hz) from each of the other stimuli (Green and Swets, 1966; see Figure 6 of Britten et al., 1992 for illustration). The resulting sensitivities for each stimulus pair were then compared to the psychometric sensitivity calculated from the rats' lick responses in the behavioral experiments. Figure 7 plots the psychometric curve (red), averaged across three animals, versus the full distribution of neurometric sensitivities to discriminate each of the nonrewarded stimuli (15, 30, 45, 60, and 75Hz) from the rewarded stimulus (90Hz) (gray histograms), as well as the median sensitivity (blue crosses) taken from our sample of 56 primary afferents. It is evident that many neuronal sensitivities exceeded the psychometric ones for all stimulus pairs. Using spike counts sampled across the entire stimulus duration as the coding symbol, neuronal sensitivities were typically found in the best sensitivity bin (>0.95) and far exceeded the psychophysical sensitivity using spike counts (Figure 7A). As rats perform detection of pulsatile stimuli at minimal reaction time, allowing them to evaluate only the very first pulses (Stüttgen and Schwarz, 2010), it is likely that only the very first pulses are used by the rats as well for discrimination. We, therefore, calculated the sensitivity for the first four pulses only. This yielded virtually the same result as when the full stimulus train was used (Figure 7B). The median neuronal sensitivity based on interspike intervals was clearly lower than the one based on spike counts and the psychometric performance (Figure 7C). This was due to a bimodal distribution of neuronal sensitivities that contained many cells at sensitivities close to 0.5 (i.e., chance performance) and another group with excellent sensitivities close to 1. The bimodal distribution was basically unchanged if only the responses to the first four pulses were analyzed (Figure 7D). However, after

elimination of burst responses to individual pulses (cf. the demonstration of doublet, triplet responses to individual pulses; Figures 6) revealed excellent sensitivity of nearly all cells (Figure 7E). In order to control for the possibility that whisker stimulation in the anesthetized preparation differed from the one in the awake behaving animal due to active whisker movements, we measured residual whisker movements in two rats performing the discrimination task using a photodiode focused on the part of the whisker between the tip of the glass tube used for stimulation and the snout (see Experimental Procedures). Both maximum whisker displacement and mean velocity values showed a strong, positive skew, and in such a low range as to be unlikely to affect trigeminal ganglion, single unit responses significantly. The median of average absolute velocity calculated from each trace was $8.81^\circ/\text{s}$ (interquartile range, $33.62^\circ/\text{s}$). These kinematic values fall far below the detection threshold of rats assessed with ramp and hold stimuli, which revealed a threshold for the more velocity-sensitive psychophysical channel W1 to be $250^\circ/\text{s}$ (Stüttgen et al., 2006), and would not evoke responses in barrel cortex neurons (Stüttgen and Schwarz, 2008). Still, to completely rule out the possibility that spontaneous whisker movements in this task significantly affect trigeminal ganglion responses, we tested whether unit responses to our stimulus set changed when whisker traces from the behavioral sessions were superimposed on the pure stimuli. To this end, whisker traces with mean velocity higher than the 75th percentile of all mean velocities were randomly chosen with replacement and overlaid on pure stimulus traces (15–90Hz; 10 repetitions per frequency). The median neurometric sensitivity of these 15 additional neurons is shown as green crosses in Figure 7. It is clear that trigeminal neurometric sensitivity is superior to psychometric sensitivity, even under the unrealistic, worst case assumptions used here, indicating that the difference between neurometric and psychometric curves is largely independent of possible different whisker stimulation in awake versus anesthetized rats.

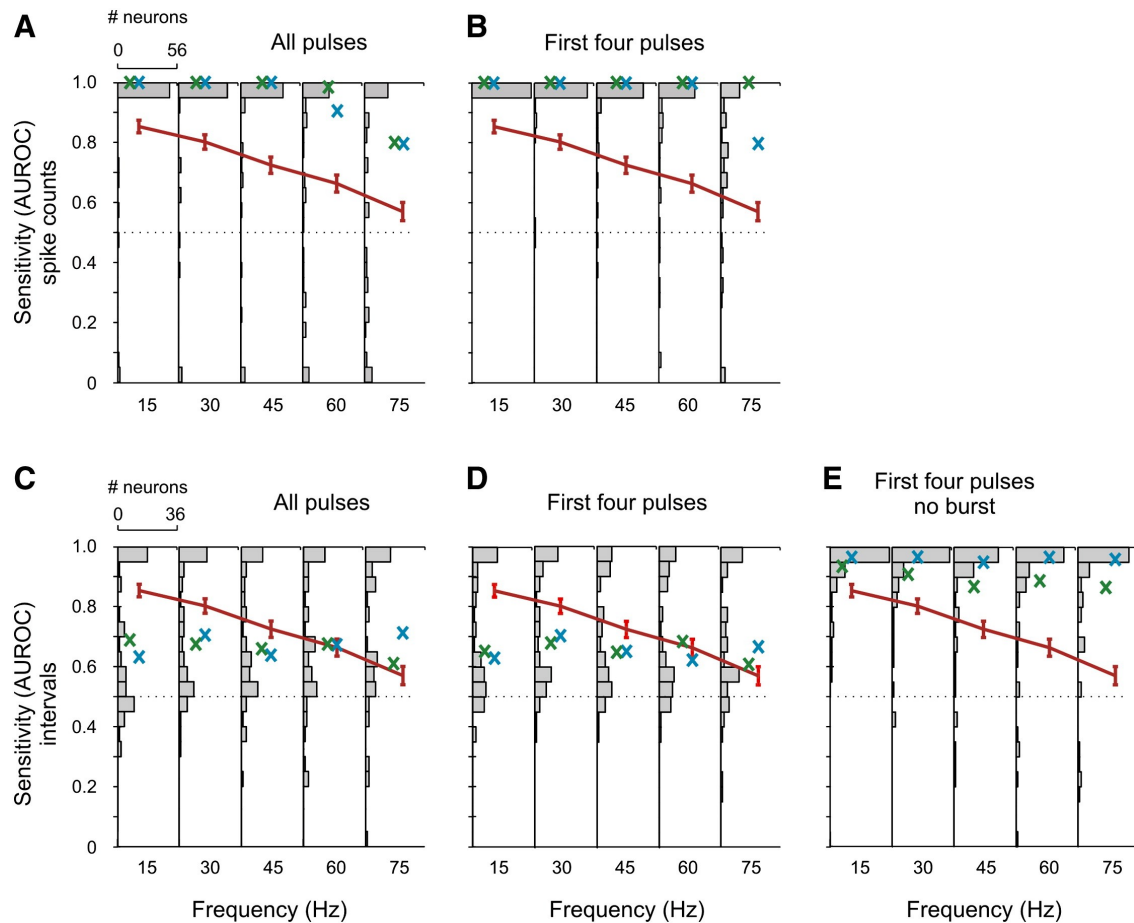


Figure 7. Comparison of Neurometric and Psychometric Sensitivity Expressed as Area Under the ROC Curve. Neurometric sensitivities are presented as histograms for each discrimination pair ([90-full, 15-full], [90-full, 30-full], etc.). The histograms are composed of the sensitivities of the whole sample of primary afferents ($n = 56$). Median sensitivities are indicated by the blue crosses. Green crosses mark neuronal sensitivities that were achieved in a control experiment, where whisker movement as measured from awake behaving rats and pulsatile stimuli were overlaid. Psychometric sensitivities (cf. Figure 4D) are indicated by red lines. Errorbars indicate 95% confidence interval based on a binominal response model. (A and B) Neurometric sensitivities based on spike counts obtained from responses to all pulses (A), and the first four pulses (B). Neurometric sensitivities exceed the psychometric ones, but the medians reflect the decline in sensitivities for S- closer to 90Hz. (C–E) Neurometric sensitivities based interspike intervals obtained in response to all pulses (C), the first four pulses (D), and the first four pulses and additional removal of bursts (i.e., intervals smaller than 6 ms) (E). Neurometric sensitivities partially exceed the psychometric sensitivities if bursts are contained in the data (C and D), but clearly exceed the psychometric ones after burst removal (E). The median sensitivities do not reflect the decline of psychometric sensitivities for S- closer to 90Hz.

In summary, the results presented so far do not provide critical arguments to exclude spike counts or intervals as candidates for the coding symbol on which discrimination performance is based. It is well feasible that trigeminal signals are low-pass filtered (removing burst firing) before being decoded, as has been suggested previously (Stüttgen et al., 2006; Stüttgen and Schwarz, 2010). Thus, the superiority of neurometric over psychometric curves (Figures 7B and 6E), indicates that spike counts, as well as interburst intervals, could potentially serve as a carrier of the relevant stimulus information. To further explore this question, we asked whether sensitivities computed from the two coding symbols would bear out the fact that the animals discriminated well between 15-full and 90-reduced but failed to discriminate between intensity-matched 60-full and 90-reduced stimuli. We found that average spike counts to 90Hz at 7.6° were in the range of the ones obtained with 60-full (94.3 ± 48.1 spikes/s for 60-full versus 90.6 ± 55.5 spikes/s for 90-reduced, mean \pm SD), suggesting that the response per individual pulse must have reflected the different kinematic parameters. Indeed, on average primary afferents generated 50% more spikes to an individual pulse at 11.3° amplitude and $\sim 3600^\circ/\text{s}$ maximal velocity contained in the 60-full compared to the pulses at 7.6° amplitude and $\sim 2600^\circ/\text{s}$ peak velocity composing the 90-reduced stimulus. From 26 primary afferents that were tested with the different 90-reduced stimuli, 2 were recruited de novo by higher amplitudes and peak velocities contained in the 90-full, 14 increased their response to the larger pulse (response ratio: $[\text{spikes per pulse } 90\text{-reduced}]/[\text{spikes per pulse } 90\text{-full}] < 0.95$), and 10 did not change their response (Figure 8).

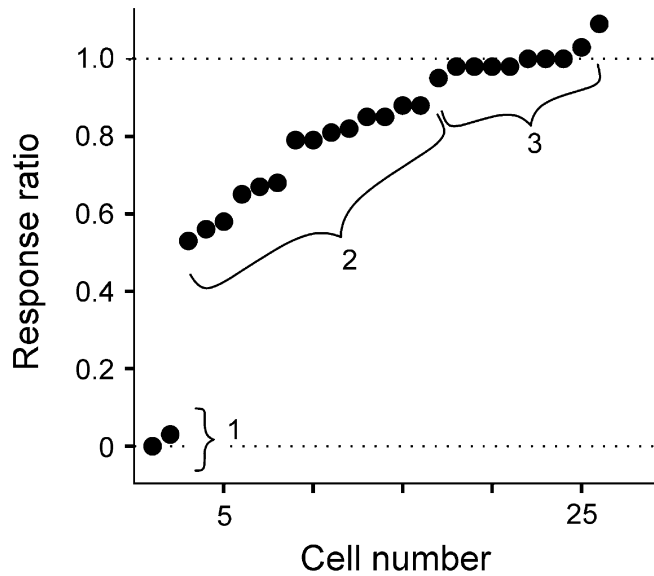


Figure 8. Primary Afferent Responses to Different Intensities. Recruitment of primary afferents ($n = 26$) by pulse amplitude. The ratio of spike counts with 7.6° and 11.3° amplitude at 90Hz is plotted for each of the analyzed cells. Two neurons were recruited de novo by the larger pulses (group 1), 14 increased their response (group 2), and 10 showed only minor differences (group 3).

Thus, the 90-reduced and 60-full stimuli induce quite different response profiles but in total yield very similar spike counts. We then calculated the neuronal sensitivities to discriminate between the two pairs (15-full, 90-reduced) and (60-full, 90-reduced). Based on the distributions of spike counts, the sensitivities for the discrimination between 15-full and 90-reduced was superior to the psychometric performance in most ganglion cells no matter if all spikes during the stimulus were counted (Figure 9A) or just the spikes following the first four pulses (Figure 9B). However, the distribution of sensitivities broadened extensively and covered the entire range of possible sensitivities down to zero for the discrimination between 60-full and 90-reduced. Although a few excellent neuronal sensitivities could still be found, the median sensitivity (blue cross) was close to 0.5 and thus matched the one calculated from the animals' behavior (red line). No such differences for the two discriminations were found using spike intervals as coding symbol. Sensitivities were distributed broadly or in a bimodal fashion with medians close to 0.5 for both discriminations, when using intervals taken from the whole stimulus period (Figure 9C) or from the first four pulses (Figure 9D). After additional removal of intervals within bursts, the distribution of sensitivities was substantially improved and clustered at values close to 1 (Figure 9E).

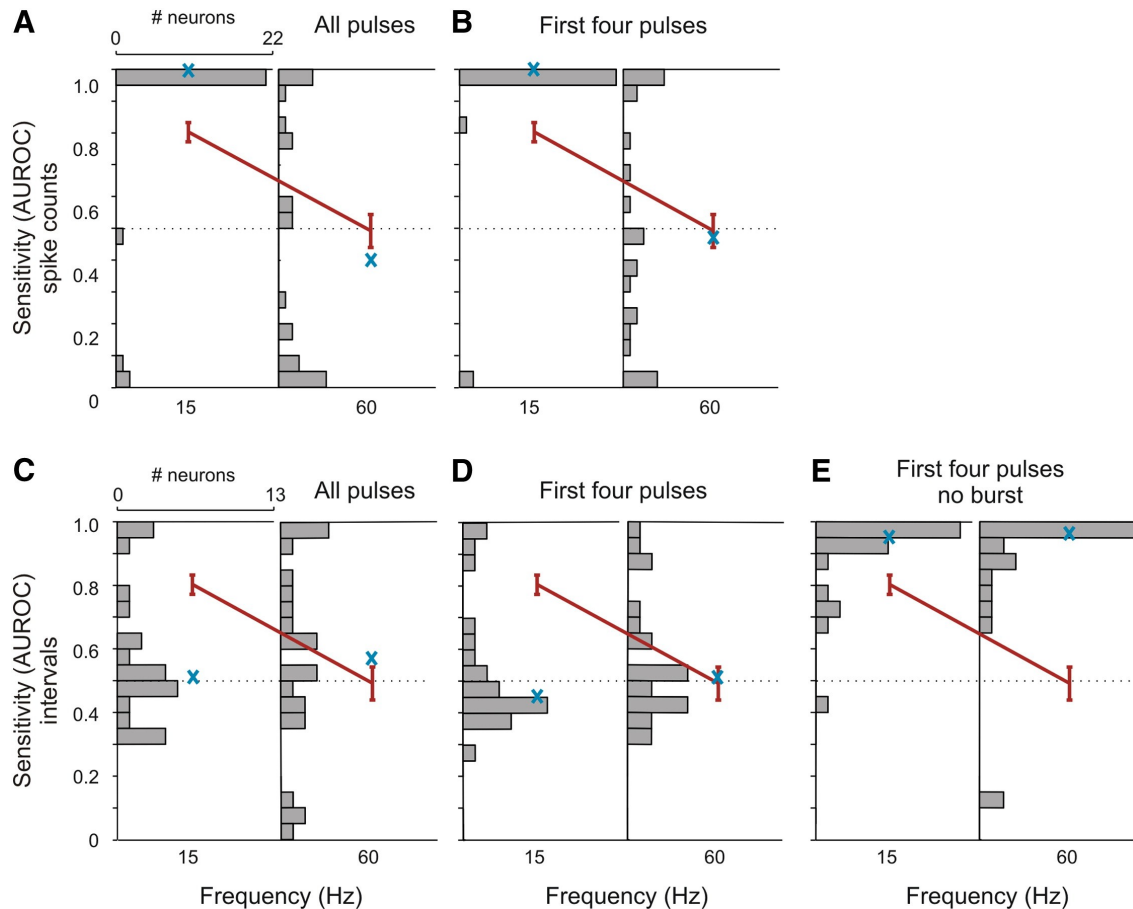


Figure 9. Comparison of Neurometric and Psychometric Sensitivity for Intensity-Matched Stimuli Expressed as Area Under the ROC Curve. Psychometric data are the ones shown in Figure 5C. Conventions are as in Figure 7. (A and B) Neurometric sensitivities based on spike counts obtained from responses to all pulses (A) and the first four pulses (B). Neurometric sensitivities exceed the psychometric ones, but the medians follow the decline of psychometric sensitivities for the comparison (60-full, 90-reduced) seen in the psychometric data. (C–E) Neurometric sensitivities based inter-spoke intervals obtained in response to all pulses (C), the first four pulses (D), and additional removal of bursts (i.e., intervals smaller than 6 ms) (E). Neurometric sensitivities partially exceed the psychometric sensitivities if bursts are contained in the data (C and D), but clearly exceed the psychometric ones after burst removal. The psychometric performance is reflected neither in the whole distribution nor in the medians of neurometric sensitivities (blue crosses).

Importantly, in contrast to spike counts, the distribution of interval-based sensitivities did not reveal any covariation with psychophysical performance. They were distributed equally for both discriminations — either broadly or peaked close to a sensitivity value of 1 — depending on the inclusion of intervals within bursts.

2.5 Discussion

The present study is the first to address the roles played by different physical vibrotactile parameters for whisker-related perception in the rat using behavioral benchmarks. It presents evidence that intensity, measured as mean velocity, plays a prominent role in the rats' perception of whisker vibration in the range between 60 and 90Hz, a range that carries most of the power of vibrissa vibration elicited by a range of complex fine textures (Hipp et al., 2006). Rats were able to discriminate stimuli matched for kinematic parameters but differing in frequency and intensity. On the other hand, discrimination was abolished with stimuli matched for intensity but differing in frequency and kinematic events. The failure to discriminate intensity-matched stimuli was matched by distributions of primary afferent sensitivity when basing it on spike counts, but not when using spike intervals. These findings argue in favor of spike counts rather than intervals as possible candidate coding symbol used to encode whisker vibrations on the ascending tactile pathway, at least in the parametric range employed in this study.

Physical Parameters Describing Vibration and Their Relevance for Perception: We found a predominance of the intensity cue over both frequency and kinematic feature cues for discrimination of pulsatile stimuli in the vibrissal system (Figure 5). This result is reminiscent of the classic finding in the primate finger/hand system that the Weber fraction for discrimination of subjective intensity is 0.1, quite smaller than 0.3, the value estimated for frequency (e.g., Goff, 1967; LaMotte and Mountcastle, 1975). It was further reported that at just detectable intensities frequency discrimination is not possible, leading to the notion of the so-called "atonal" range of vibration close to threshold (LaMotte and Mountcastle, 1975). However, as mentioned in the introduction, these classic studies studied subjective intensity by attenuating sinusoidal stimuli, a manipulation that covaries physical intensity and kinematic events. Theoretically, response-matched stimuli (in the previous as well as the present study) could still

carry discriminable cues of either frequency or kinematic events or both. In the present study, we went one step further by demonstrating that rats fail to discriminate when the response-matched stimuli were used as discriminanda. The fact that response-matched stimuli were equal in mean velocity but diverged in other measures of intensity as well as frequency and kinematic events provides strong evidence that mean velocity is a predominant cue for fine discrimination between vibrations at 60 and 90Hz. In line with this view, a previous study has pointed out that spike counts in the primary cortical somatosensory vibrissa representation (barrel cortex) obtained under urethane anesthesia are monotonically related to intensity measures derived from various powers of velocity (Arabzadeh et al., 2003). Our behavioral results support the explicit coding of intensity in the whisker related system but constrain the conclusions of the previous study by showing that matching intensity, defined by discrimination performance, is reflected by a match of mean velocity rather than of kinematic energy or power — let alone by parameters based on higher powers of velocity (Figure 5B). On the other hand, our finding that mean velocity is the unit of measure for intensity does not necessarily change the conclusions of studies that used measures proportional to higher powers of velocity (Hipp et al., 2006) because these measures are related in a monotonic fashion. In previous studies, the observation of precise phase locking on the ascending tactile pathway to sinusoidal or pulsatile stimuli has been put forward to back the notion of a temporally precise code of frequency (Deschênes et al., 2003; Ewert et al., 2008; but see Arabzadeh et al., 2003; Garabedian et al., 2003; Khatri et al., 2004). However, recent work indicates that biomechanical properties of the whisker together with whisker movement transform spatial texture surfaces into a highly irregular vibrotactile signal (Arabzadeh et al., 2005; Ritt et al., 2008; Wolfe et al., 2008). Importantly, Hipp and colleagues (2006) have found that frequency (as measured using the spectral centroid) carries only small amounts of additional information to the one already carried by intensity cues (from 62% achieved by intensity alone to 74%). Furthermore, the spectral centroids evoked by different sandpaper surfaces in the study of Hipp et al. were largely contained in the fre-

quency interval that could not be discriminated by our rats (60 and 90Hz; inspection of Figure 4E in Hipp et al.(2006) suggests that the statement also holds for the “best frequencies” defined as the ones containing maximum power). With the qualification that naturally occurring surfaces may evoke peaks in power at frequencies different from the ones reported by Hipp et al. using sandpapers, an important role of frequency as a cue for vibration discrimination is thus not supported by the combined results of the present and the previous study.

Neural Coding in the Whisker-Related Primary Afferents: The tuning curves obtained in the present study regularly showed deviations from integer phase-locking ratios (Figure 6B). These deviations occur rapidly (within the duration of the first four pulses) and are likely associated with properties of mechanical or neuronal processes that evolve across small numbers of deflections (Fraser et al., 2006). The pulse waveforms constituting the stimuli feature kinematic values in the higher ranges (7.6° – 11.3° ; $2600^{\circ}/s$ – $3600^{\circ}/s$), although they appear to be included well within the dynamic range of primary afferents. Amplitudes of 10° recruit only 80% of the primary afferents (Gibson and Welker, 1983), and ramps at peak velocity of $2750^{\circ}/s$ barely reach saturation of rapidly adapting cells (Shoykhet et al., 2000). Our present data show that a majority of primary afferents cells could be recruited by increasing kinematic events from 8° / $2600^{\circ}/s$ to 11.3° / $3600^{\circ}/s$ (cf. Figure 8). Moreover, the deviations from integer phase locking were observed independently of a cell’s response magnitude (up to 4 spikes/pulse) and its velocity threshold (63° to larger than $2000^{\circ}/s$), arguing against a saturation phenomenon (cf. Figure 6B). Further arguments for the inclusion of the present pulse parameters within the natural working range of the whisker system are, first, that natural-like surfaces generate kinematic events of similar values (Wolfe et al., 2008) and, second, our present observation, that rats could base reliable discrimination performance on the presented stimuli. In contrast to our present finding that primary afferents often fail to phase-lock at integer ratios with high intensity stimuli, previous studies using stimuli in the

lowest intensity range have emphasized precise locking (Deschênes et al., 2003; Jones et al., 2004). In view of this divergence of results, we suggest that the precision of primary afferent spike timing may depend strongly on the kinematic or intensity range studied. The observed variability in spike responses under the present experimental conditions has important implications for the interpretation of the results: the discrimination performance of the animal in our experimental situation is likely not based on single or very few primary afferents. The reason is that ROC-based neurometric sensitivities of individual trigeminal afferents indicate excellent discriminability of some of the stimuli (values close to 1), while sensitivities drop to around 0.5 (i.e., random performance) at frequencies within kinks in some tuning curves. Therefore, the behavior of the rat can not be explained by one primary afferent but must rely on a sensitivity integrated across the population. Another argument in favor of some form of integration across primary afferents is suggested by the finding that psychometric performance was systematically lower than indicated by sensitivities of individual neurons. One possibility is that mechanical transduction in whisker follicles under anesthesia differs from the awake state due to possible differences in filling the follicle sinus complex (Ebara et al., 2002). Effects of altered blood pressure and/or autonomic nervous system under anesthesia on the sinus are currently unknown. However, in case anesthesia-related effects on the follicle sinus complex play a role, our results would predict that the sensitivity of primary afferents is higher in the anesthetized rat than in the awake one. While this question definitely needs clarification by future experiments, we hold it an unlikely scenario. A second possibility is that sensitivities for the discrimination are reduced on the tactile pathway. In support of this notion, preliminary evidence suggests, that the best sensitivities of barrel cortex neurons are lower compared to trigeminal afferents and are matched closer to the psychometric ones (Gerdjikov et al., 2008). If integration across trigeminal afferent signals governs the read out for perception, it is justified to focus on the distribution of sensitivities, rather than the “best” sensitivities found within the ensemble. Indeed, compared to the psychometric experiments where rats discriminated between 15-full and 90-re-

duced but fail to do so between 60-full and 90-reduced, the best neuronal sensitivities do not change between the two stimulus pairs: they are found always in the upper bin irrespective of stimulus pair and coding symbol. On the other hand, the distribution of sensitivities in principle can change depending on stimulus pairs. In order to be significant for perception, however, such a change must reflect the psychophysical performance. Our observation that the breakdown of discrimination performance is accompanied by a flattening of count-based sensitivities, but not interval-based sensitivities, argues against spike intervals as coding symbol. Spike counts as coding symbols provide a good match to the predominance of intensity over frequency encoding found in our psychophysical experiments, as both require integration across time.

3. Zusammenfassung und abschließende Diskussion

3.1. Ergebnis des Verhaltensexperimentes und Konsequenzen

Die vorliegende Studie leistet einen Beitrag zum Verständnis der Diskrimination vibratiler Stimuli im Vibrissensystem der Ratte. Erstmals wurden Ratten darauf trainiert, vibratile Stimuli zu unterscheiden und eine psychophysische Charakterisierung der Diskriminationsfähigkeiten gegeben. Der Aufbau des Verhaltensexperimentes – die Kopffixation der Versuchstiere – ermöglichte die dafür notwendige präzise Kontrolle der Stimulusapplikation. Die selektive Rolle der physikalischen Parameter Frequenz, Intensität und kinematisches Pulsprofil, durch die vibratile Stimuli beschrieben werden können, wurde studiert. Dazu wurden pulsatile Stimuli verwendet, für die es (anders als für eine einfache Sinusschwingung) möglich ist, die physikalischen Parameter getrennt zu manipulieren. Im Verlauf des Experimentes wurden die Parameter einzeln angeglichen, wodurch sie für die Diskrimination nacheinander uninformativ wurden. Es zeigte sich, dass Ratten Stimuli mit gleichem kinematischem Profil der einzelnen Pulse (erster Teil des Verhaltensexperimentes) sowie auch Stimuli gleicher Frequenz (zweiter Teil des Verhaltensexperimentes) unterscheiden können. Wurde für die

Stimuli jedoch die Intensität angeglichen, war eine Diskrimination nicht mehr möglich (dritter Teil des Verhaltensexperimentes). Dies deutet darauf hin, dass in dem hier verwendeten Stimulusbereich eine Diskrimination auf der Basis von Intensitätsdifferenzen erfolgte.

Diese Arbeit stellt eine Ergänzung der bereits unter 1.3 und 1.4 erwähnten Experimente im trigeminalen System der Ratte dar. In einer Anzahl von Studien wurden die mechanischen Eigenschaften des Tastaars und dessen Bewegungen während des Kontakts mit verschiedenen Oberflächen untersucht (z.B. Neimark et al., 2003; Hipp et al., 2006, Wolfe et al., 2008, Ritt et al., 2008). Darüber hinaus wurde an anästhesierten Tieren die neuronale Codierung repetitiver vibratiler und oberflächeninduzierter Stimuli im Tastaarsystem studiert (Arabadzeh et al., 2003; 2005, Jones et al., 2004; Ewert et al., 2008; Dêschenes et al., 2003). Es zeigten sich mehrere physikalische Parameter der Stimulustrajektorie auf verschiedene Weise in der neuronalen Antwort repräsentiert und Hypothesen wurden aufgestellt, welche Rolle die einzelnen Parameter für das Verhalten der Tiere spielen könnten (siehe dazu auch Jadhav und Feldmann, 2010). Um die Bedeutung dieser Hypothesen zu evaluieren, ist es notwendig das reale Diskriminationsverhalten zu untersuchen. Die vorliegende Studie ist in diesem Sinne hilfreich, da sie für den verwendeten Stimulusbereich Hinweise dafür gibt, welcher Parameter Grundlage einer taktilen Diskrimination von repetitiven vibratilen Stimuli ist.

Die Ergebnisse stellen darüber hinaus einen wichtigen Schritt für die Untersuchung der sensorischen Bedeutung eines singulären Tastaars dar. In bisherigen Experimenten ließ sich die Fähigkeit von Ratten nachweisen, mit Hilfe eines einzelnen Tastaars taktile Stimuli zu detektieren (Hutson und Masterton, 1986, Stüttgen et al., 2006), Objekte zu lokalisieren (Metha et al., 2007) und Grabenweiten abzuschätzen (Hutson und Masterton, 1986). In der vorliegenden Studie wird deutlich, dass auch die Unterscheidung vibratiler Stimuli mit Hilfe eines Einzelhaares möglich ist. Dies kann als weiteres Indiz dafür verstanden werden, dass dem einzelnen Tastaar für die Diskrimination von Oberflächen-Texturen eine wichtige Bedeutung zukommt (in Ergänzung zu der bereits er-

wähnten theoretischen Bestimmung des Informationsgehaltes der Bewegungstrajektorie eines Einzelhaares (Hipp et al., 2006)).

3.2 Kritische Beurteilung der Ergebnisse des Verhaltensexperimentes

In der vorliegenden Studie hat sich gezeigt, dass Intensitätsdifferenzen vibratiler Stimuli von Ratten zur Unterscheidung dieser Stimuli genutzt werden, während reine Frequenzunterschiede und das präzise Profil der Geschwindigkeiten einzelner Pulse allein nicht hinreichend für eine Diskrimination waren. An dieser Stelle soll auf die Verallgemeinerbarkeit dieser Resultate und mögliche Fehlerquellen eingegangen werden.

Im ersten Teil des Verhaltensexperimentes wurden Ratten auf eine Diskrimination übertrainiert, in der präzise Geschwindigkeitsereignisse nicht informativ waren. (Alle Stimuli hatten das gleiche Geschwindigkeitsprofil.) Es besteht daher die Möglichkeit, dass die im Verlauf festgestellte Unfähigkeit der Tiere, Stimuli gleicher Intensität auf der Basis von kinematischen Parametern zu unterscheiden (Abbildung 5C), Ausdruck der Unfähigkeit der übertrainierten Ratten war, ihre ursprünglich erlernte Verhaltensstrategie zu ändern. Diese Unfähigkeit muss dann nicht unbedingt bedeuten, dass das kinematische Profil nicht durch die Ratten wahrgenommen wurde, sondern ist unter Umständen ein Zeichen für geringe Flexibilität ihres erlernten Verhaltens⁶. Es wäre daher naheliegend zu untersuchen, inwiefern native Ratten auf eine Unterscheidung kinematischer Parameter trainiert werden können.

Dieses einschränkende Argument muss insbesondere im Falle der kinematischen Profile des Stimulus angeführt werden, nicht jedoch im Falle der Frequenzen. Diese waren bereits in der Trainingsphase des ersten Teils des Experimentes als informative Komponente zur Unterscheidung der Stimuli vorhanden. Sie hätten im dritten Teil des Experimentes in identischer Weise zur Unter-

⁶ Es muss jedoch gegen diese Argumentation darauf hingewiesen werden, dass die Ratten im dritten Experimententeil durchaus in der Lage waren, ihr Verhalten in einer anderen Hinsicht anzupassen, da sie einen Stimulus mit verändertem kinematischen Profil (90Hz - reduzierte Amplitude) als CS+ Stimulus beantworteten. Sie waren nur nicht fähig, diesen von dem 60Hz Stimulus zu unterscheiden. Das Übertrainieren von Ratten auf einen bestimmten „Verhaltenstask“ hat auch nicht automatisch eine Verschlechterung oder Verzögerung der Extinktion des erlernten Verhaltens zur Folge („Overtraining Reversal Effect“ (Reid, 1953)).

scheidung der Vibrationen herangezogen werden können. (Die Frequenzdifferenzen der verschiedenen Stimuli des ersten und dritten Teils des Verhaltensexperimentes sind identisch).

Hier gilt es jedoch die Möglichkeit zu bedenken, dass eine Unterscheidung auf der Basis von Frequenzen mit geringerer Sensitivität als auf der Basis von Intensitäten erfolgen könnte. (Vergleichbar mit der Situation im somatosensorischen System des Primaten, wo die Weberfraktion für Intensitäten unter der für Frequenzen liegt (Goff, 1967; La Motte und Mountcastle, 1975).) Der Grund dafür, dass die Ratten im dritten Teil des Verhaltensexperimentes die verschiedenen Stimuli nicht mit Hilfe von Frequenzdifferenzen unterschieden, könnte dann darin liegen, dass die Diskriminationsschwelle für Frequenzen oberhalb der hier verwendeten Differenz von 30Hz liegt. Es kann also nicht ausgeschlossen werden, dass eine Diskrimination der Frequenzen bei größeren Differenzen möglich ist.

Eine generelle Schwierigkeit des Versuchsaufbaus besteht darin, dass die Diskrimination der Stimuli nicht auf Grundlage eines direkten Vergleiches der sensorischen Information erfolgt. Die Stimuli werden mit Zeitintervallen von mindestens fünfzehn Sekunden präsentiert. Die Ratte muss dadurch vermutlich für die Entscheidung, ob es sich um einen belohnten (CS+) oder unbelohnten (CS-) Stimulus handelt, den aktuell präsentierten Stimulus mit der internen (gespeicherten) Repräsentation des CS+ Stimulus vergleichen. Die hierbei notwendige Gedächtnisleistung könnte sich auf die psychophysischen Resultate verzerrend auswirken. Es ist damit möglich, dass bei einem Vergleich mit kürzeren Zeitintervallen zwischen den verschiedenen Stimulationen sehr viel bessere psychophysische Daten bestimmt werden würden.⁷ Um den Einfluss der Gedächtnisleistungen auf die Diskrimination weiter zu reduzieren, könnte außerdem eine Modifikation des Versuchsaufbaus hin zu einer relativen Diskrimination der Stimuli hilfreich sein. Bei dieser würden die Tiere nicht entscheiden, ob der präsentierte Stimulus gleich einem bestimmten CS+ Stimulus ist, sondern vielmehr, ob der präsentierte Stimulus größer oder kleiner als ein unmittelbar vorher prä-

⁷ Hierbei wäre auch eine Gedächtnisleistung notwendig, die jedoch vermutlich geringeren Einfluss hätte.

sentierter Stimulus ist. Interessant wären solche Modifikationen auch, da die Möglichkeit besteht, dass in einem Versuchsaufbau, der weniger durch Gedächtnisleistungen bestimmt wird, andere physikalische Parameter für die Diskrimination relevant werden.

Die Anwendung eines Go/No-Go Versuchsaufbaus ist eine zusätzliche mögliche Quelle verzerrender Effekte in der Bestimmung der psychophysischen Daten. Sowohl Impulsivität als auch mangelnde Motivation können sich negativ auf die Diskriminationsleistung auswirken. Im Go/No-Go-Versuchsaufbau ist es jedoch nur begrenzt möglich den Einfluss dieser Faktoren auf die Diskrimination zu kontrollieren (Schwarz et al., 2010). So kann beispielsweise nicht genau bestimmt werden, ob das Nichtbeantworten eines CS+ Stimulus durch mangelnde Motivation oder durch tatsächliche Verwechslung mit einem CS- Stimulus zu Stande kommt. Ein Yes/No-Versuchsaufbau, in dem es zwei mögliche belohnte Antworten auf die präsentierten Stimuli gibt, wäre in dieser Hinsicht eine Präzisierung für die psychophysische Untersuchung. Da in diesen Experimenten sowohl der CS- als auch der CS+ Stimulus beantwortet werden soll, ist ein Nichtbeantworten ein eindeutiges Zeichen geringer Motivation.

3.3 Neuronale Codierung vibratiler Stimuli

Die vorliegenden Experimente zum Antwortverhalten der primären Afferenzen liefern Argumente dafür, gemittelte Feuerraten als neuronales Codierungssymbol der Stimulus-Intensitäten anzunehmen. Diese mittleren Feuerraten codieren in manchen Neuronen für Amplitude (bzw. Geschwindigkeit) und Häufigkeit einzelner Stimuluspulse ambiguid und sind dadurch im Bezug auf die intensitätsadjustierten Stimuli des dritten Teils des Verhaltensexperimentes uneindeutig (Abbildung 9). Dadurch können mittlere Feuerraten die Unfähigkeit der Ratten, die intensitätsadjustierten Stimuli zu unterscheiden, besser als Zeitintervalle erklären. Dabei finden sich für die Verwendung beider Codierungssymbole einzelne Neurone mit nahezu perfekten Sensitivitäten für die Differenzierung der dargebotenen Stimuli (Abbildung 7 und 9), was in Diskrepanz zum real beobachteten Verhalten steht. Die mediane Sensitivität der Population zeigt sich (insbesondere für die Feuerraten) der Diskriminationsfähigkeit der Tiere dagegen äh-

licher.

In verschiedenen sensorischen Systemen hat sich die Bedeutung einer zeitlichen Präzision des neuronalen Codes für eine genaue Repräsentation sensorischer Stimuli erwiesen. Im auditorischen System von Schleiereulen konnte beispielsweise gezeigt werden, dass eine horizontale Objektlokalisierung auf der Wahrnehmung einer Stimulationsdifferenz zwischen beiden Ohren beruht, die im Mikrosekundenbereich liegt (Moiseff und Konishi, 1981). Dabei wurden in diesem System Neurone gefunden, die selektiv auf verschiedene Stimulus-Zeitdifferenzen reagieren (Carr und Konishi, 1990).⁸ Neurone im auditorischen Nerv einer Katze, die für spezifische Tonfrequenzen maximal empfindlich sind, zeigen identische Feuerraten für diesen präferierten Ton und für benachbarte Frequenzen, wenn diese mit höherer Amplitude dargeboten werden. Diese Ambiguität der Feuerraten für Amplitude und Frequenz löst sich im Bezug auf das zeitliche Muster der neuronalen Antworten, da die Feuerwahrscheinlichkeit der Neurone in Relation zur Stimulusphase moduliert ist (Rieke et al., 1997). Die Beispiele verdeutlichen, wie die zeitliche Struktur eines Stimulus durch das zeitliche Muster des neuronalen Codes präzise wiedergegeben und der Informationsgehalt mittlerer Feuerraten auf diese Weise ergänzt werden kann.⁹

In Kapitel 1.4 wurde bereits deutlich gemacht, inwiefern bisherige Studien auch für das trigeminale System der Ratte darauf hindeuten, dass das zeitliche Muster des neuronalen Codes eine präzise zeitliche Abbildung der Stimulustrajektorie ermöglicht (siehe Jones et al., 2004; Arabzadeh et al., 2005). Auch in der vorliegenden Studie zeigt sich der zeitliche Interspikeintervall-Code der mittleren Feuerrate in gewisser Hinsicht überlegen: Die Ambiguität bezüglich Größe und Häufigkeit einzelner pulsatiler Ereignisse, die für die Feuerraten gefunden wurde, ergibt sich nicht für die Interspikeintervalle. Diese zeigen bei Vernachlässi-

8 Genaugenommen reagieren diese Neurone auf Koinzidenzen, die entstehen, nachdem Zeitdifferenzen durch neuronale Bahnen mit jeweilig spezifischen Leitungsverzögerungen ausgeglichen wurde.

9 Als Beispiel für zeitliche Repräsentation von primär nicht zeitlichen Stimuluseigenschaften kann das olfaktorische System der Heuschrecke dienen. Hier stellte sich die spezifische zeitliche Sequenz, mit der einzelne Neurone innerhalb einer aktivierten Population im Verhältnis zu einer durch den Stimulus erzeugten Basisoszillation feuern, informativ bezüglich des Geruchsstoffs dar. Für die Repräsentation verschiedener Gerüche war nicht nur die Identität der aktivierten Neurone, sondern auch der relative Zeitpunkt ihrer Aktivität von Bedeutung (Wehr und Laurent, 1996).

gung von Burst-Antworten und Adaptationsphänomenen eine gute mediane Sensitivität auch für die Stimuli des dritten Teils des Experimentes (siehe Abbildung 9E).

Das tatsächlich beobachtete Verhalten der Ratte ergibt jedoch keinen Hinweis darauf, dass diese theoretisch auf peripherer Ebene vorhandene Information genutzt wird.¹⁰ Wie im vorhergehenden Abschnitt erläutert ist es allerdings möglich, dass sich mit Hilfe weiterer Verhaltensexperimente die Sensitivität der Ratten für andere Qualitäten des Stimulus, wie z.B. kinematische Ereignisse und Frequenzen, in Zukunft erschließen könnte. Möglicherweise könnte die Wahrnehmung dieser Qualitäten dann mit einem zeitlich präziseren Code in Verbindung gebracht werden. Ein Stimulus kann in verschiedenen Qualitäten empfunden werden – so zum Beispiel ein Ton in Höhe und Lautstärke. Es ist dementsprechend denkbar, dass auch ein taktiler, vibratiler Stimulus verschiedene Wahrnehmungsqualitäten hervorruft, die durch unterschiedliche Symbole bzw. mit unterschiedlicher Präzision codiert werden könnten (Jadhav und Feldmann 2010).

Die Frage „Unpräzise Feuerraten oder zeitlich präzise Codierung?“ kann genau genommen nicht dichotom (also nur im Bezug auf zwei mögliche Antworten) gestellt werden. Die Feuerrate wird bekanntlich durch eine Integration von neuronalen Antworten ermittelt, die prinzipiell in unterschiedlicher Länge und Gewichtung erfolgen kann.¹¹ Es geht hier also vielmehr darum, optimale Punkte innerhalb eines Kontinuums der möglichen zeitlichen Integration zu finden. An dessen einem Ende stehen präzise Zeitintervalle, diese werden mit einer zeitlichen Genauigkeit entsprechend der jeweiligen „Binsize“ beschrieben. Am anderen Ende findet sich eine Integration über den gesamten Stimulus (Borst und Theunissen, 1999; Rieke et al., 1997).

10 Auch durch die meistens ausgeprägte Überlegenheit der Sensitivität einzelner Neurone über das Verhalten besteht eine Diskrepanz zwischen Neurometrik und Psychometrik (siehe insbesondere Abbildung 7).

11 Beispielsweise durch Integration über die gesamte Stimuluspräsentation (Salinas et al., 2000) Integration zu Beginn des Stimulus (Shoykhet et al., 2000), in zeitlicher Nähe zur Entscheidung eines wachen Versuchstiers (Von Heimendahl et al., 2007) oder durch Verwendung von Integrationsfenstern mit variierender Gewichtung (Luna et al., 2005). Hierbei gilt es für den somatosensorischen Kortex der Ratte insbesondere den Einfluß der beobachteten Adaptationsphänomene zu bedenken (Fanselow und Nicolelis, 1999; Garabedian et al., 2003; Kathri et al., 2004).

Die hier vorgeschlagene Hypothese für die Codierung der Intensität durch mittlere Feuerraten ist intuitiv, da eine zeitlich unpräzise Beschreibung des Stimulus einer zeitlich unpräzisen Beschreibung des „Spiketrains“ entspricht. Sie bleibt jedoch vage im Bezug darauf, wie die Integration neuronaler Antworten zur Ermittlung der Feuerrate im Detail erfolgen könnte. Das Verhältnis zwischen Feuerraten und dem Verhalten unterscheidet sich nicht wesentlich, wenn die Feuerraten über eine Sekunde oder über die ersten vier Pulse integriert werden (siehe Abbildung 7A und 7B, sowie 9A und 9B). In anderen Kontexten konnte konkreter für eine bestimmte Form der zeitlichen Integration (bestimmte Zeitfenster und Wichtungen) argumentiert werden, wenn sich für diese eine besonders gute Übereinstimmung von Verhalten und neuronalen Daten ergab (z.B. Luna et al., 2005; Stüttgen et al., 2006; 2010). Es ist möglich, dass *kortikale* Antworten auf die hier verwendeten Stimuli ebenfalls konkretere Bestimmungen der neuronalen Codierung erlauben. Auch hier könnten sich für bestimmte Codierungsformen besonders gute Übereinstimmungen zwischen Verhalten und neuronalen Antworten ergeben. Erste Daten deuten darauf hin, dass die exzellente Sensitivität einzelner primärer Neurone auf kortikaler Ebene verloren geht. Damit würde sich die Diskrepanz zwischen neuronaler und psychophysischer Sensitivität reduzieren, so dass eine exaktere Übereinstimmung der Daten zumindest wahrscheinlich erscheint (Gerdjikov et al., 2008).

3.4 Ausblick und weiterführende Experimente

Die Vorliegende Studie eröffnet einen ersten Einblick in die Diskrimination vibraler Stimuli im Tastaarsystem der Ratte. Es wurde im Vorangegangenen darauf hingewiesen, dass verschiedene Überlegungen zur weiteren Ergänzung der hier gewonnenen Ergebnisse motivieren.

Im Bezug auf das Verhaltensexperiment ist es wünschenswert, den Einfluss von höheren kognitiven Prozessen auf die Diskriminationsleistung so weit als möglich zu reduzieren und von den primären Leistungen der Sensorik zu unterscheiden. Solche Prozesse wären z.B. Motivation oder Gedächtnis. Um die Relevanz von Gedächtnisleistungen einzuschränken, könnte wie bereits erwähnt die Zeitdifferenz zwischen den einzelnen Stimulationen minimiert und ein relati-

ver Vergleich der Vibrationen eingeführt werden. Erste Daten deuten darauf hin, dass bei einem solchen Verhaltensaufbau Diskriminationsleistungen gefunden werden, die sich von den hier beschriebenen unterscheiden (Waiblinger und Schwarz, 2010).

Durch die Möglichkeit, die Motivation und deren Einfluss auf das Verhalten der Tiere im Verlauf des Experimentes zu kontrollieren, wäre die Etablierung eines Yes/No-Verhaltenstasks eine Verbesserung des hier geschilderten Versuchsaufbaus.

Inwiefern die gefundene Unfähigkeit der Ratten, bestimmte physikalische Parameter einer vibratorischen Stimulation zu diskriminieren, durch Unflexibilität des Verhaltens übertrainierter Tiere bedingt ist, sollte weitergehend untersucht werden. Hier deuten neuere Ergebnisse darauf hin, dass native Ratten in der Lage sind, die Diskrimination kinematischer Ereignisse zu erlernen, wenn diese von Beginn an Informationen über die Identität der zu unterscheidenden Stimuli bieten (Waiblinger und Schwarz, 2010).

Die überragende Sensitivität, die einzelne trigeminale Neurone für die Diskrimination der Stimuli zeigen, steht in offensichtlicher Diskrepanz zum beobachteten Verhalten der Tiere. Kortikale Daten für die neuronale Repräsentation der Stimuli könnten helfen, diese Diskrepanz zu reduzieren.

Diese Studie ist ein erster Einblick in das Diskriminationsverhalten von Ratten für vibratorische Stimuli. Sie kann als ein Beispiel dafür gelten, wie psychophysische Studien neurophysiologische Erkenntnisse ergänzen und evaluieren können und damit zu weiterführenden Experimenten motivieren.

3.5 Zusammenfassung der Dissertation

Ratten sind in der Lage ihre Tasthaare in einer Vielzahl sensorischer Kontexte zu gebrauchen, so zum Beispiel bei der Unterscheidung der Textur verschiedener Oberflächen. Ihre Fähigkeiten in dieser Hinsicht sind beeindruckend und erinnern an die taktilen Kapazitäten der menschlichen Fingerspitze. Dabei bewegen die Ratten ihre Tasthaare aktiv über verschiedene Oberflächen, wodurch eine texturspezifische Bewegungstrajektorie an deren Basis entsteht. Welche physikalischen Parameter, mit denen diese Trajektorie beschrieben werden

kann, für die Diskrimination von Bedeutung sind, ist bisher nicht vollständig verstanden. Mögliche Kandidaten wären einzelne kinematische Ereignisse, d.h. Bestandteile des Bewegungsprofils, während derer Schwellen hoher Geschwindigkeit oder Amplitude überschritten werden. Andere Kandidaten wären die Frequenz als einfache zeitliche Häufigkeit der Tasthaarauslenkung oder die Intensität des Stimulus als ein mittlerer Wert der Geschwindigkeit (bzw. deren Potenzen). Um dieser Frage nachzugehen, wurden in dieser Studie erstmals Ratten darauf trainiert vibratorische Stimuli zu differenzieren. Auch diese vibratorischen Stimuli lassen sich mit Hilfe der genannten physikalischen Parameter beschreiben und können also zur Lösung der Frage nach deren selektiver Relevanz dienen. Dabei wurden pulsatile Stimuli verwendet, die aus einzelnen Perioden einer 100Hz Sinusschwingung in unterschiedlicher Häufigkeit pro Sekunde bestanden. Für diese Stimuli konnte man Intensität, kinematische Ereignisse und Frequenz unabhängig voneinander modifizieren. Die einzelnen Parameter wurden nacheinander selektiv zwischen den verschiedenen Stimuli angeglichen, wodurch sie uninformativ für die Diskriminationsaufgabe wurden.

Während Stimuli gleichen kinematischen Profils und gleicher Frequenz von den Tieren unterschieden werden konnten, zeigte es sich, dass die Ratten nach Angleichung der Intensitäten nicht in der Lage waren, die Stimuli zu unterscheiden. Dies ist ein Indiz dafür, dass die Diskrimination der hier verwendeten vibratorischen Stimuli auf der Grundlage von Intensitätsunterschieden erfolgte.

In einem zweiten Teil der Arbeit wurden die Antwortmuster der Neurone des Ganglion Trigeminale auf die während des Verhaltensexperimentes verwendeten Stimuli aufgezeichnet. Es wurde untersucht, wie sich der für die Diskrimination relevante Parameter der Intensität in den neuronalen Antworten repräsentiert findet. Dies könnte durch verschiedene Codierungssymbole geschehen: Durch eine mittlere Feuerrate oder durch das zeitlich präzise Symbol der Intervalle zwischen einzelnen neuronalen Antworten. Um diese Frage zu entscheiden, wurden signaldetektionstheoretische Methoden angewendet. Diese erbrachten ein Maß dafür, wie gut ein idealer Beobachter unter Verwendung verschiedener möglicher Codierungssymbole in der Lage wäre, zwischen den Sti-

muli zu unterscheiden. Dabei zeigten einzelne Neurone eine nahezu perfekte Sensitivität für die Diskrimination der verschiedenen vibratilen Stimuli, sowohl im Falle der mittleren Feuerraten als auch der Interspikeintervalle.

Ein Argument dafür, die mittlere Feuerrate den Interspikeintervallen vorzuziehen ergab sich jedoch daraus, dass die mittlere Feuerrate die Unfähigkeit der Tiere, intensitätsangeglichene Stimuli zu unterscheiden, besser widerspiegelte. Dies zeigte sich darin, dass sich für angegliche Intensitäten auch der Median der Sensitivitäten berechnet für Feuerraten entsprechend verschlechterte. Der Grund dafür war, dass die Feuerraten der Neurone in manchen Fällen die Häufigkeit und die Größe der einzelnen Stimuluspulse uneindeutig repräsentierten. Zusammengefasst liefert die vorliegende Arbeit einen Hinweis darauf, dass vibratile Stimuli für das hier verwendete Stimulusspektrum im Tastaarsystem der Ratte auf der Basis ihrer Intensitätsunterschiede differenziert werden und dass sich dieser Intensitätsparameter auf peripherer Ebene in der neuronalen Feuerrate repräsentiert findet.

5. Literaturverzeichnis

Arabzadeh, E., Petersen, R.S., and Diamond, M.E. (2003). Encoding of whisker vibration by rat barrel cortex neurons: implications for texture discrimination. *J. Neurosci.* 23, 9146–9154.

Arabzadeh, E., Zorzin, E., and Diamond, M.E. (2005). Neuronal encoding of texture in the whisker sensory pathway. *PLoS Biol.* 3, e17. 10.1371/journal.Pbio.0030017.

Arvidsson, J. (1982). Somatotopic organization of vibrissae afferents in the trigeminal sensory nuclei of the rat studied by transganglionic transport of HRP. *J. Comp Neurol.* 211, 84-92. Figure 1: Reprinted with permission from John Wiley and Sons.

Borst, A., Theunissen, F.E. (1999). Information theory and neural coding. *Nat. Neurosci.* 2, 947-57.

Brecht, M., Preilowski, B., and Merzenich, M.M. (1997). Functional architecture of the mystacial vibrissae. *Behav. Brain Res.* 84, 81–97.

Brecht, M. (2007). Barrel cortex and whisker-mediated behaviors. *Curr. Opin. Neurobiol.* 17, 408-16.

Britten, K.H., Shadlen, M.N., Newsome, W.T., and Movshon, J.A. (1992). The analysis of visual motion: a comparison of neuronal and psychophysical performance. *J. Neurosci.* 12, 4745–4765.

Carvell, G.E. and Simons, D.J. (1990). Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. *J. Neurosci.* 10, 2638–2648.

Carr, C.E., Konishi, M. (1990). A circuit for detection of interaural time differences in the brain stem of the barn owl. *J. Neurosci.* 10, 3227-46.

Connor, C.E., Johnson, K.O. (1992). Neural coding of tactile texture: comparison of spatial and temporal mechanisms for roughness perception. *J. Neurosci.* 12, 3414-26.

Deschênes, M., Timofeeva, E., and Lavallee, P. (2003). The relay of high-frequency sensory signals in the Whisker-to-barreloid pathway. *J. Neurosci.* 23, 6778–6787.

Diamond, M.E., von Heimendahl, M., Knutsen, P.M., Kleinfeld, D., Ahissar, E. (2008). 'Where' and 'what' in the whisker sensorimotor system. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 601-12. Figure 2: Adapted by permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature reviews neuroscience, 2008

Ebara, S., Kumamoto, K., Matsuura, T., Mazurkiewicz, J.E., and Rice, F.L. (2002). Similarities and differences in the innervation of mystacial vibrissal follicle-sinus complexes in the rat and cat: a confocal microscopic study. *J. Comp. Neurol.* 449, 103–119.

Ebner, F., Popescu, M. (2009). Barrel Cortex. In: *Encyclopedia of Neuroscience*, pp 337-341. Berlin: Springer

Ewert, T.A., Vahle-Hinz, C., and Engel, A.K. (2008). High-frequency whisker vibration is encoded by phase-locked responses of neurons in the rat's barrel cortex. *J. Neurosci.* 28, 5359–5368.

Fraser, G., Hartings, J.A., and Simons, D.J. (2006). Adaptation of trigeminal ganglion cells to periodic whisker deflections. *Somatosens. Mot. Res.* 23, 111–118.

Garabedian, C.E., Jones, S.R., Merzenich, M.M., Dale, A., and Moore, C.I. (2003). Band-pass response properties of rat SI neurons. *J. Neurophysiol.* 90, 1379–1391.

Gerdjikov, T.V., Bergner, C., and Schwarz, C. (2008). Barrel cortex frequency encoding and behavioral discrimination in the rat whisker system. *Soc. Neurosci. Abst.* 858.11.

Gibson, J.M., and Welker, W.I. (1983 a). Quantitative studies of stimulus coding in first-order vibrissa afferents in rats. 1. Receptive field properties and threshold distributions. *Somatosens. Mot. Res.* 1, 51-67.

Gibson, J.M., and Welker, W.I. (1983 b). Quantitative studies of stimulus coding in first-order vibrissa afferents in rats. 2. Adaptation and coding of stimulus parameters. *Somatosens. Mot. Res.* 1, 95–117.

Goff, G.D. (1967). Differential discrimination of frequency of cutaneous mechanical vibration. *J. Exp. Psychol.* 74, 294–299.

Green, D.M., and Swets, J.A. (1966). *Signal detection theory and psychophysics* (New York: John Wiley & Sons).

Guic-Robles, E., Valdivieso, C., Guajardo, G. (1989). Rats can learn a roughness discrimination using only their vibrissal system. *Behav. Brain Res.* 31, 285-289.

Hernandez, A., Salinas, E., Garcia, R., and Romo, R. (1997). Discrimination in the sense of flutter: new psychophysical measurements in monkeys. *J. Neurosci.* 17, 6391–6400.

Hernandez, A., Zainos, A., and Romo, R. (2000). Neuronal correlates of sensory discrimination in the somatosensory cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 6191–6196.

Hipp, J., Arabzadeh, E., Zorzin, E., Conradt, J., Kayser, C., Diamond, M.E., and Konig, P. (2006). Texture signals in whisker vibrations. *J. Neurophysiol.* 95, 1792–1799.

Hutson, K.A., Masterton, R.B. (1986). The sensory contribution of a single vibrissa's cortical barrel. *J. Neurophysiol.* 56, 1196-1223.

Jadhav, S.P., Wolfe, J., and Feldman, D.E. (2009). Sparse temporal coding of elementary tactile features during active whisker sensation. *Nat. Neurosci.* 12, 792–800.

Jadhav, S.P., Feldman, D.E. (2010). Texture coding in the whisker system. *Curr. Opin. Neurobiol.* 20, 313-8.

Johnson, K.O., Yoshioka, T., Vega-Bermudez, F. (2000). Tactile functions of mechanoreceptive afferents innervating the hand. *J. Clin. Neurophysiol.* 17, 539-58.

Johnson, K.O. (2001). The roles and functions of cutaneous mechanoreceptors. *Curr. Opin. Neurobiol.* 11, 455-61.

Johnson, K.O., Hsiao, S.S. (1992). Neural mechanisms of tactual form and texture perception. *Annu. Rev. Neurosci.* 15,227-50

Jones, L.M., Depireux, D.A., Simons, D.J., and Keller, A. (2004). Robust temporal coding in the trigeminal system. *Science* 304, 1986–1989.

Jones, L.M., Lee, S., Trageser, J.C., Simons, D.J., Keller, A. (2004). Precise temporal responses in whisker trigeminal neurons. *J. Neurophysiol.* 92, 665-8.

Khatri, V., Hartings, J.A., and Simons, D.J. (2004). Adaptation in Thalamic Barrel and Cortical Barrel Neurons to Periodic Whisker Deflections Varying in Frequency and Velocity. *J. Neurophysiol.* 92, 3244–3254.

Krupa, D.J., Matell, M.S., Brisben, A.J., Oliveira, L.M., Nicolelis, M.A. (2001). Behavioral properties of the trigeminal somatosensory system in rats performing whiskerdependent tactile discriminations. *J. Neurosci.* 21, 5752-5763.

LaMotte, R.H., and Mountcastle, V.B. (1975). Capacities of humans and monkeys to discriminate vibratory stimuli of different frequency and amplitude: a correlation between neural events and psychological measurements. *J. Neurophysiol.*

siol. 38, 539–559.

Wehr, M., Laurent, G. (1996). Odour encoding by temporal sequences of firing in oscillating neural assemblies. *Nature* 384, 162-6.

Leiser, S.C., and Moxon, K.A. (2006). Relationship between physiological response type (RA and SA) and vibrissal receptive field of neurons within the rat trigeminal ganglion. *J. Neurophysiol.* 95, 3129–3145.

Lichtenstein, S.H., Carvell, G.E., Simons, D.J. (1990). Responses of rat trigeminal ganglion neurons to movements of vibrissae in different directions. *Somatosens. Mot. Res.* 7, 47-65.

Luna, R., Hernandez, A., Brody, C.D., and Romo, R. (2005). Neural codes for perceptual discrimination in primary somatosensory cortex. *Nat. Neurosci.* 8, 1210–1219.

Ma, P.M. (1991). The barrelettes--architectonic vibrissal representations in the brainstem trigeminal complex of the mouse. I. Normal structural organization. *J. Comp. Neurol.* 309, 161-99.

Metha, S.B., Whitmer, D., Figueroa, R., Williams, B.A., Kleinfeld, D. (2007). Active spatial perception in the vibrissa scanning sensorimotor system. *PLoS Biol.* 5, e15.

Moiseff, A., Konishi, M. (1981) Neuronal and behavioral sensitivity to binaural time differences in the owl. *J. Neurosci.* 1, 40-48.

Mosconi, T.M., Rice, F.L., Song, M.J. (1993) Sensory innervation in the inner conical body of the vibrissal follicle-sinus complex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 328, 232-51.

Mountcastle, V.B., Talbot, W.H., Sakata, H., Hyvärinen, J. (1969). Cortical neuronal mechanisms in flutter-vibration studied in unanesthetized monkeys. Neuronal periodicity and frequency discrimination. *J. Neurophysiol.* 32, 452-84.

Mountcastle, V.B., Steinmetz, M.A., and Romo, R. (1990). Frequency discrimination in the sense of flutter: psychophysical measurements correlated with postcentral events in behaving monkeys. *J. Neurosci.* 10, 3032–3044.

Neimark, M.A., Andermann, M.L., Hopfield, J.J., Moore, C.I. (2003). Vibrissa resonance as a transduction mechanism for tactile encoding. *J. Neurosci.* 23, 6499-509.

Parker, A.J., and Newsome, W.T. (1998). Sense and the single neuron: probing the physiology of perception. *Annu. Rev. Neurosci.* 21, 227–277.

Petersen, C.C. (2003). The barrel cortex--integrating molecular, cellular and systems physiology. *Pflügers Arch.* 447, 126-34. Figure 1: Reprinted with kind permission from Springer Science+Business Media: Figure number 3.

Petersen, C.C. (2007). The functional organization of the barrel cortex. *Neuron.* 56, 339-55. Figure 2: Reprinted with permission from Elsevier.

Petersen, R.S., Brambilla, M., Bale, M.R., Alenda, A., Panzeri, S., Montemurro, M.A., and Maravall, M. (2008). Diverse and temporally precise kinetic feature selectivity in the VPM thalamic nucleus. *Neuron* 60, 890–903.

Pinto, D.J., Brumberg, J.C., and Simons, D.J. (2000). Circuit dynamics and coding strategies in rodent somatosensory cortex. *J. Neurophysiol.* 83, 1158–1166.

Reid, L.S. (1953). The development of noncontinuity behavior through continuity learning. *J. Exp. Psychol.* 46, 107-12.

Rice, F.L., Mance, A., Munger, B.L. (1986). A comparative light microscopic analysis of the sensory innervation of the mystacial pad. I. Innervation of vibrissal follicle-sinus complexes. *J. Comp. Neurol.* 252, 154-74.

Rice, F.L., Fundin, B.T., Arvidsson, J., Aldskogius, H., Johansson, O. (1997). Comprehensive immunofluorescence and lectin binding analysis of vibrissal follicle sinus complex innervation in the mystacial pad of the rat. *J Comp Neurol.* 25, 149-84.

Rieke, F., Warland, D., de Ruyter van Steveninck, R.R., Bialek, W. (1997). *Spikes : Exploring the neural code.* Cambridge: MIT Press.

Ritt, J.T., Andermann, M.L., and Moore, C.I. (2008). Embodied information processing: vibrissa mechanics and texture features shape micromotions in actively sensing rats. *Neuron* 57, 599–613.

Romo, R., Hernández, A., Zainos, A., Salinas, E. (1998). Somatosensory discrimination based on cortical microstimulation. *Nature.* 392, 387-90

Sachdev, R.N.S., Jenkinson, E., Zeigler, H.P., Ebner, F.F. (2001). Sensorimotor plasticity in the rodent vibrissa system. In: *The Mutable Brain*, pp 123-164. Amsterdam: Harwood Academic Publishers.

Salinas, E., Hernandez, A., Zainos, A., and Romo, R. (2000). Periodicity and firing rate as candidate neural codes for the frequency of vibrotactile stimuli. *J. Neurosci.* 20, 5503–5515.

Schwarz, C., Hentschke, H., Butovas, S., Haiss, F., Stüttgen, M.C., Gerdjikov, T.V., Bergner, C.G., Waiblinger, C. (2010) The head-fixed behaving rat – procedures and pitfalls. *Somatosens. Mot. Res.* 27, 131–48.

Shoykhet, M., Doherty, D., and Simons, D.J. (2000). Coding of deflection velocity and amplitude by whisker primary afferent neurons: implications for higher level processing. *Somatosens. Mot. Res.* 17, 171–180.

Stanislaw, H., and Todorov, N. (1999). Calculation of signal detection theory measures. *Behav. Res. Methods Instrum. Comput.* 31, 137–149.

Stüttgen, M.C., Rüter, J., and Schwarz, C. (2006). Two psychophysical channels of whisker deflection in rats align with two neuronal classes of primary afferents. *J. Neurosci.* 26, 7933–7941.

Stüttgen, M.C., Kullmann, S., Schwarz, C. (2008). Responses of rat trigeminal ganglion neurons to longitudinal whisker stimulation. *J. Neurophysiol.* 100, 1879–84.

Stüttgen, M.C., and Schwarz, C. (2008). Psychophysical and neurometric detection performance under stimulus uncertainty. *Nat. Neurosci.* 11, 1091–1099.

Stüttgen, M.C., and Schwarz, C. (2010). Integration of vibrotactile signals for whisker-related perception in rats is governed by short time constants: comparison of neurometric and psychometric detection performance. *J. Neurosci.* 30, 2060–2069.

Talbot, W.H., Darian-Smith, I., Kornhuber, H.H., Mountcastle, V.B. (1986). The sense of flutter-vibration: comparison of the human capacity with response patterns of mechanoreceptive afferents from the monkey hand. *J. Neurophysiol.* 31, 301–34.

Van der Loos, H. (1976). Barreloids in mouse somatosensory thalamus. *Neurosci. Lett.* 2, 1–6.

Von Heimendahl, M., Itskov, P.M., Arabzadeh, E., Diamond, M.E. (2007). Neuronal activity in rat barrel cortex underlying texture discrimination. *PLoS Biol.* 5, e305.

Waiblinger, C., Schwarz, C. (2011). Cues of vibrotactile signals used for discrimination in the rat vibrissal system. *Ann. Meeting German neurosc. Soc. Abstr.* T20-6A

Waite, P. M. E., and Cragg, B. G. (1982). The peripheral and central changes resulting from cutting or crushing the afferent nerve supply to the whiskers. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 214, 191–211.

Welker, E., Van der Loos, H. (1986). Quantitative correlation between barrel-field size and the sensory innervation of the whiskerpad: a comparative study in six strains of mice bred for different patterns of mystacial vibrissae. *J. Neurosci.* 6, 3355-73.

Wolfe, J., Hill, D.N., Pahlavan, S., Drew, P.J., Kleinfeld, D., and Feldman, D.E. (2008). Texture coding in the rat whisker system: slip-stick versus differential resonance. *PLoS Biol.* 6, e215. [10.1371/journal.pbio.0060215](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060215).

Woolsey, T.A., Van der Loos, H. (1970). The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units. *Brain Res.* 17, 205-42.

Zucker, E., Welker, W.I. (1969). Coding of somatic sensory input by vibrissae neurons in the rat's trigeminal ganglion. *Brain Res.* 12, 138-56.

6. Erklärung zum Eigenanteil einzelner Autoren

Caroline Bergner: Durchführung der akuten Trigemineexperimente, des zweiten und dritten Teils des Verhaltensexperimentes, sowie einiger Trainingssessions des ersten Teils, Datenanalyse, Abbildungen, Verfassen des Textentwurfs der Publikation, Formulierung der Dissertation

Todor Gerdjikov: Etablierung des Verhaltensexperimentes und Instruktion zu dessen Durchführung, Datensammlung der meisten Trainingssessions des ersten Teils der Verhaltensexperimente und Hilfestellung bei den weiteren Teilen sowie bei Datenanalyse und der Formulierung des Endtextes der Publikation

Maik Stüttgen: Instruktion und Hilfe bei der Durchführung der akuten Trigemineexperimente, stellte Programme zur Datenanalyse und zur Kalibrierung des Piezo zur Verfügung, Hilfestellung bei experimentellen Design, Datenanalyse und Formulierung des Endtextes der Publikation

Christian Waiblinger: Messung aktiver Tasthaarbewegung während der passiven Stimulation (siehe Methodenteil)

Cornelius Schwarz: Stellte Ressourcen für die Durchführung der Experimente zur Verfügung, Instruktion und Hilfestellung bei der Durchführung der Arbeit, Revision und Überarbeitung des Textentwurfes zur Formulierung des Endtextes der Publikation

Danksagung

Ich danke Cornelius Schwarz für die jederzeit verlässliche und geduldige Unterstützung und Anleitung während der Durchführung dieser Arbeit sowie für viele spannende und motivierende Anregungen und Erklärungen. Ich danke Todor Gerdjikov und Maik Stüttgen für vielfache Tipps, Instruktionen und die Diskussion der Experimente. Ich danke Sergejus Butovas für die Hilfe bei unzähligen Schwierigkeiten mit technischen Gerätschaften sowie Christian Waiblinger für die Messung der aktiven Tasthaarbewegungen. Ich danke allen, die mich während der Arbeiten immer wieder ermutigt haben, insbesondere meiner Familie.