

Aus der Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde mit
Poliklinik Tübingen

**Identifizierung charakteristischer Merkmale von Tinnitus in
gering hörgeschädigten Tinnitusprobanden**

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

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

vorgelegt von

Walter, Moritz Frederik

2019

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1.Berichterstatter: Professor Dr. M. Knipper-Beer

2.Berichterstatter: Professor Dr. C. Plewnia

Tag der Disputation: 11.12.2019

Meiner geliebten Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
1 Einleitung	2
1.1 Tinnitus Epidemiologie, Ätiologie	2
1.2 Stand der Forschung zur Tinnitus-Pathophysiologie	3
1.3 Fragestellung und Studienaufbau/Hintergrund	4
2 Material und Methoden	6
2.1 Ethikantrag	6
2.2 Rekrutierung von Tinnitus- und Kontrollprobanden	6
2.2.1 Einschluss- und Ausschlusskriterien	7
2.2.2 Angleichung des Hörverlustes der Tinnitus- und Kontrollgruppen	8
2.3 Audiologische Diagnostik von Tinnitus- und Kontrollprobanden	8
2.3.1 Reintonaudiometrie	8
2.3.2 Tinnitus-Bestimmung	8
2.3.3 Tympanometrie und Stapediusreflex-Messung	9
2.3.4 Tinnitus-Fragebogen	9
2.3.5 Hyperakusis-Fragebogen	10
2.3.6 Hirnstammaudiometrie/ABR	10
2.4 Akustisch evozierte funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie	12
2.4.1 fMRT-Messprotokoll	14
2.4.2 Akustische Stimulation	15
2.4.3 Datenverarbeitung	16
2.4.4 Festlegung der ROIs	17
2.5 Cortisolwert-Bestimmung im Speichel	18
2.6 Untersuchungsablauf	20
2.7 Berechnungen und statistische Analyse	22
3 Ergebnisse	24
3.1 Kriterien zum Ein- und Ausschluss von Tinnitus- und Kontrollprobanden	24
3.1.1 Rekrutierung von Tinnitus- und Kontrollprobanden	24
3.1.2 Checkliste/Fragebogen, Aufklärung, Ohrspiegelung	24
3.1.3 Reintonaudiometrie	25
3.1.4 Tympanometrie und Stapediusreflex-Messung	28
3.1.5 Studieneinschluss	30
3.2 Nicht-audiologische Charakterisierung von Tinnitus- und Kontrollprobanden	31
3.2.1 Alter, Geschlecht, Händigkeit	31
3.2.2 Tinnitus-Fragebogen	32
3.2.3 Hyperakusis Fragebogen	36
3.2.4 Cortisolwerte Speichel	36
3.3 Audiologische Diagnostik von Tinnitus- und Kontrollprobanden	38
3.3.1 Tinnitus-Bestimmung	38

3.3.2	Hirnstammaudiometrie/ABR	40
3.4	Feinstrukturanalyse der ABR-Einzelwellen von gering hörgeschädigten Tinnitus- und Kontrollprobanden	43
3.4.1	ABR-Wellen-Amplituden der ABR-Welle I, III, V, VI	45
3.4.2	ABR-Wellen-Latenz der ABR-Welle I, III, V, VI	46
3.5	Identifizierung akustisch evozierter fMRT BOLD-Aktivitätsmuster mittels prädefinierten ROIs von Tinnitus- und Kontrollgruppen	49
3.5.1	Erniedrigte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität im primären und sekundären Auditorischen Cortex und assoziierten Regionen der akustischen Signalerkennung in der Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe	51
3.5.2	Erhöhte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität in der anterioren Insula, im Corpus mamillare und im somatosensorischen Cortex in der Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe	52
3.6	Zusammenfassende Betrachtungen	54
4	Diskussion	57
4.1	Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) und Kontrollprobanden unterscheiden sich nicht in der Mittelohrfunktion und Hörschwelle	57
4.2	Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) unterscheiden sich von Kontrollprobanden durch reduzierte überschwellige ABR-Amplituden	58
4.3	Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) unterscheiden sich von Kontrollprobanden durch reduzierte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivitäten im auditorischen Cortex	61
4.4	Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) unterscheidet sich von Kontrollprobanden durch tendenziell erhöhte Cortisol-Spiegel im Speichel	63
4.5	Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) zeigen rechts-hemisphärische Lautheitsveränderungen	64
5	Zusammenfassung	66
	Literaturverzeichnis	68
	Abbildungsverzeichnis	75
	Tabellenverzeichnis	76
	Anhangsverzeichnis	76
	Erklärung zum Eigenanteil	77
	Veröffentlichungen	80
	Danksagung	81
	Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.
	Anhang	83

Abkürzungsverzeichnis

ABR	Auditory brainstem response
BA	Brodmann Areal
BB	Breitband
BOLD	Blood oxygenation level dependent
CN	Nucleus cochlearis
Corpus Mam	Corpus mamillare
CRF	Case report form
DPOAE	Distorsionsprodukte otoakustischer Emissionen
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
FWHM	Full width at half maximum
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GLM	General Linear Model
HCG	Humanes Choriongonadotropin
HF	Hochfrequenz
Hipp	Hippocampus
HPA-Achse	Hypothalamisch-Hypophysiäre Achse
Hz	Hertz
IC	Colliculus inferior
kHz	Kilohertz
kOhm	Kiloohm
L	Links
MGB	Corpus geniculatum mediale
MNI	Montreal Neurological Institute
MPRAGE	Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo
ms	Millisekunde
MTRA	Medizinisch Technische Radiologie Assistentin
NF	Niederfrequenz
R	Rechts
ROIs	Regions of interest
SOC	Nucleus olivaris superior
SPL	Sound pressure level/Schalldruckpegel
SPM	Statistical Parametric Mapping
TR	Repetitionzeit

1 Einleitung

1.1 Tinnitus Epidemiologie, Ätiologie

Subjektiver Tinnitus ist eine Phantomwahrnehmung des Gehörs, bei welcher die betroffenen Personen Töne wahrnehmen, die kein physikalisches Korrelat besitzen. Etwa ein Sechstel der Allgemeinbevölkerung ist von Tinnitus betroffen, wobei 14% der Erwachsenen in den USA einen chronischen Tinnitus aufweisen (Shargorodsky et al., 2010). Ein subjektiver Tinnitus kann durch eine Vielzahl von Ursachen hervorgerufen werden, wobei einige Faktoren synergistisch in der Tinnitus-Entstehung zusammenwirken (Tyler et al., 2008; Henry et al., 2014; Moller et al., 2015; Wu et al., 2016; Ralli et al., 2017; Hwang et al., 2018). Die Mehrzahl der Publikationen über Tinnitus nehmen an, dass Tinnitus in den meisten Fällen mit einem Schaden des peripheren Hörsystems assoziiert ist (Axelsson und Ringdahl, 1989; Sirimanna et al., 1996; Demeester et al., 2007).

Dabei ist wichtig zu beachten, dass der Hörverlust der größte Risikofaktor für die Entstehung von Tinnitus ist (Knipper et al., 2013a). Neben dem Hörverlust sind Angst- und Stress-bedingte Störungen und ein hohes Lebensalter weitere Risikofaktoren für die Tinnitus-Entstehung (Shargorodsky et al., 2010; Knipper et al., 2013a; Sedley et al., 2016; Stefanescu und Shore, 2017). Diese Risiken können gleichzeitig als Komorbiditäten auftreten (Canlon et al., 2013; Durai und Searchfield, 2016; Mazurek et al., 2017).

Hörverlust wird zurzeit als alleinige primäre kausale Ursache für Tinnitus ausgeschlossen, weil Tinnitus auch ohne Hörschwellenerhöhung auftreten kann (Shiomi et al., 1997; Lockwood et al., 2002; Saunders, 2007; Roberts et al., 2010). So zeigt sich, dass in Tinnitusprobanden die Hörschwelle vollkommen normal sein kann (Geven et al., 2011; Langers et al., 2012; Tan et al., 2013; Lanting et al., 2014). Die Hörschwelle wird vor allem durch die elektromechanische Verstärkerfunktion der äußeren Haarzellen definiert (Dallos und Harris, 1978), welche über sogenannte Distortionsprodukte otoakustischer Emissionen (DPOAE) gemessen werden kann (Ruttiger et al., 2017). In verschiedenen Studien zeigte sich, dass Tinnitusprobanden

völlig normale DPOAEs Antworten zeigen können (Geven et al., 2011). Das heißt, Tinnitus kann offenbar mit einer normalen Funktion der äußeren Haarsinneszellen einhergehen. Tinnitus ohne Hörschwellenverlust wurde auch im Tiermodell für Tinnitus bestätigt (Muller et al., 2003; Bauer et al., 2007; Knipper et al., 2012; Knipper et al., 2013a; Rüttiger et al., 2013; Singer et al., 2013a). Damit wird nicht der Hörschwellenverlust selbst zurzeit kausal mit Tinnitus korreliert, sondern vielmehr der Verlust der auditorischen Hörnervenfasern (Deafferentierung) (Shiomi et al., 1997; Lockwood et al., 2002; Weisz et al., 2006; Saunders, 2007; Roberts et al., 2010; Geven et al., 2011; Langers et al., 2012; Boyen et al., 2014; Gilles et al., 2016; Kim et al., 2012).

Obwohl ein Hörfaserverlust generell als Korrelat von Tinnitus anerkannt wird, ist der Mechanismus wie Hörfaserverlust zu Tinnitus führt nach wie vor unverstanden und verschiedene "Tinnitus-Modelle" werden zurzeit sehr kontrovers diskutiert.

1.2 Stand der Forschung zur Tinnitus-Pathophysiologie

In Mensch und Tier wird bei Tinnitus das Korrelat eine erhöhte Spontanfeuerrate in der Hörbahn (Hyperexcitability) beobachtet (Brozoski et al., 2002; Chen und Jastreboff, 1995; Eggermont und Roberts, 2012; Eggermont und Roberts, 2015; Eggermont, 2015; Kalappa et al., 2014; Kaltenbach et al., 2004; Kwon O, 1999; Norena und Eggermont, 2003; Schaette und Kempster, 2012; Shore et al., 2016; Weisz et al., 2005; Weisz et al., 2007; Yang und Bao, 2013).

Zurzeit wird diese zentrale Übererregbarkeit als kompensatorische Reaktion des Gehirns auf die Deafferentierung interpretiert. Dabei wird meist davon ausgegangen, dass eine erhöhte Spontanaktivität der Hörbahn mit einer erhöhten neuronalen Verstärkung der tiefen bzw. der höhergelegenen Hörzentren einhergeht und damit die Tinnitus-Wahrnehmung verursacht (Marks et al., 2018; Norena, 2015; Schaette und Kempster, 2012; Schaette und McAlpine, 2011b; Sedley et al., 2016; Yang und Bao, 2013; Yang et al., 2011).

Diese kompensatorische zentrale Verstärkung wird von den Arbeitsgruppen auch als zentrales „neural gain“ bezeichnet (Schaette und Kempster, 2012; Norena, 2015; Schaette und McAlpine, 2011a).

In Tierversuchen konnte in der Arbeitsgruppe Knipper-Rüttiger jedoch gezeigt werden, dass Tiere mit Tinnitus unfähig waren auf eine Trauma-induzierte Deafferentierung mit zentralem „neural gain“ zu antworten (Rüttiger et al., 2013; Singer et al., 2013b; Mohrle et al., 2019). Das heißt diese Tiere zeigten keine Stimulus-induzierte Erhöhung der Welle IV der Hirnstammaudiometrie (ABR), wie wir sie nach dem Trauma mit der Beteiligung von „neural gain“ erwarten würden (Rüttiger et al., 2013; Singer et al., 2013a).

Im Gegenteil, die Tiere, die keinen Tinnitus aufwiesen, also ohne Symptome blieben, antworteten nach einer Trauma-induzierten Deafferentierung mit einem Stimulus-induzierten erhöhten Antwortverhalten der ABR-Welle I und IV (Mohrle et al., 2019). Damit wurde die These aufgestellt, dass, anderes als bisher angenommen, Tinnitus möglicherweise mit einem Verlust von zentralem „neural gain“ einhergeht. Die beobachtete erhöhte zentrale Erregbarkeit, die generell mit Tinnitus einhergeht, müsste damit eine andere Ursache haben. Bisher wurde allerdings zur Klärung dieser Frage ein durch akustisch evozierte Stimuli gemessenes zentrales Antwortverhalten mittels z. B. überschwelliger ABR-Wellen-Analyse in Tinnitusprobanden nicht explizit untersucht.

Die im Rahmen dieser Arbeit beschriebene klinische Studie sollte nun der Frage nachgehen, ob Tinnitus im Menschen mit einem erhöhten oder erniedrigte akustisch evozierten zentralem Antwortverhalten nach Deafferentierung einhergeht (Zunahme oder Verlust von „neural gain“).

1.3 Fragestellung und Studienaufbau/Hintergrund

Die vorliegende Studie hatte zum Ziel, den neuronalen Aktivitätszustand der Hörbahn in Tinnitusprobanden genauer zu untersuchen. Erkenntnisse dieser Untersuchung könnten erste Ansätze für verbesserte therapeutische Beeinflussung von

Tinnitus bringen. Um eine möglichst gute Identifizierung von Unterschieden zwischen den Gruppen zu gewährleisten, wurden folgende Bedingungen formuliert die den Einschluss von Probanden befürworten sollten.

1) Um zu gewährleisten, dass nur Probanden mit leichtgradigem Hörverlust in die Studie eingeschlossen werden, wurden nur Probanden mit oder ohne Tinnitus in die Studie eingeschlossen, deren Hörschwelle in keiner Frequenz über 40 dB lag. Zudem sollte mit der Untersuchung der Tympanometrie und des Stapediusreflexes eine Störung der Mittelohrfunktion aller Probanden ausgeschlossen werden.

2) Um zu vermeiden, dass möglicherweise durch eine parallel auftretende Lautheitsstörung, wie Hyperakusis, ein anderes neuronales zentrales Antwortverhalten, das neuronale Tinnitus-Korrelat verzerrt (Gu et al., 2010; Song et al., 2014), wurden Probanden mit Tinnitus und gleichzeitig auftretender Hyperakusis ausgeschlossen.

3) Zur Untersuchung des neuronalen Antwortverhaltens auf akustische Stimulation sollte in beiden Gruppen neben der Untersuchung der Feinstruktur der Hirnstammaudiometrie auch die akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität gemessen werden. Hierbei repräsentiert die ABR-Wellen-Amplitude die neuronale Synchronität (Johnson und Kiang, 1976; Ruttiger et al., 2017), während die fMRT BOLD-Aktivität die neuronale Aktivität über die Erhöhung der Durchblutung der untersuchten Hirnregion misst (Logothetis und Pfeuffer, 2004).

4) Da der Stress-Spiegel einen Einfluss auf das über ABR gemessene zentrale Antwortverhalten nach akustischem Trauma haben kann (Singer et al., 2018; Singer et al., 2013a), und Stress seit sehr langer Zeit als Faktor für die Tinnitus-Entstehung diskutiert wird (Hébert et al., 2012; Mazurek et al., 2012; Zenner et al., 2006) wurden in allen Probanden die Cortisolwerte im Speichel gemessen.

Zusammenfassende Fragestellung

In der vorliegenden Studie sollte in vergleichbar hörgeschädigten Probanden mit und ohne Tinnitus mit Hilfe der Analyse der Reintonaudiometrie, Tympanometrie, Tinnitus-Bestimmung, ABR Feinstrukturanalyse, akustisch evozierten fMRT BOLD-

Antwort und der Analyse von Cortisol in Körperflüssigkeiten ein erster Einblick in Tinnitus-spezifische Merkmale gewonnen werden.

2 Material und Methoden

2.1 Ethikantrag

Die vorgelegte Studie wurde unter dem Titel „Funktionelle MR-Tomographie zur Darstellung der Hirnaktivität und der Hörbahn bei Tinnitus-Patienten und Vergleichspersonen“ (German Clinical Trials Register DRKS0006332) durch die Ethikkommission genehmigt. Alle Studienteilnehmer wurden über die Risiken der Studie, (Blutentnahme, Ohruntersuchungen, MRT-Untersuchung,) und den Datenschutz aufgeklärt, unterschrieben die Einverständniserklärung und erhielten eine jeweilige Kopie davon (siehe Anhang E).

2.2 Rekrutierung von Tinnitus- und Kontrollprobanden

Ziel der Rekrutierung war der Erhalt eines vergleichbaren und homogenen Kollektivs von Tinnitus- und Kontrollprobanden. Zu diesem Zweck wurden in der Ambulanz der Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde Tübingen Flyer ausgelegt, die über die Studie informierten (siehe Anhang A). Zusätzlich wurde in einer E-Mail auf die Studie hingewiesen und um Teilnahme gebeten (siehe Anhang B). Die Rekrutierung verlief konsekutiv während der laufenden Studie. Die Rekrutierungsstrategie sah vor zunächst Tinnitusprobanden zu rekrutieren. Im Anschluss wurden dann Kontrollprobanden gesucht. Hierzu wurden die Kontrollprobanden zunächst zu einer Auswahlmessung eingeladen. Die Auswahlmessung umfasste eine Ohruntersuchung und ein Reintonaudiogramm. Nach der Messung wurde entschieden, ob ein Studieneinschluss möglich war. Alle Studienteilnehmer erhielten als Aufwandsentschädigung für die Teilnahme an der Studie 50 €. Die Tinnitus- und Kontrollprobanden, die lediglich an der Auswahlmessung (Ohrspiegelung und Reintonaudiometrie) teilnahmen, erhielten 10 €.

2.2.1 Einschluss- und Ausschlusskriterien

Die Einschluss- und Ausschlusskriterien wurden vor dem Studienbeginn festgelegt und sind im Detail in der Checkliste (Anhang D) zusammengefasst. Als allgemeine Einschlusskriterien fungierten ein Alter zwischen 18-70 Jahre, ein unauffälliger Ohrbefund in der Ohrmikroskopie und deutsche Sprachkenntnisse. Als spezifische Einschlusskriterien für die Tinnitusgruppe wurden die folgenden Punkte definiert: Das Vorliegen des Tinnitus musste länger als 4 Wochen bestehen. Die Tinnitus-Symptomatik musste kontinuierlich sein und nicht auf eine Begleiterkrankung zurückzuführen sein. Als Einschlusskriterium für die Probanden der Kontrollgruppe galt die Abwesenheit von Tinnitus-Symptomatik während der Studienteilnahme und in der Vorgeschichte. Die folgenden Ausschlusskriterien galten für beide Gruppen gleichermaßen: Der Studienausschluss erfolgte bei Einschränkungen und Erkrankungen des Hörsystems, schwerwiegende Grunderkrankungen, Tinnitus-Behandlung, Schwangerschaft, Einnahme von Medikamenten, Drogen und Alkohol, Kontraindikationen zu MRT-Untersuchung sowie Kontrastmittelallergie. Weitere Ausschlusskriterien waren ein Hörverlust über 40 dB im Reintonaudiogramm (frequenzunabhängig), das Vorliegen einer retrocochleären Hörstörung ermittelt im ABR, Taubheit, das Tragen von Hörgeräten, das Vorliegen von Schwindel, eine Ohroperation in der medizinischen Vorgeschichte oder eine jahrelange andauernde berufliche Lärmexposition. Darüber hinaus wurde die Koexistenz der Lautheitsempfindlichkeitsstörung (Hyperakusis) als Ausschlusskriterium gewählt, da bisher unklar ist ob Tinnitus und Hyperakusis sich im zentralen Antwortverhalten unterscheiden. Die Ohruntersuchung erfolgt durch einen der Studienärzte in der Ambulanz der Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde Tübingen. Der Studienarzt benutzte zu diesem Zweck einen Ohrentrichter und ein Ohrmikroskop der Firma Carl Zeiss. Im Zuge der Ohruntersuchung wurden die Gehörgänge von Cerumen (Ohrenschmalz) gesäubert und zusätzlich das Trommelfell und der Gehörgang begutachtet. Die Studienteilnahme war nur bei einer physiologischen Form des Gehörgangs und bei einem reizfreien, intakten Trommelfell möglich.

2.2.2 Angleichung des Hörverlustes der Tinnitus- und Kontrollgruppen

Um die Vergleichbarkeit der Tinnitusgruppe und Kontrollgruppe in Bezug auf ihr Hörvermögen zueinander zu gewährleisten, wurden nur Probanden mit keinem oder einem geringen Hörverlust eingeschlossen. Der maximal zulässige Hörverlust für jede Frequenz betrug 40 dB. Es wurde ebenfalls auf die Alters- und Geschlechtsverteilung der Gruppen geachtet. Auf die Verteilung der Händigkeit der Gruppe konnte in der Studie nicht im selben Ausmaß geachtet werden.

2.3 Audiologische Diagnostik von Tinnitus- und Kontrollprobanden

2.3.1 Reintonaudiometrie

Es wurde von jedem Tinnitus- und Kontrollproband ein Reintonaudiogramm angefertigt, welches die Hörschwelle in Luftleitung in dB angibt. Es wurden beidseits die Hörschwellen für die Frequenzen 125 Hz, 250 Hz, 500 Hz, 1 kHz, 2 kHz, 3 kHz, 4 kHz, 6 kHz, 8 kHz und 10 kHz gemessen. Die Messung wurde von den Audiometristinnen der Audiometrie der Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde Tübingen mithilfe des AT 900 Audiometer (Auritec, Medizindiagnostische Geräte GmbH, Hamburg, Germany) erhoben. Die Probanden saßen dabei in einer schalldichten Kammer (Industrial Acoustics Company, Niederkrüchten, Germany) und bekamen über Kopfhörer (Telephonics TDH 39p (Telephonics, Farmingdale, USA)) Sinustöne der oben genannten Frequenzen vorgespielt. Die Probanden wurden unterwiesen, einen Knopf zu drücken, sobald sie einen Ton wahrnehmen konnten.

2.3.2 Tinnitus-Bestimmung

Die Tinnitus-Bestimmung diente zur Detektion der individuellen Tinnitusfrequenz und Tinnitus-Lautstärke. Hierbei wurden dieselben Untersuchungsbedingungen wie bereits bei der Reintonaudiometrie verwendet (siehe Material und Methoden 2.3.1). Den Tinnitusprobanden wurden Töne verschiedener Frequenz und Lautstärke präsentiert, und sie wurden aufgefordert den Ton zu nennen, der am ehesten ihrem Ohrgeräusch in Frequenz und Lautstärke entsprach.

Das Ergebnis der Messung wurde zusammen mit dem Ergebnis der Reintonaudiometrie dokumentiert (siehe Abb. 4).

2.3.3 Tympanometrie und Stapediusreflex-Messung

Die Tympanometrie und Stapediusreflex-Messungen fanden in der Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde Tübingen statt und wurden durch die Audiometristinnen der Audiometrie durchgeführt. Die Untersuchung wurde mit Hilfe des Madsen-Zodiac 901 (GN Otometrics, Münster, Germany) unter Nutzung von Stimuli der Frequenzen 0,5; 1; 2 und 4 kHz von 80 bis 100 dB erhoben, um eine normale Geräuschübertragung des Mittelohrs zu gewährleisten.

2.3.4 Tinnitus-Fragebogen

Alle Tinnitus Probanden mussten im Rahmen der Studie den Göbel-Hiller Tinnitus-Fragebogen ausfüllen. Es musste zu 52 Aussagen Stellung bezogen werden, wobei die Patienten wählen konnten, ob die Aussage für sie zutrifft, teilweise zutrifft oder nicht zutrifft. Der Fragebogen dient zur Einschätzung der Tinnitus-Belastung und untergliedert sich in sechs Unterdimensionen. Dazu gehören die emotionale Belastung, die kognitive Belastung, die Penetranz des Tinnitus, Hörprobleme, Schlafstörungen und somatische Beschwerden. Aus der Summe der Punktwerte aller Fragen lässt sich ein Gesamtwert berechnen, der die globale Tinnitus-Belastung repräsentiert. Zusätzlich zu diesem Fragebogen sollten die Tinnitusprobanden das „Tinnitus case report“ form (Tinnitus-CRF) ausfüllen, bei dem sie die Tinnitus-Belästigung in den letzten Tagen auf einer 8-stelligen Digitalscala angeben sollten. Die wählbaren Antwortmöglichkeiten waren, 1) keine Belästigung, 2) sehr leicht 3) leicht 4) mäßig 5) mittel 6) stark 7) sehr stark 8) extrem. Die Fragebögen wurden im Anschluss an die audiometrischen Messungen (Reintonaudiometrie, Tinnitus-Bestimmung, Tympanometrie und Stapediusreflex-Messung) an die Tinnitusprobanden ausgeteilt. Den Probanden wurde für das Ausfüllen des Fragebogens ausreichend Zeit gegeben.

2.3.5 Hyperakusis-Fragebogen

Um zu beurteilen, ob bei den Tinnitus- oder Kontrollprobanden eine Hyperakusis vorlag, wurde ein Hyperakusis Fragebogen (Fischer, 2013) (siehe Anhang F) von allen Studienteilnehmern ausgefüllt. Ergab der Fragebogen starke Hinweise auf das Vorliegen von Hyperakusis, mussten die Probanden aus der Datenanalyse ausgeschlossen werden.

2.3.6 Hirnstammaudiometrie/ABR

Die Hirnstammaudiometrie-Messung wurde mit einem Gerät der Firma GSI, Typ Audera (Grason-Stadler, Eden Prairie, USA) erhoben. Dazu wurden Kopfhörer Telephonics TDH 39p headphones (Telephonics, Farmingdale, USA) und vier Elektroden (Neuroline 720, Ambu, Bad Nauheim, Germany) verwendet. Vor dem Aufkleben der Elektroden wurde die Haut mit Nuprep Skin Prep Gel (Weaver und Company, Aurora, USA) zur Entfettung und Reinigung behandelt. Im Anschluss wurden insgesamt vier Elektroden nach dem Schema der Abbildung1 aufgeklebt. Es

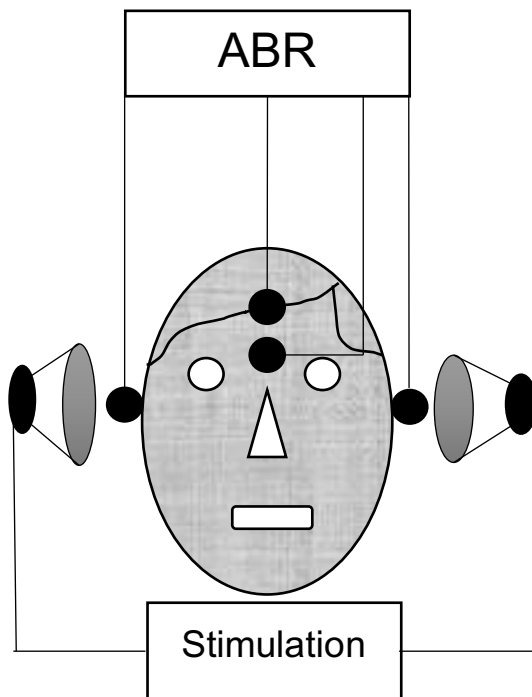


Abb. 1 Anordnung ABR-Elektroden

Die Anordnung der Klebeelektroden für die ABR-Messung wurden entsprechend des User Manual der GSI Audera angebracht.

wurden zwei Aktiv-Elektroden auf den rechten und linken Processus mastoideus/Warzenfortsatz, eine Erdungselektrode an der Stirn nahe den Augenbrauen und eine Referenzelektrode in der mittleren Sagittal-Linie nahe am Haaransatz aufgeklebt. Im Anschluss wurden die Verkabelung und Impedanz nochmals überprüft, bevor mit der Messung begonnen wurde.

Die Impedanz musste unter 5 kOhm liegen, um akzeptiert zu werden. War dies nicht der Fall wurde die Reinigung der Haut wiederholt und eine neue Elektrode aufgeklebt. Die Messung wurde seitengetreunt mit sechs Lautstärke-Leveln (von 25dB bis 75 dB in 10 dB Schritten) gemessen. Die Stimulation erfolgte mit einem Click-Stimulus von GSI mit einem breiten Frequenzspektrum und einer Dauer von 0,1ms. Als Repitionsdauer wurden 11,1 Hz gewählt und 2000 Wiederholungen für jede Messung jeder Lautstärke. Zum Filtern der akustisch evozierten Potentiale/ABR wurde am Mess-Signal eine Breitbandfilterung im Frequenzbereich von 150 und 3000 Hz vorgenommen (Hofmeier et al., 2018).

Zur Identifizierung der Wellen oberhalb der Hörschwelle wurden die folgenden Kriterien gewählt. Der Stimulus-Beginn wurde als 0ms definiert. Die nachfolgenden positiven und negativen Ausschläge wurden anhand ihres Auftretens innerhalb definierter Zeitintervalle zugeordnet. Die Zeitintervalle für die individuellen ABR-Wellen I-VI die in der vorliegenden Studie verwendet wurden, sind wie in dieser Tabelle 1 dargestellt ungefähr definierten Zeitintervallen zugeordnet worden.

Tabelle 1 Zeitliche Auswertungsintervalle ABR-Wellen

Hier abgebildet sind die zeitlichen Auswertungsintervalle in Millisekunden (ms) die als ungefähre Orientierungsgröße genutzt wurden, um die ABR Peaks der Wellen I, III, V und VI zu identifizieren.

ABR-Wellen	Zeitintervalle
I	1-2 ms
III	3-4 ms
V	5-6 ms
VI	6-7 ms

Die ABR-Wellen-Amplituden wurden anhand der Differenz zwischen dem größten positiven Ausschlag im Zeitintervall und dem darauffolgenden negativen Ausschlag bestimmt. Die Latenzen der einzelnen Wellen wurden anhand des zeitlichen Auftretens nach Stimulus-Beginn ausgewertet. In die statistische Auswertung flossen sowohl die individuellen Daten der einzelnen Studienteilnehmer als auch die gemittelten Daten der Tinnitus- und Kontrollgruppe ein (siehe Hofmeier et al. 2018).

2.4 Akustisch evozierte funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie

Die MRT-Messung wurde an einem 3 Tesla MRT (Siemens, Magnetom 3-Tesla, Germany, Skyra) mit einer 20 Kanal-Kopfspule an der Abteilung für Diagnostische und Interventionelle Neuroradiologie des Universitätsklinikums Tübingen vorgenommen. Für die Laut-Stimulation wurden MRT-taugliche Kopfhörer benutzt (Sensimetrics Model S 14 (Sensimetrics Corporation, Gloucester, USA)). Die Stimuluspräsentation wurde über die Präsentationssoftware (Neurobehavioral Systems software, Neurobs, Berkeley, USA) dargeboten und vom Computer an einen Panasonic-SC-PMX5 Verstärker (Panasonic Marketing Europe GmbH, Hamburg, Germany) weitergeleitet. Die funktionellen Bilder wurden puls-getriggert (cardiac gated) in T2* Wichtung aufgenommen. Die Messeinstellungen der akustisch evozierten fMRT Messung sind in der Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2 fMRT-Messeinstellung

Messeinstellungen der akustisch evozierten fMRT nach Hofmeier et al. 2018

Repetitionszeit	2000 bis 3000 ms (abhängig vom Puls des Probanden)
Anregungswinkel	90°
Sichtfeld/Field of view	290 mm
Matrix Größe	64 x 64
Anzahl Schichten	10 Coronare Schichten
Schichtdicke	2,5 mm
Abstand der Schichten	1,25 mm
Echozeit	35 ms

Kalibration der MRT-Kopfhörer

Um die Präsentationslautstärke für die akustische Stimulation der MRT-Messung zu bestimmen, wurde eine Kalibration des akustischen Stimulationssystems vorgenommen. Dazu wurde abwechselnd der rechte und linke Kopfhörer (Sensimetrics Model S 14) mit einem Künstlichen Ohr (Brüel und Kjaer Typ 4157 Nærum, Dänemark) und mit einem Messverstärker (Brüel & Kjaer measuring amplifier typ 2610, Nærum, Dänemark) verbunden. Die Chirp-Stimuli wurden auf eine Lautstärke von 85 dB eingestellt. Die Einstellung für die Musik wurden so festgelegt, dass die maximale Lautstärke bei 85 dB lag.

Generierung der Chirp- und Musik-Stimuli

Die Chirp-Stimuli wurden von einem Mitarbeiter der Sektion Physiologische Akustik und Kommunikation der Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde Tübingen nach Beschreibungen der Literatur mittels eines MatLab Skripts erzeugt (Fobel und Dau, 2004). Es wurden für die Stimulation A-Chirps mit einer Repetitionsfrequenz von 20 Hz gewählt und einer Chirp-Dauer ~ 10 ms. Zusätzlich wurde eine Cosinus Quadrat Rampe, mit einer Dauer von 1ms hinzugefügt. Um den Einfluss der verschieden ausgeprägten Hörminderungen der Studienteilnehmer auf das Messsignal im MRT zu untersuchen, wurden insgesamt drei Chirp-Stimuli mit unterschiedlichem Frequenz-Spektrum erzeugt. Zusätzlich zu den Chirp-Stimuli wurden Chorus und Refrains eines Rock-Musik-Stückes Titel: „Closer to the edge“ von der Band: „30 seconds to mars“ (Leto J., 2010) zur Stimulation verwendet.

Die Frequenzspektren der Chirp-Stimuli sind in der Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3 Chirp-Frequenzspektren

Die Frequenzspektren der verwendeten A-Chirp-Stimuli sind in der Tabelle in Hertz angegeben

Hochfrequenter A-Chirp	Frequenzspektrum von 12000-20000 Hz
Niederfrequenter A-Chirp	Frequenzspektrum 25-3000 Hz
Breitband A-Chirp	Frequenzspektrum 300-25000 Hz

Den Aufbau eines Chirps zeigt beispielhaft die Abbildung 2.

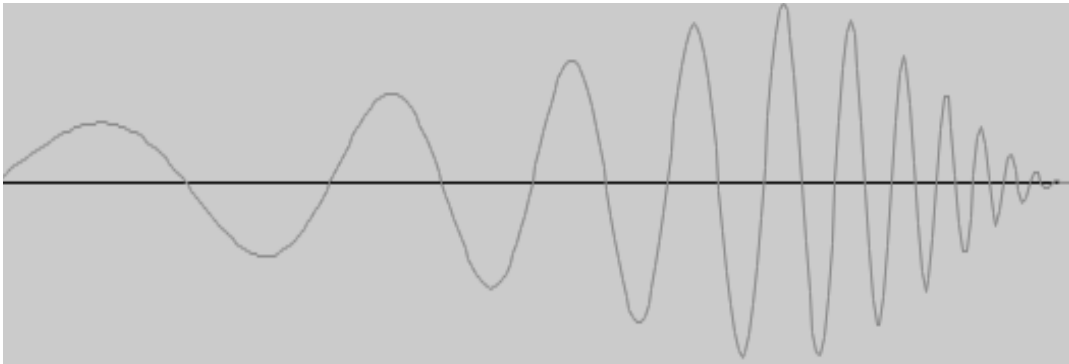


Abb.2 Exemplarische Darstellung eines Chirp-Stimulus

Die y-Achse entspricht der Lautstärke, die x-Achse der Zeit. Durch die Zunahme der Stimulations-Frequenz kommt es zur synchronen Stimulation verschiedener Haarzellen in der Cochlea

2.4.1 fMRT-Messprotokoll

Die Probanden wurden für den zweiten Studientag gebeten, sich in die Abteilung Diagnostische und Interventionelle Neuroradiologie der Universitätsklinik Tübingen einzufinden. Dort wurden sie durch den betreuenden Radiologen oder durch die MTRA über die Risiken der MRT-Untersuchung und ggfs. der Kontrastmittelgabe aufgeklärt. Die Probanden wurden im Anschluss an die Aufklärung gebeten, eine spezielle Einverständniserklärung für die MRT-Untersuchung zu unterschreiben. Die Probanden wurden dann gebeten, alle metallischen Gegenstände abzulegen und sich auf den MRT-Tisch hinzulegen. Es folgte die Anpassung der Kopfhörer und das Anlegen des Pulsoxymeters. Vor Beginn der akustisch evozierten fMRT-Messung wurden ein Planungsbild in T1-Wichtung in MPRAGE-Sequenz des gesamten Schädels aufgenommen. Auf Grundlage des Planungsbilds wurden die Messbereiche festgelegt. Zusätzlich erfolgte bei den Tinnitusprobanden noch ein T1 gewichtetes Bild mit Kontrastmittel (Dotarem (Guerbet GmbH, Sulzbach, Germany)) zum Ausschluss eines Akustikusneurinoms. Die akustisch evozierten fMRT-Messungen wurden pulsgetriggert im Blockdesign akquiriert. Dies bedeutet, dass abwechselnd 10 Datensätze ohne akustischer Stimulation und anschließend mit akustischer Stimulation gemessen wurden (siehe Abbildung 3). Es wurden pro Stimulus 15 Blöcke

gemessen, von denen sieben mit und acht ohne akustische Stimulation waren. Daraus resultieren insgesamt 150 Datensätzen pro Stimulus-Messung.



Abb. 3 MRT-Blockdesign

Das für die Messung der akustisch evozierten fMRT BOLD-Aktivitäten verwendete Blockdesign ist hier grafisch dargestellt. Dabei wurden abwechselnd 10 Datensätze mit akustischer Stimulation (On-Block) und danach 10 Datensätze ohne akustischer Stimulation (Off-Block gemessen). Insgesamt wurden 15 Blöcke gemessen mit 7 On-Blöcken und 8-Off-Blöcken.

Pulstriggerung der Messung

Bei der Pulstriggerung der Messungen wurde versucht mittels pulssynchroner Datenerhebung den Einfluss der Hirnstambewegungen, welche durch den Pulsschlag entstehen, zu reduzieren. Die Messungen werden durch das Pulssignal des Patienten ausgelöst wodurch die Messung immer in der gleichen Phase des Herzzyklus erfolgt. Zur Erfassung des Pulses wurde ein Pulsoxymeter am Zeigefinger der Probanden angebracht. Durch das Messverfahren war allerdings die Repetitionszeit der Messung (TR) abhängig vom Puls und damit variabel. Um dies auszugleichen, wurde für jeden Bildpunkt aus allen aufgenommenen Signalen mit unterschiedlichen Repetitionszeiten ein T1-Wert bestimmt, mit dem eine Signal-korrektur auf eine feste Repetitionszeit von 2s vorgenommen wurde (Ryn, 2009).

2.4.2 Akustische Stimulation

Für die akustische Stimulation während der MRT-Messung wurden vier verschiedene akustische Stimuli verwendet, ein Breitband Chirp-Stimulus, ein hochfrequenter Chirp-Stimulus, ein niederfrequenter Chirp-Stimulus und ein Rock-Musik-Stimulus. Die Frequenzspektren der Chirp-Stimuli sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Es wurden Chirp-Stimuli verwendet, um eine möglichst synchrone Stimulation der unterschiedlichen Frequenzen im Innenohr zu erreichen. Der Chirp-Stimulus hat die

Eigenschaft, die unterschiedlich langen Wege der jeweiligen Frequenzen bis zum Ort der Stimulation auszugleichen. Es ergibt sich eine Frequenzanordnung der Chirp-Stimulation von niederfrequent nach hochfrequent. Dies verläuft genau umgekehrt zur Anordnung der Haarsinneszellen in der Cochlea, bei der zuerst hochfrequente und weiter distal niederfrequente Töne verarbeitet werden (Fobel und Dau, 2004). Während der On-Phasen wurden dauerhaft Chirps mit einer festen Frequenz von 20 Hz abgespielt, die Chirp-Dauer betrug ~10 ms. Analog dazu wurde die Rock-Musik dauerhaft in der On-Messphase präsentiert.

2.4.3 Datenverarbeitung

Die Vorverarbeitungsschritte wurden für die Bilder aller Probanden mit der SPM-Toolbox für MATLAB (Version 8, Wellcome Trust Center for Neuroimaging, UCL, London, GB) und dem MATLAB-Programmiersystem (Version R2014a, MathWorks Inc., Natick, MA, USA) durchgeführt und ist im „Supplement“ von Hofmeier et al 2018 beschrieben.

Alle Funktionsbilder wurden räumlich auf das erste Bild zur Kopfbewegungskorrektur ausgerichtet, dann erfolgte die Co-Registrierung/„co-registration“ des mittleren Funktionsbildes/„mean functional image“ mit dem Strukturbild. Nach der Aufteilung/„segmentation“ in Weiße Substanz, Graue Substanz und Liquor wurden alle neu ausgerichteten, „co-registrierten“ Funktionsbilder auf die Vorlage des Montreal Neurological Institute (MNI) und das Strukturbild normalisiert. Die normalisierten Bilder wurden mit dem „Gaussian Kernel“ von 5 mm voller Breite bei halbem Maximum (FWHM) geglättet. Anschließend wurde das statistische Modell in SPM spezifiziert (Hofmeier et al 2018)..

In einem ersten Schritt wurde das „General Linear Model“ (GLM) in der SPM-Toolbox für die Einzelobjektanalyse verwendet. Die Spezifikation/„specification“ der allgemeinen linearen Modell-Designmatrix, die unser experimentelles Block-Design und die Studienhypothese für jeden Probanden definiert, erfolgte durch die Spezifikation/„specification“ der geglätteten normalisierten funktionellen Bilder auf erster Ebene, gefolgt von der Schätzung/„estimation“ des erstellten GLM. Das Ergebnis

wurde mit Kontrastvektoren gewonnen, um statistische parametrische Karten zu erstellen (Hofmeier et al 2018).

Die Gruppenanalyse von Daten mehrerer Probanden wurde auch durchgeführt, um den Unterschied in der evozierten zentralen Reaktionsfähigkeit zwischen dem Probanden und der Tinnitusgruppe herauszufinden. Die Bilder der Spezifikation/„specification“ der ersten Ebene „first level specification“ wurden in der Analyse der zweiten Ebene „second level analysis“ verwendet, ein einseitiger t-Test der SPM-Toolbox, um den Durchschnitt der Kontrollprobanden und der Tinnitusprobanden getrennt, um die lokalen Maxima der Gehirnaktivität als Reaktion auf die verschiedenen verwendeten Reize zu untersuchen. In einem nächsten Schritt wurde der von der Spezifikation/„specification“ der zweiten Stufe „second level“ unabhängige zweiseitiger-Test der SPM-Toolbox verwendet, um die Gruppenanalyse durchzuführen. In der Analyse wurden zwei verschiedene Kontraste verwendet. Der erste Kontrast ist (Kontrolle > Tinnitus) oder (Kontrolle - Tinnitus), die die Hirnregionen darstellen, die im Vergleich zur Kontrollgruppe eine verminderte oder abgeschwächte evozierte Reaktion in der Tinnitusgruppe zeigen, während der zweite Kontrast (Tinnitus > Kontrolle) oder (Tinnitus - Kontrolle) die Hirnregionen darstellt, die eine erhöhte evozierte Reaktion in der Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigen. ROIs wurden aus diesen Kontrasten extrahiert, um signifikant ($p < 0,05$) erhöhte oder verminderte Hirnareale in der Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe darzustellen (Hofmeier et al 2018).

2.4.4 Festlegung der ROIs

Die „regions of interest“ (ROIs) wurden anhand des MNI Space (Montreal Neurological Institute) für die zu untersuchenden Regionen mit einer Kugelform von 3 mm Radius definiert. Dabei wurden Areale derjenigen kortikalen und subkortikalen Regionen gewählt, die an der Hörverarbeitung teilnehmen oder mögliche Assoziationen zur Hörverarbeitung aufweisen könnten. Die untersuchten Regionen waren der primäre auditorische Cortex (Brodmann-Areal, BA 41, BA 42), die Wernicke

Areale (BA 21 BA 22), der Hippocampus, die posteriore Insula (BA 13 P), die anteriore Insula, der Corpus mamillare und der somatosensorische Cortex. Die genauen Koordinaten der gewählten Regionen sind in der Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4 ROI-Koordinaten

Hier sind die Koordinaten der ROIs (regions of interest) für die Analyse der akustisch evozierten fMRT-Messung aufgelistet. Abkürzungen: CN-Nucleus cochlearis, SOC-Nucleus olivaris superior, IC-Colliculus inferior, MGB-Corpus geniculatum mediale, R= rechts, L= links Hipp-Hippocampus, Corpus Mam-Coprus mamillare, MNI-Montreal Neurological Institute. Modifiziert nach table 1 Hofmeier et al. 2018

ROI der akustisch evozierten fMRT-Messung				
Hirn-Region (Brodmann Areal)	MNI Koordinaten			Radius
	X	Y	Z	
CN-R/CN-L	10/-10	-39	-45	3
SOC-R/SOC-L	13/-13	-35	-41	3
IC-R/IC-L	6/-6	-33	-11	3
MGB-R/MGB-L	18/-18	-24	1	3
BA41-R/BA41-L	46/-46	-25	7	3
BA42-R/BA42-L	64/-64	-22	9	3
BA22A-R/BA22A-L	54/-54	-6	-6	3
BA21A-R/BA21A-L	66/-66	-13	-5	3
BA22P-R/BA22P-L	67/-67	-27	3	3
BA21P-R/BA21P-L	66/-66	-22	-5	3
Hipp-R/Hipp-L	28/-28	-35	18	3
BA13P-R/BA13P-L	35/-35	-21	16	3
BA1-R/BA1-L	63/-63	-18	28	3
BA2-R/BA2-L	63/-63	-22	31	3
Corpus Mam.-R/Corpus Mam.-L	9/-9	-19	4	3

2.5 Cortisolwert-Bestimmung im Speichel

Ziel der Probenanalyse war, den Einfluss von Tinnitus auf die Produktion des Stresshormons Cortisol zu bestimmen. Zu Beginn der Studie wurden für alle

Tinnitus- und Kontrollprobanden die Cortisol-Werte zusätzlich zum Speichel im Blut und im Urin gemessen. Da sich im Laufe der Studie zeigte, dass die Ergebnisse des Speichel-Cortisols am stabilsten reproduzierbar waren, wie in vorherigen Untersuchungen bestätigt (Elder et al., 2017; Verbeeten und Ahmet, 2017), wurde in Folge nur noch Speichel-Proben zur Cortisol-Bestimmung entnommen.

Es wurden drei Proben zu drei verschiedenen Tageszeiten an meist zwei verschiedenen Tagen gewonnen: Eine Speichel Entnahme erfolgte um ca. 16:00 Uhr (+/- 30 min) in der Universitätsklinik für Hals-Nase-Ohrenheilkunde Tübingen. Zwei weitere Speichelprobenentnahmen wurden von den Studienteilnehmern zu Hause gewonnen. Die eigenständigen Probenentnahmen sollten am Tag vor dem zweiten Studientag erfolgen. Die erste Entnahme am Morgen direkt nach dem Aufstehen um ca. 8:00 Uhr, die zweite am Abend um ca. 23:00 Uhr vor dem zu Bett gehen. Für die Speichelproben wurden Auffangbehälter Salivetten der Firma Sarstedt (No. 51.1534, Sarstedt, Nümbrecht, Germany) verwendet. Die Studienteilnehmer wurden gebeten ca. 1 min lang sachte auf dem Baumwollstäbchen zu kauen und es anschließend in den Probenbehälter zu geben. Die Cortisolwertmessung des Speichels erfolgte im Labor Limbach in Heidelberg. Für die Handhabung der Proben wurden die Studienteilnehmer gebeten, die Hinweise der Instruktion (siehe Anhang C) zu berücksichtigen.

Entnahme von Blutproben

Den Tinnitus- und Kontrollprobanden wurden am ersten Studientag um ca. 16:00 Uhr (+/- 30 min) in der Universitätsklinik für Hals-Nase-Ohrenheilkunde Tübingen, jeweils ca. 10 ml Blut abgenommen und zur Analyse in das Zentrallabor der Universitätsklinik Tübingen eingeschickt. Die Blutentnahme diente zusätzlich zur Kontrolle der Nierenfunktion über die Konzentrationsbestimmung des Kreatinins und der Berechnung der Glomerulären Filtrationsrate und zum Ausschluss einer vorliegenden Schwangerschaft über die Konzentrationsbestimmung des Humanen Choriongonatropins (HCG).

2.6 Untersuchungsablauf

Die Messungen wurden aufgrund der zeitintensiven Messverfahren und der begrenzten zeitlichen Verfügbarkeit des MRT-Geräts auf zwei Tage verteilt. Diese umfassten am ersten Tag die audiologischen Untersuchungen und Speichelentnahme. Der zweite Tag war für die MRT-Messung und die Entgegennahme der Speichelproben vorgesehen. Die Studieninteressierten, welche sich auf die Rekrutierungs-E-Mail meldeten, wurden in die Universitätsklinik für Hals-Nase-Ohrenheilkunde Tübingen einbestellt und an der Pforte empfangen. Mit den Studieninteressenten wurden nochmal die Ein- und Ausschlusskriterien besprochen und ein Flyer über die Studie mit den wichtigsten Informationen und dem Ablauf überreicht. Sie wurden daraufhin als Studienpatient im Administrationssystem der Universitätsklinik für Hals-Nase-Ohrenheilkunde Tübingen angemeldet und dem Studienarzt zur Aufklärung und Ohruntersuchung vorgestellt. Die Aufklärung umfasste die Ziele der Studie, den Ablauf, die Risiken (Blutentnahme und Kontrastmittel-Injektion im Rahmen der MRT-Untersuchung), und die Informationen zum Datenschutz. Nach der Unterzeichnung der Einverständniserklärung (siehe Anhang E) war der formale Studieneinschluss abgeschlossen. Der Studieneinschluss konnte nur dann erfolgen, wenn die Studieninteressierten zustimmten, über Zufallsbefunde informiert werden zu wollen. Die Ohruntersuchung erfolgte durch einen Studienarzt und umfasste die Entfernung von Ohrenschmalz (Cerumen), und die Beurteilung des Trommelfells und des Gehörgangs. Im Anschluss an die Ohruntersuchung folgten die audiologischen Messungen (Reintonaudiometrie, Tympanometrie, Stapediusreflexprüfung und die Hirnstammaudiometrie). Abhängig von der Zeit wurde zwischen die audiologischen Messungen die Speichelentnahme eingeschoben. Es wurde darauf geachtet den zeitlichen Rahmen von 16:00 +/- 30 min einzuhalten. Zum Ende des ersten Studientages wurden den Studienteilnehmer die Probebehälter zur Speichelentnahme übergeben. Zusätzlich wurde den Studienteilnehmern eine Anweisung zur Handhabung der Proben mitgegeben (siehe Anhang C). Der erste Studientag hatte einen zeitlichen Rahmen von etwa 4 Stunden Messzeit. Zum zweiten Studientag wurden die Studienteilnehmer in die Abteilung Diagnostische

und Interventionelle Neuroradiologie der Universitätsklinik Tübingen gebeten. An diesem Studientag wurden die von den Teilnehmern selbstständig entnommenen Speichelproben entgegengenommen. Es folgte die MRT-Aufklärung und Messung, welche in etwa eine Stunde in Anspruch nahm. Die Messungen wurden oftmals nicht alle am gleichen Tag durchgeführt, da auf die Zeit der Probanden und den Klinik-Alltag Rücksicht genommen werden musste. Die Messungen von einigen Probanden mussten aufgrund der bestehenden Ressourcen anstatt auf zwei auf drei Tage aufgeteilt werden.

Tabelle 5 Übersicht Untersuchungsablauf

Die Hörprüfungen und die MRT-Messungen wurden auf insgesamt 2 Studientage aufgeteilt. In der Tabelle sind die Messungen und der Ablauf der Studientage nochmal aufgelistet.

Studientag 1	Studientag 2
<ul style="list-style-type: none"> • Besprechung der Ein- und Ausschlusskriterien • Aufklärung Datenschutz • Ohrspiegelung • Speichelentnahme • Blutentnahme • Übergabe der Probenbehälter • Audiologische Untersuchungen <ul style="list-style-type: none"> ○ Reintonaudiometrie ○ Tympanometrie, Stapediusreflexprüfung ○ Hirnstammaudiometrie 	<ul style="list-style-type: none"> • Entgegennahme der Probenbehälter • MRT Aufklärung • MRT-Untersuchung <ul style="list-style-type: none"> ○ Ausschluss Akustikusneurinom (nur bei Tinnitusprobanden) ○ Akustisch evozierte fMRT ○ Breitband Chirp-Stimulus ○ Niederfrequenter Chirp-Stimulus ○ Hochfrequenter Chirp-Stimulus ○ Musik-Stimulus

2.7 Berechnungen und statistische Analyse

Die Berechnungen und statistischen Analysen sind entsprechend der Arbeit von Hofmeier et al 2018 hier aufgeführt.

Sofern nicht anders angegeben, wurde die statistische Signifikanz auf der Ebene von $\alpha = 5\%$ getestet. Die Signifikanz ist in den Abbildungen mit Symbolen oder schattierten Bereichen (nicht signifikant (n.s.): $p > 0,05$; * dargestellt. Für alle statistischen Tests wurde MATLAB zur Auswertung verwendet. Alle fMRT-Ergebnisse sind False Discovery Rate (FDR) von $p < 0,05$ korrigiert (Hofmeier et al 2018).

Für die statistische Auswertung der Reintonaudiometrie wurden, mittels des Kolmogrov-Smirnov-Test die Gruppen auf Normalverteilung getestet. Im Anschluss wurde eine dreifaktorielle ANVOA mit Messwiederholung durchgeführt um auf Hörschwellenunterschiede der beiden Gruppen in den Frequenzen 125 Hz bis 10'000 Hz zu testen. Zudem wurde ein Tukey's Multiple Vergleichstest angeschlossen. Für die Korrelationsanalyse der Ergebnisse des Tinnitusfragebogen und des Tinnitus-CRF mit der Tinnitus-Lautstärke wurde eine Pearson-Korrelation verwendet (Hofmeier et al 2018).

Für die Auswertung der ABR-Wellen-Amplitude und Latenz wurde mittels des Kolmogrov-Smirnov-Test die Amplitude und Latenz aller Wellen beider Gruppen auf Normalverteilung getestet. Zur Testung der Wellenamplitude und Latenz auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die Ohrseite wurde eine dreifaktorielle ANOVA mit Messwiederholung verwendet. Es folgte ein Tukey's Multiple Vergleichstest (Hofmeier et al 2018).

Für die Untersuchung der ABR-Wellen-Latenz wurde ein Kolmogorov-Smirnov-Test mit einer Probe verwendet, um die Normalverteilung auf Latenz in jeder Welle über die Intensität für beide Gruppen zu testen. Die Dreifache-ANOVA mit Wiederholung wurde verwendet, um den mittleren Latenzwert auf signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen zu testen. Auf den ANOVA-Test folgte der Tukey's Mehrfachvergleichstest (Hofmeier et al 2018).

Für die Analyse der Speichel-Cortisol-Werte wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test mit einer Probe verwendet, um jede Gruppe auf Normalverteilung zu testen. Die zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholung wurde für den gruppeninternen Vergleich über jeden Zeitpunkt verwendet. Auf den ANOVA-Test folgte der Mehrfachvergleichstest von Sidak (Hofmeier et al 2018).

Die statistische Auswertung der akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität erfolgte durch Analyse der ROIs mit reduzierten oder erhöhten akustisch evozierten fMRT Ergebnissen. Die Daten wurden als signifikant angesehen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von ($p < 0,05$, (FDR korrigiert). Für die Durchführung der Gruppenanalyse wurde der unabhängige Zwei-Stichproben-Test der Toolbox Statistical Parametric Mapping (SPM) der zweiten Stufe verwendet. Bei der Analyse wurden zwei verschiedene Signifikanzprüfverfahren verwendet. Zunächst wurden Hirnregionen mit einer mittleren verminderten evozierten Reaktion in der Tinnitusgruppe auf einen signifikanten Unterschied zum Signal in der Freiwilligengruppe getestet. Zweitens wurden Hirnregionen, die eine mittlere erhöhte evozierte Reaktion in der Tinnitusgruppe zeigen, auf signifikante Unterschiede im Vergleich zum Signal in der Probandengruppe getestet. Für die fMRT-„Power“-Berechnung wurde die fMRT Power Toolbox (Mumford, 2012) verwendet, um die statistische Leistung der fMRT-Studie zu berechnen. Der Typ I Fehler war 0,05.

Die Gruppendesignmatrix war ein zwei Stichproben t-Test mit $n = 17$ für jede Gruppe. Die ROIs wurden in einer eigenen ROI-Maske definiert. Die statistische Leistung für die definierten ROIs liegt zwischen 82,7 % und 86,97 %. (Hofmeier et al 2018).

3 Ergebnisse

3.1 Kriterien zum Ein- und Ausschluss von Tinnitus- und Kontrollprobanden

3.1.1 Rekrutierung von Tinnitus- und Kontrollprobanden

Mit dem Ziel Tinnitus-spezifische Merkmale zu identifizieren und diese von Merkmalen in Probanden mit Hörschädigungen ohne Tinnitus unterscheiden zu können, wurden möglichst vergleichbar hörgeschädigte Probanden mit einseitigem oder beidseitigem Tinnitus auf der Basis des Ethikantrags (German Trial Register: DRKS0006332) rekrutiert und untersucht. Dazu wurden in einem ersten Ansatz die Probanden per E-Mail eingeladen (siehe Anhang B). In der E-Mail wurden die potentiellen Studienteilnehmer über das Forschungsvorhaben, den Ablauf der Studie und die Aufwandsentschädigung von 50 € informiert. Mit den Studieninteressierten, die sich auf die E-Mail meldeten, wurde vorab in einem Telefonat eine Auswahl der wichtigsten Ein- und Ausschlusskriterien (siehe Anhang D) besprochen und bei Interesse ein Vorstellungstermin vereinbart. Die Studieninteressierten wurden gebeten, sich zum vereinbarten Termin im Foyer der Universitätsklinik für Hals-Nase-Ohrenheilkunde Tübingen einzufinden.

3.1.2 Checkliste/Fragebogen, Aufklärung, Ohrspiegelung

Die Checkliste der Ein- und Ausschlusskriterien (siehe Anhang D) hatte zum Ziel, mögliche Probanden- bedingte Störfaktoren zu minimieren. Mit den Studieninteressierten, die sich zum vereinbarten Termin einfanden, wurden die Ein- und Ausschlusskriterien (siehe Anhang D) nochmals detailliert besprochen. Als Informationsquelle über die Studie wurde den Studieninteressierten ein Informations-Flyer zur Studie überreicht (siehe Anhang A). Falls die Anreise mit dem Auto erfolgte, wurden kostenfreie Parkkarten für das Parkhaus zur Verfügung gestellt. Im Anschluss wurden die Studieninteressierten über die Patienten-anmeldung als Studienpatienten angemeldet und dem Studienarzt vorgestellt. Hier wurde die Aufklärung über die eventuellen zu befürchtenden Risiken hinsichtlich der Blutentnahme, MRT-Untersuchung und den Umgang mit etwaigen

Zufallsbefunden vorgenommen. Die Studieninteressierten wurden im Anschluss gebeten, die Unterschrift für die Einverständniserklärung (siehe Anhang E) und die Datenschutzbestimmung (siehe Anhang E) zu leisten. Durch den Studienarzt erfolgte zum Ausschluss von Gehörgangs- und Trommelfellanomalien eine Ohrspiegelung (siehe Material und Methoden 2.2.1.). Der weitere Messablauf erfolgte nur bei einer physiologischen Normalform des Gehörgangs und bei einem reizfreien, intakten Trommelfell.

3.1.3 Reintonaudiometrie

Die Reintonaudiometrie diente dem Ausschluss höhergradiger Hörstörungen und als Kriterium zur Angleichung der Gruppen (siehe Material und Methoden, 2.2.2). Bei Hörstörungen größer als 40 dB SPL bei jeder beliebigen der gemessenen Frequenzen war die Studienteilnahme nicht möglich (siehe Anhang D). Falls der Studieneinschluss nach der Reintonaudiometrie nicht möglich war, wurde den Studieninteressierten eine Aufwandsentschädigung von 10 € überwiesen. Die einzelnen Reintonaudiogramme werden exemplarisch für 13 Tinnitus- und 13 Kontrollprobanden (inklusive Tinnitus-Bestimmung für die Tinnitusprobanden) in der Abbildung 4 dargestellt. Um die Tinnitus- und Kontrollgruppe übersichtlicher im Hörvermögen vergleichen zu können, wurden die Werte der einzelnen Reintonaudiogramme gemittelt ($n=17$ für beide Gruppen) und in der Abbildung 5 für das rechte und linke Ohr dargestellt. Bei der Auswertung der Abbildung 5 fiel auf, dass in beiden Gruppen im Hochtonbereich eine höhere Hörschwelle zu sehen war.

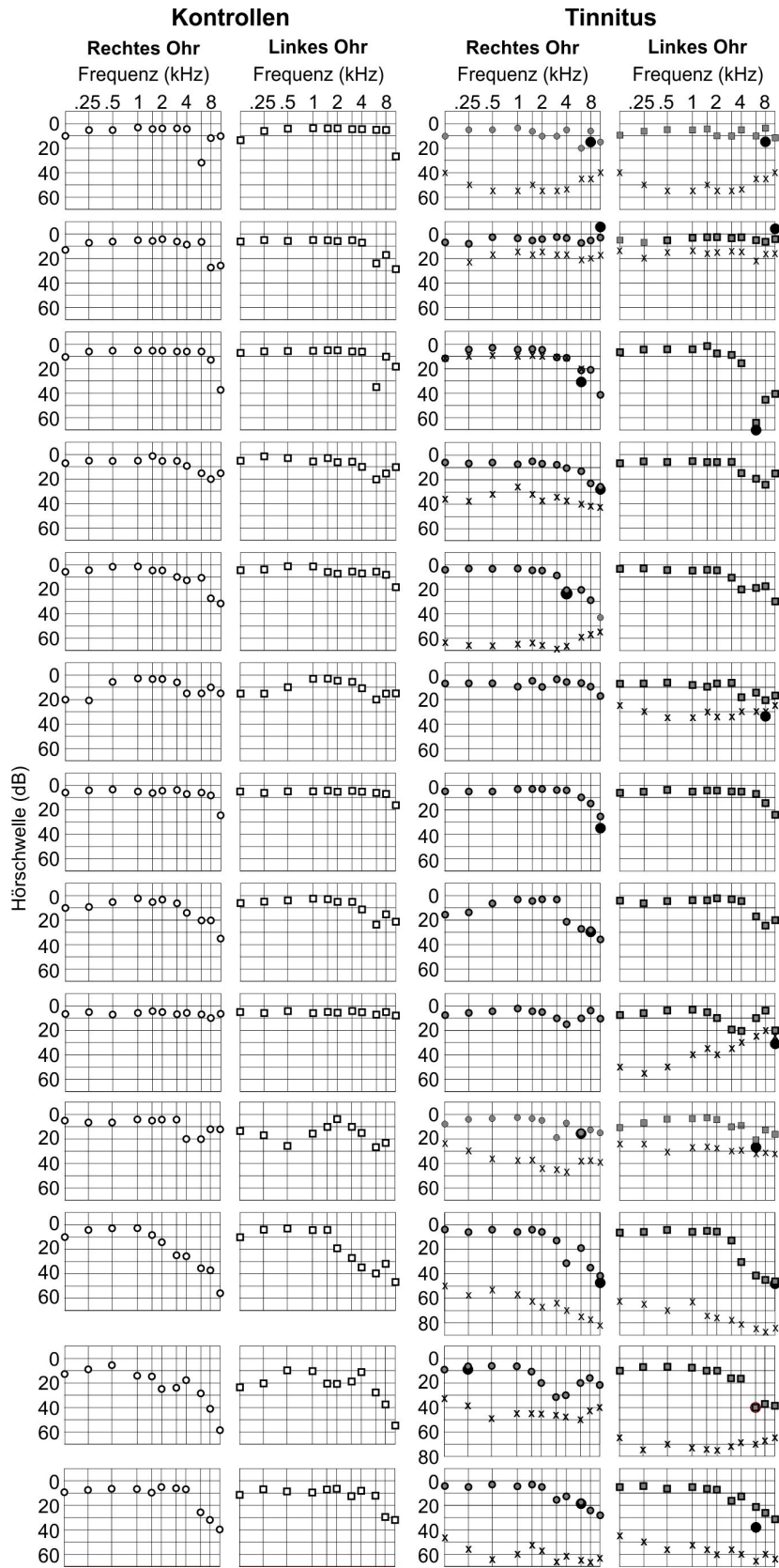


Abb. 4 Einzel-Reinton-audiogramme

Die einzelnen Reintonaudiogramme sind hier für das rechte und linke Ohr von 13 Tinnitus- und 13 Kontrollprobanden, dargestellt. Zusätzlich zu den Hörschwellen sind für die Tinnitusprobanden die Tinnitus-Frequenz und Tinnitus-Lautstärke dargestellt (großer schwarzer Punkt) Modifiziert nach *Supplementary Fig. S1 Hofmeier et al 2018*

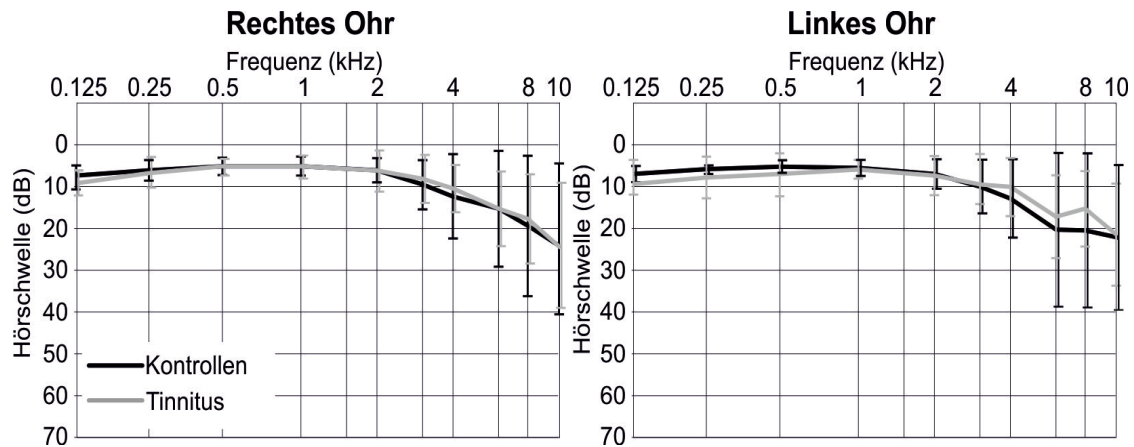


Abb. 5 Gemittelte Reintonaudiometrie:

Gemittelte Reintonaudiometrie (Mittelwert +/- Standardabweichung) von allen 17 Kontrollprobanden (schwarz) und 17 Tinnitusprobanden (grau) separat vom rechten und linken Ohr. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied in der Hörschwelle zwischen Kontroll- und Tinnitusprobanden. Modifiziert nach *Fig 1 Hofmeier et al Walter et al 2018*

Ein Tukey's multiple Vergleichstest ergab für beide Gruppen gleichermaßen einen signifikant höheren Hörschwellenwert im Frequenzbereich > 8 kHz im Vergleich zu den übrigen Frequenzen (siehe Abb. 5). In Bezug auf das Hörvermögen der Tinnitus- und Kontrollgruppe zeigte die statistische Analyse durch eine dreifaktorielle ANOVA mit Messwiederholung keinen signifikanten Unterschied, weder für das rechte noch das linke Ohr (Hofmeier et al., 2018). Die statistischen Angaben dieser Auswertung sind in der Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 6 Statistische Werte der Reintonaudiometrie

Statistische Auswertung der gemittelten Reintonaudiogramme der Tinnitus- und Kontrollgruppe

Frequenz	$F = 30,7$	$p = 0,0001,$
Gruppe	$F = 0,34$	$p = 0,56$
Ohrseite	$F 0,18$	$p = 0,84$
Frequenz*Ohrseite	$F = 0,35$	$p = 0,95$
Frequenz * Gruppe Ohrseite	$F = 0,14$	$p = 0,99$

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass kein signifikanter Unterschied in der gemittelten Reintonaudiometrie in der Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe in Bezug auf die Hörschwelle bestand. Für die Frequenzen > 8 kHz wurden signifikant höhere Hörschwellenwerte in beiden Gruppen im Vergleich zu niedrigen Frequenzen gefunden.

3.1.4 Tympanometrie und Stapediusreflex-Messung

Mit dem Ziel des Ausschlusses einer Funktionsstörung des Mittelohrs für alle Tinnitus- und Kontrollprobanden wurde im Anschluss an die Reintonaudiometrie eine Tympanometrie mit Stapediusreflex-Messung angefertigt. Anhand der Tympanometrie konnte die Integrität, die Beweglichkeit des Trommelfells und die Belüftung der Paukenhöhle geprüft werden. Für alle Tinnitus- und Kontrollprobanden wurde ein regelrechter Tympanometrie-Befund erhoben (siehe Abb. 6). Das Ergebnis der Prüfung des Stapediusreflexes ergab ebenfalls für alle Tinnitus- und Kontrollprobanden ein unauffälliges Ergebnis. Somit war die Schallweiterleitung über das Mittelohr bei allen Probanden nicht eingeschränkt.

Zusammenfassend zeigte sich bei den Tinnitus- und Kontrollprobanden keine Störung der Mittelohrfunktion, gemessen an einer unauffälligen Tympanometrie und der einem unauffälligen Stapediusreflex.

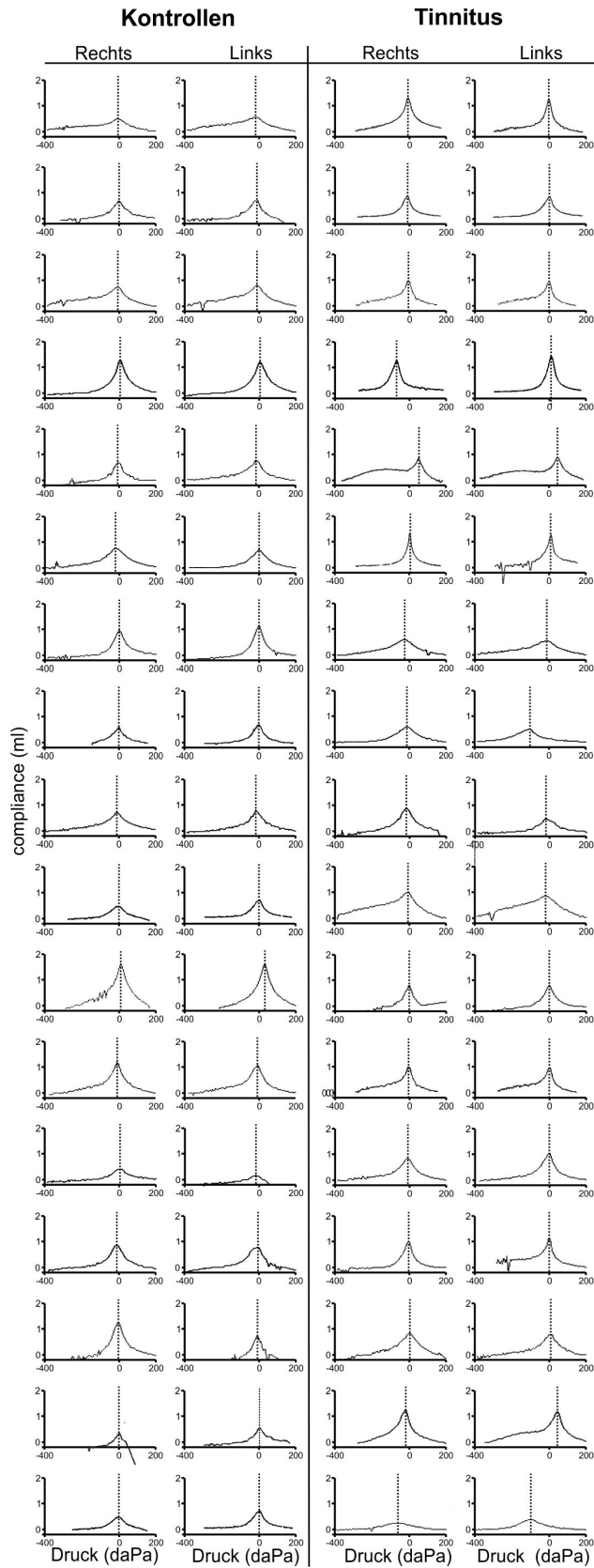


Abb. 6 Tympanometrie

Tympanometrie beider Ohren aller Tinnitus- und Kontrollprobanden. Links die Kontrollprobanden, rechts die Tinnitusprobanden. Kein Proband beider Gruppen zeigte eine Störung der Mittelohrfunktion im Tympanogramm

3.1.5 Studieneinschluss

Insgesamt konnten 70 Studienteilnehmern rekrutiert werden und an allen Messungen teilnehmen. Dabei lag die Gruppengröße der Tinnitusgruppe bei 38 Tinnitusprobanden und die der Kontrollgruppe bei 32 Kontrollprobanden. Davon konnten wegen Störung der Hörschwelle oder der Mittelohrfunktion 9 Tinnitusprobanden und 3 Kontrollprobanden nicht in die Studie eingeschlossen werden. In der von Hofmeier et al. 2018 veröffentlichten Arbeit wurden insgesamt 58 Studienteilnehmer eingeschlossen, jeweils 29 Tinnitusprobanden und 29 Kontrollprobanden. Von diesen 58 fanden jedoch nur die Daten von 34 Studienteilnehmern Eingang in die Studie. Dies lag an der nachträglichen Einführung und Betrachtung eines Hyperakusis-Fragebogens (Fischer, 2013) (siehe Anhang F). Es mussten in der Tinnitusgruppe 12 Probanden aufgrund des Vorliegens von Hyperakusis aus der Studie ausgeschlossen werden. Dies hatte auch zur Folge, dass die Daten von 12 Kontrollprobanden ebenfalls nicht verwendet wurden (Hofmeier et al. 2018).

Zusammenfassend, erfüllten alle der 17 Tinnitusprobanden und 17 Kontrollprobanden die Einschlusskriterien und keiner ein Ausschlusskriterium inklusive dem der Hyperakusis. Zudem bestand zwischen der Tinnitus- und Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied der Hörschwellen in der Reintonaudiometrie. Zusätzlich zeigte die Reintonaudiometrie für die Frequenzen > 8 kHz einen signifikant höheren Hörschwellenwert unabhängig von Tinnitus in beiden Gruppen (Hofmeier et al. 2018). Des Weiteren bestand bei keinem der Studienteilnehmer eine Störung der Mittelohrfunktion, gemessen an Tympanometrie oder des Stapediusreflexes.

3.2 Nicht-audiologische Charakterisierung von Tinnitus- und Kontrollprobanden

3.2.1 Alter, Geschlecht, Händigkeit

Im Zuge der Studie wurden von allen Studienteilnehmern die Daten zu Alter, Geschlecht und Händigkeit erhoben, um eine detailliertere Betrachtung der Daten und der Gruppen zu ermöglichen (siehe Tab 7). Das Alter der Teilnehmer variierte von 21 bis 61 Jahren in der Tinnitusgruppe und von 18 bis 59 Jahren in der Kontrollgruppe. Das gemittelte Alter der Tinnitusgruppe liegt mit 36,53 Jahren in einer vergleichbaren Lebensspanne wie das der Kontrollgruppe mit 33,18 Jahren. In beiden Gruppen sind 6 Frauen und 11 Männer vertreten (siehe Tab. 7) Die Händigkeit in der Tinnitusgruppe ist mit 13 Rechtshändern und 4 Linkshändern und 15 Rechtshändern und 2 Linkshändern in der Kontrollgruppe ebenfalls vergleichbar (siehe Tab. 7).

Tabelle 7 Merkmalsausprägungen der Tinnitus- und Kontrollprobanden

Merkmalsausprägung aller 17 Tinnitus- und 17 Kontrollprobanden zu Alter, Geschlecht und Händigkeit. Modifiziert nach Hofmeier et al. 2018

Kontrollprobanden & Tinnitusprobanden							
Kontrollen				Tinnitus			
Kontrollen	Alter	Geschlecht	Händigkeit	Tinnitus	Alter	Geschlecht	Händigkeit
KN20	27	männlich	rechts	T001	36	männlich	links
KN24	28	männlich	rechts	T002	21	männlich	rechts
KN15	27	männlich	rechts	T003	31	männlich	rechts
KN05	41	weiblich	links	T006	45	weiblich	rechts
KN23	22	männlich	rechts	T007	61	männlich	rechts
KN16	27	männlich	links	T009	34	männlich	rechts
KN09	19	männlich	rechts	TN01	26	männlich	rechts
K003	53	weiblich	rechts	TN02	31	weiblich	links
KN03	18	männlich	rechts	TN03	34	männlich	links
K006	39	männlich	rechts	TN05	33	männlich	rechts
KN19	53	männlich	rechts	TN07	49	männlich	rechts
KN22	26	männlich	rechts	TN08	27	männlich	rechts
KN11	24	weiblich	rechts	TN10	25	weiblich	rechts
KN01	21	weiblich	rechts	TN11	25	weiblich	rechts
KN21	28	männlich	rechts	TN16	26	männlich	links
K004	59	weiblich	rechts	TN18	61	weiblich	rechts
K001	52	weiblich	rechts	TN26	56	weiblich	rechts

Zusammenfassend zeigte die Tinnitusgruppe ein vergleichbares gemittelttes Alter wie die Kontrollgruppe. Die Geschlechter-Verteilung von Frauen und Männern unterschied sich zwischen den Gruppen nicht. Auch der Anteil der Rechtshänder zu Linkshändern war innerhalb der Gruppen ungefähr gleich verteilt.

3.2.2 Tinnitus-Fragebogen

Die Beurteilung der subjektiven Tinnitus-Belastung der Tinnitusprobanden wurde mittels des Tinnitus Fragebogens nach (Goebel und Hiller, 1994) erhoben. Von insgesamt 17 Tinnitusprobanden erzielten 16 im Tinnitusfragebogen einen niedrigeren Tinnituswert I-II, der auf einen leichten Tinnitusschweregrad verweist (Biesinger et al., 1998) (siehe Tab 8). Nur ein Tinnitusproband erzielte mit 48 Punkten einen schweren subjektiven Schweregrad. Der Gesamtpunktwert des Tinnitusfragebogens variierte in der Tinnitusgruppe von 0 bis 48 Punkte (Tab. 8). Eine Korrelationsanalyse der Tinnitus-Intensität mit der Händigkeit bzw. der Tinnitussseite erbrachte in der Tinnitusgruppe keinen Zusammenhang.

Tabelle 8 Tinnitus-Fragebogen

Überblick über die Gesamtpunktwerte des Göbel-Hiller Tinnitusfragebogens, modifiziert nach Supplementary Table 1. Hofmeier et al. 2018

Tinnitus	Gesamtwert-	
	Tinnitusfragebogen	Schweregrad
T001	0	leicht
T002	3	leicht
T003	17	leicht
T006	21	leicht
T007	10	leicht
T009	7	leicht
TN01	24	leicht
TN02	7	leicht
TN03	48	schwer
TN05	12	leicht
TN07	4	leicht
TN08	13	leicht
TN10	7	leicht
TN11	10	leicht
TN16	19	leicht
TN18	44	mittelgradig
TN26	6	leicht

Die für die Tinnitus-Fragebogen-Korrelation genutzten Daten wurden als Einzelwerte dargestellt. Die Anzahl n hängt von der einseitigen oder beidseitigen Tinnitus- Wahrnehmung ab und zusätzlich bei den Göbel-Hiller-Unterdimensionen vom erzielten Punktwert. Entsprechend dem Punktwert der Probanden in den Unterdimensionen Null, wurden diese Tinnitusprobanden nicht in der Korrelation dieser Unterdimension berücksichtigt. Für die Korrelationsanalysen wurde jeweils eine Pearson-Korrelation verwendet. Auf die Göbel-Hiller-Unterdimensionen Schlafstörung und somatische Beschwerden wurde wegen der geringen subjektiven Tinnitus-Belastung (niedrige Göbel-Hiller Gesamtpunktwerte) verzichtet.

Eine Korrelationsanalyse der Tinnitus-Lautstärke mit dem Gesamtpunktwert des Göbel-Hiller Tinnitusfragebogens erbrachte für das rechte Ohr ($n = 14$) eine positive Korrelation ($R = 0,68$; $p < 0,01$) jedoch nicht für das linke Ohr ($n = 13$) ($R = 0,11$; $p = 0,05$) (siehe Abb.7) (Hofmeier et al. 2018).

Des Weiteren ergab die Korrelation der Ergebnisse der subjektiv bewerteten Hörstörung (Unterdimension des Göbel-Hiller-Fragebogens) mit der Tinnitus-Lautstärke ein ähnliches Ergebnis. Hier lag ebenfalls eine Korrelation für das rechte Ohr vor ($n = 7$) ($R = 0,79$, $p < 0,05$), aber nicht für das linke Ohr ($n = 6$) ($R = 0,25$, $p = 0,58$) (siehe Abb.7) (Hofmeier et al. 2018).

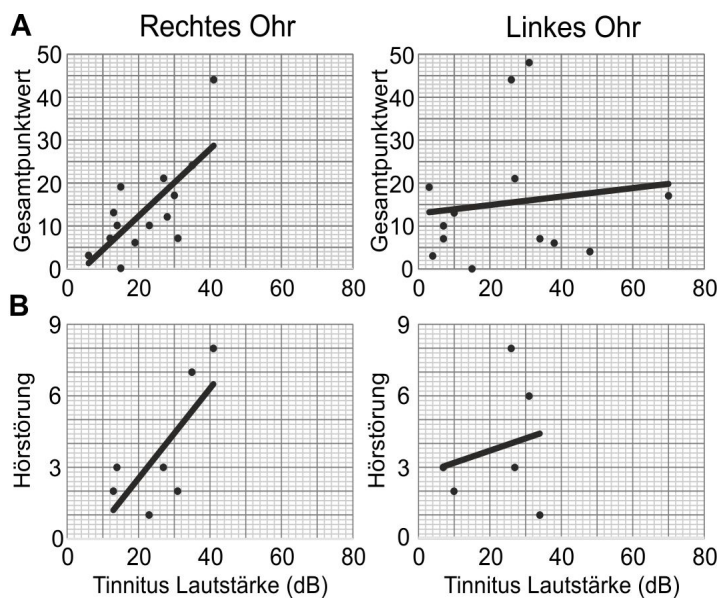


Abb. 7 Tinnitus-Korrelation I

A) Korrelation des Gesamtpunktwertes vom Göbel-Hiller-Tinnitus-Fragebogen mit der Tinnitus-Lautstärke

B) Korrelation der Punktwerte der Göbel-Hiller-Unterdimension Hörstörung mit der Tinnitus-Lautstärke.

Modifiziert nach Fig 2 Hofmeier et al. 2018

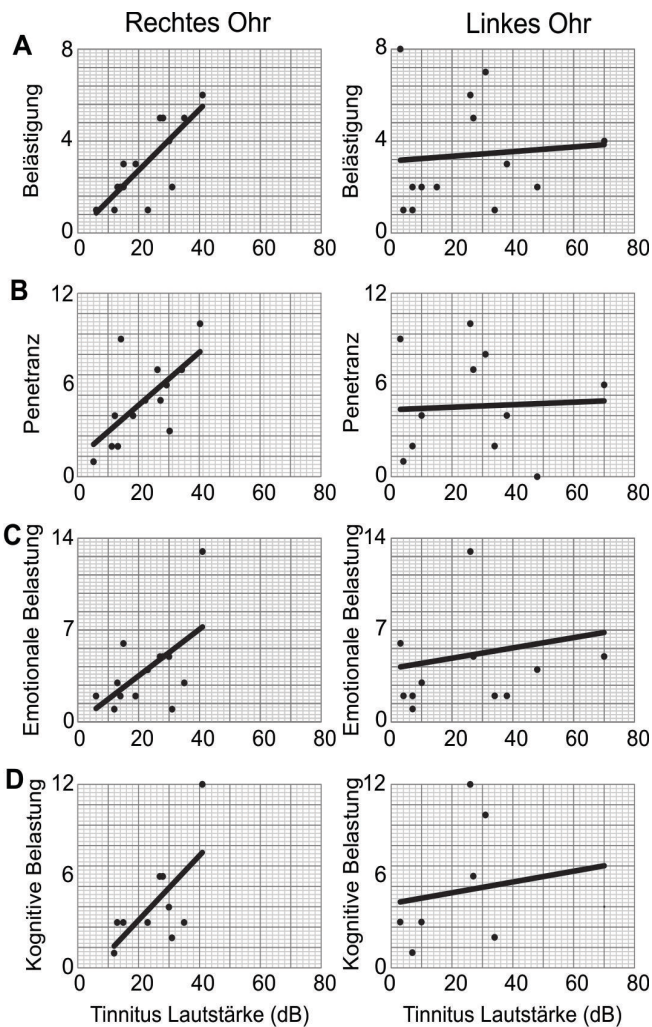


Abb. 8 Tinnitus Korrelation II

(A) Korrelation der Punktwerte der Tinnitus Belästigung nach Tinnitus-CRF mit Tinnitus- Lautstärke.

Korrelation der Punktwerte der einzelnen Dimensionen des Göbel-Hiller Tinnitus Fragebogens - Dauerhaftigkeit des Tinnitus (B), Emotionale Belastung (C) und Kognitive Belastung (D) mit der Tinnitus- Lautstärke in dB. Modifiziert nach Supplementary Fig. S2 Hofmeier et al. 2018

Bei der Betrachtung der Korrelation der Tinnitus-Lautstärke mit der subjektiven Belästigung durch den Tinnitus (Tinnitus-CRF) in den Tagen vor der Befragung, zeigte sich eine positive Korrelation für das rechte Ohr ($n = 13$) ($R = 0,58$, $p < 0,05$), aber nicht für das linke Ohr ($n = 14$) ($R = 0,18$, $p > 0,05$) (Hofmeier et al. 2018). Zudem zeigt die Korrelation der Tinnitus-Lautstärke mit der Tinnitus-Penetration eine positive Korrelation für das rechte Ohr ($n = 11$) ($R = 0,77$, $p < 0,01$) aber nicht für das linke Ohr ($n = 13$) ($R = 0,28$, $p > 0,05$) (Hofmeier et al. 2018). Auch die Korrelation der Tinnitus-Lautstärke mit emotionaler Belastung zeigte eine positive Korrelation für das rechte Ohr ($n = 11$) ($R = 0,84$, $p < 0,01$), nicht aber für das linke Ohr ($n = 13$) ($R = 0,22$, $p > 0,05$) (Hofmeier et al. 2018). Schließlich zeigte die

Korrelation der Tinnitus-Lautstärke mit der kognitiven Belastung eine positive Korrelation für das rechte Ohr ($n = 7$) ($R = 0,90$, $p < 0,01$), aber nicht für das linke Ohr ($n = 10$) ($R = 0,23$, $p > 0,05$) (Hofmeier et al. 2018).

Zusammenfassend ergab die Untersuchung des Tinnitus-Fragebogens, dass die eingeschlossenen Tinnitusprobanden eine geringe subjektive Belastung durch den Tinnitus erleiden (siehe Tab. 8). Des Weiteren ergaben die Korrelationen Tinnitus-Lautstärke mit dem Gesamtpunktwert des Göbel-Hiller-Fragebogens und dessen Unterdimensionen (Hörstörung, Penetranz, emotionale und kognitive Belastung) eine positive Korrelation für das rechte Ohr aber nicht für das linke Ohr. Ein ähnliches Ergebnis konnte in der Korrelation der Tinnitus-Lautstärke mit dem Ergebnis der Tinnitus-Belästigung (nach Tinnitus case report form) gezeigt werden. Auch hier zeigte sich eine positive Korrelation für das rechte Ohr aber nicht für das linke Ohr. Dies ist ein überaus interessanter Befund, da sich die Dominanz für eine Lautheitsempfindung auf der rechten Seite nicht in der Hörschwelle (siehe Abb.5) widerspiegelt. Eine Korrelationsanalyse der Tinnitus-Intensität mit der Händigkeit bzw. der Tinnitussseite erbrachte in der Tinnitusgruppe keinen Zusammenhang.

3.2.3 *Hyperakusis Fragebogen*

Der Hyperakusis-Fragebogen wurde von allen Studienteilnehmern ausgefüllt. Aufgrund des positiven Fragebogen Ergebnisses konnten 12 der insgesamt 29 Tinnitusprobanden mitsamt den dazugehörigen Kontrollen nicht in die Datenanalyse miteinbezogen werden (Hofmeier et al. 2018)

3.2.4 *Cortisolwerte Speichel*

Chronischer Tinnitus wird seit langer Zeit mit einer Stress-Empfindlichkeit der Probanden in Zusammenhang gebracht (Hébert et al., 2012; Zenner et al., 2006). Wir hofften, dass sich ggfs. Unterschiede im Stressspiegel über Cortisolspiegel im Speichel abbilden lassen, wie dies bereits publiziert wurde (Lopez-Jornet et al., 2019). Wir verglichen deshalb die Cortisol-Werte im Speichel der Tinnitusgruppe als auch in der Kontrollgruppe zu drei verschiedenen Zeitpunkten. Die Speichel-Cortisol-

Konzentration wurde ca. um 16:00 Uhr (+/- 30 min) am ersten Studientag bestimmt, wobei zwei zusätzliche Proben von den Probanden zu Hause entnommen wurden. Eine Probe wurde direkt nach dem Aufstehen um ca. 8:00 Uhr die andere am Abend vor dem zu Bettgehen um ca. 23:00 Uhr entnommen (siehe Material und Methoden 2.5 und Anhang C). Die Speichelabnahme erfolgte somit an verschiedenen Tagen und zu drei verschiedenen Tageszeiten um ca. 8:00, ca. 16:00 und ca. 23:00 Uhr. Sowohl bei der Tinnitusgruppe als auch bei der Kontrollgruppe waren die Cortisol-Konzentrationen zu den früheren Tageszeiten im Vergleich zu den späteren Tageszeiten höher. Es zeigten sich höhere Cortisol-Messwerte in der Tinnitusgruppe für alle einzelnen Abnahmezeitpunkte (Abb. 9). Der identifizierte Unterschied zwischen den Gruppen war jedoch auf Grund der kleinen Gruppengrößen statistisch nicht signifikant.

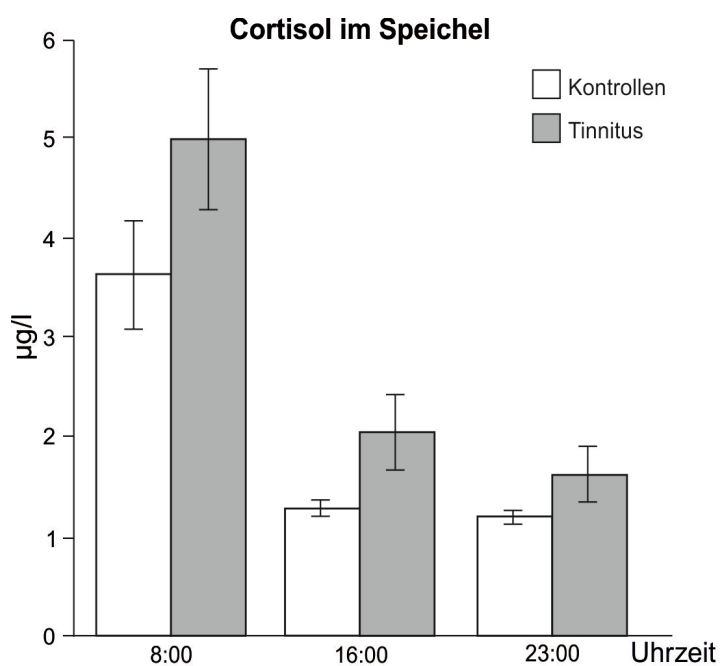


Abb. 9 Cortisol im Speichel

Cortisolwerte im Speichel von Tinnitusprobanden ($n = 17$) (grau) und Kontrollprobanden ($n = 17$) (weiß) um 8:00, 16:00 und 23:00 Uhr. Der Standardfehler ist für jeden Wert angegeben. Die statistische Auswertung mit einer zweifaktoriellen ANOVA ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Tinnitus- und Kontrollgruppe in Bezug auf den Cortisol-Wert im Speichel. Modifiziert nach Fig 7 Hofmeier et al. 2018

Tabelle 9 Statistische Werte der Speichel Cortisol-Messung

Statistische Werte der zweifaktoriellen ANOVA mit Messwiederholung der Speichel-Cortisolwerte in Bezug auf Zeitpunkt, Gruppen und Interaktionen (Hofmeier et al. 2018)

Zeitpunkt der Abnahme	$F = 118$	$p = 0,0001$
Gruppe	$F = 3,7$	$p = 0,062$
Interaktion ¹	$F = 1,05$	$p = 0,35$

In Tabelle 9 sind die statistische Auswertung der Cortisolwerte im Speichel ($n=17$ für beide Gruppen), mittels einer zweifaktoriellen ANOVA mit Messwiederholung errechnet, nochmals tabellarisch dargestellt. Es zeigen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Tinnitus- und Kontrollgruppe in Bezug auf Gruppe und Gruppenunterschiede über die Tageszeitpunkte (Interaktion), jedoch war der Unterschied in Bezug auf den Abnahme-Zeitpunkt signifikant (siehe Tab. 9).

Zusammenfassend lässt sich eine typische zirkadiane Rhythmik des Cortisolspiegels in beiden Gruppen erkennen und ein tendenziell höhere Cortisolwerte in der Tinnitusgruppe, der das Signifikanzniveau jedoch nicht erreichen. Zudem zeigte sich, dass die Tinnitus- und Kontrollprobanden in Hörschwellen-Abweichung, Alter, Geschlecht und Händigkeit vergleichbar sind. Darüber hinaus zeigt sich in der Tinnitusgruppe eine Rechts-Hemisphären-Dominanz der Tinnitus-Lautheit, die sich nicht in der Hörschwelle abbildet.

3.3 Audiologische Diagnostik von Tinnitus- und Kontrollprobanden

Mit dem Ziel, zu prüfen, ob eine charakteristische Merkmalerkennung zwischen den Tinnitus- und Kontrollprobanden auf der Ebene der Audiometrie sichtbar wird, haben wir verschiedene audiometrische Methoden bemüht.

3.3.1 Tinnitus-Bestimmung

So prüften wir in einem ersten Ansatz, ob sich die Frequenz der Tinnitus-Perzeption bei den Tinnitusprobanden von rechten zum linken Ohr unterschieden. Die Tinnitus-Bestimmung wurde wie in Material und Methoden 2.3.2 beschrieben durchgeführt

¹ Gruppenunterschiede über die unterschiedlichen Tageszeitpunkte

und im Anschluss an die Reintonaudiometrie erhoben. Die Tinnitus-Bestimmung ergab die seitengetrennte Erfassung der Frequenz und Lautstärke des Tinnitus aller 17 Tinnitusprobanden (Tab 10). Von den 17 Tinnitusprobanden gaben 4 einen einseitigen rechten Tinnitus an, 2 einen einseitigen linken Tinnitus und 11 einen beidseitigen Tinnitus an. Die minimale Tinnitus-Lautstärke lag bei 3dB die maximale bei 70 dB. Es fällt zusätzlich auf, dass 15 der 17 Tinnitusprobanden einen Tinnitus einseitig oder beidseitig im hochfrequenten Bereich > 6 kHz aufweisen (Hofmeier et al. 2018).

Tabelle 10 Tinnitusbestimmung

Hier wird die Tinnitus-Frequenz und Lautstärke für das rechte und für das linke Ohr getrennt dargestellt. Es fällt auf, dass 15 von 17 der Tinnitusprobanden ihren Tinnitus in der Frequenz über 6kHz einordnen. Modifiziert nach Supplementary Table 1 Hofmeier et al. 2018

Tinnitus Frequenz & Lautstärke				
Tinnitus-Probanden	Rechts		Links	
	Hz	dB	Hz	dB
T001	8000	15	8000	15
T002	10.000	6	10.000	4
T003	6000	30	6000	70
T006	6000	27	6000	27
T007	4000	23	---	---
T009	---	---	8000	34
TN01	10.000	35	---	---
TN02	8000	31	---	---
TN03	---	---	10.000	31
TN05	10.000	28	---	---
TN07	10.000	47	10.000	48
TN08	10.000	13	10.000	10
TN10	4000	12	8000	7
TN11	6000	14	8000	7
TN16	8000	15	6000	3
TN18	4000	41	3000	26
TN26	6000	19	6000	38

3.3.2 *Hirnstammaudiometrie/ABR*

In einem nächsten Ansatz haben wir versucht, mit Hilfe der Hirnstammaudiometrie-Messung (ABR) und der Feinstruktur der Amplitudengröße nach Unterschieden in den Tinnitusprobanden und Kontrollprobanden zu fahnden. Die Hirnstammaudiometrie ermöglicht die Analyse der Aktivität und die zeitliche Verarbeitung der hierarchisch organisierten Hörbahn im Hirnstamm. Dazu wurden die Probanden entsprechend des Untersuchungsablaufs (siehe Tab. 5) mit Hilfe des GSI Audera ABR-Geräts wie in Material und Methoden 2.3.6 beschrieben der ca. einstündigen Messung unterzogen. Die Probanden wurden vorher über den Verlauf der Messung aufgeklärt. Die Messung erfolgte für den Probanden im Liegen und in größter möglicher Ruhe und Entspannung. Das ABR-Untersuchungsprotokoll (siehe Material und Methoden 2.3.6) sah die seitengetrennte Messung von insgesamt sechs Lautstärken vor, welche in aufsteigender Lautstärke von 25 dB bis 75 dB durchlaufen wurden. Für alle 17 Tinnitusprobanden und 17 Kontrollprobanden konnte die ABR-Messung erfolgreich durchgeführt werden.

Generation der ABR-Wellen entlang der Hörbahn

Die Auslenkungen der ABR-Kurve entsprechen der elektrischen Aktivität von neuronalen Strukturen der Hörbahn, die durch den akustischen Stimulus zeitlich nacheinander aktiviert werden (siehe Abb.10). So wird die ABR-Welle I vom distalen Anteil des Hörnervs erzeugt (Portmann et al., 1980). Die ABR-Welle III entspricht der Aktivität der sphärischen und globulären Zellen des Nucleus cochlearis und seinen Projektionen zum Nucleus olivaris superior (SOC) (Melcher und Kiang, 1996). Die ABR-Welle V wird durch die Projektionen des superioren Olivenkomplexes zum Lemniscus laterale und dem Colliculus inferior erzeugt (Moller et al., 1994) Die ABR-Welle VI repräsentiert die Aktivität der Efferenzen des Colliculus inferior oder des Corpus geniculatum mediale (Moller et al., 1994).

Ein typisches Kurven-Profil für die Amplituden und Latenz der ABR-Wellen wird in Abbildung 11 repräsentativ für das rechte Ohr eines Kontrollprobanden und in Abbildung 12 eines Tinnitusprobanden illustriert.

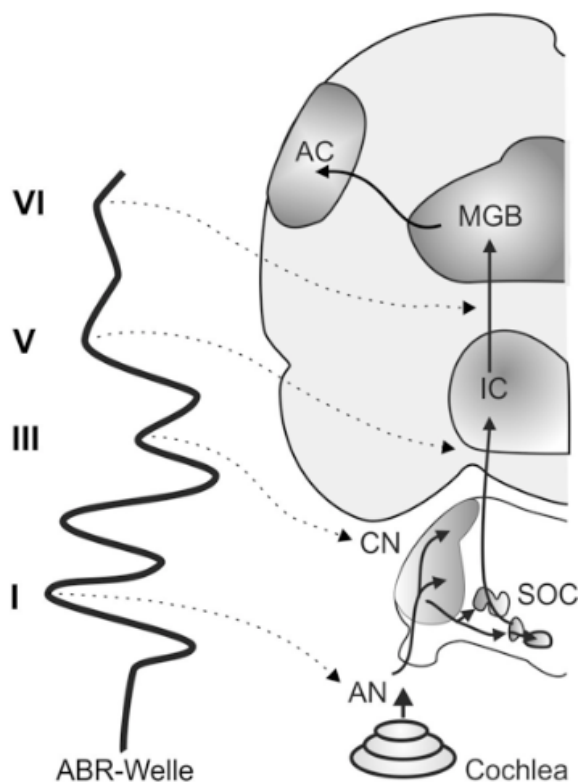


Abb. 10 Anatomie der Hörbahn und deren Repräsentation in der ABR-Welle

Die Abbildung zeigt die anatomischen Korrelate der jeweiligen ABR-Welle in einer schematischen Darstellung. Links ist die um 90 ° gegen den Uhrzeigersinn rotierte ABR-Kurve und rechts das Gehirn mitsamt Hörbahnstrukturen zu sehen. Abkürzungen AN-Nervus acusticus, CN-Nucleus cochlearis, IC-Colliculus inferior, MGB-Corpus geniculatum mediale, AC-Auditorischer Cortex. Modifiziert nach Knipper et al.2013

Zusammenfassend zeigte sich, dass der größte Anteil (15 von insgesamt 17) der Tinnitusprobanden eine Tinnitus-Frequenz im hochfrequenten Bereich > 6 kHz aufweist. Von den 17 Tinnitusprobanden zeigten 4 Probanden einen einseitigen rechts-hemisphärischen Tinnitus, während 2 einen einseitigen links-hemisphärischen Tinnitus und 11 einen beidseitigen Tinnitus aufwiesen. Die minimale Tinnitus-Lautstärke lag bei 3 dB, die maximale bei 70 dB. Die ABR-Daten ergaben in der ersten

visuellen Analyse keine offensichtlich sichtbaren Unterschiede zwischen den Gruppen.

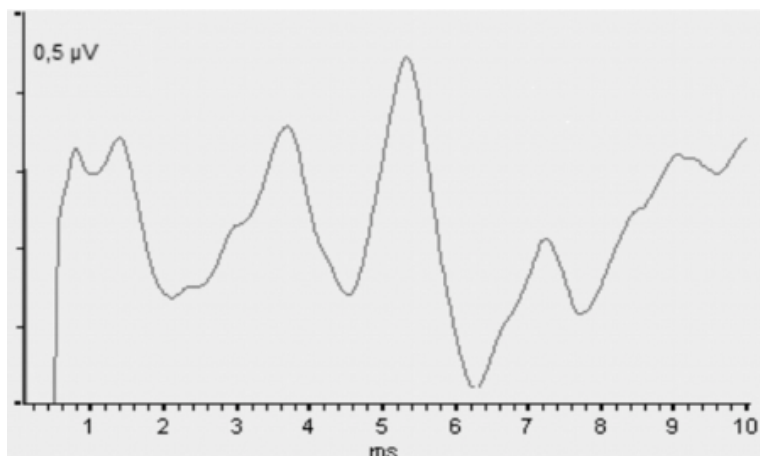


Abb. 11 Exemplarische ABR-Kurve der Kontrollprobandin K001

Hier ist exemplarisch die ABR-Kurve des rechten Ohrs der Kontrollprobandin K001 bei einer Stimulus-Lautstärke von 75 dB dargestellt. Die erste Auslenkung nach unten ist abgeschnitten. Diese wird durch den elektrischen Impuls der akustischen Stimulation erzeugt.

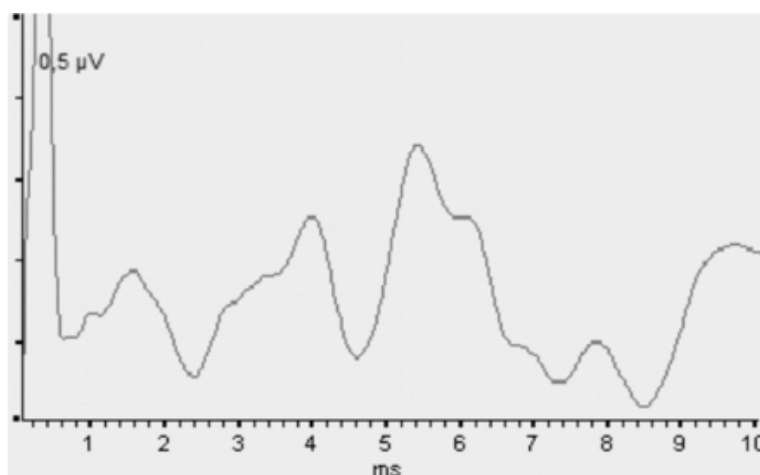


Abb. 12 Exemplarische ABR-Kurve des Tinnitusprobanden T007

Hier ist exemplarisch die ABR-Kurve des rechten Ohrs des Tinnitusprobanden T007 bei einer Stimulus-Lautstärke von 75 dB dargestellt. Die erste Auslenkung nach oben ist abgeschnitten. Diese wird durch den elektrischen Impuls der akustischen Stimulation erzeugt.

3.4 Feinstrukturanalyse der ABR-Einzelwellen von gering hörgeschädigten Tinnitus- und Kontrollprobanden

Um eine etwas detailliertere Einsicht in Merkmalsunterschiede der über die Hirnstammaudiometrie gewonnenen ABR-Daten in Tinnitus- und Kontrollprobanden zu gewinnen, wurde eine Feinstrukturanalyse der überschwelligen Amplituden- Peaks der ABR-Messung durchgeführt. Die überschwelligen ABR-Peaks werden definiert über die Feuerrate der Hörnerven und Synchronität der Entladung der summierten Aktivität aller Hörnerven (Ruttiger et al., 2017). Für die Feinstruktur-Analyse wurden die überschwelligen Amplituden der Wellen I, III, V und VI von jedem einzelnen Probanden ausgewertet wie in Material und Methoden 2.3.6 beschrieben.

Auswertungskriterien ABR-Wellen-Amplituden und Latenz

Für Auswertung der Hirnstammaudiometrie-Daten kamen die wie in Material und Methoden 2.3.6 beschriebenen Auswertungskriterien zum Einsatz. So soll die Abbildung 13 die Identifizierung der ABR-Wellen-Peaks verdeutlichen, während die Abbildung 14 die Ermittlung der ABR-Wellen-Amplitude und Latenz darstellt. Die vertikalen Balken in den Abbildungen 13 und 14 definierten die Zeitintervalle für die orientierende Bestimmung der ABR-Wellen-Peaks. Die Variabilität des Profils und der Ausprägungsformen verdeutlicht auch die Schwierigkeiten der Auswertung. In beiden Abbildungen ist die erste Auslenkung der ABR-Welle abgeschnitten. Diese Auslenkung repräsentiert den elektrischen Impuls, der durch die akustische Stimulation entsteht. Die Erkennung der ABR-Wellen I, III, V, und VI ist in beiden ABR-Wellen gut möglich. In der ABR-Welle des Tinnitusprobanden zeigt sich jedoch auch die Schwierigkeit der Auswertung. Zur Bestimmung der Amplitude der Welle V muss hier nicht das nächste Tal, sondern das übernächste gewählt werden, da sich durch die Mittelung der vielen elektrischen Hirnstammsignale ein unechter Peak gebildet hat. Dieses Tal darf jedoch nicht als das auszuwertende Tal angesehen werden (Abb.14, Peak bei 5-6 ms). Gleiches gilt für die definierten zeitlichen Intervalle. So überschreitet der Peak der ABR-Welle III das definierte Zeit-Intervall.

Die Wellen wurden trotzdem als solche erkannt, wenn sie sich nur leicht von den definierten Zeitintervallen unterschieden oder reproduzierbar in den niedrigeren Frequenzen zu sehen waren. So kann man zusammenfassend sagen, dass die definierten Auswertungskriterien als Orientierung zur Wellen- und Amplituden-Identifikation sehr sorgfältig und individuell für die einzelnen Profile angewendet und angepasst werden mussten.

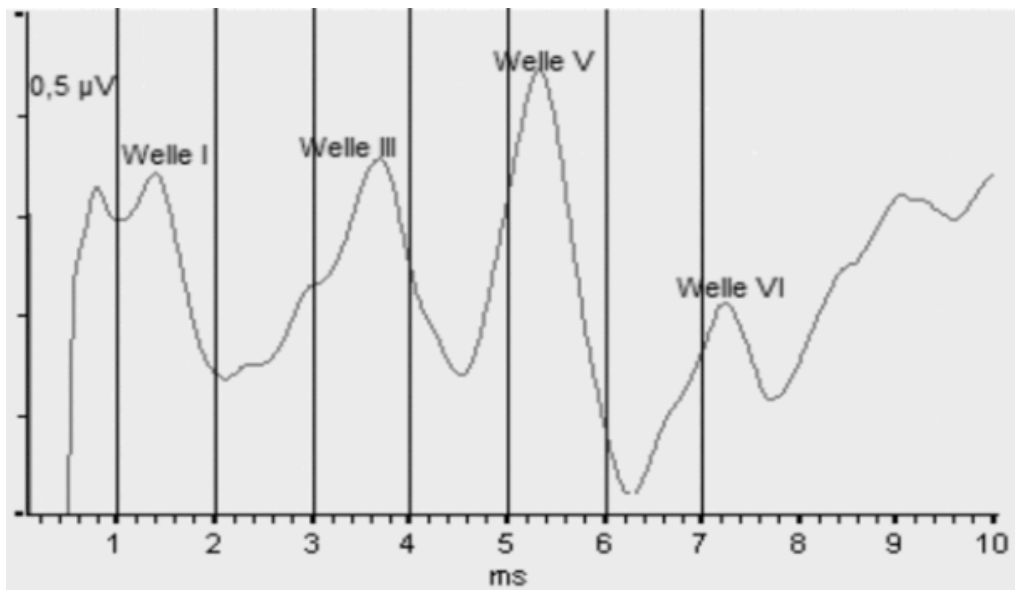


Abb. 13 ABR-Wellen-Peak-Identifikation anhand der orientierenden Zeitintervalle

Es ist eine exemplarische ABR-Welle des rechten Ohrs einer Kontrollprobandin bei einer Stimulationslautstärke von 75 dB zu sehen. Die Darstellung soll die orientierenden Auswertungskriterien erklären, wobei die vertikalen Linien hier die Zeitintervalle für die Identifizierung der der ABR Wellen-Peaks darstellen.

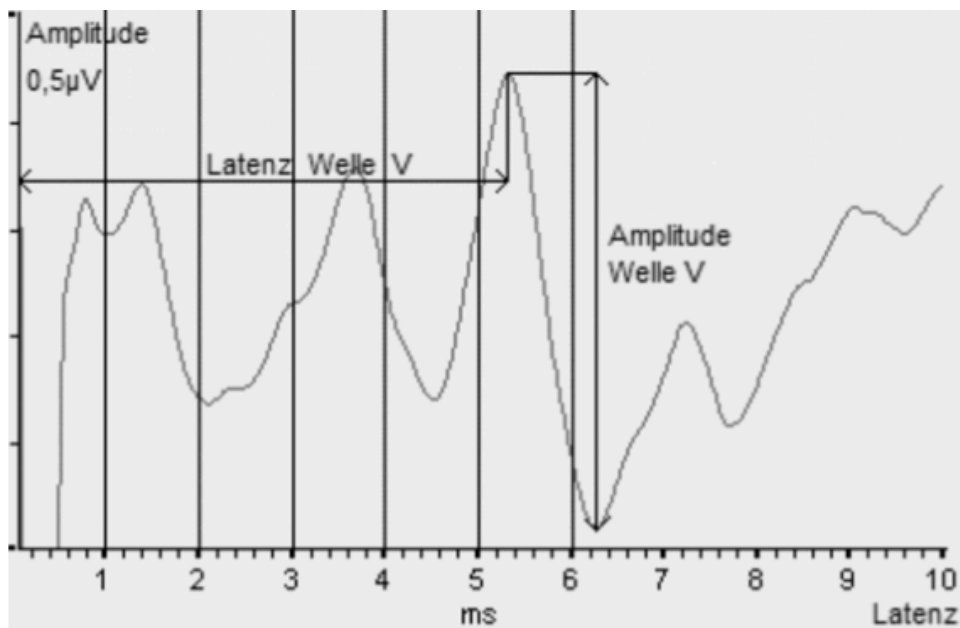


Abb.14 Bestimmung der ABR-Wellen Amplitude und Latenz

Auswertungsbeispiel der ABR-Welle V Amplitude und Latenz für das rechte Ohr der Kontrollprobandin K001 bei einer Stimulus-Lautstärke von 75 dB. Der vertikale Doppelpfeil repräsentiert die Amplitude der ABR-Welle V, der horizontale Doppelpfeil die Latenz der ABR-Welle V

3.4.1 ABR-Wellen-Amplituden der ABR-Welle I, III, V, VI

Die Wellen der ABR und deren Amplituden wurden wie beschrieben (siehe Material und Methoden 2.3.6) für 17 Tinnitus- und 17 Kontrollprobanden bestimmt und ausgewertet. So wurde die Welle I definiert als größtes Maximum im Zeitbereich zwischen 1-2 ms (Millisekunden), die Welle III als größtes Maximum im Zeitbereich 3-4 ms und die Welle V als größtes Maximum im Zeitbereich 5-6 ms.

Die Amplitude der jeweiligen Wellen wurde als Differenz zwischen dem Peak der Welle und dem darauffolgenden tiefsten Punkt des Tals berechnet.

Die ABR-Wellen-Amplituden der Wellen I, III, und VI unterschieden sich bei der Lautstärke von 75 dB nicht signifikant zwischen der Tinnitusgruppe und der Kontrollgruppe (siehe Abb. 15). Die ABR-Welle V war bei 75 dB bei der Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant reduziert (siehe Abb.15).

3.4.2 ABR-Wellen-Latenz der ABR-Welle I, III, V, VI

Bei der Lautstärke von 75 dB SPL war die Latenz der Welle V in der Tinnitusgruppe signifikant verlängert im Vergleich zu Kontrollgruppe ($n=17$ für beide Gruppe). (Abb.15) Zusätzlich zeigte sich eine signifikante Verlängerung der Latenz in der Tinnitusgruppe für die Stimulationslautstärken 35 dB rechts und links sowie für 25 dB rechts. Die Latenzen der ABR-Welle I, III, und VI unterschieden sich bei den Stimulationslautstärken von 75 dB und 65 dB nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen. Zusätzlich konnten für die ABR-Welle V die Latenzen für die Stimulus-Lautstärke 65 dB, 55 dB, 45 dB, 35 dB und 25 dB ausgewertet werden, welche jedoch abgesehen von den oben genannten Ergebnissen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zeigten. Für die restlichen ABR-Wellen konnten die keine Analyse der Ergebnisse bei niedrigeren Stimulations-Lautstärken erfolgen.

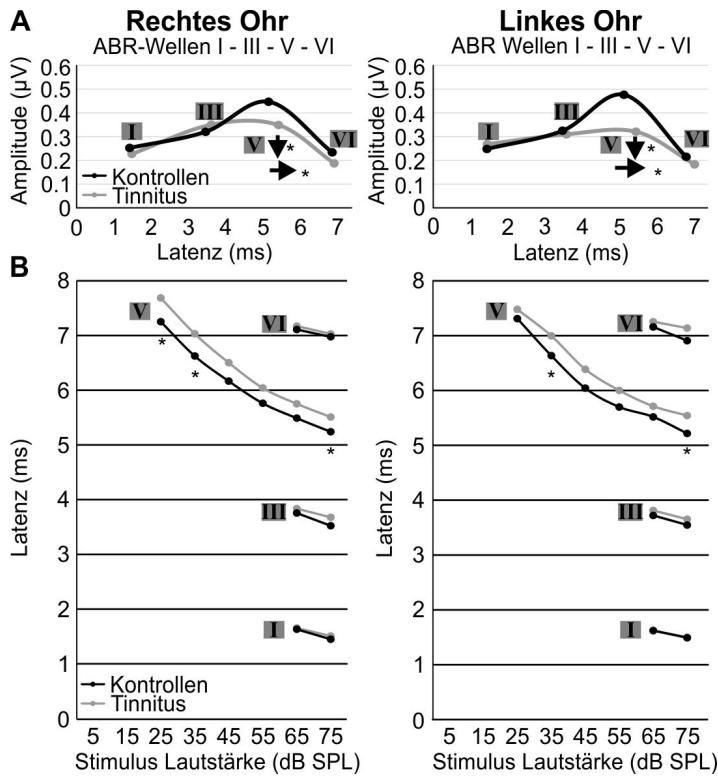


Abb. 15 ABR-Feinstruktur-Amplitudenreduktion und Latenz-Verlängerung ABR-Welle V

Die Abbildung A) zeigt die gemittelte überschwelligen Amplituden der ABR-Wellen I, III, V und VI der Stimulus-Lautstärke 75 dB der Kontrollgruppe ($n=17$) und der Tinnitusgruppe ($n=17$), separat für das rechte und linke Ohr. Die Amplitude der ABR-Welle V der Tinnitusgruppe ist beidseits signifikant reduziert.

Die Abbildung B) zeigt die Latenzen der ABR-Wellen I, III, V und VI für die Stimulus-Lautstärken 75 und 65 dB. Die Latenzen der Welle V konnten zusätzlich für die Lautstärken 55, 45, 35, 25 dB ausgewertet werden. Die Latenz der ABR-Welle V zeigt in der Tinnitusgruppe eine signifikante Verlängerung, beidseits für die Lautstärken 75, 35 dB und für das rechte Ohr zusätzlich bei 25 dB. Modifiziert nach Fig. 3 Hofmeier et. al. 2018

Die Werte der statistischen Auswertung der Amplitude und der Latenz der ABR-Welle V sind in der Tab.11 und Tab. 12 zusammengefasst ($n=17$ für beide Gruppe).

Tabelle 11 Statistische Werte der ABR-Amplitude

Statistische Auswertung der dreifaktoriellen-ANOVA mit Messwiederholung der Amplitude der ABR-Welle V (Hofmeier et al, 2018).

Gruppe	$F = 23,17$	$p < 0,0001$
SPL	$F = 15,67$	$p < 0,0001$
Ohrseite	$F = 12,67$	$p = 0,013$
Gruppe*SPL	$F = 4,32$	$p = 0,035$
Gruppe*Außenseite	$F = 4,74$	$p = 0,03$
Ohrseite*SPL	$F = 7,58$	$p = 0,021$
SPL*Außenseite	$F = 3,71$	$p = 0,038$

Tabelle 12 Statistische Werte der ABR-Latenz

Statistische Auswertung der dreifaktoriellen-ANOVA mit Messwiederholung der Latenz der ABR-Welle V (Hofmeier et al, 2018).

Gruppe	$F = 300,5$	$p < 0,0001$
SPL	$F = 77,75$	$p < 0,0001$
Ohrseite	$F = 3,77$	$p = 0,03$
Gruppe*SPL	$F = 6,22$	$p = 0,025$
Gruppe*Außenseite	$F = 4,23$	$p = 0,03$
Ohrseite*SPL	$F = 5,84$	$p = 0,029$
SPL*Außenseite	$F = 2,82$	$p = 0,045$

Zusammenfassend zeigte die Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikant reduzierte Amplitude und eine signifikant verlängerte Latenz der ABR - Welle V bei einer Stimulationslautstärke von 75 dB. Zusätzlich waren die Latenzen der Welle V für die Lautstärken 35 dB rechts und links, sowie für 25 dB rechts in der Tinnitusgruppe signifikant verlängert. Dieser Befund zeigt ein erstes charakteristisches Merkmal der Tinnitusprobanden, die ein Hinweis auf eine reduzierte Stimulus-induzierte zentrale Antwort in Tinnitusprobanden anzeigen könnte.

3.5 Identifizierung akustisch evozierter fMRT BOLD-Aktivitätsmuster mittels prädefinierten ROIs von Tinnitus- und Kontrollgruppen

Ein reduziertes Stimulus-induziertes zentrales Antwortverhalten (Reduktion der ABR-Amplitude V in der Tinnitusgruppe) könnte sich auch in bildgebenden Verfahren abbilden lassen. Um einen Zusammenhang zwischen Hirnstammaudiometrie (reduzierte Amplituden und verlängerte Latenz) und veränderter Hirnaktivität durch einen akustischen Stimulus zu identifizieren, wurden an den Probanden akustisch evozierte BOLD-fMRT Signale untersucht, wie in Material und Methoden 2.4.1. beschrieben. Nach der Prozessierung der fMRT-Messdaten wurde in den definierten ROIs nach signifikant reduzierten oder erhöhten Intensitätswerten (z-Werten) in der SPM-Analyse gefahndet. Die Ergebnisse dieser Analyse sind im Folgenden in erhöhte und in erniedrigte evozierte Aktivitäten eingeteilt. (Hofmeier et al. 2018)

Zur Veranschaulichung der Ergebnisse ist Abbildungen 16 die akustische evozierte fMRT BOLD-Aktivität im Auditorischen Cortex im Transversal- und Frontal-Schnittebene eines Probanden aufgeführt. Zusätzlich dazu ist in der Abbildung 17 der BOLD-Aktivitätsverlauf des Block-Design mit On- und Off-Phase (mit und ohne akustische Stimulation) dargestellt.

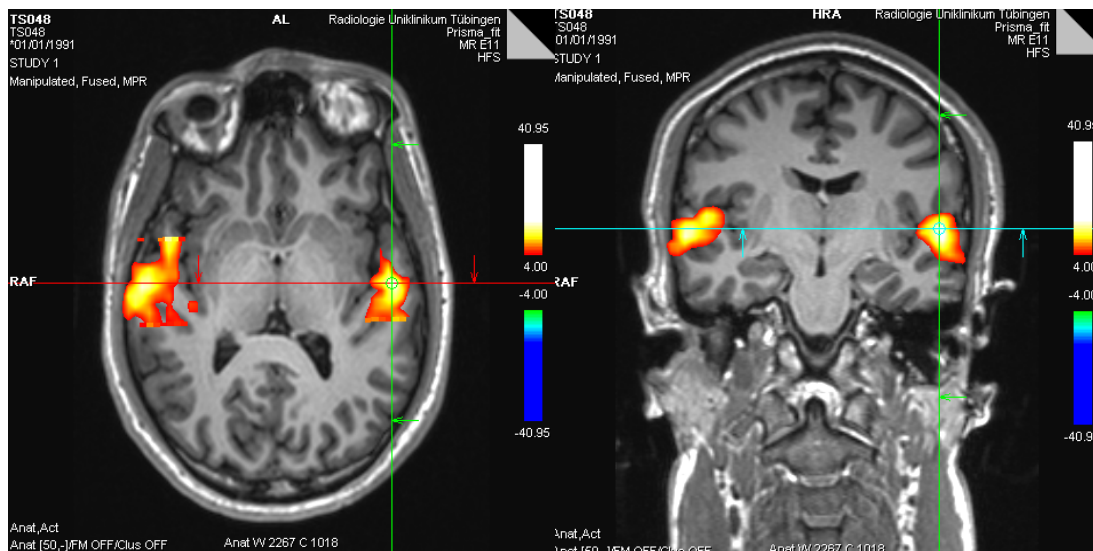


Abb. 16 Exemplarische Darstellung der fMRT-BOLD Aktivität im auditorischen Cortex
 Hier in rot und gelb dargestellt ist die erhöhte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität im auditorischen Cortex, rechts in Frontalschnittebenen, links in Transversalschnittebene.

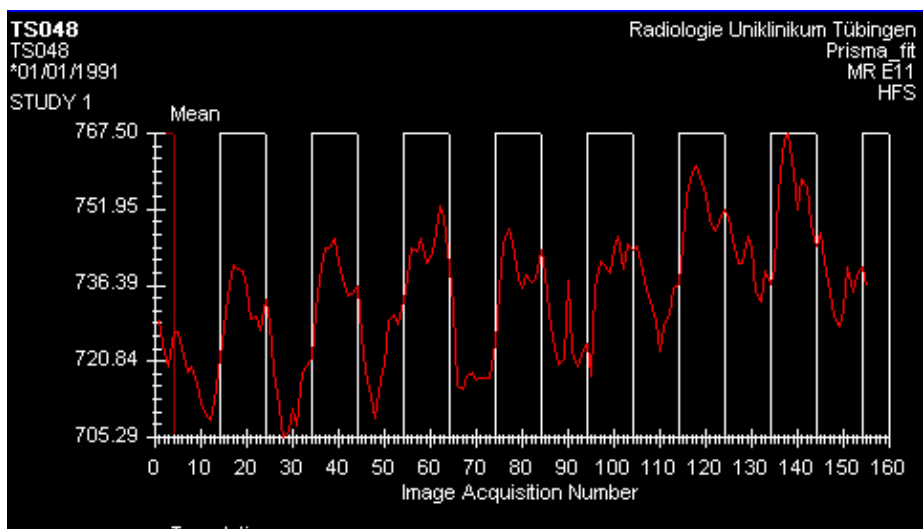


Abb. 17. fMRT BOLD-Aktivitätsverlauf im Block-Design
 Die y-Achse stellt die z-Werte des BOLD-Signal dar, die x-Achse die Nummer der funktionellen Bilder. Die ersten 10 Bilder wurden ohne akustische Stimulation aufgenommen, dann folgte immer im Wechsel, ein Block von 10 Bildern mit dann wieder ohne akustische Stimulation. Es ist zu sehen das die BOLD-Aktivität in den Blöcken mit akustischer Stimulation höher ist als ohne Stimulation.

3.5.1 Erniedrigte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität im primären und sekundären Auditorischen Cortex und assoziierten Regionen der akustischen Signalerkennung in der Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe

Es konnte bei allen 17 Tinnitus- und 17 Kontrollprobanden die fMRT-Messungen erfolgreich durchgeführt und analysiert werden.

Die Analyse der akustisch evozierten fMRT-Daten ergab eine Reduktion der fMRT BOLD-Aktivitäten in der Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe, sowohl im Auditorischen Cortex in den Heschl'schen-Querwindungen des Gyrus temporalis superior ((Brodmann Areale im weiteren BA) (BA 41, B42)), in den Wernicke Arealen, im hinteren Anteil des Gyrus temporalis superior (BA 21, 22) als auch im Corpus geniculatum mediale. Die Darstellung der Einzeldaten findet sich in der Tab. 13. Die genaue Analyse der BOLD fMRT-Antworten in Bezug auf akustische Stimulation mit den einzelnen Stimuli ist im Folgenden näher erläutert (siehe Tab. 13).

Die Tinnitusgruppe zeigte im Primären und Sekundären auditorischen Cortex/BA41 und BA42 als Reaktion auf den Breitband Chirp-Stimulus (Tab. 13 A) im BA41 links, auf den hochfrequenten Chirp-Stimulus (Tab. 13 A) BA41 rechts und BA42 rechts, niederfrequenten Chirp-Stimulus im BA41-rechts (Tab. 13 A) und Rock-Musik-Stimulus im BA41-links und BA42-rechts (Tab. 13 A) reduzierte fMRT-BOLD-Aktivitäten.

Die Tinnitusgruppe wies zudem eine reduzierte fMRT-BOLD-Aktivität für die Wernicke Areale BA 21 und BA 22 auf. Im Einzelnen war die BOLD-Aktivität der Tinnitusgruppe auf den Breitband Chirp-Stimulus im BA 21 rechts und links, BA 22 rechts (Tab. 13 A) und auf den Rock-Musik-Stimulus in BA 21 links und BA 22 rechts (Tab. 13 A) reduziert. Im Bereich des Corpus geniculatum links zeigte sich auf die Stimulation mit dem Breitband Chirp-Stimulus eine reduzierte akustische evozierte fMRT BOLD-Aktivität.

In Tinnitus Probanden zeigte sich interessanterweise auch in Regionen die für die aufmerksamkeits-kontrollierte Schall-Erkennung eine Rolle spielen, eine reduzierte fMRT BOLD-Aktivität. So kommt der posterioren Insula (Tab 13 A BA13 P) (Sadaghiani et al., 2009) ebenso wie dem Hippocampus (Kraus und White-Schwoch, 2015); (Weinberger, 2015) eine essentielle Funktion für die gedächtnis-abhängige und aufmerksamkeits-kontrollierte Wahrnehmung von akustischen Signalen zu.

So zeigte sich als Reaktion auf die akustische Stimulation mit dem Breitband Chirp-Stimulus in Tinnitusprobanden eine Reduktion der BOLD-Aktivität in der Insula posterior links (BA 13 P) und im Hippocampus sowohl rechts als auch links (Tab. 13 A). Ebenso zeigte sich in Tinnitusprobanden auf den hochfrequenten Chirp-Stimulus reduzierte BOLD-Aktivität in der Insula BA 13 P rechts und im Hippocampus sowohl rechts als auch links (Tab. 13 A) Auch beim niederfrequenten Chirp-Stimulus zeigte sich in Tinnitusprobanden reduzierte BOLD-Aktivität in der Insula BA 13 P links (Tab. 13 A) Keine dieser Regionen reagierte in Tinnitusprobanden mit einer erhöhten fMRT BOLD-Aktivität auf einen akustischen Stimulus (Tab. 13 A).

3.5.2 Erhöhte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität in der anterioren Insula, im Corpus mamillare und im somatosensorischen Cortex in der Tinnitusgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe

Die Analysen der akustisch evozierten fMRT BOLD-Aktivitäten zeigten erhöhte Intensitätswerte (z-Werte) in solchen Regionen, die im weitesten Sinne mit emotionaler Verarbeitung und Stress korreliert sind. So zeigten sich in Tinnitusprobanden erhöhte fMRT BOLD-Aktivität in der sogenannten anterioren Insula (Tab. 13 B BA13 A), die als Teil des limbischen Systems mit der Verarbeitung von Stress korreliert ist (Wang et al., 2005) Erhöhte fMRT BOLD-Aktivität wurde in Tinnitusprobanden auch im sogenannten Corpus mamillare als Teil des limbischen Systems nachgewiesen (Tab 13 B Corpus Mam.), einer Region die ebenfalls mit Stress-assoziiertes Verarbeitung in Zusammenhang gebracht wird (Bubb et al., 2017; Carpenter-Thompson et al., 2014; Vanneste et al., 2010).

Im Einzelnen war die Aktivität auf die Stimulation auf den Breitband Chirp-Stimulus in Tinnitusprobanden in BA 13 A rechts (Tab 13 B), auf den niederfrequenten Chirp-Stimulus in BA 13 A links (Tab 13 B) und auf den Rock-Musik-Stimulus in BA 13 A rechts (Tab 13 B) erhöht. Bei der Rock-Musik-Stimulation zeigte sich im Corpus mamillare rechts in der Tinnitusgruppe eine Aktivitätserhöhung (Tab 13 B).

Schließlich konnte in den Tinnitusprobanden auf einen akustischen Stimulus hin auch eine fMRT BOLD-Aktivitätserhöhung in dem somatosensorische Cortex Regionen BA1 und BA2 nachgewiesen werden (Tab 13 B). Die BOLD-Aktivitätserhöhung war auf die Stimulation mit dem niederfrequenten Chirp-Stimulus in den BA L1 links und BA L2 links (Tab 13 B) sichtbar.

Die BOLD-Aktivitätserhöhung im somatosensorischen Cortex der Tinnitusgruppe könnte einen Verlust kortikaler Regionen für auditorisch-spezifische Stimuli anzeigen (Hofmeier et al. 2018)

Zusammenfassend zeigte die Tinnitusgruppe eine reduzierte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität für verschiedene Stimuli im Vergleich zur Kontrollgruppe, die im Auditorischen Cortex und in den mit dem Hören assoziierten Regionen, (Wernicke Arealen, Corpus geniculatum mediale, posterioren Insula, Hippocampus) nachweisbar wurden. Zusätzlich konnten in der Tinnitusgruppe erhöhte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität in Regionen festgestellt werden, die mit Stress assoziiert sind (anteriore Insula und Corpus mamillare). Hinzu kam die Beobachtung einer erhöhten akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivität in der Tinnitusgruppe im Bereich des somatosensorischen Cortex.

Tabelle 13 Übersicht der akustisch evozierten fMRT BOLD-Aktivität

Auflistung der erniedrigten und erhöhten fMRT BOLD-Aktivitäten der Tinnitusgruppe BB-Breitband Chirp, HF-Hochfrequenter Chirp, NF-Niederfrequenter Chirp, L-links, R-rechts, modifiziert nach table 2 Hofmeier et al. 2018

A: Reduzierte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivitäten		
Akustischer Stimulus	Hirnregion (Brodmann Areal)	Intensität (Z-Werte)
BB-Stimulus	BA41-L	-1.57
	BA21-L	-2.33
	BA22-L	-1.48
	BA21-R	-2.05
	BA22-R	-2.19
	MGB-L	-1.40
	Hippocampus-L	-1.51
	BA13P-L	-2.03
	Hippocampus-R	-1.80
HF-Stimulus	BA41-R	-1.76
	BA42-R	-2.33
	BA13P-R	-1.31
	Hippocampus-R	-1.78
	Hippocampus-L	-1.52
NF-Stimulus	BA41-R	-1.60
	BA13P-R	-1.42
Musik-Stimulus	BA41-L	-1.40
	BA21-L	-2.37
	BA42-R	-1.99
	BA22-R	-2.24
B: Erhöhte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivitäten		
Akustischer Stimulus	Hirnregion (Brodmann Area)	Intensität (Z-Werte)
BB-Stimulus	BA13A-R	2.04
NF-Stimulus	BA1-L	1.74
	BA2-L	1.96
	BA13A-L	2.08
Musik-Stimulus	BA13A-L	2.44
	Corpus Mam. R	2.20

3.6 Zusammenfassende Betrachtungen

Wie in Abbildung 16 illustriert, konnten in der vorliegenden Studie erste Merkmalsunterschiede zwischen Tinnitus- und Kontrollprobanden identifiziert werden. Während man bisher in einem Großteil der Literatur davon ausging, dass Tinnitus nach einer Deafferentierung mit einer zentralen Hyperaktivität korreliert, die sich als „neural gain“ über ein erhöhtes zentrales Antwortverhalten definiert, zeigte

sich in der vorliegenden Studie, dass Tinnitus zumindest in unseren Probanden und mit unseren Messmethoden eher mit einem reduzierten zentralen Antwortverhalten korreliert (Abb. 18). Dies lässt sich an einer Stimulus-induzierten Reduktion der ABR Wave V und einer Latenzverzögerung ablesen (Abb. 18 rechte Seite). Weiterhin zeigte sich dazu passend eine akustisch evozierte reduzierte fMRT BOLD-Aktivität in auditorischen Cortex-Regionen (Abb. 16 rechts AC) und assoziierten Regionen für die spezifische Gedächtnis- und Aufmerksamkeits-abhängige Schallerkennung (Abb. 18 rechts Hippocampus, posteriore Insula). Die Aktivität dieser Regionen kontrolliert mit der Aktivität der HPA-Achse (Abb. 16 HPA). Ein Verlust in diesen Stresskontrollierenden Regionen könnte also mit dem beobachteten Trend eines erhöhten Cortisol Spiegels in Tinnitus Probanden korreliert sein.

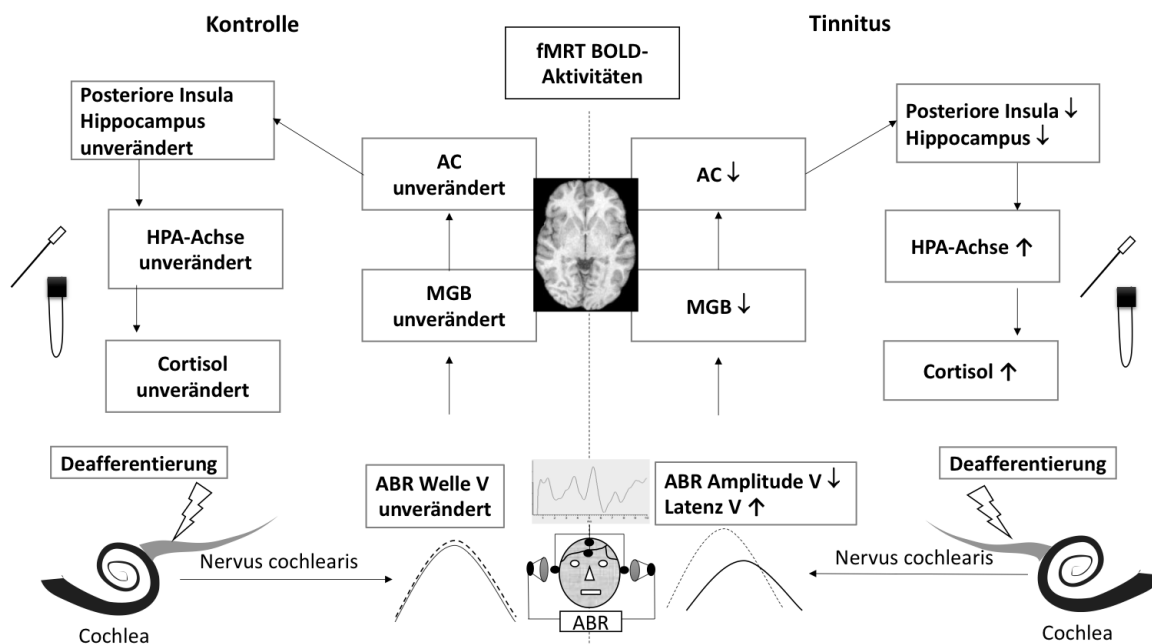


Abb. 18 Ergebnisübersicht

Übersichtsdarstellung der in der vorliegenden Studie gewonnenen Ergebnisse die dokumentieren, dass zum einen die ABR-Amplitude der Welle V in der Tinnitusgruppe vermindert und die Latenz erhöht ist (vergleiche rechte gegenüber linker Seite), (ii) und zum anderen die Cortisol-Spiegel, die in der Tinnitusgruppe tendenziell erhöht messbar waren, was auf eine mögliche Dysfunktion der HPA Achse hinweisen könnte (vergleiche rechte gegenüber linker Seite). Schließlich, dass die akustisch evozierten fMRT-BOLD-Aktivität der Hörregionen Corpus geniculatum mediale (MGB), auditorischen Cortex (AC) und der hörassoziierten Regionen: posteriore Insula und Hippocampus reduziert sind. Die Tinnitusgruppe ist auf der rechten Seite und die Kontrollgruppe auf der linken Seite der Abb. dargestellt. Der weiße Blitz symbolisiert die Deafferentierung von Hörnervenfasern.

4 Diskussion

4.1 Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) und Kontrollprobanden unterscheiden sich nicht in der Mittelohrfunktion und Hörschwelle

In der vorliegenden Studie wurden die Ein- und Ausschlusskriterien für die Tinnitus- und Kontrollprobanden auf der Basis einer von uns postulierten und klinisch bestätigten Hypothese gewählt. Die vorliegende Studie ist davon ausgegangen, dass Hörminderung ein Risikofaktor von Tinnitus darstellt, wohl aber keine primäre Kausalität für die Entstehung von Tinnitus repräsentiert. Dies wurde postuliert, da verschiedenste Studien belegen, dass sowohl Tiere mit Tinnitusverhalten als auch Tinnitusprobanden auch ohne audiologisch messbaren Hörschwellenverlust an Tinnitus leiden können (Knipper et al., 2013a; Boyen et al., 2014; Geven et al., 2011; Gilles et al., 2016; Guest et al., 2017). Die vorliegende Studie konnte diese These untermauern. So zeigte sich mit Hilfe der Reintonaudiometrie, dass keine signifikanten Unterschiede in der Hörschwelle zwischen Tinnitus- und Kontrollprobanden feststellbar sind.

Auch wurde bei Tinnitus- und Kontrollprobanden gleichermaßen eine gesunde Mittelohrmechanik mit Hilfe der Tympanometrie und dem Stapediusreflex nachwiesen, was darauf verweist, dass die Mittelohrfunktion offenbar kausal an der Tinnitus-Pathologie nicht beteiligt ist.

Interessanterweise zeigte sich in der vorliegenden Studie, dass 15 von 17 Tinnitusprobanden (Tab.10); (siehe Ergebnis 3.3.1) ihren Tinnituston in dem Frequenzbereich > 6 KHz hören. Zurzeit kann in der Reintonaudiometrie maximal ein Frequenzbereich von 250 Hz bis 10'000 Hz abgebildet werden. Geht man davon aus, dass der Schädigungsbereich in der Cochlea typischerweise in der Audiometrie eine halbe Oktave höheren Frequenzbereich abgebildet wird (Liberman und Beil, 1979) und berücksichtigend, dass ein gesunder Erwachsener Töne im Bereich 20 Hz bis 16'000 Hz unterscheiden kann (Schuknecht, 1974), können wir nicht ausschließen, dass zwischen Tinnitusprobanden und Kontrollgruppen im Frequenzbereich über 10 kHz dennoch eine Hörschadendifferenz nachweisbar

wäre. Es ist also in Zukunft dringend nötig, die klinische Routine-Audiometrie in der Tinnitus-Forschung auf die Analyse höherer Frequenzbereiche anzupassen.

Dies mag auch insbesondere für eine zukünftig notwendige Analyse der Differenzierung von zentralem Antwortverhalten zwischen Tinnitus und den hier ausgeschlossenen Tinnitusprobanden mit einer Komorbidität von Hyperakusis gelten. Tatsächlich weisen Studien in Mensch und Tier darauf hin, dass sich die zentralen Antwortverhalten zwischen Tinnitus und Hyperakusis unterscheiden könnten (Roberts und Salvi, 2019; Mohrle et al., 2019).

Zusammenfassend gehen wir davon aus, dass die Ein- und Ausschlusskriterien die das erste Mal in dieser stringenten Form (Ausschluss 40 dB Hörschwelle, Ausschluss Beteiligung von Hyperakusis) gewählt wurden, einen harmonischen Gruppenvergleich erlaubten, der die Voraussetzung für die Identifizierung charakteristischer Merkmale zwischen Tinnitus- und Kontrollprobanden darstellt.

4.2 Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) unterscheiden sich von Kontrollprobanden durch reduzierte überschwellige ABR-Amplituden

Wie oben diskutiert zeigte sich zwischen Kontrollprobanden und den Probanden mit Tinnitus kein signifikanter Unterschied in der Hörschwelle. Interessanterweise wurde jedoch ein signifikanter Unterschied in der Feinstruktur der ABR-Welle zwischen den Gruppen detektiert, der explizit durch eine Reduktion der ABR- Welle V und eine verlängerte Latenz der Welle V (Abb.15) evident wurde. Dabei zeigte sich kein Unterschied der Welle V zwischen den Gruppen in Abhängigkeit von dem Geschlecht. Dies ist ein wichtiger Befund, da Frauen generell höhere ABR-Wellen-Amplituden als Männer aufweisen (Costa Neto et al., 1991; Durrant et al., 1990). Es zeigte sich in der Tinnitusgruppe sowohl bei Männern als auch bei Frauen eine reduzierte ABR-Wellen-Amplitude der Welle V.

Die Reduktion der ABR-Welle lässt sich auch nicht über das Alter der Probanden erklären. So zeigten die Gruppen einen sehr vergleichbaren durchschnittlichen Altersspiegel von ca. 36,5 Jahren (Tinnitus) und 33,2 Jahren (Kontrollen) (siehe Ergebnisteil 3.2.1). Um diese Reduktion der ABR-Welle V im Zusammenhang mit

der Frage nach der Ursache einer beobachteten Übererregung im Gehirn von Tinnitusprobanden, (siehe Einleitung 1.2) verstehen zu können, soll hier nochmal kurz beschrieben werden, wie ABR-Wellen generiert werden und wie sie sich in der Entwicklungszeit mit der Hörfunktion verändern. So entspricht die Amplitudengröße der ABR-Kurve der elektrischen Aktivität, die nach akustischem Reiz in den einzelnen aufsteigenden auditorischen Kerngebieten in der Hörbahn generiert wird, und zwar in Abhängigkeit von der Entladungsrate der summierten Hörnervaktivität und der Synchronizität mit der die auditorischen Fasern feuern (Johnson und Kiang, 1976; Ruttiger et al., 2017). Hierbei wird die ABR-Welle I vom distalen Anteil des Hörnervs erzeugt (Portmann et al., 1980). Die ABR-Welle III entspricht der Aktivität der sphärischen und globulären Zellen des Nucleus cochlearis und seinen Projektionen zum Nucleus olivaris superior (SOC) (Melcher und Kiang, 1996). Die ABR-Welle V wird durch die Projektionen Superioren Olivenkomplexes zum Lemniscus laterale und dem Colliculus inferior erzeugt (Moller et al., 1994). Die ABR-Welle VI repräsentiert die Aktivität der Efferenzen des Colliculus inferior oder des Corpus geniculatum mediale (Moller et al., 1994). Direkt mit Hörfunktionsbeginn haben Hörnervfasern zunächst nur eine höhere Schwelle und niedrige spontane Feuerraten (Grant et al., 2010). Erst mit sensorischer Erfahrung können akustische Stimuli eine höhere ABR-Wellen-Amplituden erzeugen, die sich zentral mit verkürzten Latenzen ausprägt. Dies ist auf die Reifung von sogenannten hoch-feuernden, niedrig-schwelligen Hörfasern („high-SR/low threshold-fibers“) zurückzuführen, die erst mit sensorischer Erfahrung reifen (Grant et al., 2010). Interessanterweise haben taub geborene Personen ein signifikant erniedrigtes Risiko an Tinnitus zu erkranken (Baguley und McFerran, 2002; Baguley und Atlas, 2007). Sogar einseitig von Geburt an ertaubte Personen erleiden auf dem tauben Ohr keinen Tinnitus (Lee et al., 2017). Daraus wurde erst kürzlich in einem von Tinnitusforschern zusammen gefassten Review postuliert (Knipper et al. eingereichtes Paper), dass ein Verlust von „high-SR/low threshold-fibers“, bei Taubheit (ohne Tinnitus) nicht stattfinden kann, da diese gar nicht entwickelt sind. Das heißt, dass die von der Reifung dieser „high-SR/low threshold-fibers“ abhängigen Entwicklungsschritte auch nicht verloren gehen

können. Tatsächlich weisen verschiedene Beobachtungen darauf hin, dass sich Tinnitus über den Verlust der erworbenen Reifungsprozesse mit dem Verlust von „high-SR/low threshold-fibers“ erklären ließe. So wird, wie oben erwähnt, erst mit dem Ausbilden von „high-SR/low threshold-fibers“ eine Amplitudenerhöhung und Latenzverkürzung in der ABR erreicht (Meddis, 2006; Heil et al., 2008). Die Amplituden-Erhöhung und Latenz-Verkürzung mit Reifung der „high-SR/low threshold-fibers“ erklärt sich aus einer mit der Reifung dieser Fasern einhergehenden Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses in der aufsteigenden Hörbahn und assoziierten Hirnregionen. Das verbesserte Rausch-Verhältnis ist für die Gedächtnis-abhängige Rekrutierung von Aufmerksamkeit auf den Ton essentiell (siehe unten Diskussion fMRT). Die Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses in der aufsteigenden Hörbahn wird zurzeit mit einer Verstärkung der schnellen inhibitorischen Rückkopplung in Zusammenhang gebracht, die sich ebenfalls erst nach Hörfunktionsbeginn ausprägt. Als ein anatomisches Korrelat dieser Inhibition kann der Anstieg von sogenannten Parvalbumin-positiven inhibitorischen Interneurone angesehen werden, welche in der aufsteigenden Hörbahn mit Hörfunktionsbeginn in ihrer dendritischen Komplexität zunehmen (Itami et al., 2007). So könnte z. B. ein Verlust von „tonischer“ und damit anhaltender Inhibition von Neuronen in der aufsteigenden Bahn nach Verlust der „high-SR/low threshold-fibers“ einsetzen und dadurch das optimierte Signal-Rausch-Verhältnis verloren gehen (Knipper et al., 2013b). Dadurch würde es in dem betroffenen Frequenzbereich zu einem erhöhten Grundrauschen (erhöhte Feuerrate) kommen. Ein erhöhtes Grundrauschen und eine Abnahme des optimierten Signal-Rausch-Verhältnisses würde zu einer reduzierten und verlangsamten zentralen Antwort nach einem akustischen Stimulus führen. Damit könnte die in Tinnitusprobanden beobachtete Reduktion der ABR-Welle V und die verlängerte Latenz (Abb. 15) über einen ‚Verlust der „high-SR/low threshold-fibers“ erklärbar werden, die zu einer erhöhten spontanen Feuerrate in dem entsprechenden betroffenen Frequenzbereich führt. Die erhöhte spontane Feuerrate (erhöhtes Grundrauschen) in der betroffenen Region würde dann über

Aufmerksamkeits-bezogene Bahnen amplifiziert und verstärkt werden. Das bedeutet aber auch, dass sich die in der vorliegenden Studie beobachtete Reduktion und Verzögerung der ABR-Amplitude V in Tinnitusprobanden nicht über eine zentrale Hyperaktivität in der Hörbahn erklären lässt, die durch eine Erhöhung des „neural gain“ zustande kommen würde. Sollte nämlich die zentrale Übererregung bei Tinnitus durch „neural gain“ entstehen müsste beim Tinnitus eine Erhöhung und Verkürzung der akustisch evozierte ABR-Welle V beobachtet werden. Wie im Tiermodell bereits beobachtet (Rüttiger et al., 2013; Mohrle et al., 2019) zeigt damit auch die erste hier vorliegende humane Studie, die selektiv überschwellige ABR-Wellen in Tinnitus (ohne Hyperakusis) lässt daraus folgern, dass sich zentrale Hyperaktivität bei Tinnitus nicht über zentralen „neural gain“ erklären lässt. Der Verlust des Signal-Rausch-Verhältnisses als Ursache für den Verlust der überschwelligen ABR-Wellen in Tinnitus würde auch vorhergesagte erhöhte Rauschpegel in einem Computer-basierten Tinnitus-Modell erklären (Zeng, 2013).

4.3 Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) unterscheiden sich von Kontrollprobanden durch reduzierte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivitäten im auditorischen Cortex

Wie oben bereits dargestellt sehen wir in Tinnitusprobanden eine Reduktion und Verlangsamung des akustisch evozierten Antwortverhaltens der ABR-Welle V. Die Größe der ABR Amplitude V spiegelt die schallinduzierte Aktivität des medialen Nucleus olivaris superior SOC und dessen Projektionen in den Lemnicus laterale und den Colliculus inferior wider (Melcher und Kiang, 1996). Die Aktivitäten im inferioren Colliculus stellen die Eingangsaktivität für die höheren auditorischen Kerngebiete, wie den Corpus geniculatum mediale und den primären auditorischen Cortex, dar. Eine Reduktion der akustisch evozierten Welle V sollte entsprechend auch zu einer Reduktion der akustisch evozierten fMRT BOLD-Aktivität im Corpus geniculatum mediale und im auditorischen Cortex führen. Tatsächlich sehen wir eine Reduktion der akustisch evozierten fMRT BOLD-Aktivität z. B. im linken Corpus geniculatum mediale der Tinnitusgruppe, als Reaktion auf einen definierten

akustischen Stimulus (siehe Tab.13). Ebenso konnte fast durch alle gewählten akustischen Stimuli-Paradigmen (BB; NF; HF; Musik) eine reduzierte fMRT BOLD-Aktivität im primären und sekundären auditorischen Cortex in der Tinnitusgruppe detektiert werden (siehe Tab.13). Wichtig zu betonen ist, dass es trotz einer meist nur auf einer Hemisphäre beobachteten reduzierten fMRT BOLD-Aktivität, umgekehrt in keiner der beobachteten Regionen zu einer Erhöhung der BOLD-Aktivität kam, was die Bedeutung der Erniedrigung unterstreicht. Dies war eine durchaus überraschende Beobachtung, da man bisher davon ausging, dass für die Perzeption eines Tinnitus-Tons eine erhöhte Aktivität im auditorischen Cortex erwartet werden sollte (Roberts et al., 2010). Obwohl in mehreren Studien nach Stimulus-induzierter Hyperaktivität im auditorischen Cortex gefahndet wurde, zeigt bisher nur eine einzige Studie erhöhte akustisch evozierte BOLD-Aktivität auf einer Seite im auditorischen Cortex (Lanting et al., 2014). Andere Studien hingegen konnten zum Beispiel ein reduziertes Volumen der Grauen Substanz im auditorischen Cortex von Tinnitusprobanden in beiden Hirnhemisphären beobachten (Schecklmann et al., 2013; Schneider et al., 2009). Reduziertes Volumen der grauen Substanz spiegelt eine Reduktion des dendritischen-cortikalen Netzwerkes wider, wie es frühere und jüngste Studien wiederholt unter Beweis gestellt haben (Teipel et al., 2007; Broad et al., 2019). Daneben lässt sich die reduzierte BOLD-Aktivität nach akustischen Stimuli, die in der Tinnitusgruppe in der posterioren Insula (siehe Tab) und im Hippocampus (siehe Tab.13) detektiert wurde (siehe Tab 13), über eine reduzierte auditorisch spezifische Aktivität erklären. So ist Aktivität in der posterioren Insula mit der Verbesserung der Schalldetektion durch Fokussierung auf die Hörwahrnehmung korreliert worden (Sadaghiani et al., 2009). Ebenso wurde die neuronale Aktivitätserhöhung im Hippocampus nach akustischen Stimuli mit einem an der Verstärkung von Geräuschwahrnehmung teilhabenden lernabhängigen Aufmerksamkeitsmechanismus erklärt (Kilgard und Merzenich, 1998; Kraus und White-Schwoch, 2015; Weinberger, 2015). Da akustische Informationsverarbeitung über den assoziierten (sekundären) auditorischen Cortex den Hippocampus und die Insula erreicht, wird die reduzierte evozierte Schall-

induzierte fMRT BOLD-Aktivität im Hippocampus und in der Insula über eine Abnahme der Spezifität und Prozessierung in der auditorischen Bahn erklärbar (Tab.13).

Im Gegensatz zu den reduzierten BOLD-Aktivitäten zeigte die Tinnitusgruppe eine erhöhte fMRT BOLD-Aktivität im Bereich des somatosensorischen Cortex. Wenn wir von einer Reduktion der spezifischen auditorischen Antwort in Tinnitusprobanden ausgehen, könnte die akustisch evozierte Antwort im somatosensorischen Cortex eine Folge des Verlustes der Genauigkeit der Verarbeitung der hörspezifischen Information sein. So ließe sich schlussfolgern, dass in Tinnitusprobanden ein geringerer und verzögerter auditorisch-spezifischer Fluss zu einer verringerten auditorisch-spezifischen Aktivität im dazugehörigen Cortex kommt. Dadurch lässt sich die erhöhte schallinduzierte BOLD fMRT-Aktivität in den somatosensorischen Regionen von BA1 und BA2 (Tab. 13) über eine reduzierte auditorische Verarbeitung begründen.

4.4 Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) unterscheidet sich von Kontrollprobanden durch tendenziell erhöhte Cortisol-Spiegel im Speichel

Seit langem wurde eine Beteiligung von Stress oder ein Ungleichgewicht der Hypothalamus-Hypophysen Achse (HPA-Achse) in Tinnitus postuliert (Hébert et al., 2012) (Mazurek et al., 2012).

In der vorliegenden Studie wurden Cortisolwerte im Speichel an verschiedenen Tagen und zu verschiedenen Tageszeiten zwischen Tinnitus- und Kontrollprobanden verglichen. Dabei wurde die Körperflüssigkeit Speichel gewählt, da der Speichel als der zuverlässigste Parameter zur Detektion eines HPA-Achsen-Ungleichgewichts beschrieben wurde (Elder et al., 2017; Verbeeten und Ahmet, 2017).

Die Untersuchung erbrachte keine signifikante Erhöhung der Cortisolwerte im Speichel der Tinnitusgruppe gegenüber der Kontrollgruppe, jedoch eine sichtbare Tendenz einer Erhöhung der Cortisolspiegel über alle Tageszeiten, die durchaus auf

eine abgeschwächte oder veränderte Stresskontrolle in Tinnitusprobanden hinweisen könnte. Um eine sichere Beurteilung zu ermöglichen, wäre jedoch eine Ausweitung der Studie mit einer höheren Anzahl an Tinnitus- und Kontrollprobanden notwendig.

Indirekt wird die These einer Dysregulation der HPA-Achse jedoch auch durch die vorliegenden Befunde aus den akustisch evozierten fMRT- Messung unterstützt. So konnten z. B. in der Tinnitusgruppe erhöhte akustisch evozierte fMRT BOLD-Aktivitäten im Bereich der anterioren Insula und der Corpora mamillare nachgewiesen werden, Befunde die in früheren Studien an Tinnitusprobanden bereits gezeigt wurden (Carpenter-Thompson et al., 2014; Vanneste et al., 2010).

Die anteriore Insula besitzt enge Verknüpfungen zum Limbischen System, das wiederum an der Kontrolle der HPA-Achse beteiligt ist (Wang et al., 2005). Ebenso sind die Corpora mamillare selbst Teil des Limbischen Systems, die über die Kontrolle des präfrontalen Cortex Stress Spiegel kontrolliert (Bubb et al., 2017).

4.5 Tinnitusprobanden (ohne Hyperakusis) zeigen rechts-hemisphärische Lautheitsveränderungen

Die in der vorliegenden Studie beobachtete Korrelation einer subjektiv empfundenen Höreinschränkungen und der subjektiven Belastung durch Tinnitus-Intensität in Tinnitusprobanden auf der rechten Seite (Abb.7 A), die über Tinnitus Fragebogen und Audiometrie sichtbar wurde, unterstützt möglicherweise die These einer reduzierten einer Stresskontrolle bei Tinnitusprobanden. So zeigen Studien eine dominante rechts-hemisphärische Regulation der HPA-Achse im Präfrontalen Cortex (Sullivan und Gratton, 2002).

Zusammenfassend zeigt sich in der vorliegenden Studie, dass die seit langer Zeit mit Tinnitus in Zusammenhang gebrachte erhöhte zentrale Aktivität (siehe Einleitung) nicht mit erhöhtem „neural gain“ erklärbar ist. Die vorliegende Studie weist durch eine Reduktion und Verzögerung der Stimulus-induzierten ABR-Welle-V ebenso wie durch eine Reduktion der akustisch evozierten fMRT BOLD-Aktivität im Corpus geniculatum mediale und auditorischen Cortex sowie der damit korrelierten

Tendenz eines erhöhten Cortisolspiegels auf einen Verlust auditorisch-spezifischen Antwortverhaltens bei Tinnitus hin. Damit könnte auch ein Verlust des Signal-Rausch-Verhältnisses in betroffenen Frequenzregionen und damit korreliertes erhöhtes Rauschen in diesen Regionen als neuronales Korrelat für bereits vorhergesagte Tinnitusvorläufer in früheren Tinnitusmodellen postuliert werden (Jastreboff, 1999; Sedley et al., 2016).

5 Zusammenfassung

Tinnitus ist eine Phantomwahrnehmung des Gehörs, die mit hoher Prävalenz (7,9% bis 25,3% bei Erwachsenen in den USA) in der Bevölkerung auftritt.² Aktuell werden in der Literatur mindestens zwei Tinnitus-Modelle diskutiert, die sich grundsätzlich in der Frage widersprechen, ob Tinnitus mit einer verstärkten oder einer reduzierten zentralen neuronalen Aktivität („neural gain“) in der Hörbahn einhergeht. In der vorliegenden Studie sollte in vergleichbar hörgeschädigten Probanden mit und ohne Tinnitus mit Hilfe der Analyse der Reintonaudiometrie, Tympanometrie, Tinnitus-Bestimmung, ABR Feinstrukturanalyse, akustisch evozierten fMRT BOLD-Messung und der Analyse von Cortisol im Speichel ein erster Einblick in Tinnitus-spezifische Merkmale gewonnen werden. Die Ausschlusskriterien sahen für die Tinnitusprobanden und Kontrollprobanden den Studienausschluss bei einer höhergradigen Hörminderung und den Studienausschluss bei gleichzeitigem Vorliegen von Hyperakusis vor. Dies garantierte eine Gruppenszusammensetzung mit vergleichbaren Schädigungsprofilen. Es zeigte sich, dass weder die Mittelohrfunktion noch die Funktion der äußeren Haarzellen, welche die Hörschwelle definieren, mit Tinnitus korrelierten. Es zeigte sich darüber hinaus, dass weder Alter, Händigkeit oder Geschlecht einen Einflussparameter bei Tinnitus darstellen. Wohl aber zeigte sich eine rechts-hemisphärische Dominanz einer empfundenen Hörminderung als ein Korrelat von Tinnitus, dass interessanterweise nicht mit einer Hörschwellen-Verschlechterung auf der rechten Seite korrelierte. Hier könnte ein Zusammenhang mit der beobachteten tendenziellen Erhöhung des Cortisol-Spiegels liegen, die ebenfalls in der Tinnitusgruppe beobachtet wurde.

So zeigen Stress-kontrollierende Regionen, wie bereits in Studien anderer Arbeitsgruppen beschrieben, auch eine rechts-hemisphärische Dominanz. Veränderte Tinnitus-Lautheit (Lautstärke) und Hörempfindung die mit Rechts-Dominanz beobachtet werden konnten, könnten also auch mit einer veränderten Stress-Kontrolle

²SHARGORODSKY, J., CURHAN, G. C. & FARWELL, W. R. 2010. Prevalence and characteristics of tinnitus among US adults. *Am J Med*, 123, 711-8..

in Tinnitusprobanden korreliert sein. Während keine Hörschwellenveränderung zwischen Tinnitus- und Kontrollprobanden sichtbar war, zeigte sich jedoch eine signifikante Reduktion und Latenzverlängerung der im Mittelhirn generierten ABR-Welle V in Tinnitusprobanden, ein Hinweis auf ein reduziertes zentrales Antwortverhalten. Ein reduziertes zentrales Antwortverhalten spiegelte sich darüber hinaus auch in einer reduzierten fMRT BOLD-Aktivität im primären und sekundären auditorischen Cortex in Tinnitusprobanden wider. Damit weist die vorliegende Studie auf einen reduzierten auditorischen Informationsfluss als ein Tinnitus-spezifisches Merkmal hin und widerspricht einem vormals postulierten „neural gain“ in diesen Patienten. Dies könnte darauf hindeuten, dass Tinnitus mit einem Verlust des Signal-Rausch-Verhältnisses in auditorisch deprivierten deafferentierten Frequenzregionen einhergeht.

Zusammenfassend unterstützen die Ergebnisse der vorliegenden Studie damit erstmals in Menschen, entsprechend der Erkenntnisse im Tiermodell, ein Tinnitus-Modell, welches eine reduzierte zentrale neuronale Aktivität postuliert.

Somit wird hier Tinnitus-Modellen widersprochen, welche eine erhöhte zentrale neuronale Aktivität in Tinnitus („neural gain“) annehmen.

Literaturverzeichnis

- AXELSSON, A. & RINGDAHL, A. 1989. Tinnitus--a study of its prevalence and characteristics. *Br J Audiol*, 23, 53-62.
- BAGULEY, D. M. & ATLAS, M. D. 2007. Cochlear implants and tinnitus. *Prog Brain Res*, 166, 347-55.
- BAGULEY, D. M. & MCFERRAN, D. J. 2002. Current perspectives on tinnitus. *Arch Dis Child*, 86, 141-3.
- BAUER, C. A., BROZOSKI, T. J. & MYERS, K. 2007. Primary afferent dendrite degeneration as a cause of tinnitus. *J Neurosci Res*, 85, 1489-98.
- BIESINGER, E., HEIDEN, C., GREIMEL, V., LENDLE, T., HÖING, R. & ALBEGGER, K. 1998. *Strategien in der ambulanten Behandlung des Tinnitus*.
- BOYEN, K., DE KLEINE, E., VAN DIJK, P. & LANGERS, D. R. 2014. Tinnitus-related dissociation between cortical and subcortical neural activity in humans with mild to moderate sensorineural hearing loss. *Hear Res*, 312, 48-59.
- BROAD, R. J., GABEL, M. C., DOWELL, N. G., SCHWARTZMAN, D. J., SETH, A. K., ZHANG, H., ALEXANDER, D. C., CERCIGNANI, M. & LEIGH, P. N. 2019. Neurite orientation and dispersion density imaging (NODDI) detects cortical and corticospinal tract degeneration in ALS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 90, 404-411.
- BROZOSKI, T. J., BAUER, C. A. & CASPARY, D. M. 2002. Elevated fusiform cell activity in the dorsal cochlear nucleus of chinchillas with psychophysical evidence of tinnitus. *J Neurosci*, 22, 2383-90.
- BUBB, E. J., KINNAVANE, L. & AGGLETON, J. P. 2017. Hippocampal - diencephalic - cingulate networks for memory and emotion: An anatomical guide. *Brain Neurosci Adv*, 1.
- CANLON, B., THEORELL, T. & HASSON, D. 2013. Associations between stress and hearing problems in humans. *Hear Res*, 295, 9-15.
- CARPENTER-THOMPSON, J. R., AKROFI, K., SCHMIDT, S. A., DOLCOS, F. & HUSAIN, F. T. 2014. Alterations of the emotional processing system may underlie preserved rapid reaction time in tinnitus. *Brain Res*, 1567, 28-41.
- CHEN, G. D. & JASTREBOFF, P. J. 1995. Salicylate-induced abnormal activity in the inferior colliculus of rats. *Hear Res*, 82, 158-78.
- COSTA NETO, T. T., ITO, Y. I., FUKUDA, Y., GANANCA, M. M. & CAOVILO, H. H. 1991. Effects of gender and head size on the auditory brainstem response. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)*, 112, 17-9.
- DALLOS, P. & HARRIS, D. 1978. Properties of auditory nerve responses in absence of outer hair cells. *J Neurophysiol*, 41, 365-83.
- DEMEESTER, K., VAN WIERINGEN, A., HENDRICKX, J. J., TOPSAKAL, V., FRANSEN, E., VAN LAER, L., DE RIDDER, D., VAN CAMP, G. & VAN DE HEYNING, P. 2007. Prevalence of tinnitus and audiometric shape. *B-ENT*, 3 Suppl 7, 37-49.
- DURAI, M. & SEARCHFIELD, G. 2016. Anxiety and depression, personality traits relevant to tinnitus: A scoping review. *Int J Audiol*, 55, 605-15.

- DURRANT, J. D., SABO, D. L. & HYRE, R. J. 1990. Gender, head size, and ABRs examined in large clinical sample. *Ear Hear*, 11, 210-4.
- EGGERMONT, J. J. 2015. Neural substrates of tinnitus in animal and human cortex : cortical correlates of tinnitus. *HNO*, 63, 298-301.
- EGGERMONT, J. J. & ROBERTS, L. E. 2012. The Neuroscience of Tinnitus: Understanding Abnormal and Normal Auditory Perception. *Front Syst Neurosci*, 6.
- EGGERMONT, J. J. & ROBERTS, L. E. 2015. Tinnitus: animal models and findings in humans. *Cell Tissue Res*, 361, 311-36.
- ELDER, C. J., HARRISON, R. F., CROSS, A. S., VILELA, R., KEEVIL, B. G., WRIGHT, N. P. & ROSS, R. J. 2017. Use of salivary cortisol and cortisone in the high- and low-dose synacthen test. *Clin Endocrinol (Oxf)*.
- FISCHER, A. 2013. Hyperakusis: Neues Screening-Instrument vorgestellt. *HNO Nachrichten*, 43, 38-38.
- FOBEL, O. & DAU, T. 2004. Searching for the optimal stimulus eliciting auditory brainstem responses in humans. *J Acoust Soc Am*, 116, 2213-22.
- GEVEN, L. I., DE KLEINE, E., FREE, R. H. & VAN DIJK, P. 2011. Contralateral suppression of otoacoustic emissions in tinnitus patients. *Otol Neurotol*, 32, 315-21.
- GILLES, A., SCHLEE, W., RABAU, S., WOUTERS, K., FRANSEN, E. & VAN DE HEYNING, P. 2016. Decreased Speech-In-Noise Understanding in Young Adults with Tinnitus. *Front Neurosci*, 10, 288.
- GOEBEL, G. & HILLER, W. 1994. [The tinnitus questionnaire. A standard instrument for grading the degree of tinnitus. Results of a multicenter study with the tinnitus questionnaire]. *HNO*, 42, 166-72.
- GRANT, L., YI, E. & GLOWATZKI, E. 2010. Two modes of release shape the postsynaptic response at the inner hair cell ribbon synapse. *J Neurosci*, 30, 4210-20.
- GU, J. W., HALPIN, C. F., NAM, E. C., LEVINE, R. A. & MELCHER, J. R. 2010. Tinnitus, diminished sound-level tolerance, and elevated auditory activity in humans with clinically normal hearing sensitivity. *J Neurophysiol*, 104, 3361-70.
- GUEST, H., MUNRO, K. J., PRENDERGAST, G., HOWE, S. & PLACK, C. J. 2017. Tinnitus with a normal audiogram: Relation to noise exposure but no evidence for cochlear synaptopathy. *Hear Res*, 344, 265-274.
- HÉBERT, S., CANLON, B. & HASSON, D. 2012. Emotional exhaustion as a predictor of tinnitus. *Psychother Psychosom*, 81, 324-6.
- HEIL, P., NEUBAUER, H., BROWN, M. & IRVINE, D. R. 2008. Towards a unifying basis of auditory thresholds: distributions of the first-spike latencies of auditory-nerve fibers. *Hear Res*, 238, 25-38.
- HENRY, J. A., ROBERTS, L. E., CASPARY, D. M., THEODOROFF, S. M. & SALVI, R. J. 2014. Underlying mechanisms of tinnitus: review and clinical implications. *J Am Acad Audiol*, 25, 5-22; quiz 126.
- HOFMEIER, B., WOLPERT, S., ALDAMER, E. S., WALTER, M., THIERICKE, J., BRAUN, C., ZELLE, D., RUTTIGER, L., KLOSE, U. & KNIPPER, M. 2018.

- Reduced sound-evoked and resting-state BOLD fMRI connectivity in tinnitus. *Neuroimage Clin*, 20, 637-649.
- HWANG, J. H., TSAI, S. J., LIU, T. C., CHEN, Y. C. & LAI, J. T. 2018. Association of Tinnitus and Other Cochlear Disorders With a History of Migraines. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 144, 712-717.
- ITAMI, C., KIMURA, F. & NAKAMURA, S. 2007. Brain-derived neurotrophic factor regulates the maturation of layer 4 fast-spiking cells after the second postnatal week in the developing barrel cortex. *J Neurosci*, 27, 2241-52.
- JASTREBOFF, P. J. 1999. Tinnitus retraining therapy. *Br J Audiol*, 33, 68-70.
- JOHNSON, D. H. & KIANG, N. Y. 1976. Analysis of discharges recorded simultaneously from pairs of auditory nerve fibers. *Biophys J*, 16, 719-34.
- KALAPPA, B. I., BROZOSKI, T. J., TURNER, J. G. & CASPARY, D. M. 2014. Single unit hyperactivity and bursting in the auditory thalamus of awake rats directly correlates with behavioural evidence of tinnitus. *J Physiol*, 592, 5065-78.
- KALTENBACH, J. A., ZACHAREK, M. A., ZHANG, J. & FREDERICK, S. 2004. Activity in the dorsal cochlear nucleus of hamsters previously tested for tinnitus following intense tone exposure. *Neurosci Lett*, 355, 121-5.
- KILGARD, M. P. & MERZENICH, M. M. 1998. Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity. *Science*, 279, 1714-8.
- KIM, J. Y., KIM, Y. H., LEE, S., SEO, J. H., SONG, H. J., CHO, J. H. & CHANG, Y. 2012. Alteration of functional connectivity in tinnitus brain revealed by resting-state fMRI? A pilot study. *Int J Audiol*, 51, 413-7.
- KNIPPER, M., MÜLLER, M. & ZIMMERMANN, U. 2012. Molecular Mechanism of Tinnitus. In: EGGERMONT, J., ZENG, F.-G., POPPER, A. & FAY, R. (eds.) *Springer Handbook of Auditory Research: TINNITUS*. New York Heidelberg, Dordrecht London: Springer
- KNIPPER, M., VAN DIJK, P., NUNES, I., RÜTTIGER, L. & ZIMMERMANN, U. 2013a. Advances in the neurobiology of hearing disorders: recent developments regarding the basis of tinnitus and hyperacusis. *Prog Neurobiol*, 111, 17-33.
- KNIPPER, M., VAN DIJK, P., NUNES, I., RÜTTIGER, L. & ZIMMERMANN, U. 2013b. Advances in the neurobiology of hearing disorders: recent developments regarding the basis of tinnitus and hyperacusis. *Prog Neurobiol.*, 111, 17-33.
- KRAUS, N. & WHITE-SCHWOCH, T. 2015. Unraveling the Biology of Auditory Learning: A Cognitive-Sensorimotor-Reward Framework. *Trends Cogn Sci*, 19, 642-54.
- KWON O, J. M., HU S ET A 1999. Modification of single-unit activity related to noise-induced tinnitus in rats. *Proceedings of the Sixth International Tinnitus Seminar*, 459-462.
- LANGERS, D. R., DE KLEINE, E. & VAN DIJK, P. 2012. Tinnitus does not require macroscopic tonotopic map reorganization. *Front Syst Neurosci*, 6, 2.
- LANTING, C. P., DE KLEINE, E., LANGERS, D. R. & VAN DIJK, P. 2014. Unilateral tinnitus: changes in connectivity and response lateralization measured with fMRI. *PLoS One*, 9, e110704.

- LEE, S. Y., NAM, D. W., KOO, J. W., DE RIDDER, D., VANNESTE, S. & SONG, J. J. 2017. No auditory experience, no tinnitus: Lessons from subjects with congenital- and acquired single-sided deafness. *Hear Res*, 354, 9-15.
- LETO J., S. T. M. 2010. Closer to the Edge. *This is war*.
- LIBERMAN, M. C. & BEIL, D. G. 1979. Hair cell condition and auditory nerve response in normal and noise-damaged cochleas. *Acta Otolaryngol*, 88, 161-76.
- LOCKWOOD, A. H., SALVI, R. J. & BURKARD, R. F. 2002. Tinnitus. *N Engl J Med*, 347, 904-10.
- LOGOTHETIS, N. K. & PFEUFFER, J. 2004. On the nature of the BOLD fMRI contrast mechanism. *Magn Reson Imaging*, 22, 1517-31.
- LOPEZ-JORNET, P., ZAVATTARO, E., MOZAFFARI, H. R., RAMEZANI, M. & SADEGHI, M. 2019. Evaluation of the Salivary Level of Cortisol in Patients with Oral Lichen Planus: A Meta-Analysis. *Medicina (Kaunas)*, 55.
- MARKS, K. L., MARTEL, D. T., WU, C., BASURA, G. J., ROBERTS, L. E., SCHVARTZ-LEYZAC, K. C. & SHORE, S. E. 2018. Auditory-somatosensory bimodal stimulation desynchronizes brain circuitry to reduce tinnitus in guinea pigs and humans. *Sci Transl Med*, 10.
- MAZUREK, B., HAUPT, H., OLZE, H. & SZCZEPEK, A. J. 2012. Stress and tinnitus-from bedside to bench and back. *Front Syst Neurosci*, 6, 47.
- MAZUREK, B., SZCZEPEK, A. J. & BRUGGEMANN, P. 2017. [Tinnitus - Clinical Symptoms and Therapy]. *Laryngorhinootologie*, 96, 47-59.
- MEDDIS, R. 2006. Auditory-nerve first-spike latency and auditory absolute threshold: a computer model. *J Acoust Soc Am*, 119, 406-17.
- MELCHER, J. R. & KIANG, N. Y. 1996. Generators of the brainstem auditory evoked potential in cat. III: Identified cell populations. *Hear Res*, 93, 52-71.
- MOHRLE, D., HOFMEIER, B., AMEND, M., WOLPERT, S., NI, K., BING, D., KLOSE, U., PICHLER, B., KNIPPER, M. & RUTTIGER, L. 2019. Enhanced Central Neural Gain Compensates Acoustic Trauma-induced Cochlear Impairment, but Unlikely Correlates with Tinnitus and Hyperacusis. *Neuroscience*, 407, 146-169.
- MOLLER, A. R., JANNETTA, P. J. & JHO, H. D. 1994. Click-evoked responses from the cochlear nucleus: a study in human. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 92, 215-24.
- MOLLER, A. R., SALVI, R., DE RIDDER, D., KLEINJUNG, T. & VANNESTE, S. 2015. Pathology of Tinnitus and Hyperacusis-Clinical Implications. *Biomed Res Int*, 2015, 608437.
- MULLER, M., KLINKE, R., ARNOLD, W. & OESTREICHER, E. 2003. Auditory nerve fibre responses to salicylate revisited. *Hear Res*, 183, 37-43.
- MUMFORD, J. A. 2012. A power calculation guide for fMRI studies. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 7, 738-742.
- NORENA, A. J. 2015. Revisiting the cochlear and central mechanisms of tinnitus and therapeutic approaches. *Audiol Neurootol*, 20 Suppl 1, 53-9.

- NORENA, A. J. & EGGERMONT, J. J. 2003. Changes in spontaneous neural activity immediately after an acoustic trauma: implications for neural correlates of tinnitus. *Hear Res*, 183, 137-53.
- PORTMANN, M., CAZALS, Y., NEGREVERGNE, M. & ARAN, J. M. 1980. Transtympanic and surface recordings in the diagnosis of retrocochlear disorders. *Acta Otolaryngol*, 89, 362-9.
- RALLI, M., GRECO, A., CIALENTE, F., DI STADIO, A., DE VIRGILIO, A., LONGO, L., CIOFALO, A., TURCHETTA, R., CIANFRONE, G. & VINCENZI, M. 2017. Somatic Tinnitus. *Int Tinnitus J*, 21, 112-121.
- ROBERTS, L. E., EGGERMONT, J. J., CASPARY, D. M., SHORE, S. E., MELCHER, J. R. & KALTENBACH, J. A. 2010. Ringing ears: the neuroscience of tinnitus. *J Neurosci*, 30, 14972-9.
- ROBERTS, L. E. & SALVI, R. 2019. Overview: Hearing loss, tinnitus, hyperacusis, and the role of central gain. *Neuroscience*, 407, 1-7.
- RÜTTIGER, L., SINGER, W., PANFORD-WALSH, R., MATSUMOTO, M., LEE, S. C., ZUCCOTTI, A., ZIMMERMANN, U., JAUMANN, M., ROHBOCK, K., XIONG, H. & KNIPPER, M. 2013. The reduced cochlear output and the failure to adapt the central auditory response causes tinnitus in noise exposed rats. *PLoS One*, 8, e57247.
- RÜTTIGER, L., ZIMMERMANN, U. & KNIPPER, M. 2017. Biomarkers for Hearing Dysfunction: Facts and Outlook. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 79, 93-111.
- RYN, M., ERB, M., KLOSE U. 2009. Detection of fMRI Activations After Acoustic Stimulation by Correlation Analysis. *IFMBE Proceedings*, 25/II, 193-196.
- SADAGHIANI, S., HESSELMANN, G. & KLEINSCHMIDT, A. 2009. Distributed and antagonistic contributions of ongoing activity fluctuations to auditory stimulus detection. *J Neurosci*, 29, 13410-7.
- SAUNDERS, J. C. 2007. The role of central nervous system plasticity in tinnitus. *J Commun Disord*, 40, 313-34.
- SCHAETTE, R. & KEMPTER, R. 2012. Computational models of neurophysiological correlates of tinnitus. *Front Syst Neurosci*, 6, 34.
- SCHAETTE, R. & MCALPINE, D. 2011a. Tinnitus with a normal audiogram: physiological evidence for hidden hearing loss and computational model. *J. Neurosci.*, 31, 13452-7.
- SCHAETTE, R. & MCALPINE, D. 2011b. Tinnitus with a normal audiogram: physiological evidence for hidden hearing loss and computational model. *J Neurosci*, 31, 13452-7.
- SCHECKLMANN, M., LEHNER, A., POEPPL, T. B., KREUZER, P. M., RUPPRECHT, R., RACKL, J., BURGER, J., FRANK, E., HAJAK, G., LANGGUTH, B. & LANDGREBE, M. 2013. Auditory cortex is implicated in tinnitus distress: a voxel-based morphometry study. *Brain Struct Funct*, 218, 1061-70.
- SCHNEIDER, P., ANDERMANN, M., WENGENROTH, M., GOEBEL, R., FLOR, H., RUPP, A. & DIESCH, E. 2009. Reduced volume of Heschl's gyrus in tinnitus. *Neuroimage*, 45, 927-39.

- SCHUKNECHT 1974. *Pathology of the Ear*, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- SEDLEY, W., FRISTON, K. J., GANDER, P. E., KUMAR, S. & GRIFFITHS, T. D. 2016. An Integrative Tinnitus Model Based on Sensory Precision. *Trends Neurosci*, 39, 799-812.
- SHARGORODSKY, J., CURHAN, G. C. & FARWELL, W. R. 2010. Prevalence and characteristics of tinnitus among US adults. *Am J Med*, 123, 711-8.
- SHIOMI, Y., TSUJI, J., NAITO, Y., FUJIKI, N. & YAMAMOTO, N. 1997. Characteristics of DPOAE audiogram in tinnitus patients. *Hear Res*, 108, 83-8.
- SHORE, S. E., ROBERTS, L. E. & LANGGUTH, B. 2016. Maladaptive plasticity in tinnitus--triggers, mechanisms and treatment. *Nat Rev Neurol*, 12, 150-60.
- SINGER, W., KASINI, K., MANTHEY, M., ECKERT, P., ARMBRUSTER, P., VOGT, M., JAUMANN, M., DOTTA, M., YAMAHARA, K., HARASZTOSI, C., ZIMMERMANN, U., KNIPPER, M. & RÜTTIGER, L. 2018. The glucocorticoid antagonist mifepristone attenuates sound-induced long-term deficits in auditory nerve response and central auditory processing in female rats. *FASEB J*, 32.
- SINGER, W., ZUCCOTTI, A., JAUMANN, M., LEE, S. C., PANFORD-WALSH, R., XIONG, H., ZIMMERMANN, U., FRANZ, C., GEISLER, H. S., KÖPSCHALL, I., ROHBOCK, K., VARAKINA, K., VERPOORTEN, S., REINBOTHE, T., SCHIMMANG, T., RÜTTIGER, L. & KNIPPER, M. 2013a. Noise-induced inner hair cell ribbon loss disturbs central arc mobilization: a novel molecular paradigm for understanding tinnitus. *Mol Neurobiol*, 47, 261-79.
- SINGER, W., ZUCCOTTI, A., JAUMANN, M., LEE, S. C., PANFORD-WALSH, R., XIONG, H., ZIMMERMANN, U., FRANZ, C., GEISLER, H. S., KÖPSCHALL, I., ROHBOCK, K., VARAKINA, K., VERPOORTEN, S., REINBOTHE, T., SCHIMMANG, T., RÜTTIGER, L. & KNIPPER, M. 2013b. Noise-induced inner hair cell ribbon loss disturbs central arc mobilization: a novel molecular paradigm for understanding tinnitus. *Mol. Neurobiol.*, 47, 261-79.
- SIRIMANNA, T., STEPHENS, D. & BOARD, T. 1996. Tinnitus and audioscan notches. *J Audiol Med*, 5, 38-48.
- SONG, J. J., DE RIDDER, D., WEISZ, N., SCHLEE, W., VAN DE HEYNING, P. & VANNESTE, S. 2014. Hyperacusis-associated pathological resting-state brain oscillations in the tinnitus brain: a hyperresponsiveness network with paradoxically inactive auditory cortex. *Brain Struct Funct*, 219, 1113-28.
- STEFANESCU, R. A. & SHORE, S. E. 2017. Muscarinic acetylcholine receptors control baseline activity and Hebbian stimulus timing-dependent plasticity in fusiform cells of the dorsal cochlear nucleus. *J Neurophysiol*, 117, 1229-1238.
- SULLIVAN, R. M. & GRATTON, A. 2002. Prefrontal cortical regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal function in the rat and implications for psychopathology: side matters. *Psychoneuroendocrinology*, 27, 99-114.
- TAN, C. M., LECLUYSE, W., MCFERRAN, D. & MEDDIS, R. 2013. Tinnitus and patterns of hearing loss. *J Assoc Res Otolaryngol*, 14, 275-82.

- TEIPEL, S. J., STAHL, R., DIETRICH, O., SCHOENBERG, S. O., PERNECZKY, R., BOKDE, A. L., REISER, M. F., MOLLER, H. J. & HAMPEL, H. 2007. Multivariate network analysis of fiber tract integrity in Alzheimer's disease. *Neuroimage*, 34, 985-95.
- TYLER, R., COELHO, C., TAO, P., JI, H., NOBLE, W., GEHRINGER, A. & GOGEL, S. 2008. Identifying tinnitus subgroups with cluster analysis. *Am J Audiol*, 17, S176-84.
- VANNESTE, S., PLAZIER, M., DER LOO, E., DE HEYNING, P. V., CONGEDO, M. & DE RIDDER, D. 2010. The neural correlates of tinnitus-related distress. *Neuroimage*, 52, 470-80.
- VERBEETEN, K. C. & AHMET, A. H. 2017. The role of corticosteroid-binding globulin in the evaluation of adrenal insufficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab*.
- WANG, J., RAO, H., WETMORE, G. S., FURLAN, P. M., KORCZYKOWSKI, M., DINGES, D. F. & DETRE, J. A. 2005. Perfusion functional MRI reveals cerebral blood flow pattern under psychological stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 17804-9.
- WEINBERGER, N. M. 2015. New perspectives on the auditory cortex: learning and memory. *Handb Clin Neurol*, 129, 117-47.
- WEISZ, N., HARTMANN, T., DOHRMANN, K., SCHLEE, W. & NORENA, A. 2006. High-frequency tinnitus without hearing loss does not mean absence of deafferentation. *Hear Res*, 222, 108-14.
- WEISZ, N., MORATTI, S., MEINZER, M., DOHRMANN, K. & ELBERT, T. 2005. Tinnitus perception and distress is related to abnormal spontaneous brain activity as measured by magnetoencephalography. *PLoS Med*, 2, e153.
- WEISZ, N., MULLER, S., SCHLEE, W., DOHRMANN, K., HARTMANN, T. & ELBERT, T. 2007. The neural code of auditory phantom perception. *J Neurosci*, 27, 1479-84.
- WU, C., STEFANESCU, R. A., MARTEL, D. T. & SHORE, S. E. 2016. Tinnitus: Maladaptive auditory-somatosensory plasticity. *Hear Res*, 334, 20-9.
- YANG, S. & BAO, S. 2013. Homeostatic mechanisms and treatment of tinnitus. *Restor Neurol Neurosci*, 31, 99-108.
- YANG, S., WEINER, B. D., ZHANG, L. S., CHO, S. J. & BAO, S. 2011. Homeostatic plasticity drives tinnitus perception in an animal model. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108, 14974-9.
- ZENG, F. G. 2013. An active loudness model suggesting tinnitus as increased central noise and hyperacusis as increased nonlinear gain. *Hear Res*, 295, 172-9.
- ZENNER, H. P., PFISTER, M. & BIRBAUMER, N. 2006. Tinnitus sensitization: Sensory and psychophysiological aspects of a new pathway of acquired centralization of chronic tinnitus. *Otol Neurotol*, 27, 1054-63.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Anordnung der ABR Elektroden

Abb. 2 Exemplarische Darstellung eines Chirp-Stimulus

Abb. 3 MRT- Blockdesign

Abb. 4 Einzel-Reintonaudiogramme

Abb. 5 Gemittelte Reintonaudiogramme

Abb. 6 Tympanometrie

Abb. 7 Tinnitus-Korrelation I

Abb. 8 Tinnitus-Korrelation II

Abb. 9 Cortisol im Speichel

Abb. 10 Anatomie der Hörbahn und deren Repräsentation in der ABR-Welle

Abb. 11 Exemplarische ABR-Kurve der Kontrollprobandin K001

Abb. 12 Exemplarische ABR-Kurve des Tinnitusprobanden T007

Abb. 13 ABR-Wellen-Peak-Identifikation anhand der orientierenden Zeitintervalle

Abb. 14 Bestimmung der ABR-Wellen Amplitude und Latenz

Abb. 15 ABR-Feinstruktur-Amplitudenreduktion und Latenz-Verlängerung ABR-Welle V

Abb. 16 Exemplarische Darstellung der fMRT-BOLD Aktivität im auditorischen Cortex

Abb. 17 fMRT BOLD-Aktivitätsverlauf im Block-Design

Abb. 18 Ergebnisübersicht

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Zeitliche Auswertungsintervalle ABR-Wellen	11
Tabelle 2 fMRT-Messeinstellung.....	12
Tabelle 3 Chirp-Frequenzspektren.....	13
Tabelle 4 ROI-Koordinaten.....	18
Tabelle 5 Übersicht Untersuchungsablauf	21
Tabelle 6 Statistische Werte der Reintonaudiometrie	27
Tabelle 7 Merkmalsausprägungen der Tinnitus- und Kontrollprobanden.....	31
Tabelle 8 Tinnitus-Fragebogen	33
Tabelle 9 Statistische Werte der Speichel Cortisol-Messung.....	38
Tabelle 10 Tinnitusbestimmung	39
Tabelle 11 Statistische Werte der ABR-Amplitude.....	48
Tabelle 12 Statistische Werte der ABR-Latenz	48
Tabelle 13 Übersicht der akustisch evozierten fMRT BOLD-Aktivität	54

Anhangsverzeichnis

Anhang A Studieninformationsflyer	83
Anhang B Rekrutierungs-E-Mail.....	85
Anhang C Informationsblatt zur Probenhandhabung	86
Anhang D Checkliste der Ein- und Ausschlusskriterien	87
Anhang E Einverständniserklärung und Datenschutzerklärung	89
Anhang F Hyperakusisfragebogen.....	93

Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Betreuung von Prof. Dr. rer. nat. Marlies Knipper in der Abteilung Molekulare Hörphysiologie an der Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde Tübingen und von Prof. Dr. rer. nat. Uwe Klose, in der Abteilung Diagnostische und Interventionelle Neuroradiologie der Universitätsklinik Tübingen durchgeführt. Der klinische Anteil der Arbeit, welche audiometrische Messungen (Reintonaudiometrie, Tinnitus-Bestimmung, Tympanometrie, Stapediusreflexmessung und Hirnstammaudiometrie) und ebenso die Entnahme von Körperflüssigkeiten (Blut, Speichel, Urin) umfassten, wurde von Oberarzt Dr. med. Stephan Wolpert, Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde Tübingen, betreut.

- ◆ Die Konzeption der Studie wurde im Team von Prof. Dr. rer. nat. Marlies Knipper, Prof. Dr. rer. nat. Uwe Klose, PD. Dr. rer. nat. Lukas Rüttiger, und Oberarzt Dr. med. Stephan Wolpert in Zusammenarbeit mit mir, Moritz Walter, entwickelt.
- ◆ Der Ethikantrag (German Clinical Trials Register DRKS0006332) wurde von Dr. med. Stephan Wolpert, Prof. Dr. rer. nat. Uwe Klose, und Prof. Dr. rer. nat. Marlies Knipper konzipiert. Dabei übernahm Oberarzt Dr. med. Stephan Wolpert als Studienarzt die Studienleitung.
- ◆ Mein Eigenanteil an der Erhebung der Göbel-Tinnitus-Fragebögen Abb.7; Abb. 8; Tab 8 (Hofmeier et al. 2018 Fig 2; Fig. S2; Supplementary Table 1) und des „Tinnitus-case report form“ Abb. 7, (Hofmeier et al. 2018 Fig 2) ebenso wie die Tinnitus-Bestimmung Tab. 10 (Hofmeier et al. 2018 Supplementary Table 1) liegt bei ca. 23,7% d.h. 9 von 38 Tinnitusprobanden. Die Einarbeitung übernahm Dr. med. Stephan Wolpert. Von diesen 9 Tinnitusprobanden wurden letztlich 6 in die publizierte Studie (Hofmeier et al. 2018) einbezogen. Die Datenanalyse erfolgte erst nach Messung von 70 Tinnitus- und Kontrollprobanden und wurde von Benedikt Hofmeier durchgeführt.
- ◆ Der Eigenanteil an der Erhebung und Extraktion der Daten der Reintonaudiometrie Abb. 4; Abb.5 (Hofmeier et al 2018 Supplementary Fig. S1, Fig.1), der Tympanometrie und Stapediusreflex-Messungen Abb. 6 liegt bei ca.

22,8% d.h. 16 von 70 Tinnitus- und Kontrollprobanden. Die Erhebung dieser Daten fand in Zusammenarbeit mit den Audiometristinnen der Universitätsklinik für Hals-Nase-Ohrenheilkunde Tübingen statt. Die Einarbeitung übernahm Dr. med. Stephan Wolpert. Von diesen 16 Tinnitus- und Kontrollprobanden wurden letztlich 10 in die publizierte Studie (Hofmeier et al. 2018) einbezogen. Die Datenanalyse erfolgte erst nach Messung von 70 Tinnitus- und Kontrollprobanden und wurde von Benedikt Hofmeier durchgeführt.

- ◆ Der Eigenanteil an der Erhebung, Extraktion der Feinstruktur Analyse der überschwelligen ABR-Wellen Analyse Abb. 15 (Hofmeier et al 2018 Fig 3) lag bei ca. 22,8% d.h. 16 von 70 Tinnitus- und Kontrollprobanden. Die Einarbeitung übernahm Dr. med. Stephan Wolpert. Von diesen 16 Tinnitus- und Kontrollprobanden wurden letztlich 10 in die publizierte Studie (Hofmeier et al. 2018) einbezogen. Die Datenanalyse erfolgte erst nach Messung von 70 Tinnitus- und Kontrollprobanden und wurde von Benedikt Hofmeier und PD. Dr. rer. nat. Lukas Rüttiger durchgeführt.
- ◆ Der Eigenanteil an den Abbildungen der exemplarischen ABR-Wellen-Kurve Abb. 11, Abb. 12, und den ABR-Auswertungsdarstellungen Abb. 13 und Abb. 14 liegt bei 100%.
- ◆ Mein Eigenanteil an der Erhebung der Speichel-Cortisol-Werte Abb. 9 (Hofmeier et al. 2018 Fig 7.) lag bei 16 von 70 Tinnitus- und Kontrollprobanden (ca. 22,8%). Die Einarbeitung übernahm Dr. med. Stephan Wolpert. Von diesen 16 Tinnitus- und Kontrollprobanden wurden letztlich 10 in die publizierte Studie (Hofmeier et al. 2018) einbezogen. Die Datenanalyse erfolgte erst nach Messung von 70 Tinnitus- und Kontrollprobanden und wurde von Benedikt Hofmeier durchgeführt.
- ◆ Der Eigenanteil an der Erhebung und Vorverarbeitung der akustische evozierten fMRT-Daten Tab. 13 (Hofmeier et al. 2018 table 2.) lag bei 16 von 70 Tinnitus- und Kontrollprobanden (ca. 22,8%). Unterstützung erhielt ich dabei von Prof. Dr. rer. nat Uwe Klose und Anja Stierl. Von diesen 16 Tinnitus- und Kontrollprobanden wurden letztlich 10 in die publizierte Studie (Hofmeier et al. 2018) einbezogen. Die Datenanalyse erfolgte erst nach Messung von 70

Tinnitus- und Kontrollprobanden und wurde von Benedikt Hofmeier und Prof. Dr. rer. nat Uwe Klose durchgeführt.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Prof. Dr. Marlies Knipper verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegeben Quellen verwendet zu haben.

Tübingen den,

Unterschrift

Veröffentlichungen

HOFMEIER, B., WOLPERT, S., ALDAMER, E. S., **WALTER, M.**, THIERICKE, J., BRAUN, C., ZELLE, D., RUTTIGER, L., KLOSE, U. & KNIPPER, M. 2018. Reduced sound-evoked and resting-state BOLD fMRI connectivity in tinnitus. *Neuroimage Clin*, 20, 637-649.

Danksagung

Der erste Dank gilt meiner Doktormutter Professor Dr. Marlies Knipper, die mir auf dem langen Weg der Promotion immer wieder Halt und Orientierung gab und mich bestens unterstützte.

Ebenso gilt mein Dank Prof. Dr. Uwe Klose, auf dessen Unterstützung ich mich stets verlassen konnte und der für mich immer ein offenes Ohr hatte.

Besonders danke ich auch Dr. med Stephan Wolpert, der mich in die audiologischen Verfahren einführte und viel Zeit und Engagement für meine Betreuung verwendete.

PD. Dr. Lukas Rüttiger hatte für jedes Problem gute und kritische Anregungen, die mir eine große Hilfe waren.

Ich möchte mich auch bedanken bei meinen Kollegen der gemeinsamen Arbeitsgruppe Benedikt Hofmeier, sowie Ebrahim Saad Aldamer, die die Studie nach mir weitergeführt und ausgewertet haben und mich in vielerlei Hinsicht unterstützt haben.

Mein Dank gilt folgenden weiteren Personen, die in unterschiedlichen Umfang aber alle maßgeblich an der Realisierung meiner Dissertation mitgewirkt haben, Newenka Podgornik, Ursula Frey, Renate Bauchert, Cincia Pocchiari, Susanne Göhner, und Anja Stierl, sowie Kerstin Just.

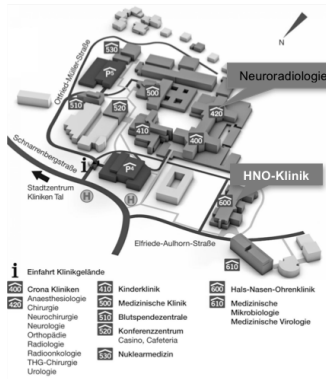
Meiner Familie danke ich für ihre Unterstützung und den Rückhalt, den sie mir seit meiner Geburt schenken.

Anhang

Anhang A Studieninformationsflyer

Standort/Lageplan/Anfahrt

Parkmöglichkeiten
 UKT Parkhaus Crona P4
 Hoppe-Seyler-Straße 1
 72076 Tübingen



Ansprechpartner/Info/Beteiligte

Kontakt

Moritz Walter
Tel. 07071/29-88202
 Email: Moritz.Walter@med.uni-tuebingen.de

Universitätsklinikum Tübingen
Klinik für Hals-Nasen-Ohren Heilkunde
 Dr. med. Stephan Wolpert (Studienleiter)
 Dr. med. John Thiericke
 Elfriede-Aulhorn-Str. 5
 72076 Tübingen

Tübinger Hörforschungszentrum (THRC)

Prof. Marlies Knipper
 Sektion Molekulare Hörphysiologie
 Elfriede-Aulhorn-Str. 5
 72076 Tübingen

Bereich MR Forschung

Prof. Klose
 Abteilung für Diagnostische und Interventionelle
 Neuroradiologie
 Hoppe-Seyler-Straße 3
 72076 Tübingen

Universitätsklinik für Hals-Nasen-und Ohrenheilkunde



fMRI-Hirnstamm Aktivitätsdarstellung von Tinnitus-Patienten und Vergleichspersonen (klinische Studie)



Allgemeines

Was ist Tinnitus?

Tinnitus (Ohrensausen) ist eine Fehlfunktion unseres Hörsinns, bei der ohne eine äußere Geräuschquelle Phantomgeräusche wahrgenommen werden. Die neurophysiologischen Grundlagen bei der Entstehung von Tinnitus sind bisher noch nicht vollständig verstanden.

Tierexperimentelle und molekularbiologische Forschungsergebnisse aus unserem Hörforschungszentrum geben Hinweise darauf, dass bei der Tinnitusentstehung u.a. Stresshormone, fehlende spezifische Aktivierung von Hirnstammstrukturen und Schädigungen des Innenohrs eine wichtige Rolle spielen. In der vorliegenden klinischen Studie soll in einem interdisziplinären Ansatz mittels hörphysiologischer Untersuchungen (Hörtests), funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRT) und der Untersuchung von Stresshormonen dieser Zusammenhang überprüft werden.

Hierfür suche wir freiwillige Teilnehmer mit / ohne einem chronischen Ohrgeräusch (Tinnitus). Eine Teilnahme ist sowohl bei normalem Gehör als auch bei moderatem Hörverlust möglich.

Studienziel

Ziel der Studie ist, mittels fMRT den Aktivitätszustand verschiedener Hirnareale mit und ohne Tinnitus zu bestimmen und den Zusammenhang von Innenohrschäden, Stresshormonen und weiteren Faktoren bei der Entstehung von Tinnitus zu ergründen. Mit den Erkenntnissen erhoffen wir uns neue Möglichkeiten zur Entwicklung diagnostischer und individualisierter Therapien für Tinnitusbetroffene.

Wie läuft die Studie ab?

Studienablauf

Wir planen für die Teilnehmer der Studie **zwei Besuche** ein:

In der HNO-Universitätsklinik werden wir beim **ersten Besuch** verschiedene Höruntersuchungen mit Tinnitus-Bestimmung und eine Speichel-, Urin-, und Blutentnahme durchführen.

Die Blutentnahme ist notwendig um die Verträglichkeit der fMRT zu untersuchen und um Ihre Stresshormon (Cortisol)-Konzentration zu bestimmen. **(Dauer ca. 4 ½h)**

Wir werden Sie auch bitten uns zwei weitere Urin- und Speichelproben zum zweiten Besuch mitzubringen, in denen wir durch eine neues Verfahren ebenfalls die Stresshormon-Konzentrationen bestimmen wollen.

In der Abteilung Neuroradiologie findet der **zweite Besuch** statt, hier wird die fMRT-Untersuchung durchgeführt.

Sollte bei Ihnen ein Tinnitus vorliegen wird während der Messungen noch zusätzlich eine spezielle MRT-Aufnahme mit Kontrastmittel angefertigt um ein sog. „Akustikusneurinom“ auszuschließen. Das „Akustikusneurinom“ ist eine gutartige Geschwulst des Hörnerves, welche in seltenen Fällen Ursache für das Ohrgeräusch sein kann. Bei Vorliegen eines chronischen Tinnitus sollte einmalig eine solche MRT Untersuchung durchgeführt werden. **(Dauer ca. 2h)**

Aufwandsentschädigung:

Für die von Ihnen bereitgestellte Zeit können wir Ihnen, bei einem Studieneinschluss, eine Aufwandsentschädigung von **50€** erstatten.

Komme ich für die Studie in Frage?

Einschlusskriterien für die Studie:

(Sie können teilnehmen wenn die unten genannten Punkte zutreffen)

- **Kein Tinnitus** oder **Tinnitus einseitig/beidseitig**
- **Kein Hörverlust** oder **nur leichter Hörverlust**
- **Alter:** 18 – 70 Jahre.

Ausschlusskriterien für die Studie:

(Sie können nicht teilnehmen wenn die unten genannten Punkte zutreffen)

- Schwangerschaft
- Tinnitus-Therapie
- Klaustrophobie (Platzangst)
- Metallimplantate die nicht MRT fähig sind

Risiken

Welche Risiken bestehen für mich?

Es besteht ein sehr geringes Risiko bei Blutentnahme und fMRT.

- (i) fMRT-Untersuchung findet in einem in der klinischen Routine (Neuroradiologie) verwendeten und zertifizierten MR-Tomographen statt.

Anhang B Rekrutierungs-E-Mail

Betreff: Hörgeschädigte Probanden und Tinnitusbetroffene für klinische Studie ab sofort gesucht

Liebe Studien-Interessierte,
die HNO-Klinik sucht für eine Studie Probanden mit und ohne Tinnitus, um die Ursachen für Schwerhörigkeit und Tinnitus (Ohrgeräuschen) zu untersuchen. Sie werden sehr gründlich untersucht, und zwar mit Hör- und Tinnitustests sowie funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRT). Dadurch soll der Aktivitätszustand der Patienten bestimmt werden, um den Zusammenhang von Innenohrschäden und bspw. Stressereignissen bei der Entstehung von Tinnitus zu ergründen und die Möglichkeit neuer diagnostischer und individualisierter therapeutischer Ansätze zu eröffnen.

Die Studie beinhaltet zwei Untersuchungstermine. In einer Voruntersuchung (ca. 2-3h) wird mittels Hörmessungen (Hörtest) das Hörvermögen überprüft.

In einer zweiten Untersuchung (ca. 2h) wird an einem separaten Termin eine fMRI Untersuchung durchgeführt.

Für die von Ihnen bereitgestellte Zeit können wir Ihnen ein Aufwandsentschädigung von 50€ erstatten.

Über Ihre Teilnahme würden wir uns sehr freuen.

Wenn Sie Interesse haben bzw. weitere Informationen erhalten möchten melden Sie sich telefonisch Mo-Fr 9-18 Uhr bei:

Moritz Walter (cand. med.)
07071/2988202

oder per Email unter:

Hno.tinnitus.studie@med.uni-tuebingen.de

Studienverantwortlicher

Dr. med. Stephan Wolpert

Impressum:

Prof. Marlies Knipper
Molecular Physiology of Hearing, AG Knipper
Hearing Research Centre Tübingen, THRC
Elfriede Aulhornstr. 5
72076 Tübingen

Anhang C Informationsblatt zur Probenhandhabung

Handhabung der Speichel und Urin proben:

Wir bitten Sie alle Proben einen Tag vor Ihrem zweite Besuch anzufertigen.
(Bspw. am Donnerstag Morgen nach dem Aufstehen und am Donnerstag Abend um 23:00 Uhr, bei einem Termin am Freitag)

Schema Probenentnahme:

Direkt nach dem Aufstehen:	Am Abend um 23:00
1.)Urin- & Speichelprobe	2.)Urin- & Speichelprobe

- **Schreiben Sie die Uhrzeit und das Datum auf die Proben**
- **Bringen Sie die Proben bitte zum zweiten Besuch in die Neuroradiologie mit.**

Wichtiger Hinweis:

-Vor der Speichelprobenentnahme bitte 30 Minuten keine Nahrung und Medikamente einnehmen, da sonst die Proben verunreinigt werden.

Hinweise zur Probenentnahme:

Speichelprobe:

- Watterolle aus dem Gefäß entnehmen
- In den Mund nehmen und etwa 1 Minute lang leicht kauen.
- Das Wattestäbchen wieder in das Gefäß zurückgeben und verschließen.
- Schreiben Sie bitte die Uhrzeit und das Datum auf das Etikett.

Urinprobe:

- Gehen Sie auf die Toilette und schrauben Sie den Urinbecher auf
- Füllen Sie den Urinbecher etwa zu 2/3 mit ihrem Urin.
- Verschließen Sie den Becher wieder.
- Tragen Sie bitte die Uhrzeit und das Datum auf dem Etikett auf.

Falls Sie fragen haben sollten oder sich über die Probenentnahme unsicher sind, zögern Sie bitte nicht mich zu kontaktieren:

Moritz Walter
Tel: 07071/ 29 88202 oder
Email: Moritz.Walter@med.uni-tuebingen.de

Anhang D Checkliste der Ein- und Ausschlusskriterien

Checkliste für Probanden-Einschluss

Name: _____

Einschlusskriterien



Fallgruppe (mit Tinnitus)

Ja Nein

- kontinuierlicher Tinnitus (>4 Wochen)
 nicht pulsatil (immer wieder auftretend)
 Tinnitus nicht als Begleiterkrankung



Kontrollgruppe (ohne Tinnitus)

Ja Nein

- Kein Tinnitusleiden

Ausschlusskriterien

Ja Nein

Hörsystem

- Hörverlust : _____
 Erleiden eines Knalltraumas
 Jahrelange Lärmexposition
 Chronische Gehörgang- oder Mittelohrentzündung
 Ertaubung (ein-beidseitig)
 Diagnose: Morbus Menière
 Diagnose: Retrocochleäre Hörstörung
 Diagnose: Schalleitungsschwerhörigkeit

Ja Nein

Therapie Hörsystem

- Hörgeräteversorgung
 Ohroperationen
 Tinnitus Therapie : _____

Ja Nein

MRT spezifische Fragen

- Schwangerschaft
 Platzangst
 Kontrastmittelallergie
 Groß Flächige Tätowierungen
 Permanente Metallteile:
 - Herzschrittmacher, Künstliche Herzklappe
 - Granatsplitter
 - Schrauben, Platten von früherer OP
 - permanente Zahnspangen
 - Prothesen
 - Insulinpumpe

Ja Nein **Allgemeine Krankengeschichte**

Schädelhirntrauma(Grad II oder III)

Herz-Kreislaufferkrankungen

Diabetes

Nierenerkrankungen

Behandlung von Krebsleiden (Leukämie)

Allergien: _____

Erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Erwärmung des Körpers

Medikamente: _____

 Behandlung von neurologischen oder psychiatrischen Erkrankungen
(auch medikamentös: Neuroleptika, Haloperidol, L-Dopa)

Alkohol: _____

Drogen: _____

Datum, Ort

Unterschrift

Im unwahrscheinlichen Fall eines Zusatzbefundes möchte ich informiert werden

Anschritt Telefon-Nummer

Tübingen, den _____ _____ _____
Name, Vorname des/ der Probanden/in Unterschrift

14.3 Information zum Datenschutz



Universitätsklinikum Tübingen
Hals-Nasen-Ohren-Klinik
OA Dr. med. Stephan Wolpert
Tel. 07071-29 - 88001
Fax. 07071-29 - 5674
stephan.wolpert@med.uni-tuebingen.de

Radiologische Klinik
Abteilung für diagnostische und
interventionelle Neuroradiologie
Dr. med. Florian Hennersdorf
Tel. 07071-29 - 86024
Fax. 07071-29 - 5638
florian.hennersdorf@med.uni-tuebingen.de

Information zum Datenschutz

für die Teilnahme an der klinischen Studie mit dem Titel:

Funktionelle MR-Tomographie zur Darstellung der Hirnaktivität und der Hörbahn bei Tinnitus-Patienten und Vergleichspersonen

Ihre im Rahmen der wissenschaftlichen Untersuchung erhobenen Daten werden vertraulich behandelt und ausschließlich in verschlüsselter Form verarbeitet, d.h. erhoben, gespeichert, übermittelt, genutzt oder gelöscht. Für Probanden bedeutet das, dass die Aufzeichnung der im Rahmen dieser wissenschaftlichen Untersuchung erhobenen Daten zunächst in den Krankenunterlagen erfolgt, in die der Arzt auch bisher alle Befunde eingetragen hat. Die für die wissenschaftliche Untersuchung wichtigen Daten werden dann in verschlüsselter Form, d.h. pseudonymisiert, nur mit einer sinnfreien Kodierziffer versehen, in einen gesonderten Dokumentationsbogen eingetragen.

Die Zuordnung dieser pseudonymisierten Daten zu Ihrer Person ist nur anhand einer Liste möglich, die in einem verschlossenen Schrank, getrennt von den Studienunterlagen aufbewahrt wird und nur dem Studienleiter und dem Ärztlichen Direktor der Abteilung zugänglich ist. Die Daten werden für die Dauer von 10 Jahren in der HNO-Klinik Tübingen im Zentralarchiv des Universitätsklinikums Tübingen aufbewahrt.

Sollten Sie von der Studie zurücktreten, können Sie entscheiden, ob die bereits vorliegenden Daten vernichtet werden müssen oder weiterverwendet werden dürfen.

Einwilligungserklärung zur Verarbeitung der erhobenen Daten

Ich erkläre mich der Verarbeitung der im Rahmen der Studie „Funktionelle MR-Tomographie zur Darstellung der Hirnaktivität und der Hörbahn bei Tinnitus-Patienten und Vergleichspersonen“ erhobenen Daten in der oben beschriebenen Weise einverstanden. Ich kann jeder Zeit meine Daten beim Studienleiter einsehen.

_____	_____	_____
Tübingen, den	Unterschrift	Name des Probanden /der Probandin in Blockschrift
_____	_____	_____
Tübingen, den	Unterschrift	Name des aufklärenden Arztes/ Wissenschaftlers in Blockschrift

Anhang F Hyperakusisfragebogen

Mini-Geräuschüberempfindlichkeits-Test				
	<i>Stimmt immer</i>	<i>Stimmt oft</i>	<i>Stimmt manchmal</i>	<i>Stimmt nicht</i>
1. Bestimmte Geräusche muss ich meiden.				
2. Ich habe sehr große Angst vor Lärm.				
3. Ich ärgere mich über Geräusche, die mir zu laut und unangenehm sind.				
4. Ich glaube, ich werde meinen Alltag nicht bewältigen können, wenn die Geräuschempfindlichkeit so schlimm bleibt.				
5. Bei lauten/unangenehmen Geräuschen ziehe ich mich sofort zurück.				
6. Haben Sie wegen der Geräuschempfindlichkeit Schwierigkeiten, an geräuschvollen Orten Gespräche zu führen?				
7. Empfinden Sie Lärm in manchen Umgebungen als unangenehm (zum Beispiel in Gaststätten, Lokalen, Konzerten, bei Feuerwerk)?				
8. Wenn Sie jemand bittet, mit Ihnen auszugehen (zum Beispiel ins Kino, ins Konzert, ins Restaurant), denken Sie dann als erstes an die Schwierigkeiten mit den Geräuschen?				
9. Können Sie sich in geräuschvollen Umgebungen schlechter konzentrieren, wenn Sie müde sind oder unter Stress stehen?				