

**Histaminerge Modulation hochfrequenter  
Oszillationen im Hippocampus  
der freibeweglichen Ratte**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

**Anja Knoche**

aus Düsseldorf

Düsseldorf

2001

Aus dem Institut für Physiologische Psychologie I  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
(Direktor: Prof. Dr. J. P. Huston)

Gedruckt mit Genehmigung der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
(Dekan: Prof. Dr. G. Decker)

Referent: Prof. Dr. J.P. Huston  
Korreferent: Prof. Dr. H. Haas

Tag der mündlichen Prüfung: 13.07.2001

## Danksagung

An dieser Stelle bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. J. P. Huston und Prof. Dr. H. Haas sowohl für die Ermöglichung meiner Experimente als auch für die inhaltliche Unterstützung in allen Phasen der vorliegenden Arbeit.

Darüber hinaus danke ich meinem Lebensgefährten Willi Sachs für seine moralische Unterstützung während der Hochs und insbesondere Tiefs über den gesamten Zeitraum der Promotionsarbeit.

Herzlichen Dank auch allen Kollegen und Kolleginnen, die ihren Beitrag zu dieser Arbeit geleistet haben - insbesondere gilt dies Herrn Dr. Hiroyuki Yokoyama für die gute Zusammenarbeit während der experimentellen Phase, Frau Carmen Masanneck für ihre Hilfe in Computerfragen, Herrn Dr. Ritchie Brown für die anregenden und nützlichen Diskussionen, Herrn Josef Flach für die technische Unterstützung und Frau Petra Reiprich, die mir sowohl inhaltlich als auch menschlich stets zur Seite stand.

Mein besonderer Dank gilt meinen Versuchstieren, die ich nach bestem Wissen und Gewissen gehalten habe und die es mir ermöglicht haben diese Versuche durchzuführen.

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen eines von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) geförderten Projektes – Kennwort:

DFG HA 1525/6-2

## Inhaltsverzeichnis

### **A Einleitung**

|          |   |          |
|----------|---|----------|
| <b>1</b> | <b>Das intracerebrale Ableitungsgebiet: Der Hippocampus</b> | <b>2</b> |
| 1.1      | Anatomie des Hippocampus                                    | 3        |
| 1.2      | Fasersysteme  | 4        |
| 1.2.1    | Der Fimbria-Fornix Komplex                                  | 5        |
| 1.2.2    | Afferenzen und Efferenzen hippocampaler Strukturen          | 6        |
| <b>2</b> | <b>Das histaminerge System</b>                              | <b>9</b> |
| 2.1      | Metabolismus  | 10       |
| 2.1.1    | Synthese  | 10       |
| 2.1.2    | Ausschüttung  | 11       |
| 2.1.3    | Katabolismus  | 11       |
| 2.1.4    | Speicherung in Mastzellen                                   | 12       |
| 2.2      | Anatomische Aspekte des histaminergen Systems               | 12       |
| 2.2.1    | Morphologie   | 13       |
| 2.2.2    | Verbindungen des histaminergen Systems                      | 14       |
| 2.2.2.1  | Efferenzen  | 14       |
| 2.2.2.2  | Afferenzen  | 15       |
| 2.3      | Histamin-Rezeptoren   | 16       |
| 2.3.1    | H1-Rezeptor   | 17       |
| 2.3.2    | H2-Rezeptor   | 19       |
| 2.3.3    | H3-Rezeptor   | 20       |
| 2.4      | Elektrophysiologische Aspekte der TM-Neurone                | 21       |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 2.5      | Histaminerge Effekte im Hippocampus                                   | 23        |
| 2.6      | Funktionale Aspekte von Histamin                                      | 25        |
| 2.6.1    | Schlaf-Wach-Verhalten und zirkadiane Rhythmen                         | 25        |
| 2.6.2    | Motorische Aktivität  | 26        |
| 2.6.3    | Aufrichten, Putzen und Schnüffeln                                     | 27        |
| 2.6.4    | Angst   | 27        |
| 2.6.5    | Lernen und Verstärkung  | 28        |
| 2.6.6    | Synaptische Plastizität   | 31        |
| 2.6.7    | Epilepsie   | 32        |
| <b>3</b> | <b>Hippocampales EEG</b>  | <b>33</b> |
| 3.1      | Theta-Aktivität   | 34        |
| 3.2      | Gamma-Oszillation   | 38        |
| 3.3      | Die hochfrequenten Oszillationsmuster:<br>„sharp waves“ und „ripples“ | 40        |
| <b>4</b> | <b>Neurophysiologische Modelle kognitiver Verarbeitung</b>            | <b>44</b> |
| 4.1      | Neurophysiologische Modelle der Gedächtnisformatierung                | 45        |
| 4.2      | Kognitive Korrelate der Gamma-Oszillation                             | 48        |
| 4.3      | Kognitive Korrelate der Theta-Aktivität                               | 50        |
| <b>5</b> | <b>Gegenstand und Fragestellungen der vorliegenden Arbeit</b>         | <b>51</b> |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>B</b> | <b>Empirischer Teil</b>   |           |
| <b>6</b> | <b>Allgemeine Methoden</b>  | <b>54</b> |
| 6.1      | Versuchstiere   | 54        |
| 6.2      | Elektroden, Kanüle  | 54        |
| 6.3      | Operation   | 55        |
| 6.4      | Postoperative Behandlung der Tiere  | 57        |
| 6.5      | Substanzen  | 58        |
| 6.6      | Spezifität und Potenz der verwandten Antagonisten   | 60        |
| 6.7      | Versuchsdurchführung  | 62        |
| 6.7.1    | Spontanverhalten  | 63        |
| 6.7.2    | Intracerebroventriculäre Injektion  | 64        |
| 6.8      | Versuchsapparatur   | 65        |
| 6.8.1    | Charakterisierung des ripple-Oszillationsmusters  | 67        |
| 6.9      | Histologie  | 68        |
| 6.10     | Hypothesen  | 69        |
| 6.11     | Statistische Auswertung   | 70        |
| 6.11.1   | Auftretenshäufigkeit der ripples und Spontanverhalten   | 70        |
| 6.11.2   | Auftretenshäufigkeit der ripples und Manipulation<br>histaminerges Signaltransduktion                     | 71        |
| 6.11.3   | Auftretensdauer der untersuchten Verhaltensparameter und<br>Manipulation histaminerges Signaltransduktion | 72        |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>C</b>   | <b>Ergebnisse</b>   |           |
| <b>7.1</b> | <b>Anzahl der ripples während der definierten Verhaltensparameter</b>   | <b>73</b> |
| <b>7.2</b> | <b>Anzahl der ripples unter dem Einfluß der icv.-Injektion von Saline, Histamin und histaminerger Rezeptor-Antagonisten</b>                                   | <b>75</b> |
| 7.2.1      | Histamin  | 75        |
| 7.2.1.1    | Baselineerhebung  | 76        |
| 7.2.1.2    | Datenerhebung zum Einfluß von Histamin auf die Anzahl von ripples   | 76        |
| 7.2.2      | H1-Antagonisten: Pyrilamine und Ketotifen   | 77        |
| 7.2.2.1    | Baselineerhebung  | 78        |
| 7.2.2.2    | Datenerhebung zum Einfluß von H1-Antagonisten auf die Anzahl von ripples  | 79        |
| 7.2.3      | H2- und H3-Antagonisten: Cimetidine und Thioperamide  | 81        |
| 7.2.3.1    | Baselineerhebung  | 82        |
| 7.2.3.2    | Datenerhebung zum Einfluß von H2- und H3-Antagonisten auf die Anzahl von ripples  | 82        |
| <b>7.3</b> | <b>Pilotstudie zum Einfluss des muscarinergen Antagonisten Scopolamin auf die Anzahl von ripples</b>  | <b>82</b> |
| <b>7.4</b> | <b>Auftretensdauer der untersuchten Verhaltensparameter unter dem Einfluß der icv.-Injektion von Saline, Histamin und histaminerger Rezeptor-Antagonisten</b> | <b>83</b> |
| 7.4.1      | Ruheverhalten   | 85        |
| 7.4.2      | Lokomotion  | 86        |
| 7.4.3      | Aufrichten  | 87        |
| 7.4.4      | Putzen  | 88        |
| 7.4.5      | Schnüffeln  | 89        |
| 7.4.6      | Vergleich der Verhaltensdauern von Baselinegruppen sowie Kontroll- versus Experimentalgruppen   | 90        |

|            |   |            |
|------------|---|------------|
| <b>D</b>   | <b>Diskussion</b>   |            |
| <b>8.1</b> | <b>Verhalten und ripples</b>  | <b>91</b>  |
| 8.1.1      | Diskussion der Ergebnisse   | 91         |
| 8.1.2      | Ausblick  | 94         |
| <b>8.2</b> | <b>Ripples unter dem Einfluß histaminerger Drogen</b>                                   | <b>96</b>  |
| 8.2.1      | Allgemeine Diskussion des Experiments   | 96         |
| 8.2.1.1    | Intracerebroventriculäre Injektion  | 96         |
| 8.2.1.2    | Potentielle Wirkmechanismen der verwandten Substanzen                                   | 98         |
| 8.2.2      | Diskussion der Ergebnisse   | 103        |
| 8.2.3      | Pathophysiologische Implikationen   | 105        |
| 8.2.4      | Konzeptuelle Implikation der Ergebnisse in Bezug auf kognitive und emotionale Korrelate | 106        |
| <b>8.3</b> | <b>Droge und Verhalten</b>  | <b>111</b> |
| <b>8.4</b> | <b>Ausblick</b>   | <b>114</b> |
|            | <b>Zusammenfassung</b>  | <b>116</b> |
|            | <b>Literaturverzeichnis</b>   | <b>118</b> |
|            | <b>Anhang</b>   |            |



## Abkürzungen

|  |   |
|--|---|
| ACh  | Acetylcholin  |
| $\alpha$ -FMH                                    | $\alpha$ -Fluoromethylhistidin                                |
| ATP  | Adenosin-triphosphat  |
| Ca <sup>2+</sup>                                 | Calcium   |
| CA1-3  | lat.: cornu ammonis, Regionen des Hippocampus bzw. Ammonshorn |
| cAMP   | cyclic Adenosin-monophosphat                                  |
| cGMP   | cyclic Guanosin-3'-5'-monophosphat                            |
| Ci   | Cimetidin, H <sub>2</sub> -Rezeptor-Antagonist                |
| CREB   | „cAMP-response-binding-protein“                               |
| CSF  | Cerebrospinalflüssigkeit                                      |
| DAG  | Diaglycerin   |
| EC   | entorhinaler Cortex   |
| EC <sub>50</sub>                                 | Agonistenkonzentration mit halbmaximalem Effekt               |
| EEG  | Elektro-Encephalogramm  |
| EMG  | Elektro-Myogramm  |
| EPSP's   | erregende postsynaptische Potentiale                          |
| fEPSP's  | erregende postsynaptische Feldpotentiale                      |
| GABA   | Gamma-Amino-Buttersäure                                       |
| gK(Ca)   | Calciumaktivierte Kaliumleitfähigkeit                         |
| GTP  | Guanosin-triphosphat  |
| HA   | Histamin  |
| H <sub>1</sub> , H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> | Histamin-Rezeptoren   |
| HDC  | Histidin-Decarboxylase  |
| IgE  | Immunglobuline der Klasse E                                   |
| IC <sub>50</sub>                                 | Antagonistenkonzentration mit halbmaximalem Effekt            |
| icv.   | intracerebroventriculär                                       |
| ip.  | intraperitoneal   |
| IP <sub>3</sub>                                  | Inositoltrisphosphat  |

|                |  |
|----------------|--|
| IPSP's         | inhibitorische postsynaptische Potentiale  |
| IQR            | Interquartilbereich  |
| K <sub>D</sub> | Gleichgewichts-Dissoziationskonstante  |
| kDa            | kilo-Dalton  |
| KE             | Ketotifen, H <sub>1</sub> -Rezeptor-Antagonist                                     |
| K <sub>i</sub> | Inhibitionskonstante   |
| LTP            | Langzeitpotenzierung   |
| LTD            | Langzeitdepression   |
| MGlur          | metabotroper Glutamat-Rezeptor   |
| MSDB           | diagonales Band von Broca  |
| Nbm            | Nucleus basalis magnocellularis  |
| NMDA           | N-methyl-D-aspartat, Glutamat-Rezeptor-Ligand                                      |
| PKA            | Proteinkinase A  |
| PLC            | Phospholipase C  |
| PTP            | posttetanische Potenzierung  |
| PY             | Pyrilamin, H <sub>1</sub> -Rezeptor-Antagonist                                     |
| RSA            | rhythmic slow activity   |
| REM            | rapid eye movement, paradoxes Schlafstadium  |
| SEM            | Standardfehler   |
| SPW            | sharp wave, großamplitudige spitzzulaufende Wellen im EEG                          |
| STP            | Kurzzeitpotenzierung   |
| TH             | Thioperamid, H <sub>3</sub> -Rezeptor-Antagonist                                   |
| TM             | Nucleus tuberomammillaris, Ursprungskern des histaminergen Systems im Hypothalamus |
| TTX            | Tetrodotoxin, blockiert Natrium-Kanäle   |
| ZNS            | Zentrales Nervensystem   |

## **A Einleitung**

Die Idee, dass elektrische Hirnströme des Menschen spezifische mentale Aktivitäten repräsentieren, postulierte schon Hans Berger im Jahr 1929. Er machte die Beobachtung, dass das EEG während kognitiver Prozesse, z. B. das Lösen einer arithmetischen Aufgabe, desynchronisiert und der langsame alpha Rhythmus durch irreguläre, hochfrequente Oszillationen ersetzt wird (Berger, 1929). Innerhalb der letzten Jahre entwickelten Neurowissenschaftler Bergers Idee weiter und stellten heraus, dass zeitlich koordinierte, hochfrequente corticale und subcorticale Oszillationsmuster den Indikator oder das Substrat kognitiver Prozesse darstellen (Pulvermuller et al., 1997). Diese These umfasst basale perzeptive Prozesse (Makeig, 1993), Aufmerksamkeit und corticale Aktivierung ("arousal") (Tiitinen et al., 1993), sowie das Einbinden von Stimulusmerkmalen in Wahrnehmungs- und Bewusstseinsprozesse (Koch und Crick, 1994; Singer und Gray, 1995). Im Gegensatz zu humanen EEG oder MEG Studien können invasive Untersuchungen am Tiermodell Hinweise über grundlegende neuronale Mechanismen kognitiver Leistungen geben.

Ein Fokus tierexperimenteller Studien ist die Erforschung neurophysiologischer Korrelate der Gedächtnisformatierung, wobei der Hippocampus als wesentliche Struktur zur Akquisition, Verarbeitung und Engrammbildung von Informationen im Mittelpunkt steht. Als ein auf Lernprozesse einwirkendes Transmittersystem wird das histaminerge tuberomammilläre System diskutiert. *In vitro* als auch *in vivo* Studien geben während lernbezogener Prozesse Aufschluss über neurochemische und elektrophysiologische Eigenschaften einzelner Neurone oder neuronaler Netzwerke.

Im Folgenden werden die konzeptionellen Ausgangspunkte der vorliegenden Arbeit diskutiert. Zu Beginn werden dabei die anatomischen Grundlagen der Untersuchung dargestellt: Die elektrophysiologisch analysierte Region (Kap.1 „Hippocampus“), sowie die Struktur der eingesetzten unabhängigen neurochemischen Variablen (Kap.2 „Das Histaminerge System“).

Im Anschluss werden funktionelle Aspekte beider Strukturen in Bezug auf elektrophysiologische Eigenschaften (2.4, 2.5, 2.6.6, 2.6.7) und psychologische Konstrukte (2.6.4–2.6.5) beschrieben. Kernpunkt der Einleitung bildet die Charakterisierung verhaltensabhängiger hippocampaler Oszillationsmuster in Bezug auf deren neuronale Grundlagen (Kap.3 „Hippocampales EEG“) und hypothetischer kognitiver Funktionen (Kap.4 „Neurophysiologische Modelle kognitiver Verarbeitung“). Aus diesem theoretischen Hintergrund werden die experimentellen Fragestellungen abgeleitet (Kap.5 „Gegenstand und Fragestellungen der Arbeit“).

## **1. Das intracerebrale Ableitungsgebiet: Der Hippocampus**

Der Hippocampus hat bereits Ende des 19. Jahrhunderts die Aufmerksamkeit der Neuroanatomen auf sich gezogen. Die klassischen Studien von Ramon y Cajal (1911) gaben Aufschluss über zelluläre Organisation und intrinsische Interkonnektivität der hippocampalen Formation. Der Hippocampus ist Bestandteil des limbischen Systems, welches bereits 1937 von James Papez als anatomisches Substrat von Emotionen bezeichnet wurde (Papez, 1937).

Ein wesentlicher Ansatz zur funktionellen Bedeutung des Hippocampus ergab sich aus klinischen Befunden bilateraler Ablationen der Hippocampi von Epilepsiepatienten. Diese Patienten litten nach dem neurochirurgischen Eingriff an einer permanenten anterograden Amnesie, wobei sowohl das Alt- als auch das Kurzzeitgedächtnis intakt blieb. Dem Hippocampus wurde somit erstmals die Rolle zugeschrieben, kurzfristige Gedächtnisinhalte in langfristige Engramme zu überführen, um diese wiederum zur Langzeitspeicherung den entsprechenden Assoziationscortices zuzuführen.

## 1.1 Anatomie des Hippocampus

Die hippocampale Formation setzt sich cytoarchitektonisch aus vier Arealen zusammen: dem Gyrus dentatus, dem entorhinalen Cortex, dem subicularen Komplex – bestehend aus Subiculum, Prä- und Parasubiculum – und dem Ammonshorn (CA), welches in die Regionen CA1, CA2 und CA3 unterteilt ist. Die CA1 grenzt an das Subiculum, welches durch Prä- und Parasubiculum vom anschließenden entorhinalen Cortex abgegrenzt ist und bildet den superioren Anteil des Ammonshorns. Zwischen CA1 und der inferior liegenden CA3 liegt die CA2. Die gesamte Struktur zieht sich C-förmig rostradorsal von den septalen Nuclei des basalen Vorderhirns über das Diencephalon in den Temporallappen. Detaillierte Information zur morphologischen Struktur bieten Amaral und Witter (1989), Bernard and Wheal (1994) sowie Patton and McNaughton (1995).

Die laminare Organisation des Hippocampus gliedert sich abhängig vom betrachteten Areal in drei bis fünf Schichten. Die Somata der Pyramidenzellen des Ammonshorns liegen im Stratum pyramidale – ihre basalen Dendriten ziehen ins Stratum oriens, das vom faserhaltigen Alveus umkleidet wird. Die apikalen Dendriten ziehen durch die Strata radiata, in der die Assoziationsfasern der CA3-Pyramiden beider Hemisphären liegen. Ausschließlich in der CA3 findet man zwischen dem Stratum pyramidale und dem Stratum radiatum das Stratum lucidum, in der die Moosfasern aus dem Gyrus dentatus terminieren. Der Gyrus dentatus weist die einfachste laminare Struktur auf. Die Somata der Körnerzellen des Gyrus dentatus liegen im Stratum granulosum. Die Körnerzellen weisen einen unipolaren weitverzweigten Dendritenbaum in der Lamina molecularis auf, in welche die Efferenzen des entorhinalen Cortex ziehen. Stratum granulosum und Lamina molecularis schließen U-förmig die dritte Schicht des Gyrus dentatus ein – den Hilus oder die polymorphe Schicht. Durch den Hilus ziehen die Axone der Körnerzellen als Moosfasern unter Ausbildung vieler Kollateralen zur CA3. Der entorhinale Cortex gliedert sich in sechs Schichten. Hier entspringt der hauptsächlichste Input des Gyrus dentatus sowie prominente Afferenzen von Subiculum und Ammonshorn. Der v. a. in Schicht 2 und 3 wurzelnde Tractus perforans projiziert zu allen hippocampalen Arealen.

Die hippocampale Formation beherbergt mehrere Klassen inhibitorischer Neurone, welche GABA als Neurotransmitter nutzen. Auch wenn ihre Anzahl im

Vergleich zu den Pyramiden- und Körnerzellen gering ist, üben sie doch einen starken Effekt auf die Netzwerkfunktion des Hippocampus aus (Sik et al., 1995). Sowohl "feedforward" Inhibition durch die Aktivierung afferenter Axone, als auch "feedback" Inhibition durch die Axonkollaterale der Zielneurone, modulieren das hippocampale Netzwerk.

Die übersichtliche neuronale Verschaltung machte den Hippocampus schon früh zu einem begehrten Forschungsobjekt elektrophysiologischer Untersuchungen. Seine Netzwerkverschaltungen prädestinieren ihn zur Ausformung distinkter Oszillationsmuster, welche im Fokus der vorliegenden Arbeit stehen.

## **1.2 Fasersysteme**

Die hippocampale Struktur dient als Knotenpunkt neocorticaler und subcorticaler Afferenzen. Hier werden die externen (sensorischen) Informationen mit internen Informationen, die im weitesten Sinne den Verhaltensstatus des Organismus reflektieren, moduliert und verknüpft.

Bahnen aus den primären visuellen, akustischen und somatosensorischen Arealen des Neokortex, die über zwischengeschaltete Assoziationsgebiete zur hippocampalen Formation ziehen, versorgen den Hippocampus mit sensorischer Information aller Modalitäten. Der Großteil der Fasern dieser corticohippocampalen Projektion enden in der Area entorhinalis, dem Ursprungsgebiet der perforierenden Bahn. Diese Bahn projiziert zu den distalen Dendriten der Körnerzellen des Gyrus dentatus. Die glutamatergen Axone der Körnerzellen – die Moosfasern – formen an den proximalen Dendriten der CA3 Pyramidenzellen Synapsen. Die CA3 Pyramidenzellen projizieren über die Schaffer-kollaterale zur CA1, die wiederum über den subiculären Komplex Efferenzen zum EC sendet (Abb. 1.). Nach dieser intrahippocampalen Verschaltung erfolgt die Rückprojektion zu den Arealen des entorhinalen Cortex aus welchen die EC-Efferenzen entspringen. Somit ist der EC-Hippocampus-EC-Kreislauf geschlossen und die verarbeiteten Informationen werden als Reafferenzkopie zum Cortex zurückgeschickt.

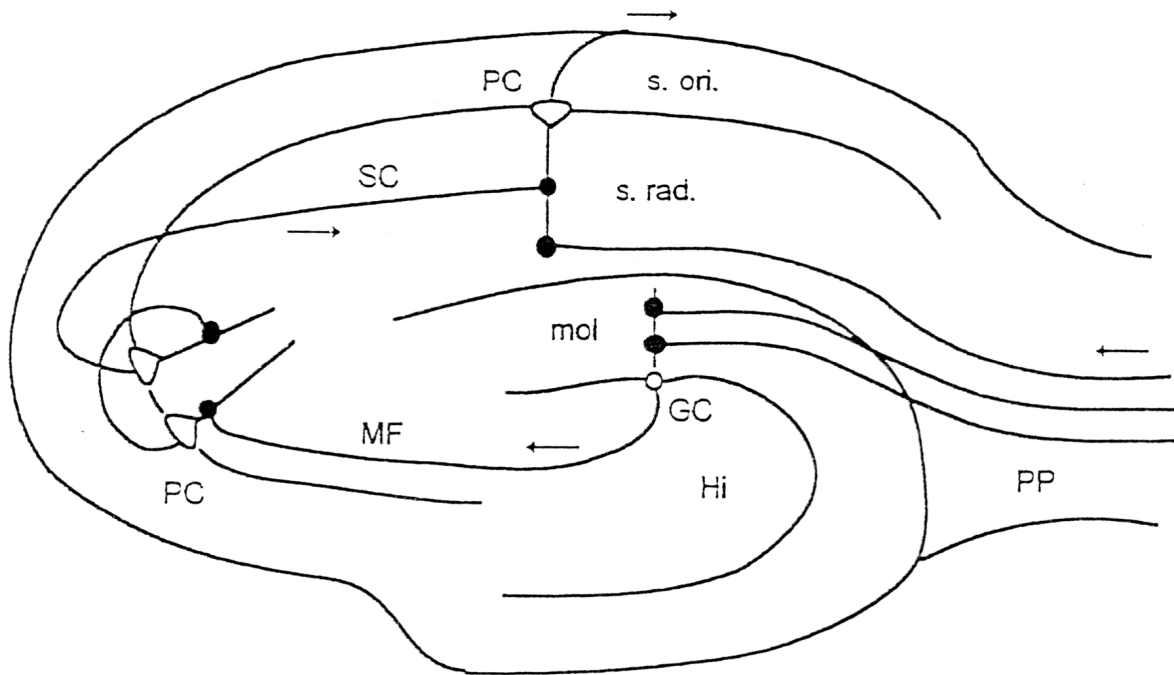


Abb. 1.: Vereinfachte Darstellung der trisynaptischen Schleife im Hippocampus  
 PC: Pyramidenzelle, SC: Schaffer-Kollaterale; s. ori.:stratum oriens; s.rad.:  
 stratum radiatum; MF: Mossyfasern; GC: Körnerzellen; Hi: Hilus; mol:  
 molekulare Schicht; PP: tractus perforans (nach R. Brown)

### 1.2.1 Der Fimbria-Fornix Komplex

Die ventrikuläre Oberfläche des Hippocampus ist mit myelinisierten, efferenten und afferenten Fasern überzogen: dem Alveus. Efferenzen und Afferenzen schließen sich zu einem großen Faserbündel zusammen – der Fimbria – und verlassen den Hippocampus in Richtung Vorderhirn als Columna Fornicis (im weiteren Verlauf als Fornix bezeichnet) (Paxinos, 1995).

Die Fasern des Fornix teilen sich in Höhe der anterioren Commissur in einen präcommissuralen und einen postcommissuralen Anteil. Der präcommissurale Fornix innerviert den septalen Nucleus und andere Strukturen des basalen Vorderhirns. Diese Projektionen entspringen hauptsächlich im Subiculum und im Ammonshorn (CA1, CA3), sind vornehmlich exzitatorisch und enthalten Glutamat als Neurotransmitter (Storm-Mathisen, 1981).

Der postcommissurale Fornix zieht in Richtung Diencephalon, um schließlich die Mammillarkörper zu innervieren (Swanson und Cowan, 1975). Hinter der anterioren Commissur splittet sich der postcommissurale Fornix in zwei kleinere Faserbündel: den medialen-cortico-hypothalamischen und den subiculo-thalamischen Trakt (Swanson et al., 1987). Durch diese Faserbündel werden verschiedene Regionen des Hypothalamus als auch thalamische Kerngruppen innerviert (Swanson und Cowan, 1977; Simerly und Swanson, 1986; Raisman et al., 1966; Krettek und Price, 1978).

Fasern, die den Hippocampus vor dem Eintritt in die Columna Fornicis verlassen, projizieren als wahre commissurale Fasern zum contralateralen Hippocampus, wo sie zum Teil der Columna Fornicis beitreten, um die gleichen Zielgebiete wie die ipsilaterale Columna Fornicis zu innervieren.

### **1.2.2 Afferenzen und Efferenzen hippocampaler Strukturen**

Im Folgenden werden die wesentlichen Projektionen, der hippocampalen Regionen beschrieben (zur genauen Übersicht siehe Paxinos, 1995). Bis vor einigen Jahren lagen nur spärliche Hinweise auf eine corticale Innervation seitens des Hippocampus vor. Heute ist jedoch bekannt, dass die einzelnen Strukturen der Hippocampusformation durchaus zu verschiedenen corticalen Arealen projizieren. Dies lässt auf einen reziproken Austausch zwischen Cortex und Hippocampus schließen (Swanson et al., 1981a; Swanson, 1981b).

#### *Entorhinaler Cortex und Subiculum*

Der entorhinale Cortex projiziert zu olfaktorischen corticalen Arealen – einschließlich des anterioren olfaktorischen Kerns, des olfaktorischen Tuberculums, des piriformen Cortex und des infralimbischen Areals des präfrontalen Cortex (Krettek und Price, 1977; Wyss, 1981). Zusätzlich sind Projektionen zum Cingulum und zum medialen präfrontalen Cortex beschrieben worden (Sorensen, 1985).



Untersuchungen an der Ratte zeigten, dass der laterale EC nahezu sämtliche ipsilateralen Cortexareale innerviert – während die Projektionen zum kontralateralen Neocortex nur spärlich sind (Swanson und Köhler, 1986). Weiterhin sendet der EC starke Efferenzen zu den Kernen der Amygdala (Ottersen, 1982; Wyss, 1981; Swanson und Köhler, 1986). Einige Fasern des EC, die die tiefer gelegenen Areale der Amygdala innervieren, verlaufen weiter rostral durch die medialen Anteile des Caudato-Putamen, wo einige Terminale zu finden sind (Sorensen und Witter, 1983) und enden mit einer massiven Projektion im Nucleus accumbens (Krayniak et al., 1981; Wyss, 1981; Sorensen, 1985; Swanson und Köhler, 1986). Die extrahippocampalen corticalen Projektionen des Subiculum erreichen die Area retrosplenialis, die auditorische Region des Temporalcortex sowie das prälimbische und mediale orbitale Areal des präfrontalen Cortex (Swanson und Köhler, 1986; Vogt und Miller, 1983; Jay TM, Witter MP, 1991).

### *Ammonshorn*

Die Efferenzen der CA1 sind septotemporal topographisch organisiert. Sie projizieren zum retrosplenialen und perirhinalen Cortex, sowie zum lateralen septalen Nucleus und zum diagonalen Band von Broca (Van Groen und Wyss, 1990). Die CA1 innerviert den anterioren olfaktorischen Nucleus, den basalen Nucleus der Amygdala sowie anteriore und dorsomediale hypothalamische Areale (Paxinos, 1995). Weitere Efferenzen ziehen zum präfrontalen Cortex und innervieren hier den prälimbischen und medialen orbitalen Cortex (Jay und Witter, 1991). Innerhalb des Hippocampus ziehen Efferenzen aus der CA1 zum subiculären Komplex und zum geringeren Anteil auch direkt zum EC. Die CA1 erhält noradrenerge und serotonerge Afferenzen (Amaral et al. 1991); zum geringeren Teil sind auch septale Projektionen nachgewiesen worden, die im Stratum oriens terminieren (Nyakas et al., 1987). Fasern aus dem Nucleus reuniens terminieren in der Schicht lacunosum-moleculare der CA1. Neuroanatomische Studien des Primatenhirns zeigten temporale und parietale Cortexprojektionen in die CA1 (Rockland und Van Hoesen, 1999).

Die CA2 Projektionen sind wenig erforscht. Sie erhält Afferenzen aus dem posterioren Hypothalamus, im besonderen aus dem supramammillaren Areal

(Haglund et al., 1984), sowie aus dem Nucleus tuberomammillaris (Köhler et al., 1985).

Die Projektionen der CA3 Pyramidenzellen ziehen in zwei Richtungen: zum lateralen septalen Nucleus und zur CA1 (Swanson et al., 1980). Die subcorticale Efferenz der CA3 zieht bilateral zu den lateralen septalen Nuclei (Swanson und Cowan, 1977). Einige dieser septalen Efferenzen sind GABAerg (Toth und Freund, 1992). Den mächtigsten subcorticalen Input erhält die CA3 aus dem Septum – medialer septaler Nucleus und Nucleus des diagonalen Band's von Broca – welcher hauptsächlich ins Stratum oriens aber auch ins Stratum radiatum zieht (Gaykema et al., 1990). Die septohippocampale Projektion ist nicht wie man ursprünglich annahm ausschließlich cholinerg (Gage et al., 1984; Milner und Amaral, 1984; Wainer et al., 1984, 1985) sondern auch GABAerg (Köhler et al. 1984) – wobei die GABAerge Projektion zu den GABAergen Interneuronen und die cholinerge zu den Interneuronen und Pyramidenzellen der CA3 zieht (Freund und Antal, 1988). Die CA3 erhält Afferenzen aus dem locus coeruleus, die im Stratum lucidum und lacunosum-moleculare enden. Serotonerge und zum geringeren Teil auch dopaminerge Fasern wurden in der CA3 nachgewiesen (Swanson et al, 1982). Die serotonergen Afferenzen projizieren hauptsächlich zu den GABAergen Interneuronen der CA3 (Freund et al.,1990).

### *Gyrus dentatus*

Der Gyrus dentatus sendet Efferenzen in die CA3 Region. Er wird über den tractus perforans vom entorhinalen Cortex mit corticalen Informationen versorgt. Subcorticale Areale wie das Septum (Fibiger, 1982), die supramammillare Region und einige monoaminerge Nuclei des Hirnstamms (Locus coeruleus und Nucleus Raphe) projizieren zum Gyrus dentatus. Projektionen aus dem supramammillären Areal enthalten Substanz P (Gall und Selawski, 1984). Der Locus coeruleus innerviert den Gyrus dentatus mit noradrenergen Fasern (Pickel et al., 1974). Serotonerge Projektionen aus dem Nucleus raphe präferieren die Interneurone im Gyrus dentatus, die wiederum distale Dendriten der Körnerzellen innervieren (Halasy

und Somogyi, 1993). Ein kleiner dopaminerges Faserzug aus der Area tegmentalis ventralis projiziert ebenfalls zum Gyrus dentatus (Swanson, 1982).

## **2. Das Histaminerge System**

Histamin (HA), ein Imidazol bestehend aus einem fünfgliedrigen Kohlenstoffring mit zwei Stickstoffatomen, wurde erstmals Anfang des Jahrhunderts aus Mutterkornextrakten isoliert (Barger und Dale, 1910). Es entstand als Spaltprodukt bakterieller Fäulnisprozesse des Weizenkorns. 1927 konnte es in frischen Gewebepreparationen nachgewiesen werden, worin die Namensgebung Histamin (griech.: "histos"= Gewebe) begründet liegt (Best et al., 1927). Zunächst wurden dem Histamin kontraktile Effekte auf glatte Muskulatur, vasodilatorische Wirkung, stimulierende Effekte auf gastrische Sekretion, sowie die Konstriktion der Bronchien als anaphylaktische Reaktion zugeschrieben (Feldberg, 1941). Histamin wird in Mastzellen und basophilen Leukozyten gespeichert und bei allergischen Reaktionen oder Verletzungen freigesetzt. Nachweise, dass das Histamin auch im ZNS vorkommt, fanden sich schon zu Beginn des Jahrhunderts (Abel und Kubota, 1919), wobei Kwiatkowski (Kwiatkowski, 1943) einen größeren Anteil in der grauen als in der weißen Substanz entdeckte und White erstmalig die lokale Synthese von Histamin im Gehirn beschrieb (White, 1959). Folgende Studien erbrachten den Nachweis, dass Histamin als Neurotransmitter im ZNS fungiert:

1. Histamin wurde in Neuronen und Axonen mit hauptsächlichem Sitz in den Nervenzellendigungen ( Garbarg et al., 1976; Panula et al., 1984) im gesamten Gehirn identifiziert (Taylor und Snyder, 1971; Watanabe et al., 1984).
2. Histaminerge Ausschüttung aus den Nervenzellendigungen konnte durch Depolarisation (Atack und Carlsson, 1972) sowie durch hohe Kaliumkonzentrationen calciumabhängig induziert werden (Arrang et al., 1983).
3. Die Charakterisierung drei distinkter Histaminrezeptoren, H<sub>1</sub>-, H<sub>2</sub>- und H<sub>3</sub>-Rezeptor mit unterschiedlicher Verteilung im ZNS (Schwartz et al. 1991).
4. Vor allem die pharmakologische Entwicklung von Agentien, die in die HA-Synthese oder selektive Rezeptor-Aktivierung bzw. -Blockierung eingreifen, gaben in elektrophysiologischen (Haas, 1992), neurochemischen und

verhaltensorientierten Studien (Gerald und Maickel, 1972; Schwartz et al., 1991) Aufschluss über die histaminerge Funktion im ZNS.

## **2.1 Metabolismus**

### **2.1.1 Synthese**

Histamin, welches nicht die Bluthirnschranke passieren kann, wird im Zytosol histaminerger Varikositäten synthetisiert. Die HA-Synthese wird hauptsächlich über die Verfügbarkeit ihres Vorläufers L-Histidin bestimmt, welches durch noch ungeklärte aktive Transportmechanismen in die Zellen aufgenommen wird. Depolarisation triggert die Aufnahme in die Axonterminale (Hegstrand und Simon, 1985), wo L-Histidin durch oxidative Decarboxilierung mittels des zytoplasmatischen Enzyms L-Histidin-Decarboxylase (HDC) in einem Schritt zu Histamin synthetisiert und in den Vesikeln gespeichert wird. HDC wird im Soma histaminerger Zellen synthetisiert und zu den Axonterminalen transportiert – seine Verteilung ist annähernd homolog zur HA-Verteilung (mit Ausnahme des Hippocampus, wo trotz hoher Enzym-Aktivitäten nur eine geringe Konzentration von HA zu finden ist) (Baudry et al., 1973).

Während histaminerge Neurone den vornehmlichen Ort der HDC-Speicherung reflektieren findet man auch in den Mastzellen einen geringen Anteil von HDC. Die Syntheserate von HA wird über die Endprodukthemmung – die Bindung von HA an den präsynaptisch lokalisierten H<sub>3</sub>-Autorezeptor – reguliert, so dass ein Gleichgewicht zwischen Synthese und freigesetztem HA besteht. Eine Hemmung der HA-Synthese kann durch die Applikation von  $\alpha$ -FluoromethylHistidin ( $\alpha$ -FMH), einem irreversiblen Inhibitor von HDC, herbeigeführt werden (Kollonitsch, Patchett et al., 1978).

### **2.1.2 Ausschüttung**

Neuronales HA wird durch Aktionspotential-getriggerten Calciumeinstrom in die präsynaptischen Terminale und darauffolgende Fusion von synaptischen Vesikeln mit der Plasmamembran (Exocytose) freigesetzt (Takemura et al., 1989). Neben der Synthese wird auch die Ausschüttung von HA durch die HA-Bindung an den H<sub>3</sub>-Rezeptor inhibiert (Arrang et al., 1983). Weiterhin unterliegt die Ausschüttung der inhibitorischen Kontrolle von muskarinen M<sub>1</sub>- (Prast et al., 1994), adrenergen α<sub>2</sub>- (Arrang, 1991), serotonergen 5-HT<sub>1A</sub>- (Oishi et al., 1992), sowie kappa-opioid- und Galanin-Rezeptoren (Pfeiffer et al., 1986). Die Stimulation von μ-opioid-Rezeptoren wirkt fazilitierend auf die Ausschüttung von HA – vermutlich durch Disinhibition der histaminergen Neurone (Itoh et al., 1988).

Die HA-Ausschüttung folgt einem klaren Rhythmus, der mit dem zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmus korrespondiert (Mochizuki et al., 1992).

### **2.1.3 Katabolismus**

Das aus den Nervenendigungen freigesetzte HA wird durch das Enzym Histamin-N-Methyltransferase zu tele-Methylhistamin methyliert. Die Aktivität der Histamin-N-Methyltransferase wird wiederum durch ihr Abbauprodukt tele-Methylhistamin inhibiert, so dass ein regulierender Effekt auf den HA-Katabolismus ausgeübt wird (Schwartz et al., 1973). Tele-Methylhistamin wird durch eine kombinierte Aktion von Monoaminoxidase B und Aldehyd-Dehydrogenase zu tele-Methylimidazolessigsäure abgebaut (Green, 1967; Lin et al., 1991). In der Peripherie erfolgt der HA-Abbau durch oxidative Desaminierung, katalysiert durch Histaminase, zu Imidazolylelessigsäure. Im Gegensatz zu anderen monoaminergen Transmittern konnte für HA bislang kein Wiederaufnahmesystem gefunden werden (Schwartz et al., 1991).

#### **2.1.4 Speicherung in Mastzellen**

Neben der neuronalen Speicherung wird Histamin auch in einem nicht-neuronalen Pool gespeichert – in den Granula der Mastzellen. Aufgrund ihres hohen HA-Gehalts haben sie einen entscheidenden Anteil am Gesamtvorkommen dieses Amins im Gehirn (Schwartz, 1975). Im peripheren Gewebe fand man Mastzellen hauptsächlich im Bindegewebe in der Nähe von Blutgefäßen; da im Gehirn kein Bindegewebe zu finden ist, schloss man hier lange die Existenz von Mastzellen aus. 1974 war es Ibrahim möglich zwei Mastzelltypen im Gehirn zu unterscheiden – wobei Typ I den im peripheren Bindegewebe vorherrschenden Mastzelltyp ähnelt (Ibrahim, 1974). Beide neuronalen Mastzelltypen sind auch im Gehirn in der Nähe von Blutgefäßen zu finden. Die zahlreicheren Typ II Mastzellen, später auch aufgrund ihres hohen Lipidgehalts Neurolipomastocyten genannt, wandern mit Blutgefäßen der Pia in das Gehirn ein und sind mit Arteriolen oder venösen Gefäßen assoziiert, die in der Nähe von Varikositäten meist autonomer Nervenfasern entlangführen (Sturrock, 1980). Die Lokalisation von Mastzellen in der Nähe von Nervenfasern und Blutgefäßen führt zu der Vermutung ihre mögliche funktionale Bedeutung wäre der Einfluss auf Nervenzellen sowie auf die Regulierung des cerebralen Blutflusses und entzündlicher Prozesse (Theoharides, 1990).

#### **2.2 Anatomische Aspekte des histaminergen Systems**

Wenngleich schon frühe Studien die Existenz von neuronalem HA belegten, so konnte erst 1984 durch die Entwicklung von Antikörpern für HA und HDC die Lokalisation und Projektion histaminergener Neurone in einem neurochemischen Verfahren nachgewiesen werden (Panula et al., 1984; Watanabe et al., 1984). Somit wurde demonstriert, dass die einzige Quelle neuronalen HA im ZNS in einem kleinen Hirnareal – dem Nucleus tuberomammillaris (TM) – im posterioren Hypothalamus liegt, von wo aus sie weitverzweigt über das gesamte Hirn projizieren. An der ventralen Seite des Gehirns, rostral und lateral zu den Mammillarkörpern sowie caudal zum Chiasma opticum am Boden des dritten Ventrikels, liegen die Zellkerne des histaminergen Systems verteilt auf fünf Untergruppen (Kruger et al., 1995). Der

ventrale Anteil des TM (TMV) ist selbst in eine rostrale (TMVr) sowie eine caudale (TMVc) Komponente unterteilt. Auch der medial gelegene Anteil des TM (TMM) wird in einen ventralen (TMMv) und einen dorsalen (TMMd) Anteil aufgegliedert. Schließlich bleibt noch eine Neuronenpopulation, die diffus (Tmdiff) zwischen dem ventralen und medialen Anteil des TM verteilt ist. In Analogie zu der Nomenklatur monoaminerger Transmittersysteme wurden die Bezeichnungen E1 (TMVc), E2 (TMVr), E3 (TMMv), E4 (TMMd) und E5 (Tmdiff) in die Literatur eingeführt (Inagaki et al., 1990).

### **2.2.1 Morphologie**

Das histaminerge System umfasst hauptsächlich magnozellige Neurone mit einem Durchmesser von 25-35 µm (Panula et al., 1984). Eine morphologische Besonderheit weisen TM-Neurone in der Organisation ihrer Dendriten auf. Die Dendritenbäume einzelner Neurone überlappen oftmals mit denen benachbarter Neurone, wobei sie synapsenähnliche Strukturen aufweisen. Einige Dendriten ziehen in den mammillären Recess des dritten Ventrikels bis in das angrenzende Ependym, was auf eine mögliche Kommunikation mit dem Liquorraum hinweist (Ericson et al., 1987). Auf diese Weise könnten Substanzen aus der cerebrospinalen Flüssigkeit, wie z. B. Cytokine, auf die Funktion histaminerger Neurone einwirken.

Der dendritische Fortsatz besteht aus zwei bis drei Primärdendriten, die sich in lange Sekundärdendriten aufgliedern. Die Axone entspringen ungewöhnlicherweise den primären Dendriten und nicht dem Soma (Wouterlood et al., 1986), wobei nur einige wenige klassische synaptische Kontakte ausbilden (im Nucleus accumbens und im mesencephalen Trigeminskern) (Airaksinen et al., 1992; Panula et al., 1989). Das Histamin wird aus synaptischen Vesikeln, die in Schwellungen entlang der Axone eingelagert sind, ausgeschüttet (Takagi et al., 1986). Durch die Ausformung sogenannter "synapses en distance" können gleichzeitig mehrere Neurone, oder Gliazellen und Blutgefäße erreicht werden (Reiner und McGeer, 1987; Wada, et al., 1991; Diewald et al., 1997).

In den histaminergen Neuronen sind auch andere neuroaktive Substanzen und Enzyme kolokalisiert, z. B. Adenosin-Deaminase, Glutamat-Decarboxylase, Met-Enkephalin-Arg-Phe, Substanz P, Thyrotropin-releasing-Hormon (TRH), GABA und

Galanin (Onodera et al., 1994; Schwartz et al., 1995). Somit können neben HA auch andere Transmitter in histaminergen Neuronen synthetisiert und freigesetzt werden. Die TM-Neurone kann man als einziges GABAerges System bezeichnen, welches in das gesamte Gehirn projiziert.

## **2.2.2 Verbindungen des histaminergen Systems**

Die histaminergen Projektionen folgen keiner strengen topographischen Ordnung, sondern innervieren diffus mit meist ipsilateraler Dominanz das gesamte Gehirn und Teile des Rückenmarks, wobei der Informationsaustausch zwischen histaminergem System und einigen Hirnregionen reziprok verläuft.

### **2.2.2.1 Efferenzen**

Die efferenten Projektionen sind unterteilbar in zwei aufsteigende und einen absteigenden Faserzug. Einer der aufsteigenden Faserzüge verläuft ventral an der basalen Hirnfläche zum Hypothalamus, dem diagonalen Band, dem Septum, dem Bulbus olfactorius, wobei ein Teil der Fasern retrochiasmatisch zur contralateralen Hemisphäre kreuzt.

Das dorsal aufsteigende Projektionssystem verläßt den TM entlang der lateralen Seite des dritten Ventrikels zum Thalamus, zum Hippocampus, zur Amygdala und zu rostralen Vorderhirnstrukturen. Über das mediale Vorderhirnbündel innervieren TM-Neurone den gesamten Cortex, v. a. die äußeren Schichten Lamina I und II (Panula et al., 1990). Der absteigende Faserzug zieht caudal über den Fasciculus medialis longitudinalis zum Hirnstamm, zu monoaminergen Ursprungskernen, zur Substantia nigra, sowie zu den zervikalen Anteilen des Hinterhorns vom Rückenmark. Die beschriebenen Zielregionen werden von Neuronen aller fünf Untergruppen des TM innerviert, wobei einzelne Neurone identifiziert wurden, die sowohl aufsteigende als auch absteigende Axonkollaterale ausbildeten (Köhler et al., 1985).



Auch wenn TM-Neurone diffus über das gesamte Gehirn projizieren, so werden doch nicht alle Zielregionen gleich stark innerviert. Die höchste Dichte histaminerger Fasern liegt im Hypothalamus und in den Strukturen, die vom ventral aufsteigenden Faserzug innerviert werden. Die Amygdala ist die am stärksten innervierte Struktur des ansonsten moderat innervierenden dorsal aufsteigenden Faserzugs. Die hippocampale Formation erhält die stärksten HA-Afferenzen im Subiculum, entorhinalen Cortex und Gyrus dentatus – CA1 und CA3 werden dagegen nur moderat innerviert. Die stärksten absteigenden TM-Projektionen erreichen die Substantia nigra, die Area tegmentalis ventralis, die Colliculi superiores und inferiores, das zentrale Grau und den mesencephalen Trigemuskern; die anderen aminergen Zellgruppen – Locus coeruleus und Nucleus raphe – erhalten eine moderate Innervation (Airaksinen und Panula, 1988):

Hierbei ist zu bedenken, dass die Verteilung histaminerger Neurone nicht mit der Rezeptordichte positiv korreliert sein muss (Schwartz et al., 1991) und dass in Regionen mit geringer Faserdichte, wie z. B. der CA1 prominente elektrophysiologische HA-Effekte identifiziert wurden. Es wird vermutet, dass Regionen mit einer hohen Faserdichte tonisch während des Wachseins und Regionen mit geringerer Faserdichte partikulär in Abhängigkeit zu spezifischen Funktionsszuständen mediiert werden (Brown et al., 2001).

#### **2.2.2.2 Afferenzen**

Im Gegensatz zu den Kenntnissen über die Projektionen und die intrinsische Membran-Elektrophysiologie ist über die Ursprünge und biochemische Identität der Afferenzen histaminerger Neurone wenig bekannt. Untersuchungen mit anterograden Markern identifizierten Afferenzen aus infralimbischen Regionen des präfrontalen Cortex, dem Tuberculum olfactorium, dem Subiculum, dem dorsalem Tegmentum sowie aus den Kernen des diagonalen Band/Septum-Komplexes und der medialen präoptischen Region des Hypothalamus (Wouterlood und Gaykema, 1988; Ericson et al., 1991). Die ventrolaterale präoptische Region – welcher schlafsteuernde Funktion zugeschrieben wird – sowie das diagonale Band versorgen die TM-Neurone mit einem starken GABAergen Input. GABA hemmt die TM-Neurone via GABA<sub>A</sub>- und GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren. Die GABAerge Hemmung der

schlafaktiven Neurone der ventrolateralen präoptischen Region sind wahrscheinlich für die inhibierte Feuerrate der TM-Neurone während des Schlafes verantwortlich (Eriksson et al., 2000, Yang und Hatton, 1997; Stevens et al., 1999). Die GABAergen Axone aus der präoptischen Region enthalten auch Galanin, welches ebenfalls hemmend auf die TM-Neurone einwirkt (Sherin et al., 1998; Schönrock et al., 1991).

Monoaminerge Afferenzen innervieren die histaminergen Neurone aus adrenergen, noradrenergen und serotonergen Zellpopulationen (Ericson et al., 1989). TM-Neurone erhalten weiterhin aus dem mesopontinen Tegmentum eine vermutlich cholinerge Innervation, die wahrscheinlich eine dominante Rolle bei den Erregungs- ("arousal") Mechanismen des Gehirns spielt (Ericson et al., 1991). Weiterhin wurden Neuropeptid Y – haltige Afferenzen an histaminergen Neuronen identifiziert, wobei der Ursprung dieser Fasern nicht bekannt ist (Tamiya et al., 1990). Das hypothalamische Peptid Orexin wurde in Afferenzen an Soma und proximalen Dendriten der TM-Neurone nachgewiesen. Bekannt ist dieses Peptid, da Orexin-knockout-Mäuse ein der Narkolepsie ähnliches Syndrom zeigen. Mangelnde Orexinwirkung an histaminergen Neuronen könnte eine mögliche Erklärung dieser Störung beim Menschen sein (Chemelli et al., 1999).

### **2.3 Histamin-Rezeptoren**

Die Idee, dass verschiedene Rezeptortypen im histaminergen System fungieren, entwickelte sich seit 1937. Bovet und Staub entdeckten, dass Antihistaminika, im späteren als H<sub>1</sub>-Antagonisten bekannt, nicht alle histaminergen Funktionen, wie die Drüsensekretion der Magenschleimhaut, blockierten (Bovet und Staub, 1937). Ash und Schild gelang es 1966 diese Funktion in gewissem Ausmaße zu blockieren; damit legten sie den Grundstein zur Postulierung des H<sub>2</sub>-Rezeptors (Ash und Schild, 1966; Black et al., 1972). Beide Rezeptortypen sind postsynaptisch. Wesentlich später wurde die Existenz eines dritten histaminergen Rezeptortypen beschrieben, der als präsynaptischer Autorezeptor in histaminergen Nervenendigungen sowohl die Synthese als auch die Ausschüttung von Histamin moduliert und darüber hinaus als Heterorezeptor fungiert (Arrang et al., 1983).

### 2.3.1 H<sub>1</sub>-Rezeptor

Bekannt geworden ist die Aktivität des H<sub>1</sub>-Rezeptors durch seine kontraktische Wirkung auf glatte Muskelfasern. Nachfolgend bezog sich das Interesse der Forschung auf H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelte Funktionen bei immunologischen Prozessen, wie der IgE bzw. Mastzell vermittelten allergischen Sofortreaktion. Die klassischen Antihistaminika, die als Blocker der allergischen Reaktionen entwickelt wurden, hatten einen unerwünschten sedativen Nebeneffekt auf den Organismus. Erst vor einigen Jahren gelang es durch die Entwicklung neuer nicht hirngängiger Antagonisten die Nebenwirkung zu eliminieren.

Der H<sub>1</sub>-Rezeptor variiert in Anzahl, Dichte und Verteilung zwischen den verschiedenen Spezies und weist eine strukturelle Heterogenität auf, so dass der H<sub>1</sub>-Antagonist Mepyramin im Gehirn der Ratte eine signifikant niedrigere Affinität aufweist als im Meerschweinchen- oder Menschengehirn (Carswell et al., 1982; Chang et al., 1978). Genklonierungen des H<sub>1</sub>-Rezeptors wiesen zu ~ 44 % Homologien zum muscarinen m1-Rezeptor und zu ~ 41 % zum H<sub>2</sub>-Rezeptor auf (Schwartz et al., 1995), so dass H<sub>1</sub>-Antagonisten (vor allem in höheren Dosierungen) außer an H<sub>1</sub>- auch an H<sub>2</sub>- und m1-Rezeptoren binden können. Erst in jüngster Zeit wurden selektivere Antagonisten synthetisiert, die allerdings gegenüber den traditionellen Liganden an Potenz einbüßten.

H<sub>1</sub>-Rezeptoren sind Membranproteine mit einem Molekulargewicht von 55,69 kDa, welche aus einer Kette von 486 Aminosäuren gebildet werden und deren sieben hydrophobe transmembranen Domänen  $\alpha$ -helikale Strukturen aufweisen. Das mehrfach glycosylierte amino-terminale Ende ragt in den Extra-, das carboxy-terminale Ende in den Intrazellulärraum, an welchen das G<sub>q/11</sub> GTP-hydrolysierende Protein gekoppelt ist.

Die Signaltransduktion erfolgt also über G-Proteine, die das Signal auf einen intrazellulären "second messenger" übertragen, der entweder direkt durch die Phosphorylierung von Proteinen die Ionenkanalkonformation ändert, oder durch einen weiteren Zwischenschritt die Konformationsänderung herbeiführt. Die H<sub>1</sub>-Rezeptoraktivierung bedingt folgende biochemische Reaktionen, welche eine Signaltransduktion bedingen:

- Phosphoinositolsystem: Durch die Aktivierung des H<sub>1</sub>-Rezeptors stimuliert das gekoppelte G-Protein die Aktivität von Phospholipase C (PLC). PLC hydrolysiert ihrerseits Phosphatidyl-4, 5-Bisphosphat, welches zwei "second messenger" formt: Diacylglycerin (DAG) und Inositoltrisphosphat (IP<sub>3</sub>). Während DAG die Proteinkinase C (PKC) aktiviert und somit die Phosphorylierung verschiedener Zellproteine einleitet, bindet IP<sub>3</sub> an den IP<sub>3</sub>-Rezeptor des endoplasmatischen Reticulums, welches daraufhin seine Calciumkanäle öffnet und das gespeicherte Calcium in das Cytoplasma entlässt.  
Durch intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Messung konnte an C6 Gliomzellen gezeigt werden, dass die Ausschüttung von Calcium aus internen Speichern ausreichend ist, um Calcium-abhängige Kalium-Kanäle zu aktivieren (Weiger et al., 1997).
- H<sub>1</sub>-Rezeptor-Stimulation kann weiterhin durch Aktivierung der membrangebundenen Phospholipase A<sub>2</sub> zur Bildung von Arachidonsäure führen, die über die Enzyme 12-Lipoxygenase, 5-Lipoxygenase und Cyclooxygenase in aktive Metaboliten umgesetzt werden kann (Leurs et al., 1994).
- HA potenziert via H<sub>1</sub>-Rezeptor die Akkumulation von cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP), durch u. a. Adenosin A<sub>2</sub>-, H<sub>2</sub>- oder VIP-Rezeptoren. Auch die Akkumulation von cyclischem Guanosin 3', 5' Monophosphat (cGMP) wird unter Voraussetzung eines intrazellulärem Anstiegs von Calcium induziert.

H<sub>1</sub>-Rezeptoren zeigen eine weite Verteilung im ZNS. Man findet sie an zerebralen Blutgefäßen beim Menschen auch an Astrozyten, wobei die überwiegende Präsenz in der grauen Substanz auf eine hauptsächlich neuronale Lokalisation schließen läßt. Zwischen den verschiedenen Spezies besteht eine hohe Divergenz in der anatomischen Verteilung der H<sub>1</sub>-Rezeptoren. Im ZNS der Ratte sind besonders hohe Dichten in allen Cortexschichten, Claustrum, Nucleus accumbens, Thalamus, den molekularen Schichten des Cerebellums, in der Hippocampusformation v.a. im Gyrus dentatus und im Subiculum zu identifizieren. Weiterhin findet man eine hohe Verteilung in Arealen cholinergischer Zellgruppen im mesopontinen Tegmentum und basalen Vorderhirn, den meisten septalen Kernen, sowie im Locus coeruleus und im Nucleus Raphe. Geringere Dichten wurden im Ammonshorn, sowie in der Amygdala und den Basalganglien identifiziert. Die höchste Dichte der H<sub>1</sub>-Rezeptoren findet sich bei der Ratte im Hypothalamus, beim Menschen bzw. Primaten im Neocortex, limbischen System und im Cerebellum (Palacios et al., 1981).

### **2.3.2 H<sub>2</sub>-Rezeptor**

Der zweiten Klasse der Histamin-Rezeptoren, konnte schon früh die stimulierende Funktion zur Drüsensekretion der Magenschleimhaut zugeschrieben werden (Ash und Schild, 1966). Der H<sub>2</sub>-Rezeptor ist, wie auch andere G-Protein gekoppelte Rezeptoren, durch sieben transmembrane Domänen charakterisiert.

H<sub>2</sub>-Rezeptoren weisen Homologien zum H<sub>1</sub>-Rezeptor wie auch zu  $\beta$ -Katecholaminrezeptoren auf. Biochemische Untersuchungen zeigten, dass seine Aktivierung über einen G<sub>s</sub>-Protein gekoppelten Mechanismus zu einer Stimulierung der Adenylzyklase führt, die dann durch ATP-Katalyse die Produktion des second messenger Moleküls cAMP anregt (Baudry et al., 1975; Hegstrand et al., 1976). cAMP bindet nun an die cAMP-abhängige Proteinkinase A (PKA), welche Proteine im Zytosol und der Zellmembran phosphoryliert oder nach Translokation in den Zellkern den Transkriptionsfaktor CREB aktiviert (Sheng et al., 1991). Weiterhin wurde eine H<sub>2</sub>-Rezeptor-vermittelte Hemmung der Freisetzung von Arachidonsäure beobachtet, welche für den Prostaglandin-Stoffwechsel und andere cGMP-vermittelte Signaltransduktionen bedeutsam ist (Traiffort et al., 1992).

Wie der H<sub>1</sub>- ist auch der H<sub>2</sub>-Rezeptor über das gesamte ZNS verteilt. Hohe Dichten des Rezeptors findet man in den Basalganglien (Caudatus, Putamen) und in den Arealen des limbischen Systems, wie dem Hippocampus und der Amygdala, sowie im piriformen und occipitalen Cortex (Ruat et al., 1990). Im Gegensatz zur H<sub>1</sub>-Rezeptorverteilung findet man in septalen Arealen, dem Hypothalamus und dem Thalamus nur eine geringe Dichte von H<sub>2</sub>-Rezeptoren. Durch Kolokalisation von H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptoren an Prinzipalzellen des Hippocampus oder an aminergen Zellgruppen ergibt sich z. B. auf die Stimulation der cAMP-Produktion ein synergistischer Effekt von H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptoren (Traiffort et al., 1992).

### **2.3.3 H<sub>3</sub>-Rezeptor**

Erst kürzlich gelang es das, Gen für den H<sub>3</sub>-Rezeptor zu klonieren (Lovenberg et al., 1999). Auch dieser Rezeptor ist an ein G-Protein – vorraussichtlich G<sub>0</sub> oder G<sub>i</sub> – gekoppelt (Clark und Hill, 1996). Die Funktion des präsynaptischen Autorezeptors – Hemmung der HA-Ausschüttung – ist vermutlich auf eine G-Protein medierte Blockierung des präsynaptischen Calciumeinstroms zurückzuführen (Reiner und Haas, 1987; Arrang et al., 1990; Takahashi et al., 1996; Brown und Haas, 1999). Hohe H<sub>3</sub>-Rezeptordichten sind im Nucleus accumbens, im Thalamus, im Striatum, in der Substantia nigra, im Tuberculum olfactorium, im Gyrus dentatus und im Cortex nachgewiesen. Im Septum, im Globus pallidus, im Locus coeruleus sowie im Hypothalamus ist die Rezeptordichte gering, wobei schon H<sub>3</sub>-Rezeptoren auf den Zellkörpern der TM-Neurone nachgewiesen wurden.

Die Verteilung der H<sub>3</sub>-Rezeptoren beschränkt sich nicht nur auf histaminerge Neurone. Sie konnten auch als Heterorezeptor auf serotonergen, noradrenergen und dopaminergen Neuronen nachgewiesen werden, wobei ihre Aktivierung die jeweilige Transmitterausschüttung hemmt (Schlicker et al., 1988, 1989, 1993, 1994). Eine präsynaptische H<sub>3</sub>-Rezeptor-Lokalisation auf cholinergen Neuronen wird überwiegend abgelehnt (Arrang et al., 1995). Giorgetti et al. postulieren eine H<sub>3</sub>-Rezeptor vermittelte Hemmung der ACh-Ausschüttung via Aktivierung GABAerger Interneurone (Giorgetti, et al., 1997). Andere Autoren postulieren einen postsynaptischen histaminergen Effekt, der die ACh-Ausschüttung moduliert. (Mochizuki et al., 1994; Dringenberg et al., 1998; Cecchi et al., 2001). Weiterhin

wurde eine hemmende HA-Wirkung auf die Ausschüttung von verschiedenen Peptiden sowie GABA beobachtet. Im Gyrus dentatus wird zudem die Plastizitätsmodulierende Freisetzung von Glutamat via H<sub>3</sub>-Rezeptoren gehemmt (Brown and Reymann, 1996).

## **2.4 Elektrophysiologische Aspekte der TM-Neurone**

Die Eigenschaft histaminerger Neurone ähnelt der anderer aminерger Zellen. Sie feuern spontan, als Schrittmacher mit einem langsamen Rhythmus bis zu 3 Hz, formen breite Aktionspotentiale (1.8 ms mittlere Amplitudendauer) und tiefe, langandauernde Nachhyperpolarisationen (15-20 mV) (Reiner und McGeer, 1987; Haas und Reiner, 1988).

Die Feuerungsrate der TM-Neurone ist abhängig vom zirkadianen Rhythmus, wobei sie während der Wachzeiten ihr Maximum erreicht, während des Tiefschlafes abnimmt und während des REM-Schlafes stoppt (Sakai et al., 1990). Ähnliche zustandsabhängige Feuerungsraten wurden auch in anderen monoaminergen Systemen im Hirnstamm identifiziert (Jones, 1989). Da die Aktivität cholinерger und histaminerger, wie anderer monoaminерger Neurone, mit dem Aktivitäts- bzw. Erregungszustand des Gehirns korreliert, erfordert die Bestimmung eines zustandsadäquaten Aktivitätslevels des Gehirns ein kollektives, aufeinander abgestimmtes Zusammenarbeiten dieser Neurone (Khateb et al., 1995).

### ***H<sub>1</sub>-Rezeptor***

Eine Großteil elektrophysiologischer Antworten wurde nach H<sub>1</sub>-Rezeptorstimulation beobachtet. So führt die Aktivierung dieses Rezeptors meist zu exzitatorischen Effekten, d. h. einer Depolarisation und / oder einem Anstieg der Feuerungsrate (Haas 1992). Diesem exzitatorischen Effekt können verschiedene Mechanismen unterliegen.

Im Thalamus (McCormick und Williamson, 1991), im Cortex (Reiner und Kamondi, 1994) und in striatalen cholinерgen Interneuronen (Munakata und Akaike, 1994) wurde eine länger andauernde tonische Depolarisation via H<sub>1</sub>-Rezeptor-

Aktivierung beobachtet. Bedingt ist diese Depolarisation durch eine Blockierung einer beim Ruhemembranpotential aktiven Hintergrund-Kaliumleitfähigkeit. Ob dieser Effekt durch direkte G-Protein-Wirkung oder über den Umweg von second messengern vermittelt wird, ist nicht klar. Andere der Depolarisation zugrunde liegende Mechanismen sind im supraoptischen Areal und in cholinergen septalen Neuronen zu beobachten (Gorelova und Reiner, 1996). Die initiale Depolarisation cholinerg septaler Neurone ist auf einen TTX-unsensiblen Natriumstrom zurückzuführen——unabhängig vom intrazellulären Calciumspiegel. Dieser Effekt ist H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelt.

In vitro wurde gezeigt, dass Stimulation von TM-Neuronen, die einen monosynaptischen Kontakt zu supraoptischen Neuronen knüpfen, eine erhöhte interneuronale Kopplung – Gap junction Ausbildung – der supraoptischen Neurone bedingt. Dieser Effekt wurde durch die Applikation von Pyloramin (H<sub>1</sub>-Antagonist) blockiert (Hatton und Yang, 1996). Weiterhin wurde gezeigt, dass H<sub>1</sub>-Rezeptor-Aktivierung die Stimulation Ligandengesteuerter Kanäle moduliert. Glutamaterge NMDA-Rezeptor medierte Ströme wurden durch H<sub>1</sub>-Rezeptor-Aktivierung gesteigert (Payne und Neumann, 1997).

In vivo Studien zeigten, dass die Ausschüttung von Noradrenalin im anterioren und posterioren Hypothalamus durch Stimulierung des H<sub>1</sub>-Rezeptors gesteigert werden kann (Philippu, Bale et al., 1984). In der CA3 wurden H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelte langsame Depolarisationen und verstärkte EPSPs beobachtet (Segal, 1980,1981; Tagami et al., 1984; Sunami, et al., 1991).

### **H<sub>2</sub>-Rezeptor**

Im Gegensatz zum H<sub>1</sub>-Rezeptor wirkt die Aktivierung des H<sub>2</sub>-Rezeptors in einigen Hirnarealen inhibitorisch, was sich in einer Hemmung der Feuerungsrate, einer Hyperpolarisation und einer Depression der Signaltransmission äußert (Haas und Bucher, 1975; Haas und Wolf, 1977; Haas et al., 1991; Schwartz und Haas, 1992).

Der Mechanismus der inhibitorischen Wirkung der H<sub>2</sub>-Rezeptor-Aktivierung ist bislang nicht geklärt. In hypothalamischen Zellkulturen wurde der inhibierende H<sub>2</sub>-Rezeptor-Effekt durch Phosphodiesterasehemmer potenziert, was auf eine medierende Aktion von cAMP hinweist (Geller et al., 1979,1981). Eine



Erklärungsmöglichkeit besteht in der indirekten Hemmung durch Exzitation nahegelegener GABAerger Neurone. Im Hippocampus – entorhinaler Cortex und CA1 – konnte allerdings eine exzitatorische Wirkung durch H<sub>2</sub>-Rezeptoraktivierung erzielt werden (Haas und Konnerth, 1983; Haas et al., 1990; Selbach et al. 1997). Dieser exzitatorische Effekt wird an den Pyramidenzellen des Hippocampus und den Körnerzellen des Gyrus dentatus durch Blockade calciumabhängiger Kaliumkanäle vermittelt.

Eine Calciumaktivierte Kaliumleitfähigkeit [gK(Ca)] spielt eine wichtige Rolle in der Regulation der Exzitation vieler Neurone. Sie ist verantwortlich für die Akkommodation der Feuerrate während langanhaltender Depolarisation und für die Ausformung einer langanhaltenden Nachhyperpolarisation. Histamin und H<sub>2</sub>-Agonisten blockieren diesen Effekt. Die exzitatorische Wirkung der H<sub>2</sub>-Rezeptor-Aktivierung ist nicht auf eine Blockade des Calciumstroms, sondern vielmehr auf eine direkte Wirkung am Kaliumkanal ( $I_{AHP\ slow}$ ) zurückzuführen (Haas und Greene, 1986; Greene und Haas, 1990).

## **2.5 Histaminerge Effekte im Hippocampus**

Die histaminerge Projektion aus dem tuberomammillären Nucleus beeinflusst die elektrischen und funktionellen Eigenschaften des Hippocampus (Weiler et al., 1998). Histamin blockiert die Akkommodation der Feuerung und die langanhaltende Nachhyperpolarisation in den Prinzipalzellen des Hippocampus (Haas und Konnerth, 1983). Der exzitatorische Effekt auf die Prinzipalzellen im Hippocampus wird durch H<sub>2</sub>-Rezeptoren vermittelt (Greene und Haas, 1990; Haas und Green, 1986) und äußert sich auch in einer Vergrößerung der population spikes sowie der spontanen Feuerungsfrequenz (Yanovsky und Haas, 1998; Brown, Fedorov, et al., 1995). Weiterhin hat HA einen starken exzitatorischen Effekt auf hippocampale Interneurone, was zu einem Anstieg spontaner IPSPs in den Pyramidenzellen der CA1 und den Körnerzellen des Gyrus dentatus führt (Greene und Haas, 1990; Haas und Greene, 1986). Auch diese Effekte scheinen H<sub>2</sub>-Rezeptor vermittelt zu sein. Eine neuere in vitro Studie zeigte, dass H<sub>2</sub>-Rezeptoraktivierung eine negative Modulation des Auswärtsstroms in inhibitorischen Interneuronen bedingt. Ein Effekt, der durch einen PKA-Phosphorylierungsmechanismus an der Untereinheit des

Kaliumkanals (Kv3.2) vermittelt wird, was die Feuerungsfrequenz der Interneurone und somit die Inhibition benachbarter Prinzipalzellen senkt (Atzori, M. et al., 2000).

Inhibitorisch wirkt HA auf die synaptische Transmission des tractus perforans zum Gyrus dentatus. Dieser Effekt ist durch präsynaptisch lokalisierte H<sub>3</sub>-Rezeptoren in den Nervenendigungen des tractus perforans vermittelt (Brown, 1996; Greene und Haas, 1990). Diesen inhibitorischen Effekt kann man auch in vivo nach Applikation eines H<sub>3</sub>-Agonisten (Manahan-Vaughan et al., 1998) sowie nach TM-Stimulation (Weiler et al., 1998) beobachten.

Neben den über HA-Rezeptor vermittelten Effekten, hat HA eine potenzierende Wirkung auf NMDA-Rezeptor-vermittelte Ströme isolierter oder kultivierter hippocampaler Pyramidenzellen (Bekkers 1993; Vorobjev et al., 1993).

Da dieser Effekt durch keinen Agonisten resp. Antagonisten der H<sub>1</sub>-, H<sub>2</sub>- und H<sub>3</sub>-Rezeptor zu imitieren resp. blockieren war und zudem ausgeschaltete second messenger Funktionen diesen Effekt nicht hemmten, kann man schlussfolgern, dass HA die potenzierende Wirkung direkt via Polyamin-Bindungs-Fläche des NMDA-Rezeptors entfaltet. Das histaminerge System könnte also auf diesem Weg modulatorisch in NMDA-Rezeptor Wirkungen, wie z. B. Langzeitpotenzierung (LTP) eingreifen (Vorobjev et al., 1993).

Wesentlich ist auch der indirekte Einfluss von HA durch Aktivierung cholinergischer Neurone des medialen Septums, die zum Hippocampus projizieren und hier maßgeblich das hippocampale EEG modulieren (Kap. 3). Diese Aktivierung, die zu einer erhöhten Ausschüttung von Acetylcholin führt, ist H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelt (Gorelova und Reiner, 1996).

## **2.6 Funktionale Aspekte von Histamin**

Der Einfluss nicht neuronalem HA wird bei einer Reihe von Funktionen, wie Freß- und Trinkverhalten, motorische Aktivität, Antinocizeption, Verstärkungs- und Lernmechanismen diskutiert (Schwartz et al., 1991; Yoshimatsu, H., et al., 1993; Tuomisto, 1994a, b; Bannoura et al., 1998; Eriksson et al., 2000). Übereinstimmende Befunde zeigten den Einfluss von HA in die Regulation biologischer Rhythmen, wie das Schlaf-Wach-Verhalten und den zirkadianen Rhythmus, sowie einen modulatorischen Einfluss auf den allgemeinen Erregungszustands des Gehirns (engl.: "arousal") (Onodera et al., 1994). Weiterhin wird dem histaminergen System eine modulierende Einflussnahme auf vegetative Komponenten zugeschrieben wie die Thermoregulation (Clark und Lipton, 1985), kardiovaskuläre Funktionen (Poulakos und Gertner, 1989) und die neuroendokrine Kontrolle (Knigge et al., 1988).

Im Folgenden werden die für die vorliegende Arbeit relevanten, funktionalen Aspekte von Histamin auf den Organismus beschrieben. Sie gliedern sich in beobachtbares Spontanverhalten, kognitive Funktionen (welche in Zusammenhang mit hippocampaler EEG-Aktivität diskutiert werden) und histaminerge Einflüsse auf hippocampale Aktivität, die sich im Gesamtverhalten des Organismus widerspiegelt.

### **2.6.1 Schlaf-Wach-Verhalten und zirkadiane Rhythmen**

Die Vermutung, dass HA in Mechanismen des "arousal" involviert ist, entsprang der Beobachtung der sedativen Effekte klassischer Antihistaminika ( $H_1$ -Antagonisten), die zur Behandlung inflammatorischer bzw. allergischer Reaktionen verwendet wurden. Diese Drogen blockieren nach Überquerung der Blut-Hirn-Schranke  $H_1$ -Rezeptoren im Gehirn (White und Rumbold, 1988).

Weiterhin wurde gezeigt, dass die HA-Ausschüttung einem zirkadianen Rhythmus unterliegt, wobei erhöhte HA-Spiegel während physiologischer Wachzeiten festgestellt wurden (Schwartz et al., 1976).

Elektrophysiologische Studien bei Katzen, zeigten Schlaf-Wach-abhängige Entladungen von TM-Neuronen, mit einem Sistieren der Zell-Aktivität während des Tief- und REM-Schlafes (Monti, 1993). Die Injektion von HA in hypothalamische Areale (Lin et al., 1988) verkürzt den Wachzustand während die bilaterale Transsektion des posterioren Hypothalamus resp. die Injektion des GABA<sub>A</sub>-Agonisten Muscimol in diese Region zu Somnolenz resp. zu Hypersomnie führt (Lin et al., 1989). Dementsprechend erzeugt die Gabe des H<sub>3</sub>-Antagonisten Thioperamid gesteigerte Wachheit (Lin et al., 1990) – ein Effekt, der durch H<sub>1</sub>- nicht aber durch H<sub>2</sub>-Rezeptorblocker antagonisiert wurde (Monti et al., 1990).

### **2.6.2 Motorische Aktivität**

Die Befunde zum histaminergen Einfluss auf motorische Aktivität sind nicht kongruent. In einigen Untersuchungen führte die ip. Injektion von HA zu einer Verminderung lokomotorischer Aktivität (Calcutt, 1976; Onodera und Ogura, 1985). Die H<sub>3</sub>-Rezeptorblockierung, sowie die Inhibition des HA-Katabolismus bedingte Hyperaktivität (Sakai et al., 1991, 1992). Dementgegen stehen Studien, in denen durch  $\alpha$ -FMH eine Reduktion lokomotorischer Aktivität erzielt wurde (Cacabelos und Alvarez, 1991) oder nach icv. Injektionen von HA biphasische Änderungen lokomotorischer Aktivität entstanden (Chiavegatto et al., 1998). Dieser biphasische Effekt gliedert sich in eine initiale Hypoaktivität und eine sich anschließende H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelte Hyperaktivität (Bristow und Bennett, 1988; Kalivas 1982).

Das Klonen des H<sub>1</sub>-Rezeptor-Gens machte es möglich, H<sub>1</sub>-Rezeptor-defiziente Mäuse zu züchten. Trotz normaler Entwicklung in der Ontogenese der Mäuse zeigten sich Verhaltensauffälligkeiten in der Lokomotion sowie im Explorationsverhalten der Tiere. Die Lokomotionsrate richtete sich nicht mehr nach den circadianen Rhythmen; zudem war die Exploration in neuer Umgebung reduziert (Inoue et al., 1996).

### **2.6.3 Aufrichten, Putzen und Schnüffeln**

Übereinstimmend zeigten Studien eine Abnahme des Aufrichtens von Ratten nach ip.-Injektionen des HA-Synthesehemmers  $\alpha$ -FMH sowie eine Zunahme nach ip. Applikation des HA N-methyltransferaseinhibitors Metoprine (Onodera et al., 1992; Sakai et al., 1992; Cacabelos und Alvarez, 1991). Ebenso zeigte eine icv.-Injektion von HA einen Anstieg des Putz- und des Aufrichteverhaltens (Kalivas, 1982). Dementgegen führte die intrahippocampale HA-Injektion zu einer Verringerung des Aufrichteverhaltens. Ein Effekt, der mit intrahippocampaler H<sub>2</sub>-Blocker Injektion antagonisiert werden konnte (Alvarez und Banzan, 1986; Alvarez und Guerra, 1982). Das Putzverhalten wurde nach H<sub>1</sub>-Antagonisten Administration gesenkt (Skuza et al., 1989).

### **2.6.4 Angst**

Es gibt bisher wenig Studien, die eine histaminerge Involvierung in angstbezogene Prozesse untersuchen. In einer Hell-Dunkel-Testapparatur wurde die Aufenthaltszeit von Mäusen durch die Applikation des partiellen H<sub>1</sub>-Agonisten und H<sub>3</sub>-Antagonisten Betahistine im hellen Kompartiment reduziert, was auf eine anxiogene Wirkung dieser Droge deutet. Den gleichen Effekt erzielte man durch Applikation einer Kombination von H<sub>2</sub>- und H<sub>3</sub>-Antagonisten. In beiden Versuchen wurde die anxiogene Wirkung der Drogen durch H<sub>1</sub>-Rezeptorblockade antagonisiert (Imiazumi et al., 1996; Imiazumi und Onodera, 1993). Die Injektion des H<sub>1</sub>-Antagonisten Chlorpheniramine in den Nucleus basalis magnocellularis zeigte einen anxiolytischen Effekt (Privou et al., 1998).

Kongruent zu diesen Befunden konnte mit H<sub>1</sub>-Rezeptor knockout Mäusen ebenso ein reduziertes Angst-Verhalten beobachtet werden, wie bei Ratten, die eine Läsion des tuberomammillären Kerns E2 erfahren haben (Yanai et al., 1998; Frisch und Hasenohrl, et al., 1998). Diese Studien postulieren eine anxiogene HA-Wirkung, die durch den H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelt wird. Klinische Befunde aus dem Humanbereich, in denen durch H<sub>1</sub>-Rezeptorblockade Angststörungen erfolgreich therapiert wurden stützen diese These (Douglas, 1985).

## 2.6.5 Lernen und Verstärkung

Seit vielen Jahren wird die Involvierung des histaminergen Systems in Lern- und Verstärkungsprozesse diskutiert, wobei sich die Befunde teilweise widersprechen (White und Rumbold, 1988; Schwartz et al., 1991). Die zentrale Verabreichung von HA erhöht die Schwelle intracranialer Selbstreizung (Cohn et al., 1973), und unilaterale Ibotensäure- oder Gleichstromläsionen der E2-Subregion des TM führten zum ipsilateralen Anstieg hypothalamischer Selbststimulation (Wagner et al., 1993). Futtermittelverstärktes operantes Verhalten wurde durch HA-Applikation gehemmt und durch H<sub>1</sub>-Blocker gefördert (Bergman und Spealman, 1986).

Untersuchungen zur Platzpräferenz zeigten übereinstimmende Befunde. Blockierung des H<sub>1</sub>-Rezeptors induziert Platzpräferenz nach Injektion in das basale Vorderhirn bzw. in den Nucleus accumbens der Ratte oder nach systemischer Injektion beim Goldfisch (Privou et al. 1998; Zimmermann Doktorarbeit, 1998; Mattioli et al., 1997).

Dem Konzept der Verstärkung wird bereits seit den dreißiger Jahren eine modulierende Funktion innerhalb der Gedächtnisformatierung zugesprochen (Thorndike, 1933; Huston, 1977a; White 1989). Das Modell der Gedächtniskonsolidierung durch Verstärkung (Huston, 1982) erläutert den Zusammenhang zwischen verstärkenden und gedächtnisverbessernden Effekten von Stimuli. Ereignisse, die verstärkend sind, sollten zu einer Lernverbesserung führen und vice versa. Dieses Modell stützt eine Reihe von Untersuchungen, die zeigten, dass verschiedene Verstärker, post-trial verabreicht, zu einer Gedächtnisverbesserung führten (Huston et al., 1977b; Mondadori et al., 1977; Carr und White, 1983; Huston und Oitzl, 1989; Messier et al., 1988).

Aufgrund der hemmenden Wirkung von HA, bzw. der disinhibierenden Effekte von H<sub>1</sub>-Blockern auf Verstärkungsmechanismen, ist zu vermuten, dass das histaminerge System auf Gedächtnisprozesse ebenfalls einen hemmenden Einfluss ausübt, der durch H<sub>1</sub>-Blockade antagonisiert wird. Die Blockade der HA-Synthese durch  $\alpha$ -FMH führte sowohl zu einer Leistungssteigerung in der Radial Maze-Performance als auch zur Beschleunigung aktiven Vermeidungsverhaltens (Sakai et al., 1998; Cacabelos und Alvarez, 1991).

Sowohl icv. als auch intrahippocampale HA-Injektion führte zur Verschlechterung aktiven Vermeidungslernens (Alvarez und Banzan, 1995; Tasaka et al., 1985). Erfolgte die icv.-Injektion allerdings erst nach dem Lerndurchgang (post-trial-Administration), wurde eine Leistungsverbesserung inhibitorischen Vermeidungslernens erzielt (De Almeida und Izquierdo, 1986, 1988).

Die leistungsvermindernde HA-Wirkung auf aktives Vermeidungslernen wurde durch intrahippocampale H<sub>1</sub>-Rezeptor-Blockade antagonisiert – wohingegen die H<sub>2</sub>-Rezeptor-Blockade keinen Einfluss zeigte (Alvarez und Banzan, 1996 a & b). Auch intracraniale Injektionen in den Nucleus basalis magnocellularis oder den Nucleus accumbens steigerten die Leistungen für inhibitorisches Vermeidungslernen (Privou et al., 1999; Zimmermann Doktorarbeit, 1998). Studien zu TM-Läsionen wiesen auf eine inhibitorische Funktion des histaminergen Systems auf die Gedächtnisformatierung (Huston et al., 1997; Frisch et al., 1998). So erhöhte sich die Retentionsleistung in Vermeidungsaufgaben nach Gleichstromläsionen der E2-Region des TM (Klapdor et al., 1994; Segura-Torres et al., 1996). In Übereinstimmung mit der inhibitorischen Funktion des histaminergen Systems auf Lernen, konnte in einer weiteren Studie durch i.p.-Injektion eines H<sub>1</sub>-Antagonisten eine Lernfazilitierung erzielt werden (Frisch, et al., 1997).

Allerdings liegen auch widersprüchliche Befunde zum histaminergen Einfluss auf die Lernleistung vor. So führte sowohl H<sub>3</sub>-agonistische als auch H<sub>3</sub>-Antagonistische systemische Applikation zu erhöhter Lernleistung (Meguro et al., 1995, Smith et al., 1994). Zudem zeigten icv.-Injektionen von HA dosisabhängig eine Verschlechterung oder Verbesserung des Gedächtnisabrufes (Bhattacharya, 1990; Tasaka et al., 1985). In den Prozess der Gedächtnisformation sind verschiedene Hirnareale involviert. Neben dem Hippocampus, gewinnt bezüglich der Engrammbildung das Septum bzw. die septohippocampale Projektion in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung. Da diese Projektion wesentlich an der hippocampalen EEG-Generierung beteiligt ist (Kap. 3) und Histamin via H<sub>1</sub>-Rezeptoraktivierung zu einer erhöhten Ausschüttung von Acetylcholin cholinerg septaler Neurone führt (Kap. 2.4; 2.5), soll an dieser Stelle kurz die Involvierung septohippocampaler Projektionen bzw. cholinergischer Aktivität in Lernprozesse erläutert werden:

Läsionen des Septums bzw. die Transsektion der Fimbria-Fornix zeigten eine Reduzierung des räumlichen Gedächtnisses, die jeweils mit einer Abnahme der Cholinacetyltransferase im Hippocampus korrelieren (Matsuoka et al., 1991).

Die septohippocampale Projektion enthält, wie in 1.2.1 beschrieben, vornehmlich cholinerge und GABAerge Fasern, welche zu den Pyramidenzellen bzw. Interneuronen der CA3 und zum Gyrus dentatus projizieren. Der fazilitierende Effekt von vornehmlich muscarinergen, cholinergen Agonisten auf Lernprozesse ist seit einigen Jahren bekannt, ebenso die Lernverschlechterung durch muscarine Rezeptorblockade. Entscheidend für den Effekt cholinerges Aktivität ist der Applikationsort der Ago- bzw. Antagonisten bzw. anderer neuroaktiver Substanzen, die die cholinerge Aktivität mediieren (Izquierdo und Medina, 1995).

Intrahippocampale Injektion des muscarinischen Rezeptorantagonisten Scopolamin verursacht eine Lernschwäche. Demzufolge zeigten muscarinische Agonisten oder GABA<sub>A</sub>-Antagonisten einen fazilitierenden Effekt und die intraseptale Injektion von GABA<sub>A</sub>-Agonisten eine Hemmung der Arbeitsgedächtnisprozesse (Izquierdo et al., 1992; Rosat et al., 1992; Chrobak et al., 1989). Appliziert man Scopolamin aber in das Septum, konnte in bestimmten Lernaufgaben keine Lernschwäche induziert werden (Rosat et al., 1992). Diese intrahippocampalen und intraseptalen Injektionsbefunde auf Gedächtnisprozesse konnten durch LTP-Studien manifestiert werden.

Demzufolge postulierten Izquierdo und Medina (1995) eine hohe Korrelation bei pharmakologischer Induktion, u. a. durch muscarinerge Agonisten, von LTP und erhöhter Lernleistung. Da Läsionen des Nucleus basalis magnocellularis (Nbm) im Gegensatz zu septalen Läsionen nur eine leichte, reversible Beeinträchtigung im Diskriminationslernen bedingen, ist zu vermuten, dass der cholinerge septohippocampale Faserzug eine prägnantere Rolle bei der Engrammbildung spielt als die cholinerge Innervation des Neocortex aus dem Nbm (Harder et al., 1998).

Weitere Studien zeigten, dass Modulation histaminerger Aktivität Scopolamin-induzierte Lernschwäche verbessern kann. Sowohl H<sub>3</sub>-Agonisten – Applikation als auch die kombinierte Verabreichung des H<sub>3</sub>-Antagonisten mit einem H<sub>2</sub>-Antagonisten verbesserte in diesen Untersuchungen die Lernleistung (Miyazaki et al., 1995, 1997; Smith et al., 1994).



### 2.6.6 Synaptische Plastizität

Seit Jahren wird die Langzeitpotenzierung (LTP) als neurophysiologisches Korrelat gedächtnisformatierender Mechanismen diskutiert. Hebb postulierte (1949), dass sich das Gedächtnis in der Änderungen der synaptischen Gewichtung manifestiert. Die positive Korrelationen von Lernleistung und synaptischer Plastizität wurde in einer morphologischen Analyse deutlich, die zeigte, dass Ratten, die einen unkonditionierten Stimulus erlernten, gegenüber der Kontrollgruppe eine höhere postsynaptische Dichte aufwiesen. Die damit erzielte erhöhte Anzahl von Rezeptoren und Ionenkanälen bedingt möglicherweise eine gesenkte Stimulationsschwelle um die Signaltransmission zu faszilitieren (Geinisman et al., 2000).

Im Gyrus dentatus wurde erstmalig 1973 eine langanhaltende Potenzierung extrazellulärer synaptischer Potentiale (LTP) registriert, die in vitro vier Stunden und im intakten Präparat Wochen persistierte (Bliss und Gardner-Medwin, 1973; Bliss und Lomo, 1973). Neben der langanhaltenden Potenzierung zeichnet sich das LTP durch weitere Eigenschaften aus, die es zu einem attraktiven Model für die zugrundeliegenden Mechanismen der Gedächtnisformation machen.

LTP besitzt synaptische Spezifität, d. h., nur die zum Zeitpunkt der LTP-Induktion aktiven Synapsen werden potenziert. LTP unterliegt einem kooperativen Prozess, d. h. mehrere Fasern müssen gleichzeitig stimuliert werden. Schließlich kann durch einen assoziativen Mechanismus auch eine schwache Stimulation (unterhalb des Schwellenniveaus) zu LTP führen, wenn das postsynaptische Neuron gleichzeitig über einen anderen Input depolarisiert wurde (Bliss und Collingridge, 1993).

LTP bezeichnet eine verstärkte Wirksamkeit synaptischer Signaltransduktion nach hochfrequenter Stimulation (10-400 Hz, tetanisch) afferenter Nervenfasern, die mehrere Stunden persistiert. Eine schwache Stimulation führt zu einer bis zu 5 Min. andauernden posttetanischen Potenzierung (PTP), stärkere Stimulierung induziert eine bis zu einer Stunde anhaltende KurzzeitPotenzierung (STP). Da nach vormaliger LTP-Induktion nicht direkt erneut ein LTP – wohl aber PTP und STP – auslösbar sind schliesst man, dass verschiedene Mechanismen langanhaltender bzw. kurzzeitiger Potenzierung zugrunde liegen.

Der Übergang vom PTP- in das STP-Stadium kann durch Applikation des Glutamatagonisten NMDA induziert werden (Kauer et al., 1988). Der NMDA-Antagonist D,L-AP5 zeigte in vivo nach intrahippocampaler Microinfusion eine Blockade für LTP-Induzierung sowie einen Abfall räumlichen Lernens (Morris RG et al., 1989). Für die Induktion von LTP ist neben der Aktivierung des NMDA-Rezeptors ein zusätzlicher Trigger notwendig. Diskutiert wird die Beteiligung von Rezeptoren aus der mGluR Familie oder des cAMP/PKA Mechanismus (Matthies und Reymann, 1993).

HA kann über mehrere Wege in den Prozess zur LTP-Induktion eingreifen. In der CA1 des Hippocampus fazilitiert HA die Induktion von LTP auch bei Blockade der H<sub>1</sub>-und H<sub>2</sub>-Rezeptoren, so dass dieser Effekt über direkte Aktion am NMDA-Rezeptor vermittelt zu sein scheint (Brown et al., 1995). Neben der direkten Aktivierung des NMDA-Rezeptors über die Polyamin-Bindungs-Stelle, kann eine Steigerung des NMDA-Stroms durch Blockade Ca-abhängiger Kaliumkanäle via H<sub>2</sub>-Rezeptor (Haas, 1984) oder durch Modulation des Magnesiumblocks im NMDA-Rezeptor via H<sub>1</sub>-Rezeptor induziert werden. HA induziert in den Prinzipalzellen des Gyrus dentatus und der CA3 via H<sub>2</sub>-Rezeptor ein LTP der synaptischen Feld- (fEPSP) und Populationsaktionspotentiale (EPSP oder "popspikes") (Haas, 1992). Umgekehrt führt die H<sub>3</sub>-Rezeptor-Aktivierung im Gyrus dentatus zu einer reduzierten "paired-pulse" Plastizität, eine Form des STP (Brown und Reymann, 1996).

### **2.6.7 Epilepsie**

Schon kurz nach der Einführung der klassischen Antihistaminika entdeckte man ihre prokonvulsiven Eigenschaften (Wyngharden und Seevers, 1951). Klinische Studien belegen, dass die Administration von H<sub>1</sub>-Antagonisten die Auftretenshäufigkeit epileptischer Anfälle bei Epilepsiepatienten erhöht (Churchill und Gammon, 1949; Yokoyama et al., 1993). Dementsprechend wurde bei Kindern mit febrilen Anfällen eine verminderte HA-Konzentration im cerebrospinalen Fluidum (Kiviranta et al., 1995) und in den corticalen Foci von Epilepsiepatienten ein erhöhtes Auftreten von H<sub>1</sub>-Rezeptoren nachgewiesen (Iinuma et al., 1993).

Letzteres deutet auf einen defensiven Mechanismus eines antikonvulsiven Systems hin, welches das Ausbreiten der elektrischen Aktivität eindämmt – was wiederum auf einen hemmenden Effekt des histaminergen Systems hinweist.

Tierexperimentelle Studien zeigten, dass durch elektrische Induktion von Epilepsie (Amygdala-kindling-seizure) der HA-Gehalt in der Amygdala sinkt, durch Applikation von Histidin die Ausformung der Epilepsie gehemmt wird (was wiederum durch H<sub>1</sub>-Blocker antagonisierbar war (Kamei, et al., 1998)) und weiterhin, dass die Induktion von Epilepsie durch H<sub>1</sub>-Antagonisten faziitiert wurde (Yokoyama, et al., 1996).

L-Histidin vermittelte antikonvulsive Effekte wurden durch  $\alpha$ -FMH, H<sub>1</sub>- nicht aber H<sub>2</sub>-Antagonisten reduziert (Yokoyama, et al., 1992). Ebenso wurden die antikonvulsiven Effekte von H<sub>3</sub>-Antagonisten, durch H<sub>1</sub>- nicht aber H<sub>2</sub>-Blocker antagonisiert (Yokoyama, et al., 1993; Yokoyama et al., 1994).

Zusammengefasst sprechen diese Befunde für einen inhibierenden H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelten Mechanismus des histaminergen Systems auf die Entwicklung oder Auftretenshäufigkeit von Epilepsie.

### **3. Hippocampales EEG**

Zur Generierung rhythmischer, synchroner Oszillationsmuster ist die Zusammenarbeit mehrerer Neurone – erregender sowie hemmender – erforderlich. In solch einem neuronalen Netz fällt eine wesentliche Aufgabe zur Ausformung der verschiedenen Entladungsmuster den Interneuronen zu. So können diese auch selbst als Schrittmacherzellen fungieren, um einen Rhythmus in ihren Zielneuronen zu initiieren, bzw. durch gleichzeitige Erregung benachbarter Prinzipalzellen, deren Feuerungsrate je nach Synapsenlokalisierung auf vielfältige Art modulieren oder gar mit ihren Zielneuronen in rekkurrenten- bzw. feedforward-Mechanismen „Mischschaltkreise“ ausformen (Traub et al., 1998; Khazipov et al., 1997; Buzsaki et al. 1996).

Die Zusammenarbeit eines neuronalen Netzwerks wird durch Einzelzelleableitung oder durch Messung von Feldpotentialen vieler Neurone aufgeschlüsselt, wobei sich in den Feldpotentialen hauptsächlich die Aktivitäten bzw. Potentiale der Prinzipalzellen widerspiegeln, da die Interneurone zu klein und nicht

so zahlreich sind, als dass sich ihre Aktivität in dem abgeleiteten Potential widerspiegelt. Die Tatsache, dass spontane hippocampale Aktivität in hohem Maße mit verschiedenen Verhaltensweisen korreliert, ist seit Ende der sechziger Jahre bekannt. Seitdem versucht man die zelluläre Basis der verschiedenen, verhaltensgebundenen Oszillationsmuster zu ergründen (Vanderwolf, 1969).

### **3.1 Theta-Aktivität**

Der am weitesten charakterisierte EEG-Typ des Hippocampus ist die Theta-Oszillation (6-12 Hz) – früher als rhythmische langsame Aktivität (RSA) bezeichnet. Aufgrund der zahlreichen Literatur zu diesem Thema wird in diesem Kapitel die zelluläre Grundlage hippocampalen EEGs ausführlich beschrieben und bietet somit die Basis zum Verständnis, der in dieser Arbeit untersuchten elektrischen Aktivität. In der Ratte findet man Theta-Oszillationen während explorativem Verhalten, wie Schnüffeln, Aufrichten oder Lokomotion und im REM-Schlaf (Vanderwolf, 1988). Auch beim Menschen konnte man bei spezifischen Verhaltensweisen hippocampale Theta-Oszillation ableiten (Kahana et al., 1999; Sandky et al., 1998).

Einzelzelleableitungen hippocampaler Pyramidenzellen zeigten, dass bestimmte Neurone korrespondierend mit dem Theta-Zyklus feuern, sobald sich das Tier an einer bestimmten Stelle in der Umgebung befindet bzw. sich in einer bestimmten Ausrichtung aufhält (O'Keefe und Dostrovsky, 1971). Tiere mit hippocampalen Läsionen können sich in ihrer Umgebung nicht mehr adäquat orientieren.

Aufgrund dieser Befunde postulierten O'Keefe und Nadel (1978), dass der Hippocampus eine kognitive Landkarte der Umgebung darstellt. Einzelne Zellen feuern lokalisationspezifisch (place cells) und bilden zusammen mit anderen Neuronen überlappende Felder (place fields), deren Feuerungsverhalten somit die Lokalisation des Tieres im Raum (spatial field) widerspiegelt (Wilson und McNaughton, 1993).

Einzelzelleableitungen von Pyramidenzellen der CA1 zeigten eine Feuerungsrate von 7-12 Hz, wenn das Tier im spatial field der abgeleiteten Neurone (place field) umherlief oder sich aufrichtete – phasengebunden zur hippocampalen Theta-Aktivität. Außerhalb des spatial fields führte die Lokomotion bei gleichbleibendem

Theta zu einer Erniedrigung und Arrhythmizität der pyramidalen und granulären Einzelzellfeuerungsrate (0.01-1.7 Hz), in den Tälern der Thetawellen. Wohingegen die Interneurone einen Anstieg ihrer Feuerungsrate sowie ein rhythmisches Entladen während der Amplitudenmaxima der Thetawellen zeigten.

Um den Mechanismus der Theta Oszillation zu ergründen, muss der Einfluss hippocampaler Afferenzen einbezogen werden. Frühe Studien zeigten, dass sowohl systemische als auch intrahippocampale Injektion cholinergischer Agonisten Theta-Aktivität induzierte, während antimuscarine Drogen sie unterdrückte (Stumpf, 1965; Bland et al., 1981). Weiterhin wurde gezeigt, dass Acetylcholin durch Reduktion einer Kaliumleitfähigkeit hippocampale Pyramidenzellen leicht depolarisiert (Ben-Ari et al., 1981; Cole und Nicoll, 1984).

Die prominenteste cholinerge Projektion zieht vom Septum und dem diagonalen Band von Broca (MSDB) in den Hippocampus. Cholinerge Schrittmacherzellen des Septums, welche sowohl zu den Prinzipalzellen als auch zu den Interneuronen des Hippocampus projizieren, wurden als Initiatoren hippocampaler Theta-Aktivität betrachtet (Buzsaki und Eidelberg, 1983). So zeigten in vitro Untersuchungen eine spontane, rhythmische Aktivität septaler Neurone (Vinogradova et al., 1998). Demzufolge verhinderten Läsionen des Septums, der septohippocampalen Projektion sowie die gezielte Zerstörung cholinergischer, septaler Neurone die Theta-Aktivität (Lee et al., 1993).

Da nach septaler Läsion auch keine rhythmischen Entladungen der Interneurone identifiziert wurden, folgerte man, dass sie den Trigger der Theta-Oszillation im Ammonshorn darstellen. Somit erzeugen cholinerge Schrittmacherzellen des Septums ein rhythmisches Oszillieren GABAerger Interneurone im Ammonshorn, wodurch deren benachbarte Pyramidenzellen rhythmisch gehemmt werden und in Theta-Frequenz oszillieren.

Wie bereits angesprochen, hemmen muscarinerge Rezeptorblocker das Auftreten der Theta Wellen nicht vollständig. Erst die zusätzliche Administration von Parachlorophenylalanine (Serotoninsynthesehemmer) verhinderte die Theta-Generierung (Vanderwolf und Baker, 1986). Kongruent zu diesen Ergebnissen erzeugte die Stimulation des Raphekerns trotz muscarinergischer Blockade Thetawellen (Robinson und Vanderwolf, 1978).

Serotonerge Afferenzen aus dem Raphe Kern ziehen hauptsächlich zu hippocampalen GABAergen Interneuronen (Freund et al., 1990). Eine dominante serotonerge Projektion zum Hippocampus erreicht diesen über den entorhinalen Cortex. Lädert man diese Projektion, werden die Muscarinblocker-resistenten Thetawellen gelöscht (Whishaw und Kolb, 1979; Vanderwolf et al., 1985). Alleinige Läsionen des entorhinalen Cortex zeigten keinen Einfluss auf das Auftreten der Theta-Aktivität senkte aber die Theta-Amplitude um die 50 Prozent (Whishaw und Sutherland, 1982; Bragin et al., 1995; Kocsis et al., 1999).

Weitere Untersuchungen zeigten, dass der Aktivitätsgrad von Schicht II und III des EC in hohem Maße mit der Erregbarkeit der Körnerzellen des Gyrus dentatus korreliert, zu welchen sie projizieren (Buzsaki et al., 1994). Die Pyramidenzellen des EC, die zum Stratum lacunosum moleculare der CA1 projizieren, feuern ebenfalls phasenabhängig zum Theta-Zyklus (Ylinen et al., 1995 a; Toth et al., 1997; Chrobak und Buzsaki, 1998). Über den Tractus perforans, der z. B. durch Serotonin getriggert Glutamat ausschüttet, erhalten die Dendriten der Prinzipalzellen im Gyrus dentatus und Ammonshorn einen exzitatorischen Eingang (Leung, 1984). Die beschriebene Inhibition der Prinzipalzellen erfahren sie durch benachbarte Interneurone im Bereich ihres Somas. Dieser Dipol, begründet in dendritischer Exzitation und somatischer Inhibition, ließ sich in einer Stromdichte-Karte, welche die Ein- bzw. Auswärtsströme an Neuronen aufzeigt, nachweisen (Buzsaki et al., 1994).

Neuere Untersuchungen deuten auf zwei distinkte Mechanismen der Theta Generierung in der CA1. Kohärenzanalysen zeigten, dass der rhythmische Input aus dem EC in den Hippocampus die Theta-Kohärenz zwischen der pyramidalen Schicht und dem Stratum oriens in der CA1 bedingt. Die Theta-Kohärenz zwischen dem Stratum radiatum der CA1 und der molekularen Zellschicht des Gyrus dentatus wird durch die CA3-Innervation generiert (Kocsis et al., 1999).

Neben der cholinergen Projektion aus dem Septum gewinnt die GABAerge septohippocampale Projektion zunehmend an Bedeutung. Sie zieht zu den GABAergen Interneuronen des Hippocampus und erhält von diesen reziproke Projektionen. Außerdem bilden die Hippocampus-Interneurone Synapsen mit cholinergen Neuronen des Septums (Toth et al., 1993). In vitro Studien zeigten die intrinsische Eigenschaft von GABAergen septalen Neuronen im Thetarhythmus zu oszillieren (Serafin et al., 1996). Somit würden die GABAergen Projektionen des Septums hippocampale Interneurone rhythmisch hemmen, was eine rhythmische Disinhibition hippocampaler Pyramidenzellen zur Folge hat. In Untersuchungen zeigte sich, dass die Theta-Oszillation der Pyramidenzellen durch IPSP's geformt wird (Soltesz und Deschenes, 1993; Ylinen et al., 1995 a).

*Welche Rolle spielt dann die cholinerge septohippocampale Projektion?*

Durch muscarine Rezeptoraktivierung wird der Kaliumstrom gehemmt (Madison et al., 1987) und der Einwärtsstrom in die Pyramidenzellen gefördert (Caeser et al., 1993). Somit können die Pyramidenzellen leichter disinhibiert werden. Weiterhin wurde gezeigt, dass muscarine Rezeptoraktivierung den Kalium-Leckstrom der Interneurone inhibiert, wodurch eine gesteigerte Theta-Oszillation ausgelöst wurde (Parra et al., 1998). Vinogradova et al. (1998) zeigten, dass ein erhöhter endogener Acetylcholingehalt (durch Physostigmine) – der eine größere Anzahl beteiligter septaler cholinergischer Neurone reflektiert – die Stärke, nicht aber die Frequenz der Theta Aktivität ändert.

Für die Frequenzcodierung ist der GABAerge Mechanismus verantwortlich. Da die GABAerge septohippocampale Projektion reziprok verläuft, ist es auch denkbar, dass das Feuermuster der septalen Neurone durch die GABAergen Interneurone des Hippocampus mediert wird; zumal die Stimulation der Fimbria – direkter Output des Hippocampus – die Feuerungsaktivität der MSDB Neurone senkt (McLennan und Miller, 1974).

Daraus leitet sich die Effektivität eines septo-hippocampo-septalen Kreislaufs ab, in welchem oszillierende GABAerge MSDB Interneurone hippocampale Interneurone in Thetafrequenz periodisch hemmen und vice versa. Solch ein rekurrenter Mechanismus verstärkt und verlängert die Theta-Oszillation.

Zusammenfassend wird die hippocampale Theta-Aktivität durch externe Einflüsse generiert. Verantwortlich sind hierfür die rhythmischen Oszillationen cholinerg und GABAerger Neurone des Septums, welche die Prinzipalzellen bzw. Interneurone des Hippocampus innervieren. Dem entorhinalen Cortex wird eine untergeordnete Rolle zur Theta-Generierung zugeschrieben. So kann er z. B., durch serotonerge Afferenzen stimuliert, die Ausformung der Theta-Aktivität modulieren.

### **3.2 Gamma-Oszillation**

Intermittierend zur Theta-Aktivität treten schnellere Oszillation von 40-100 Hz auf, wobei die Frequenz beider Oszillationen positiv korreliert. Diese sogenannten Gamma-Oszillationen werden im wachen Tier während explorativen Verhaltens beobachtet (Chrobak et al., 1998). Experimentell kann man Gamma-Oszillationen auch bei Primaten, durch die Konfrontation mit sinnesmodalitätsspezifischen Stimuli in den entsprechenden primär sensorischen Arealen, evozieren. In einigen Untersuchungen wurde ihr Auftreten in Arealen kognitiv höherer Verarbeitung nachgewiesen. Entsprechend der Stimulusmodalität gelang es in diesen Studien ein distinktes Auftreten der Gamma-Oszillationen zu evozieren (Abeles et al., 1993; Espinosa und Gerstein, 1988). Aufgrund dieser Befunde wird ihre Funktion als elektrophysiologisches Korrelat basaler Wahrnehmungsprozesse diskutiert (Gray et al., 1989, 1994) (Kap. 4.2).

Einen weiteren Beitrag zur Aufklärung kognitiver Korrelate der Gamma-Oszillation erbrachte ihre Identifizierung in subcorticalen Arealen. Im Prae- und Parasubiculum, welche mit dem EC die Verbindungsstelle zwischen Neocortex und Hippocampus bilden, sowie in den hippocampalen Regionen selbst treten sie auf (Eckhorn et al., 1988; Murthy und Fetz, 1992; Singer und Gray, 1995; Engel et al., 1997).



### *Welche Regionen sind an der Gamma-Generierung im Hippocampus beteiligt?*

Im EC wurden Gamma-Oszillationen in den Schichten II und III identifiziert, welche zum Gyrus dentatus projizieren und auf diesem Weg den Hippocampus mit neocorticaalem Input versorgen (Charpak et al., 1995; Chrobak et al., 1994).

Der EC innerviert über den Tractus perforans die Körnerzellen und hilaren Interneurone des Gyrus dentatus. Durch Stimulation des Tractus perforans gelang es, im Hilus Gamma-Aktivität und eine verstärkte Feuerungsrate der hilaren Interneurone zu evozieren. Neben dem Hilus identifizierte man Gamma-Oszillationen auch in der CA1 und CA3, allerdings mit verkleinerter Amplitude (Bragin et al., 1993; Buzsaki et al., 1983); wobei die Kohärenz zwischen Hilus und CA1 größer war, als die zwischen Hilus und CA3.

Die Läsion des EC löschte die Gamma-Oszillationen im Hilus oder zeigte sie stark verkleinert, während ihre Amplitude in der CA1 und CA3 bei erniedrigter Frequenz (25-50 Hz) zunahm (Bragin et al., 1995). Demzufolge generiert der EC über den Tractus perforans die Gamma-Oszillation im Hilus, während er die Oszillationsausformung in der CA1 und CA3 hemmt.

Die Tatsache, dass trotz läsioniertem EC Gamma-Oszillationen auftraten, deutet daraufhin, dass intrahippocampale Assoziationskreisläufe die Gamma-Aktivität generieren. In einer Stromdichte-Karte identifizierte man in den Schichten der CA1 eine Ein-Auswärtsstrom-Verteilung, die auf eine Erregungsübertragung via Schaffer-kollaterale aus der CA3 hinweist (s. Kap. 3.3).

Studien am visuellen Cortex der Katze sowie im Primatencortex zeigten, dass während der Gamma-Aktivität in Pyramidenzellen sowohl EPSP's als auch IPSP's phasenabhängig zum Oszillationsrhythmus auftreten (Jagadeesh et al., 1992; Chen and Fetz, 1993). IPSP's könnten durch Feuerung hilarer Interneurone an ihren Zielneuronen – Körnerzellen und CA3-Pyramidenzellen – ausgelöst werden, was auch erklären würde, warum diese Zielneurone während Theta-assoziiertes Gamma-Oszillation überwiegend ruhig sind.

Die Gamma-Oszillation setzt sich demnach aus Tractus perforans stimulierten EPSP's an den Prinzipalzeldendriten und den IPSP's – generiert an den Prinzipalzellsomata durch hilare Interneurone – zusammen (Bragin et al., 1993).

*Durch welchen Mechanismus werden die Gamma-Oszillationen getriggert ?*

Ähnlich den Schrittmacherzellen, welche die Theta-Aktivität generieren, werden „chattering cells“ als Generator der höherfrequenten Gamma-Oszillation diskutiert. Interneurone könnten über metabotrope Glutamatrezeptoraktivierung depolarisiert werden und durch reziproke Hemmung benachbarter Interneurone eine Feuerungsfrequenz von 40 Hz erzielen. Nach der Induktion dieser Oszillationsfrequenz vermitteln sie via GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren eine periodisch fluktuierende Inhibition der Pyramidenzellen und bedingen so deren 40 Hz Feuerung (Whittington et al., 1995).

Kongruent zu dieser Hypothese zeigten in vitro Untersuchungen, dass metabotrope Glutamat-Rezeptoraktivierung, bei gleichzeitiger Blockade des ionotropen Glutamat-Rezeptors, IPSP's in Pyramidenzellen und in Interneuronen induzierte, die nun im 40 Hz-Rhythmus oszillierten (Traub et al., 1996).

Computersimulationen stützen die These der intrinsischen Oszillations-Eigenschaften von Interneuronen, welche durch gegenseitige Hemmung im Interneuronennetzwerk eine 40 Hz-Oszillation ausbilden (Traub et al., 1998). Weiterhin postulierten Studien, dass Pyramidenzellen als „chattering-cells“ corticale Gamma-Oszillation generieren. Ob solch ein intrinsischer Pyramidenzell-Mechanismus hippocampale Oszillationen generieren kann, bleibt nachzuweisen (Gray und McCormick, 1996).

### **3.3 Die hochfrequenten Oszillationsmuster „sharp waves“ und „ripples“**

In der Abwesenheit von Theta treten großamplitudige spitz zulaufende Wellen auf, die ehemals als “large amplitude irregular activity” bezeichnet wurden (Vanderwolf, 1969). Im Lauf des letzten Jahrzehnts wurde die neuronale Basis dieser Aktivität, sowie deren Abhängigkeit zum beobachteten Verhalten genauer untersucht und erhielt den Namen sharp wave (SPW). Identifiziert wurden die

40-120 msec andauernden Wellen während der Tiefschlafphase, wachem Ruheverhalten, Essen, Trinken und Putzen (Buzsaki et al., 1983; Suzuki und Smith, 1987) aber nicht während Theta-assoziiertem Verhalten.

Fimbria-Fornixläsionen verhindern zwar nicht das Auftreten der SPW's doch ihre Korrelation mit SPW-assoziiertem Verhalten wird aufgehoben. Läsionen des entorhinalen Cortex zeigten im Gegensatz zur Gamma-Oszillation keinen Einfluss auf die SPW-Ausbildung (Buzsaki et al., 1983).

Die zellulären Basen von Theta und SPW's unterscheiden sich grundlegend. Die Feuerungsrate der Pyramidenzellen in CA1-CA3, im Subiculum und in den tieferen Schichten des EC ist im Vergleich zu Theta wesentlich erhöht. Ebenso steigt die Feuerungsrate der Interneurone (Ylinen et al., 1995 b, Buzsaki et al., 1992).

Durch Stimulation des Tractus perforans werden die CA3-Pyramidenzellen über den Gyrus dentatus synchron aktiviert. Daraufhin zeigte die Stromdichte-Karte in der CA1 einen Einwärtsstrom (negatives Feldpotential) im Stratum radiatum – mit geringerer Intensität auch im Stratum oriens – und einen Auswärtsstrom (positives Feldpotential) in der pyramidalen Zellschicht.

Daraus lässt sich schließen, dass die apikalen (stratum oriens) und distalen Dendriten (stratum radiatum) der CA1-Pyramidenschicht durch die Schaffer-kollaterale der CA3-Pyramiden aktiviert wurden. Eine CA3-Pyramidenzelle kann zwischen 10.000 und 20.000 Neurone der CA1 innervieren (Li et al., 1994). Im Gegensatz zu den CA1-Pyramidenzellen verfügen die in der CA3 liegenden Pyramiden über ein extensives rekurrentes Kollateralsystem, d. h. durch die Erregung einer CA3-Pyramidenzelle werden ihre benachbarten Pyramidenzellen ebenfalls aktiviert.

Werden die CA3-Pyramidenzellen nicht durch subcorticale Innervationen gehemmt (s. Theta.), entsteht ein großes Entladungspotential, welches über die Schaffer-kollaterale sowohl die Pyramidenzellen als auch die Interneurone der CA1 aktiviert. Die CA1-Interneurone werden zudem in einem feedback-Mechanismus durch rekurrente Axonkollaterale der CA1-Pyramidenzellen depolarisiert (Li et al., 1992).

Somit erfahren die CA1-Pyramidenzellen eine dendritische Depolarisation über die Schaffer-kollaterale mit somatischer Inhibition durch benachbarte Interneurone.

Eine phasenabhängige synchrone Entladung der Interneurone könnte eine rhythmische Feuerung der, durch den CA3-Input depolarisierten CA1-Pyramidenzellen, induzieren.

Tatsächlich wird in der CA1 eine hochfrequente Oszillation um 200 Hz während des SPW Status festgestellt – die sogenannten ripples (Ylinen et al., 1995 b). Einzelzelleableitungen zeigten, dass die Interneurone in der pyramidalen Schicht während des SPW Status mit einer Frequenz von 150-250 Hz feuerten. In den SPW Pausen senkte sich die Feuerungsrate erheblich. Die Feuerungsrate der CA3-Pyramidenzellen beträgt während des SPW Status 80-140 Hz.

Diese Befunde stützen die These, dass die Interneurone maßgeblich für die hochfrequente CA1-Oszillation verantwortlich sind und ripples durch IPSP's der Pyramidenzellen in der CA1 reflektiert werden (Ylinen et al., 1995 a&b).

Csicsvari et al. unterscheiden niederfrequente ripples (100-140 Hz), die synchron zu den CA3-Pyramidenzellen feuern, von hochfrequenten (170-200 Hz), bei denen die CA3 Pyramidenfeuerung zwar auch als Trigger dient, die ihre hochfrequente Oszillation aber CA1-eigenen Netzwerkmechanismen verdanken (Csicsvari et al., 1999 a&b).

Eine Blockade der GABAergen Inhibition zeigte ebenso wie die subcorticale Deafferentierung das Auftreten großamplitudiger, interiktaler Spikes, die zwar auch synchronisierte Feldpotentiale aber nicht die rhythmische Oszillation des CA1-Netzwerks widerspiegeln (Buzsaki et al., 1989, 1991). Die größeren Amplituden zeigten eine höhere Beteiligung von Pyramidenzellaktivität.

Damit ist die inhibitorische Interneuronenfunktion notwendig, um ein ungestörtes Oszillationsmuster bei limitierter Anzahl partizipierender Neurone zu erzeugen. Jeder Fehler in diesem System führt zu einer Desynchronisation und erzeugt interiktale Spikes, die denen eines epileptischen EEGs ähneln.

Ein herausragendes Charakteristikum der ripples ist ihre großflächige Kohärenz. Eine synchrone Ripple-Oszillation wurde innerhalb von 2 mm longitudinaler Ausdehnung gefunden (Ylinen et al., 1995 b). Einige Autoren sprechen sogar von einer Kohärenz über 5 mm (Chrobak und Buzsaki, 1996). Voraussetzung solch großer räumlicher Kohärenz wäre ein ausgeprägtes reziprokes Kollateralsystem der Pyramidenzellen, Pyramidenzell-Interneuronen-Interaktionen oder die schnelle elektrische Transmission mittels Spaltverbindungen (gap junctions).

Einige Studien unterstützen die These, dass die Funktion von gap junctions zwischen Pyramidenzellaxonen für die große räumliche Kohärenz der Oszillation verantwortlich ist (Draguhn et al., 1998).

An einer Vielzahl hippocampaler Interneurone wurden bereits gap junctions nachgewiesen (Katsumaru et al., 1988). In vitro konnte Calcium- und pH-abhängige CA1-Pyramidenzell-Kupplung induziert werden (Valiante et al., 1995; Church und Baimbridge, 1991).

In vivo konnte unter Halothan, nicht aber unter anderen Narkotika, ein vollständiges Löschen der Ripples beobachtet werden. Halothan ist bekannt als Blocker für gap junction vermittelte Übertragung, wobei die Wirkung aufgrund der geringen Spezifität umstritten ist (Finkbeiner, 1992; Ylinen et al., 1995 b).

In vitro konnten ebenfalls hochfrequente ripple-Oszillationen (150-200 Hz) beobachtet werden, wobei man annahm, dass bisherige Erklärungen des neuronalen Netzwerkes zur Generierung von ripples zu langsam wären, um so eine hohe Frequenz zu erzeugen. Die Annahme ripples wären GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-vermittelte Oszillationen, konnte in diesem in vitro Experiment nicht bestätigt werden. Die ripple-Oszillation persistierte trotz Blockierung des GABA<sub>A</sub>-Rezeptors. Auch Glutamatantagonisten oder gar das Bad in einer Calcium-freien Lösung, welche eine chemisch synaptische Transmission in vitro unterbindet, konnten das Auftreten von ripples nicht verhindern. Erst die Gabe von gap-junction Blockern wie Halothan unterdrückte die spontane hoch frequente Oszillation in vitro (Draghun et al., 1998).

Weiterhin wurden im EC ripples identifiziert, die 5-30 msec nach den in der CA1 registrierten ripples auftraten. Somit wäre das hippocampoentorhinale Netzwerk durch verhaltensdeterminierte Oszillationsmuster charakterisiert, die das Feuermuster hippocampaler Untergruppen organisieren und vice versa.

Während Theta-bezogenem explorierendem Verhalten werden neocorticale Informationen über den EC in den hippocampalen Kreislauf eingespeist, wohingegen während SPW-bezogenem Ruheverhalten verarbeitete Informationen vom Hippocampus über den EC an den Neocortex zurückgeschickt werden. Theta synchronisiert somit einkommende Informationen, während SPW's ausgehende Informationen synchronisieren (Chrobak und Buzsaki, 1996).

#### **4. Neurophysiologische Modelle kognitiver Verarbeitung**

Kognitive Funktionen wie Wahrnehmung, Sprache oder Gedächtnis basieren auf paralleler Informationsverarbeitung verschiedener Hirnregionen. Eine bislang ungelöste Fragestellung ist die nach dem Integrationsprozess der distinkt verarbeiteten Informationen (Engel et al., 1999).

Am Beispiel des visuellen Systems versucht die Forschungsgruppe um Singer die Integration basaler visueller Wahrnehmungsprozesse aufzuschlüsseln (4.2). Subpopulationen corticaler Neurone des visuellen Systems antworten auf einen visuellen Stimulus mit einer Feuerung von 40 Hz. Diese räumlich verteilten Merkmaldetektoren synchronisieren ihre rhythmische Aktivität, so dass sie in Phase oszillieren (Gray et al., 1989). Damit können die einzelnen visuellen Informationen basaler Wahrnehmung zu einem Objekt zusammengesetzt werden.

Nach diesem Konzept könnten auch weitere Verarbeitungsprozesse in corticalen und subcorticalen Regionen, wie den Assoziationscortices und dem Hippocampus, in welchen Informationen verschiedener sensorischer Modalitäten konvergieren, stattfinden (Jeffrys et al., 1996).

Diese Beobachtungen führten zu der These, dass die Synchronisation oszillierender Neuronengruppen ihre transiente Bindung reflektiert. Somit beruhen Gedächtnisengramme auf der gleichzeitigen Veränderung der Verbindungseffizienz vieler, teils weit entfernt liegender Neurone (Singer, 1996).

Auf einer synchronen Entladungsfrequenz hippocampaler Neuronengruppen basiert auch Buzsakis Gedächtnismodell (4.1). Seine These impliziert, dass die geeignetste Kondition für Plastizitätsprozesse die höchste neuronale Feuerungsrate repräsentiert. Womit die hochfrequente hippocampale ripple-Oszillation im Mittelpunkt seines Gedächtnismodells steht.

## 4.1 Neurophysiologische Modelle der Gedächtnisformatierung

Im folgenden wird Buzsakis Theorie der Gedächtnisformatierung erläutert (Buzsaki, 1989 b; 1991).

Die zellulären Korrelate für Theta-Aktivität und SPW sind verschieden. Während Theta feuern die Körnerzellen des Gyrus dentatus mit einer achtfach erhöhten Feuerungsrate, während die Pyramidenzellen des Ammonshorns eine verminderte Feuerungsfrequenz aufweisen (hauptsächlich „place cells“ feuern, Kap. 3.1).

Nach Beendigung des explorativen, Theta-assoziierten Verhaltens sinkt im SPW-Status die Feuerungsrate der Körnerzellen; wohingegen die Pyramidenzellen in CA1-CA3 und Subiculum ein hohe synchrone Entladungsfrequenz zeigen. Ebenso steigt nun die Feuerungsrate der Interneurone.

Buzsaki postuliert, dass das Verhalten, welches mit der höchsten neuronalen Feuerungsrate und den stärksten synchronen Feuermustern (Koaktivierung) assoziiert ist, am geeignetsten ist, synaptische Plastizität zu induzieren. Somit wäre der SPW-Status, der mit Ruheverhalten und Tiefschlaf assoziiert ist, der geeignetste Kandidat für plastische Änderungen der Pyramidenzellen.

LTP-Studien zeigten eine physiologisch unterschiedliche neuronale Grundlage zur LTP-Generierung im Gyrus dentatus und den CA-Regionen. Subcorticale Deafferentierung hindert die LTP-Generierung im Gyrus dentatus, nicht aber in CA1. In CA1 wird eine maximale LTP-Generierung durch eine alle 200 msec erfolgende tetanische Stimulation hervorgerufen. Die Repetitionsrate spontan auftretender SPW's beträgt ebenfalls 100-200 msec. Plastische Änderungen im Gyrus dentatus sind während Theta-assoziiertem explorativem Verhalten, in den CA1-CA3-Regionen während SPW-assoziiertem Ruheverhalten auslösbar (Rose and Dunwiddie, 1986; Staubli und Lynch, 1987).

Aufgrund der angeführten Befunde formuliert Buzsaki ein Zwei-Stufen-Modell zur Gedächtnisbildung:

Eintreffende Informationen werden während des Theta-Status relativ labil gehalten. Dieser labile Zustand wird nach Beendigung des explorativen Verhaltens in einen stabilen umgewandelt. D. h. sowohl Theta als auch sharp waves sind elektrophysiologische Aktivitätsmuster, die der Gedächtnisformatierung dienen.

In der ersten Stufe aktiviert der parallele Input aus den Schichten II und III des EC einige Körnerzellen, die nun verglichen mit den restlichen Körnerzellen eine gesteigerte Feuerungsrate aufweisen. Diese gesteigerte Feuerung ist ausreichend um eine leichte transiente Potenzierung der CA3- und einiger weniger CA1-Pyramidenzellen zu erzielen.

Die rekurrente collaterale CA3 Exzitation ist durch den subcorticalen Einfluss – durch die feed-forward Exzitation inhibitorischer Interneurone – gehemmt. Nach Beendigung des Theta Status entfällt die subcorticale Kontrolle, womit die zweite Stufe der Gedächtnisformatierung beginnt.

Durch die rekurrente kollaterale Exzitation der CA3-Pyramidenzellen kommt es zu synchronen Populationsentladungen, wobei die zuvor leicht potenzierten Neurone als Initiatoren der SPW's fungieren. Die hohe synchrone Populationsentladung der CA3-Pyramidenzellen erzielt eine langanhaltende Steigerung der synaptischen Effizienz in CA3 und CA1 Zielneuronen. Die Erregbarkeit der Neurone korreliert mit der Stärke und dem zeitlichen Abstand der zuvor erfahrenen Potenzierung im Theta-Status.

So werden also während des Explorierens räumliche Informationen über den Tractus perforans zu den Körnerzellen des Gyrus dentatus gesendet. Die erhöhte Feuerungsrate der aktivierten Körnerzellsubpopulation führt zu dem leicht potenzierenden Effekt in einer Untergruppe von CA3 Pyramidenzellen, wobei eine höhere Feuerungsrate auch zu einer stärkeren Potenzierung führt – z. B. wenn ein Objekt intensiver exploriert wird. Verschiedene räumliche Informationen führen hierbei zur Aktivierung bzw. Potenzierung distinkter neuronaler Subpopulationen der hippocampalen Strukturen.

Die rekurrente Exzitation der CA3 Pyramidenzellen im nachfolgenden sharp wave Status breitet sich hierarchisch aus, so dass die Neurone welche die räumlichen Informationen tragen, die sie während des Explorierens erhalten haben, auch am stärksten potenziert werden – stark genug um LTP zu induzieren.

Die CA1 Neurone, auf welche die Initiatorzellen des SPW konvergieren – also auch die, die im Theta Status potenziert wurden – werden stärker erregt als ihre Nachbarn, wobei auch in der Schaffer Synapse LTP induziert wird. Dies zeigten in vivo Untersuchungen, die sowohl durch extrazelluläre Stimulation als auch durch intrazelluläre Strominjektion in CA1 Pyramidenzellen, gepaart mit dem spontanen Auftreten der SPW's, LTP induzierten (King et al., 1999).



Der Mechanismus der SPW's dient somit der Verstärkung aufgenommener Informationen, um diese dann zur Langzeitspeicherung über das Subiculum zum Cortex zurückzusenden. Die Aktivität der verschiedenen Schichten des EC korreliert unterschiedlich mit den hippocampalen EEG-Typen Theta und SPW. Die Neurone der Schicht II und III, die über den Tractus perforans zum Hippocampus projizieren, entfalten ihre größte Aktivität während Theta; wohingegen die Neurone der Schicht V, die zum Cortex projizieren, während der hippocampalen SPW ihr Aktivitätsmaximum zeigen. Der hippocampale Output hat also während des SPW-Status einen starken Einfluss auf entfernte neocorticale Areale.

Diese Theorie der Gedächtniskonsolidierung geht konform mit Befunden hippocampaler elektrischer Aktivität während des Schlafes. Schlafdeprivationsstudien zeigten die Wichtigkeit des Schlafes zur Gedächtniskonsolidierung. Während der REM Phase werden im Traum vorher erlebte Erfahrungen verarbeitet – als elektrophysiologisches Korrelat findet man hippocampale Theta-Aktivität. In der anschließenden Tiefschlafphase treten wiederum SPW's auf und üben ihren verstärkenden Beitrag zur Konsolidierung aus. Die spontane Reaktivierung der während der Exploration geformten Gedächtnisspur instrumentiert den Prozess der Gedächtnisformatierung im Neocortex; wobei die hochfrequente CA1-Oszillation diesen Prozess fazilitiert (Kudrimoti, et al., 1999). Außerdem wurde gezeigt, dass CA1 Neurone, die im wachen Tier eine hohe Feuerungsrate zeigten, auch während des darauf folgenden Schlafstadiums eine erhöhte Feuerrate aufwiesen (Pavlides und Winson, 1989).

## 4.2 Kognitive Korrelate der Gamma-Oszillation

Frühere humane EEG-Studien zeigten eine verstärkte 40 Hz Aktivität beim Lösen kognitiver Aufgaben, die je nach Aufgabenstellung – visuell versus verbal – in der rechten bzw. linken Hemisphäre auftraten. Somit wurde der 40 Hz Aktivität ein Aufmerksamkeitsmechanismus zugeschrieben, basierend auf thalamocorticaler Aktivität, der die corticale Erregbarkeit (arousal) der aufgabenrelevanten Strukturen determiniert (Sheer, 1984; Steriade et al., 1993).

Aufgrund dieser Befunde ist zu vermuten, dass die 40 Hz-Aktivität unterschiedlich mit verschiedenen Aufmerksamkeitsstadien wie Wachheit, Schlaf oder Anästhesie korreliert. In Untersuchungen konnte einerseits eine Reduktion der Auftretenshäufigkeit der 40 Hz-Oszillation während der Anästhesie gezeigt werden (Madler et al., 1991; Schwender et al., 1994 a&b); andererseits konnte kein Unterschied der 40 Hz-Aktivität zwischen Wachheit und REM Schlaf nachgewiesen werden (Llinas and Ribary, 1993).

Wie in Kap. 3.2 beschrieben, bedingt die GABA<sub>A</sub> vermittelte periodisch fluktuierende Inhibition der Pyramidenzellen deren 40 Hz Feuerungsfrequenz (Whittington et al., 1995). Interessanterweise zeigte sich, dass sich die Kinetik des GABA<sub>A</sub>-Rezeptors während der Ontogenese in hippocampalen Körnerzellen der Ratte ändert (Hollrigel und Soltesz, 1997). Die Kinetik des GABA<sub>A</sub>-Rezeptor medierten IPSC's (inhibitory postsynaptic current) wird in der dritten postnatalen Woche schneller und steigt bis auf das Niveau eines erwachsenen Tieres. In dieser Phase öffnen die Ratten erstmalig ihre Augen und explorieren aktiv ihre Umgebung. Die Beschleunigung der GABA<sub>A</sub>-Kinetik im Hippocampus ist also assoziiert mit dem verstärkten Wachstum sensorischer Signalverarbeitung (Traub et al., 1998).

Eine wesentliche Entdeckung war das synchrone Auftreten der 40 Hz Oszillationen in verschiedenen corticalen und subcorticalen Arealen (Engel et al., 1992).

Im visuellen System der Katze evozierten visuelle Stimuli ein synchrones Entladen von Neuronen der unterschiedlichen visuellen Areale beider Hemisphären im wachen wie auch im anästhetisierten Tier (Gray et al., 1989, 1992; König et al., 1995; Engel et al., 1991; Freiwald et al., 1995). Diese synchronen Oszillationen

erstreckten sich bis in subcorticale Areale wie den lateralen Nucleus geniculatus und die Retina (Sillito et al., 1994; Neuenschwander und Singer, 1996).

Synchrone 40 Hz Oszillationen wurden durch sensorische Stimuli ebenfalls in den anderen modalitätsspezifischen Arealen evoziert (Freeman, 1983; Espinosa and Gerstein, 1988; Abeles et al., 1993).

Eine Synchronisation zwischen temporalen und parietalen Assoziations-Cortices, in welchen Informationen verschiedener sensorischer Modalitäten konvergieren, wurde kürzlich bei multimodaler Objektpräsentation nachgewiesen. Hierbei lagen die kohärenten temporalen und parietalen Oszillationen in der beta Frequenz (13-18 Hz) (von Stein et al., 1999).

Synchrone Oszillationen sind die Voraussetzung für modalitätsspezifische Integration. So müssen z. B. alle visuellen Merkmale wie Farbe, Kontrast oder Konturen zusammengeführt werden, um ein Objekt zu erkennen (feature binding); wobei eine bislang nicht geklärte Leistung die Differenzierung eines Objektes aus seiner Umgebung bzw. die Unterscheidung zweier naheliegender Objekte darstellt (Engel, et al., 1997). Das Zusammensetzen modalitätsspezifischer Stimuli ist die Voraussetzung der Objektwahrnehmung und des Bewusstseins über die Identität eines Objektes („binding“).

Es zeigte sich, dass nur dann distinkte 40 Hz Antworten auf zwei akustische Stimuli auftraten, wenn die Latenz zwischen beiden Stimuli groß genug war, um vom Hörer wahrgenommen zu werden, was für eine bewusste Wahrnehmung als kognitives Korrelat der 40 Hz Oszillation spricht (Joliot et al., 1994); genau so der Befund, dass Wörter, die mit motorischer Aktion assoziiert sind, Gamma-Oszillationen stärker im motorischen Areal und Wörter mit visuellen Assoziationen stärker im visuellen Areal auslösen. Was auf eine semantische Deutung innerhalb dieser Verarbeitungsebene hinweist (Pulvermüller et al., 1997). Auch beim Abruf interner Objektrepräsentation, sowie innerhalb der Verzögerungsphase von Kurzzeitgedächtnisaufgaben treten Gamma-Oszillationen auf (Tallon-Baudry et al., 1997; 1998).

Unter der Annahme, dass die funktionelle Relevanz von Gamma-Oszillationen im Neocortex und Hippocampus miteinander verknüpft sind, kann man folgern, dass eine kohärente neocorticale und hippocampale Oszillation eine Fusion von Wahrnehmung und Gedächtnis von Objekten oder Ereignissen darstellt. Die

Verknüpfung von Wahrnehmung und Gedächtnis zeigt sich darin, dass sensorische Stimuli den Erinnerungsprozess fördern (Bragin et al., 1995).

Weiterhin kann der Hippocampus als Instanz betrachtet werden, die durch modulatorische, subcorticale Einflüsse entscheidet, wie eintreffende sensorische Informationen weiterverarbeitet, miteinander verknüpft werden und welche Gewichtung sie in Bezug auf Gedächtnisformatierung erhalten; z. B. versorgen Projektionen aus der Amygdala den Hippocampus mit emotionalen Einfärbungen belohnender oder aversiver Qualität (Nishijo et al., 1993) oder mit der Wichtigkeit eines Informationswertes – determiniert durch seinen Grad der “Neuheit” (Foote et al., 1980).

### **4.3 Kognitive Korrelate der Theta-Aktivität**

Neben Buzsakis Zwei-Stufenmodell des Gedächtnisses vertreten auch andere Untersuchungen die Relevanz der Theta-Aktivität für Gedächtnisprozesse.

Vanderwolf unterschied zwei distinkte Theta-Typen. Typ I korreliert mit willkürlichem Verhalten, wie z. B. Lokomotion, welches nicht durch muscarinerge Antagonisten blockiert werden kann. Typ II korreliert mit leicht erniedrigter Frequenz, welche in Ruhe neben irregulären, großamplitudigen Oszillationen auftritt und durch Gabe muscariner Blocker verschwindet. Konditionierungsexperimente zeigten ein Auftreten von Theta-Oszillationen sowohl durch den unkonditionierten (Konfrontation mit dem natürlichen Feind) als auch konditionierten Stimulus (Tonsignal), wobei die Theta-Aktivität durch wiederholtes Auftreten des konditionierten Stimulus habituiert. Dieser Typ II korreliert also mit sensorischen Prozessen und ihrer biologischen Relevanz (Sainsbury und Montoya, 1984). Somit wäre Typ II Theta ein Korrelat zur Inhibition nicht-relevanter Stimuli.

Weitere Studien zeigten, dass afferente Aktivierung im Theta-Frequenzbereich LTP im Hippocampus induziert. Kombination der Theta-Aktivität zweier synaptischer Inputs führt zu LTP wenn die Aktivierung phasengleich ist – ist sie antiphasisch wird LTD (Long-Term-Depression) induziert (Kleshchevnikov, 1999).

Cholinerge Agonisten faszilitieren Lernprozesse (Izquierdo et al., 1992) und induzieren Theta-Rhythmus. Nach Induktion der Theta-Aktivität zeigten die Synapsen einen erhöhten Status synaptischer Plastizität (Huerta und Lisman, 1993). Cholinerge muscarinerge Antagonisten zeigten dementsprechend eine Lernverminderung des Kurzzeitgedächtnisses und eine Reduktion der Theta-Aktivität (Givens und Olton, 1990).

Welche hippocampalen EEG-Typen in Gedächtnisprozesse involviert sind, muss durch weitere Untersuchungen aufgeschlüsselt werden. Die periodisch auftretende SPW hat gegenüber der Theta-Aktivität einen größeren Informationswert, denn der Informationswert einer gleichbleibenden Frequenz ist nahezu Null (Sainsbury, 1998). Die mit den SPW's assoziierte ripple-Aktivität wird somit zu einer attraktiven Untersuchungsvariable der vorliegenden Arbeit.

## **5. Gegenstand und Fragestellungen der vorliegenden Arbeit**

In vorausgegangenen Untersuchungen wurde gezeigt, dass zeitlich koordinierte, corticale und subcorticale Oszillationsmuster mit spezifischen kognitiven Prozessen korrelieren (Pulvermüller et al., 1997). Studien zur elektrischen Aktivität im Hippocampus postulierten einen Zusammenhang zwischen hippocampalen Oszillationsmustern und dem spontanen Verhalten bzw. verschiedener Schlafstadien (Vanderwolf, 1969; Buzsaki et al., 1983, 1994).

Das in der CA1 auftretende, hochfrequente Oszillationsmuster (ripples), rückt zunehmend in den Fokus wissenschaftlichen Interesses, wobei sein kognitives Korrelat noch zu determinieren ist. Einige Untersuchungen vermuteten, dass diese ripples eine elektrophysiologische Komponente innerhalb der Gedächtnis-formatierung darstellen (Kap. 4).

Das postulierte Verhaltenskorrelat zum Auftreten der ripples gliedert sich in waches Ruilverhalten, Essen, Trinken, Putzen und die Tiefschlaf-Phase (Kap. 3.3) – wobei bislang die Verteilung der Auftretenshäufigkeit der ripples innerhalb der verschiedenen spontanen Verhaltensweisen nicht untersucht wurde.

Frage 1: Unterscheidet sich die Auftretenshäufigkeit der ripples innerhalb der verschiedenen Verhaltensparameter Lokomotion, Aufrichten, Putzen, Schnüffeln, waches Ruheverhalten?

Kernpunkt verschiedener Studien war die Ergründung der neuronalen Mechanismen des hippocampalen EEGs, was sowohl die neurochemischen Hintergründe wie auch räumlich-zeitliche Beziehungen der Aktivitäten distinkter Zellpopulationen aufdecken sollte.

Zur Generierung des hippocampalen EEGs wurden neben Projektionen aus dem Nucleus raphe oder dem supramammillären Kern vor allem die reziproken cholinergen und GABAergen septohippocampalen Projektionen, sowie eine metabotrope Glutamatrezeptoraktivierung durch entorhinale Afferenzen diskutiert (Kap. 3).

Einem in bisherigen Untersuchungen eher vernachlässigten Transmittersystem, dem histaminergen System, wurden in verschiedenen Studien modulierende Funktionen auf elektrische Eigenschaften hippocampaler Neurone zugewiesen; wobei ein histaminerges exzitatorisches Effekt auf Prinzipalzellen und Interneurone  $H_2$ -Rezeptor vermittelt zu sein scheint (Kap. 2.5). In vivo Studien zeigten, dass durch elektrische Induktion von Epilepsie der HA-Gehalt in der Amygdala sinkt und durch Applikation des Vorläufers von Histidin die Ausformung der Epilepsie gehemmt wird – was wiederum durch  $H_1$ -Blocker antagonisierbar ist (Kap. 2.6.7).

Zusammengefasst sprechen diese Befunde für einen inhibierenden  $H_1$ -Rezeptor vermittelten Einfluss auf die Entwicklung oder Auftretenshäufigkeit epileptogener Aktivität im Hippocampus. Untersuchungen zur synaptischen Plastizität zeigten außerdem, dass Histamin über verschiedene Mechanismen unter Beteiligung aller drei Histamin-Rezeptoren und der Polyamin ähnlichen Bindungsstelle in den Prozess der LTP-Induktion in hippocampalen Arealen eingriff (Kap. 2.6.6).

Frage 2: Führt die intraventrikuläre Injektion von HA oder seinen Rezeptor-Antagonisten zu einer veränderten Auftretenshäufigkeit der ripples?

In vivo Studien postulierten eine Involvierung des histaminergen Systems in verschiedene Verhaltensparameter wie z. B. Spontanaktivität, angstbezogenes und verstärkungsbezogenes Verhalten oder Lernen (Kap. 2.6).

Durch Läsion der tuberomammillären Neurone wurden positiv-mnestische Effekte induziert und die intraventrikuläre als auch die intrahippocampale Injektion von HA verschlechterte die Lernleistung. Während bisherige Untersuchungen widersprüchliche Befunde zur histaminergen Involvierung in Lern- und Gedächtnismechanismen aufzeigten, deuten Befunde hiesiger Arbeitsgruppen auf eine  $H_1$ -Rezeptor vermittelte gedächtnisverbessernde Wirkung – sowohl nach peripherer als auch nach intracranialer  $H_1$ -Antagonisten-Injektion in den Nbm oder in den Nucleus accumbens (Kap. 2.6.5).

Da nachgewiesen wurde, dass das Auftreten hippocampaler Oszillationsmuster mit spontanem Verhalten korreliert, muss untersucht werden, ob die intraventrikuläre Applikation von HA oder von histaminergen Rezeptorantagonisten das Spontanverhalten beeinflusst.

Frage 3: Beeinflusst die icv. Applikation von HA oder seiner Rezeptorantagonisten die Auftretensdauer der untersuchten Verhaltensparameter Lokomotion, Aufrichten, Putzen, Schnüffeln und waches Ruheverhalten?

## **B Empirischer Teil**

### **6. Allgemeine Methoden**

#### **6.1 Versuchstiere**

In der vorliegenden Arbeit dienten männliche Albinoratten vom Stamm Wistar als Versuchstiere. Die Ratten wurden von der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf bezogen und wogen zwischen 270 und 320 Gramm (Alter: 12-14 Wochen). Während der Versuche wurden die Tiere einzeln in Makrolon-Käfigen (40 cm x 24 cm x 15 cm) gehalten, hatten freien Zugang zu Futter (Altromin-Pressfutter) und Wasser und unterlagen einem 12-Stunden Hell Dunkel-Zyklus (Licht an: 7.00 Uhr).

#### **6.2 Elektroden, Kanüle**

##### *EEG – und indifferente Elektroden*

An den Kopf von Schlitzschrauben mit einem Gewinde von 2.2 mm Länge und 0.5 mm Durchmesser wurde ein 1.5 cm langer, isolierter Draht angelötet, welcher am anderen Ende einen Rundstecker besaß.

##### *Hippocampuselektrode*

In ein 1 cm langes, U-förmiges Metallgehäuse wurde eine Schraube am unteren rundgeschliffenen Ende so fixiert, dass sie bei gleichbleibender Position drehbar war. Durch Schraubendrehung konnte somit eine Auf- bzw. Abwärtsbewegung einer passenden Schraubenmutter erzielt werden. An diese Mutter wurden die Elektroden – vier isolierte Wolfram-Drähte (Länge: 5 cm, Durchmesser: 40 µm / California Fine Wire Company) die mit 0.5 mm Abstand parallel mit einem Zahnzementtropfen fixiert waren – angeklebt. Die Elektroden wurden bei mittig positionierter Mutterstellung schräg gekürzt, so dass der kürzeste Draht 4 mm und der längste 5 mm unter dem Metallgehäuse herausragte. Die Drahtlängen waren der anatomisch bogenförmigen, von medial nach lateral



laufenden, CA1-Struktur angepasst. Der kürzeste Draht sollte in dem Kurvenmaximum der CA1 als spätere mediale Elektrode fungieren.

Die oberen Elektrodenenden wurden in Rundstecker gelötet.

### *EMG-Elektroden*

Plastikisolierte, rostfreie Stahldrähte (Länge: 5 cm, Durchmesser 0.1 mm / A-M Systems, Inc.) wurden an den Enden 3 mm abisoliert, an einem Ende wurde der abisolierte Draht umgebogen und mit einem Lötzinntropfen versehen, so dass ein Widerhaken entstand.

### *Injektionskanüle*

Eine rostfreie Stahlröhre (äußerer Durchmesser 0.71 mm, innerer Durchmesser 0.41 mm / Small Parts Inc. Miami Lakes) wurde auf eine Länge von 1.5 cm gekürzt. Als Kanülenseele diente ein rostfreier Stahldraht (Durchmesser 0.31 mm / Small Parts Inc. Miami Lakes), der auf eine Länge von 1.8 cm gekürzt wurde. 2.5 mm des oberen Endes der Kanülenseele wurde umgeknickt, so dass die Seele 0.5 mm aus der Kanüle herausragte. Das umgeknickte Ende diente als Henkel, um das Herausziehen der Seele zu erleichtern.

## **6.3 Operation**

Zu Beginn der Operation wurden die Tiere mit Ketavet (0.9 ml / kg) und Rompun (0.4 ml / kg) i. p. anästhesiert. Die Kopfhaut wurde rasiert, desinfiziert und nachdem keine Schmerzreflexe mehr auslösbar waren, wurden die Tiere in einer stereotaktischen Apparatur fixiert (DKI 900, David Kopf Instruments, USA). Diese Apparatur dient der präzisen Implantation von Ableitelektroden und Injektionskanülen nach dreidimensionalen Raumkoordinaten (anterior-posterior: AP; lateral: L; dorsal-ventral: DV).

Mit einem Skalpell wurde die Kopfhaut in rostrocaudaler Richtung über eine Länge von 2 cm durchtrennt und mit Klemmscheren soweit auseinandergezogen bis beide muscoli temporales sichtbar waren. Anschließend wurde die Kopfhaut der Schädelkalotte entfernt, so dass die Referenzpunkte Bregma und Lambda gut erkennbar waren.

Mit einem Dentalbohrer wurden 4 Löcher in den Schädelknochen gebohrt – zwei über der rechten Hemisphäre (ca. 3mm lateral zur Interauralnaht zwischen Lambda und Bregma) für die EEG-Schraubenelektroden, zwei über dem occipitalen Cortex (ca. 3 mm caudal zur Lambdanaht) für die indifferenten Schraubenelektroden. Alle 4 Elektroden wurden 1-2 mm in die Kalotte eingeschraubt.

Ein 3 mm langer (Ausrichtung nach lateral) und 1 mm breiter Schlitz wurde über der linken Hemisphäre in die Kalotte gebohrt, so dass die höhenverstellbaren Hippocampuselektroden nach folgenden Koordinaten implantiert werden konnten: AP : – 3.8, L: 1.6, DV: 2.1 (bezogen auf den medialen Elektrodendraht).

Diese Koordinaten wurden mittels des Hirnatlas von Paxinos und Watson ermittelt, wobei das Bregma als Referenzpunkt diente.

Nachdem die hippocampalen Elektroden in das Zielgebiet abgesenkt waren, wurde die U-förmige Führungsschiene mit Zahnzement (Paladur) dorsal zum Schlitz auf der Kalotte fixiert. Die Elektrodendrähte wurden mit flüssigem Wachs umkleidet, so dass ein reibungsloses Auf- und Absenken der Drähte garantiert war.

Für die Injektionskanüle wurde nach den Koordinaten: AP: – 0.9, L: 1.6 (Paxinos und Watson) ein 1 mm großes Loch in die Kalotte gebohrt, um diese in den zur Hippocampuselektrode ipsilateralen Ventrikel 4 mm (DV: 4) abzusenken. Um einer Verunreinigung oder einem Gewebeeindringen in den Kanülenschafft vorzubeugen wurde eine Kanülenseele in die Kanüle eingeschoben, die 0.5 mm aus dem unteren Kanülenende heraussragte.

Mittels einer Injektionskanüle (23) wurden die beiden EMG-Drähte in den Nackenmuskel 5 mm tief eingeschoben, so dass der Widerhaken im Muskel verankert war. Die freien Elektrodenenden wurden in Rundsteckhülsen festgelötet. Nun wurden alle 10 Rundstecker in die Stiftleiste gesteckt, welche dann über der Interauralnaht mit Zahnzement fixiert wurde. Die Hippocampuselektroden wurden mit einer Plastikkappe umkleidet, so dass nur ein freier Zugang zur Schraube bestand. Die Kopfhaut wurde mit zwei Metallklemmen (Michel) caudal vom Stecker zusammengeklammert.

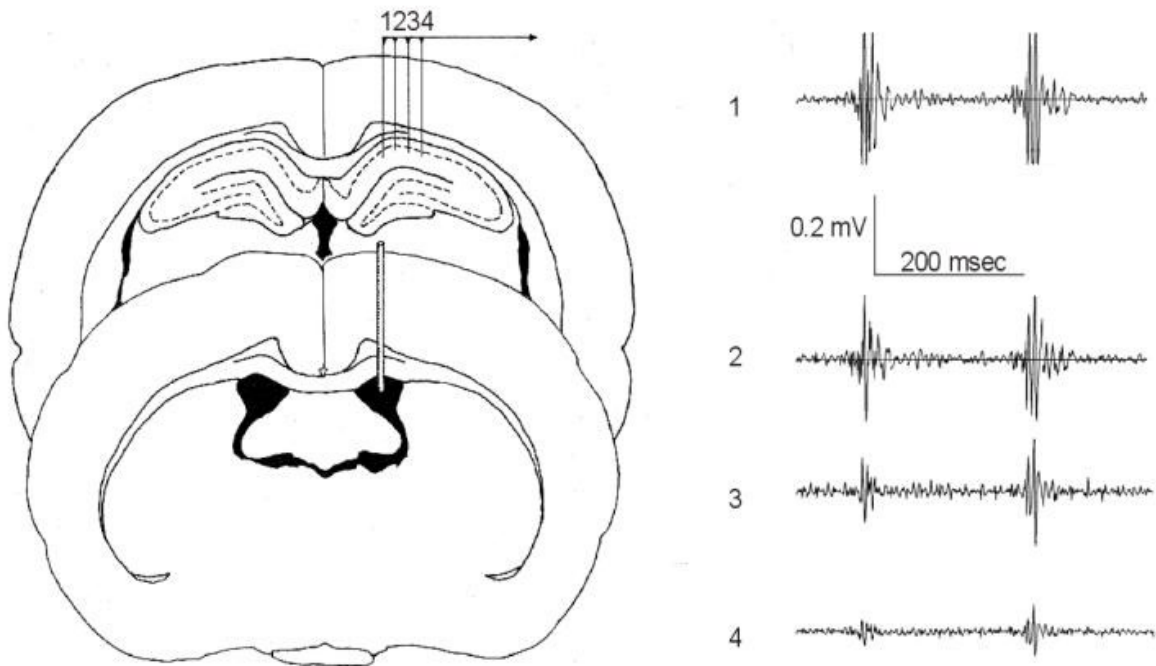


Abb.2: Elektrodenposition: AP:  $-3.8$  L:  $1.6$  V  $2.1$  (mediale Elektrode)  
 Kanülenposition: AP:  $-0.9$  L:  $1.6$  V  $4.0$   
 Die optimale Elektrodenposition wird durch den prominentesten ripple der medialen Elektrode (1) reflektiert.

#### 6.4 Postoperative Behandlung der Tiere

Nach der Operation wurde das Tier in seinen Heimatkäfig zurückgesetzt und bis zum Zeitpunkt des Erwachens mit einer Wärmelampe bestrahlt.

Um einer postoperativen Aphagie und Adipsie entgegenzuwirken, erhielten die Tiere vier Tage lang Zuckerwasser und Kekse. Die Rekonvaleszenz der Tiere wurde eine Woche lang durch tägliche Gewichtskontrolle beobachtet und überprüft.

Vom dritten bis zum zehnten postoperativen Tag wurden die Tiere 10 min an den erforderlichen Handgriff zur Befestigung des Steckkontaktes sowie an den Injektionsprozess gewöhnt (handling). Außerdem wurden sie vom sechsten bis zehnten postoperativen Tag jeweils zwei Stunden in die Versuchsanlage (6.7) gesetzt (Habituation). Am zehnten Tag wurden die Ratten angekabelt, um die

hippocampale Elektrodenposition so zu adjustieren, dass ripples mit dem Akquisitionsprogramm detektiert werden konnten (6.7.1).

## 6.5 Substanzen

Alle nachfolgenden Substanzen wurden in 0.9 prozentiger Natriumchlorid-Lösung (Sal) gelöst.

### Histamin (2-[4-Imidazolyl]ethylamine)

Histamin wurde als freie Base mit einem Molekulargewicht von 111.1 von der Firma Sigma (Best.Nr.:H 7125) bezogen.

Strukturformel:  $C_5H_9N_3$

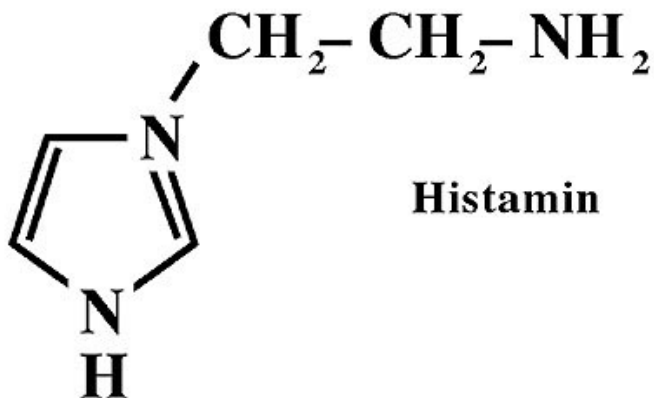


Abb. 3: Strukturformel von Histamin

Folgende Dosierungen wurden verwendet:

0.2  $\mu$ g; 1.0  $\mu$ g

### H<sub>1</sub>-Antagonisten

Pyrilamin (Mepyramine; N-[4-Methoxyphenyl]methyl-N',N'-dimethyl-N-[2-pyridinyl]-1,2-ethanediamine) Maleat Salz wurde von der Firma Sigma

(Best.Nr.: P5514) bezogen. Das Molekulargewicht beträgt 401.5, wobei das Molekulargewicht von Maleat Salz 116.1 beträgt.

Strukturformel:  $C_{17}H_{23}N_{3O} \cdot C_4H_4O_4$

Folgende Dosierungen wurden verwendet:

0.1 µg; 0.5 µg; 2.0 µg

**Ketotifen**

Ketotifen fumarate (4,9-Dihydro-4-(1-methyl-4-piperidinylidene-10H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-10-one) mit einem Molekulargewicht von 425.5 wurde von der Firma Tocris (Best.Nr.: 0784) bezogen.

Strukturformel:  $C_{19}H_{19}NOS \cdot C_4H_4O_4$

Folgende Dosierungen wurden verwendet:

0.5 µg; 2 µg

**H<sub>2</sub>-Antagonist:**

Cimetidin (N-Cyano-N'-methyl-N''-[2-[(5-methyl-1H-imidazol-4-yl)methyl]thio]guanidine) mit einem Molekulargewicht von 252.34 wurde von der Firma Tocris bezogen (Best.Nr.: 0902).

Strukturformel:  $C_{10}H_{16}N_6S$

Folgende Dosierungen wurden verwendet:

1.0 µg; 5.0 µg

**H<sub>3</sub>-Antagonist:**

Thioperamid maleate (N-Cyclohexyl-4-(imidazol-4-yl)-1-piperidinecarbothioamide) mit einem Molekulargewicht von 408.51 wurde von der Firma Tocris (Best.Nr.: 0644) bezogen.

Strukturformel:  $C_{15}H_{24}N_4S \cdot C_4H_4O_4$

Folgende Dosierungen wurden verwendet:

2.0 µg; 10.0 µg

## 6.6 Spezifität und Potenz der verwandten Antagonisten

Das Wissen über Lokalisation, Verteilung sowie biochemischer Charakteristiken von Rezeptoren wurde durch die Entwicklung radioaktiv markierter Rezeptorliganden vorangetrieben. Die ersten selektiven Radioliganden für H<sub>1</sub>-, H<sub>2</sub>- und H<sub>3</sub>-Rezeptorstudien kamen aus der Gruppe histaminerg Antagonisten Pyrilamin, Cimetidin und Thioperamid (Hill et al., 1977; Burkard, 1978; Alves-Rodrigues, et al., 1996). Noch heute werden sie zum Selektivitäts- bzw. Potenzvergleich neuentwickelter Liganden herangezogen.

**Pyrilamin** zeigt eine hochpotente Rezeptoraffinität von 2.2 K<sub>D</sub> nM im Hirn der Ratte (Soria-Jasso et al, 1997), 0.5 K<sub>D</sub> (nM) beim Meerschweinchen (Hill et al., 1977) und 1 nM K<sub>D</sub> beim Menschen (Chang et al., 1979). In der Retina sowie im Cortex des Rindes zeigte Pyrilamin ebenfalls eine hohe H<sub>1</sub>-Rezeptoraffinität (K<sub>D</sub> ~ 2.2 nM) (Arbones et al., 1986). Aufgrund der hohen Homologie der Aminosäuresequenz der transmembranen Domänen von H<sub>1</sub>- und muscarinen ACh-Rezeptoren (~ 45%), zeigen einige H<sub>1</sub>-Antagonisten eine hohe Affinität zu muscarinen Rezeptoren, die sie wie H<sub>1</sub>-Rezeptoren kompetitiv hemmen (Hill, 1990). Pyrilamin zeigte in einem Vergleich der Affinitäten von 27 H<sub>1</sub>-Antagonisten eine geringe Affinität zum muscarinen Rezeptor (K<sub>i</sub> = 30000 nM ) im Vergleich zum H<sub>1</sub>-Rezeptor (K<sub>i</sub> = 0.24 nM). **Ketotifen** mit einer Inhibitionskonstante von 0.32 nM lag gleich hinter Pyrilamin und wies zudem einen K<sub>i</sub> von 260 nM am muscarinen Rezeptor auf (Kubo et al., 1987). (Erklärung der Potenzmaße siehe Fußnote<sup>1</sup>)

Erst in Konzentrationen im micromolaren Bereich übte Pyrilamin einen Effekt auf H<sub>2</sub>-Rezeptoren aus (> 5 µM) oder inhibierte die Wiederaufnahme von Dopamin (> 1 µM) und von Serotonin (K<sub>i</sub> = 650 nM) (Hill, 1990; Brown und Vernikos, 1980).

---

<sup>1</sup> Kompetitive Antagonisten bewirken eine Rechtsverschiebung der Konzentrations-Wirkungskurve des Agonisten nach rechts. Der negative dekadische Logarithmus jener Antagonistenkonzentration, in deren Gegenwart die Agonistenkonzentration verdoppelt werden muß um 50 % ihrer Maximalwirkung zu erzielen, wird als pA<sub>2</sub> -Wert bezeichnet und charakterisiert die Potenz des Antagonisten. Weitere Maße für die Wirkstärke von Liganden berechnen sich aus Rezeptor-Verdrängungsstudien, wobei IC<sub>50</sub> die Konzentration des Antagonisten angibt bei der die Rezeptorbindung des Agonisten um 50% reduziert wird.

Die Inhibitionskonstante K<sub>i</sub> berechnet sich so:  
 $IC_{50}/(1+C/K_D)$ ; C: Agonistenkonzentration; K<sub>D</sub>: Gleichgewichts-Dissoziationskonstante. EC<sub>50</sub>: die Konzentration des Agonisten mit halbmaximalem Effekt; IC<sub>50</sub> die Konzentration des Antagonisten mit halbmaximalem Effekt.

Bindungsstudien des kompetitiven H<sub>2</sub>-Antagonisten **Cimetidin** zeigten eine hohe H<sub>2</sub>-Rezeptor Affinität (Schunack, W., 1987). Im isolierten Meerschweinchenherzen wurden folgende Potenzen gemessen: pA<sub>2</sub> = 6.2 bzw. pA<sub>2</sub> = 6.55 (Cavanagh et al., 1983; Bradshaw et al., 1979). Im Test gegen [<sup>3</sup>H]-Tiotidine- (H<sub>2</sub>-Antagonist; pA<sub>2</sub> = 7.4) – Bindung an corticale H<sub>2</sub>-Rezeptoren ergab sich für Cimetidin eine Inhibitionskonstante von K<sub>i</sub> = 246.1 nmol/l (pK<sub>i</sub> = 6.3), während Ranitidin eine größere Affinität (K<sub>i</sub> = 190 nmol/l ) zeigte (Gajtkowski et al., 1983; Agut, et al., 1997). Cimetidin zeigte eine Inhibitionskonstante von pK<sub>i</sub> = 6.2 als Antagonist von Impromidin (H<sub>2</sub>-Agonist, pA<sub>2</sub> = 7.8) (Dam Trung Tuong et al., 1980). Studien, in welchen der menschliche H<sub>2</sub>-Rezeptor geklont wurde, zeigten, dass die durch Histamin gesteigerte cAMP – Akkumulation (EC<sub>50</sub> = 0.05 µM) durch 10 µM Cimetidin geblockt wurde (Gantz et al., 1991).

Cimetidin zeigte eine zu vernachlässigende Affinität zum H<sub>1</sub>-Rezeptor (K<sub>i</sub> > 10 nM) im humanen Frontalcortex (Nakai et al., 1991). Im Gegensatz zu den H<sub>1</sub>-Antagonisten zeigte Cimetidin keinen Einfluss auf die Wiederaufnahme von Serotonin oder Dopamin in die Synaptosomen (Hill, 1990; Brown und Vernikos, 1980). Cimetidin hemmte den HA-induzierten Anstieg des Feuerns serotonerger Neurone im Nucleus raphe (Lakoski, JM, et al., 1984).

**Thioperamid** ist ein kompetitiver Antagonist mit hoher Affinität zum H<sub>3</sub>- und zu vernachlässigenden Affinitäten zum H<sub>1</sub> (K<sub>i</sub> > 10 mM) – und H<sub>2</sub>-Rezeptor (K<sub>i</sub> > 10 mM), sowie zum 5-HT<sub>3</sub> Rezeptor (K<sub>i</sub> = 120 nM; pK<sub>i</sub> = 6.9) und sigma Rezeptor (K<sub>i</sub> = 180 nM; pK<sub>i</sub> = 6.9) (Leurs et al., 1995; Arrang et al., 1987).

Thioperamid (pA<sub>2</sub>=8.9) zeigte bereits in niedriger Konzentration eine Inhibition der Anbindung von Iodophenpropit (H<sub>3</sub>-Antagonist pA<sub>2</sub> = 9.12) an H<sub>3</sub>-Rezeptoren (K<sub>i</sub> = 0.97 nM). Aus Dissoziationsstudien mit dem H<sub>3</sub>-Agonisten R-α- [<sup>3</sup>H]methylHistamin (R-α- [<sup>3</sup>H]MeHA) errechnete man für den H<sub>3</sub>-Antagonisten Thioperamid einen K<sub>D</sub> = 0.3 nM (Alves-Rodrigues et al., 1996). Diese Studien belegen die hohe Potenz von Thioperamid selektiv an H<sub>3</sub>-Rezeptoren zu binden. Die Effektivität von Thioperamid, die Funktion von HA am H<sub>3</sub>-Rezeptor zu antagonisieren, zeigten folgende in vivo Studien:

Nach icv.-Injektion von Thioperamid (50 µg) sank der HA-Spiegel nach zwei bis drei Stunden im Cortex um 15 %, im Hippocampus um 13 %, im Thalamus um 25 %, im

im Hypothalamus um 17 % und in der Amygdala um 19 % (Kakinoki et al., 1998). Außerdem sank der Histamingehalt um 60 - 70 % in Mäusehirnen nach der i.p.-Injektion von Thioperamid (Sakai et al., 1992), wobei die Konzentration des Abbauprodukts im Histamin-Katabolismus – das tele-Methylhistamin – um 70 % anstieg; was auf eine starke Einwirkung von Thioperamid auf den HA Stoffwechsel hinweist (Oishi et al., 1989).

Im Striatum erhöhte die Gabe von Thioperamid die Acetylcholinausschüttung, vermutlich wurde dieser Effekt durch, an cholinergen platzierte, H<sub>3</sub>-Rezeptoren vermittelt (Prast et al., 1994).

Im cerebralen Cortex des Meerschweinchens zeigte **Histamin** eine Affinität zur H<sub>1</sub>-Rezeptor-Bindung von K<sub>d</sub>=6.3 µM (Bristow DR, et al. 1993 ). [<sup>3</sup>H]-Histamin bindet mit einer hohen Affinität am H<sub>2</sub>-Rezeptor K<sub>D</sub> von 2-10 nM (Barbin et al., 1980; Cybulsky et al., 1981). Im Hirnschnitt zeigte Histamin einen EC<sub>50</sub> von 0.1 µM an H<sub>3</sub>-Rezeptoren, womit die endogene Histaminkonzentration in der lumbaren Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) mit 0.4 µM dreifach höher ist als die erforderliche Menge für halbmaximale Bindung an H<sub>3</sub>-Rezeptoren (Khandelwal et al., 1982).

## 6.7 Versuchsdurchführung

Am elften postoperativen Tag wurden die Ratten zur Durchführung des zwei-stündigen Experiments angekabelt und in die Versuchsanlage gesetzt. Nach den icv.-Injektionen (6.7.2) zu Beginn der ersten und der zweiten Stunde wurden unter Verwendung des Softwareprogramms Axoscope (6.8) in 10-min-Einheiten sowohl die physiologischen Daten (EEGs) als auch das beobachtete Verhalten (6.7.1) aufgenommen. Die Daten der ersten Stunde dienen der Baselineerhebung, die der zweiten Stunde zur Erhebung der Experimentaldaten. Im folgenden sind die Gruppenbezeichnungen von Baseline- und Experimentalgruppen, sowie die Stückzahl der Versuchstiere pro Gruppe dargestellt (Tab. 1). Die Daten der Kochsalzlösungsgruppen (BSAL und SAL) dienen jeweils dem statistischen Vergleich mit den Drogengruppen (BDroge<sub>x</sub> und Droge<sub>x</sub>) (s. 6.11).



|             | Baseline<br>(0µg Droge/<br>1µl Sal) | Experiment<br>(x µg Droge/<br>1 µl Sal) | Anzahl |
|-------------|-------------------------------------|---|--------|
| NaCl 0.9%   | BSAL                                | SAL(0.0)                                | n = 6  |
| Histamin    | BHA0.2                              | HA 0.2                                  | n = 6  |
|             | BHA 1                               | HA 1.0                                  | n = 6  |
| Pyrilamin   | BPY0.1                              | PY 0.1                                  | n = 6  |
|             | BPY0.5                              | PY 0.5                                  | n = 6  |
|             | BPY 2                               | PY 2.0                                  | n = 6  |
| Ketotifen   | BKE0.5                              | KE 0.5                                  | n = 6  |
|             | BKE 2                               | KE 2.0                                  | n = 6  |
| Cimetidin   | BCi 1                               | Ci 1.0                                  | n = 6  |
|             | BCi 5                               | Ci 5.0                                  | n = 6  |
| Thioperamid | BTH 2                               | TH 2.0                                  | n = 5  |
|             | BTH10                               | TH 10                                   | n = 5  |

Tab. 1: Gruppenbezeichnungen von Baseline- und Experimentalgruppen

### 6.7.1 Spontanverhalten

Die Dauer des Spontanverhaltens – durch fünf Verhaltensparameter charakterisiert – wurde online aufgezeichnet, wobei der Experimentator vier verschiedene Tasten für die Verhaltensparameter Lokomotion, Aufrichten, Schnüffeln und Putzen drückte. Kein Tastendruck entsprach dem fünften Verhaltensparameter Ruheverhalten. Die Verhaltensparameter wurden wie folgt charakterisiert:

- Lokomotion Die Ratte bewegt sich mit allen vier Pfoten von einem Ort weg
- Aufrichten Die Ratte steht frei oder gegen die Wand der Versuchsanordnung gestützt auf den Hinterpfoten
- Putzen Die Ratte leckt, beißt oder kratzt sich in sitzender oder liegender Position

|            |  |
|------------|--|
| Schnüffeln | Die Ratte bewegt im Ruheverhalten ihre Vibrissen und spreizt ihre Nasenlöcher                            |
| Ruhe       | Die Ratte zeigt keine der angeführten Verhaltensweisen und verharrt in liegender oder sitzender Position |

Um ein zeitliches Überschneiden der Verhaltensparameter zu vermeiden, wurde Schnüffeln nur dann als solches definiert, wenn nicht zusätzlich ein weiteres Verhalten auftrat.

### **6.7.2 Intracerebroventrikuläre Injektion**

Nachdem die Ratte an das Kabel angeschlossen und in die Versuchsanordnung gesetzt war, wurde die Kanülenseele aus der Führungskanüle entfernt und die Injektionsnadel (rostfreier Stahl, Außendurchmesser 0.36 mm, Länge 1.55 cm, Small Parts Inc, Miami Lakes) in die Führungskanüle abgesenkt.

Die Injektionsnadel war über einen Polyäthylenschlauch mit einer Mikroliterspritze (Kloehn Co., Inc. ; Volumen 25 µl) verbunden. Das Injektionsvolumen der Kontrollinjektion als auch das der jeweiligen Drogeninjektion betrug 1 µl und wurde manuell über einen Zeitraum von 1 min injiziert. Nach der Injektion verblieb die Injektionsnadel eine weitere Minute in der Kanüle, um eine ausreichende Diffusion der Injektionslösung zu ermöglichen. Nach dem Entfernen der Injektionsnadel wurde ein weiterer Mikroliter der Lösung exmittiert, um sicherzustellen, dass die Injektion erfolgreich war.

Zu Beginn der ersten Versuchsstunde erhielt jedes Tier 1 µl physiologische NaCl-Lösung (Sal). Zu Beginn der zweiten Stunde erhielten die Tiere der Kontrollgruppe wiederum Sal, während den Tieren der Experimentalgruppen nach einem randomisierten Verfahren die jeweilige Substanz (gelöst in 1 µl Sal) injiziert wurde. Das Injektionssystem wurde vor jedem Versuch mit aqua dest. und nach der zweiten Injektion mit Ethanol gespült.

## 6.8 Versuchsausrüstung

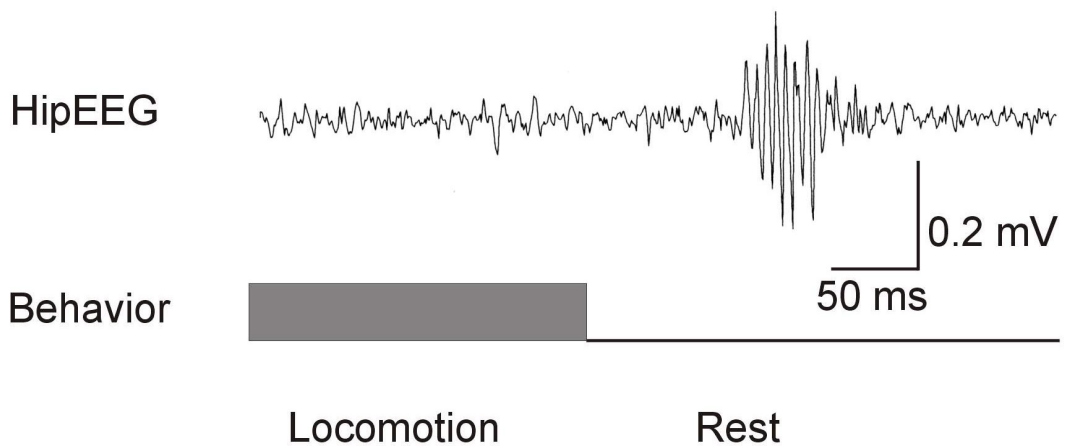
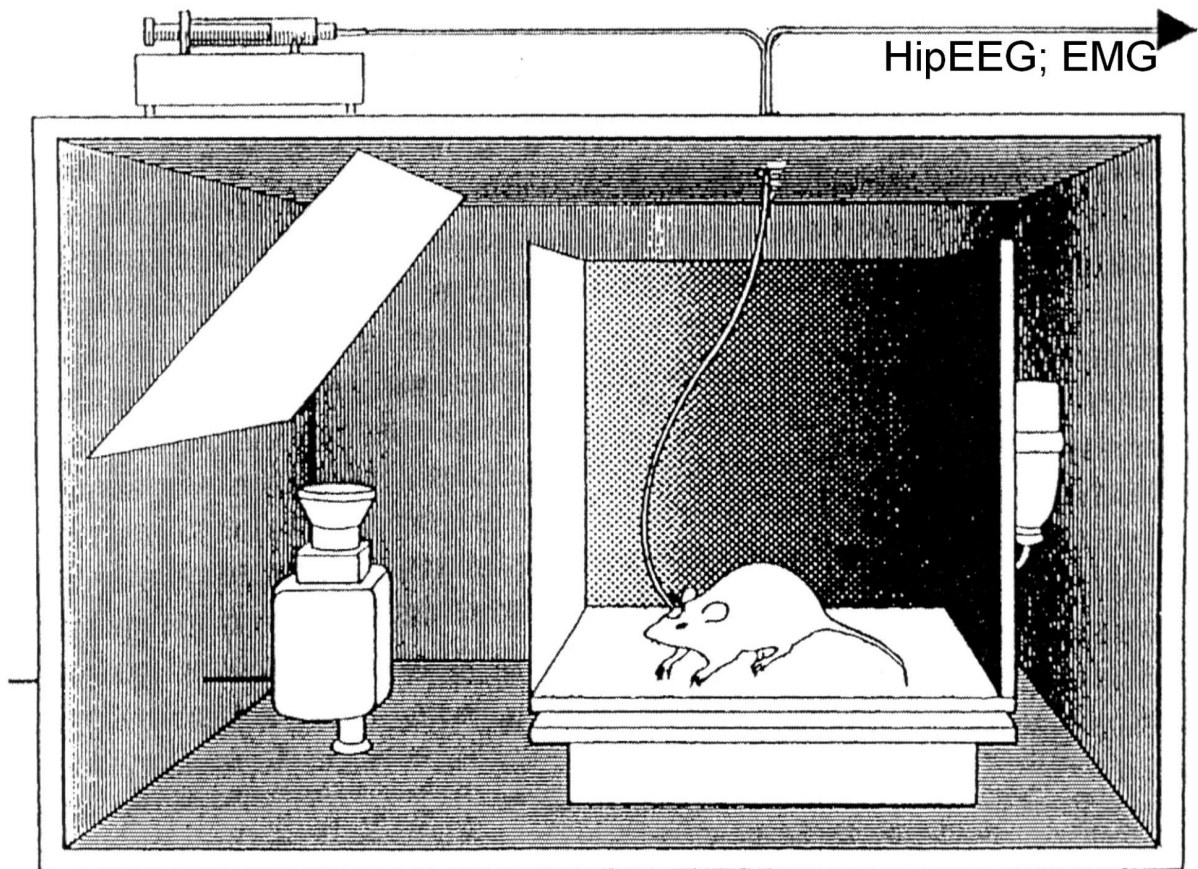


Abb. 4: Über ein bewegliches Kabel werden die EEG und EMG-Daten an das Akquisitionssystem weitergeleitet und mit den eingehenden Verhaltensdaten in das Softwareprogramm des Computers eingespeist

Die drei Seitenwände und der Boden der Versuchsbox (40 cm \* 40 cm \* 40 cm) bestanden aus undurchsichtigem Hartplastik. Als Vorderwand wurde eine durchsichtige Plexiglasscheibe eingesetzt.

Die Versuchsbox befand sich in einem elektrisch abgeschirmten, schallgedämpften Schrank (120 cm \* 70 cm \* 80 cm; mechanische Werkstatt des neurophysiologischen Instituts), der durch einen Ventilator belüftet wurde. In die Tür des Schrankes waren doppelte Glasscheiben eingelassen, die eine Beobachtung der Ratten während des Experiments ermöglichten. Über der Versuchsbox an der Decke des Schrankes war ein Schleifringkommutator (mechanische Werkstatt des neurophysiologischen Instituts) befestigt, welcher dem angekabelten Tier eine freie Bewegungsmöglichkeit garantierte. Das Kabel wurde durch ein kleines Loch in der Decke des Schrankes nach außen zu einem 8-Kanal-Verstärker (Differential AC Amplifier Model 1700; A-M Systems; WA, USA) geführt. Die Frequenzfilter und Einzelverstärker waren folgendermaßen eingestellt (Buzsaki et al., 1992):

| Elektrode | Hochpassfilter | Tiefpassfilter | Verstärker |
|-----------|----------------|----------------|------------|
| EEG       | 1 Hz           | 300 Hz         | 10.000     |
| EMG       | 1 Hz           | 300 Hz         | 10.000     |
| Hipp-EEG  | 100 Hz         | 300 Hz         | 10.000     |

Die Kanäle des Verstärkers waren mit einem AD-Wandler (DIGIDATA 1200 Series Interface; data acquisition system) verbunden, so dass die verstärkten Signale digital umgewandelt und damit für das Softwareprogramm (Axoscope; Axon Instruments Inc.; CA 94404, U.S.A.) des Computers lesbar wurden. Die Datenanalyse des hippocampalen EEG erfolgte mit einem handgeschriebenen Programm (Hiroyuki Yokoyama; Sendai, Japan). Die Ripples waren durch Peak-to-peak Potentiale, Frequenz und Muster wie folgt definiert.

### 6.8.1 Charakterisierung des ripple-Oszillationsmusters

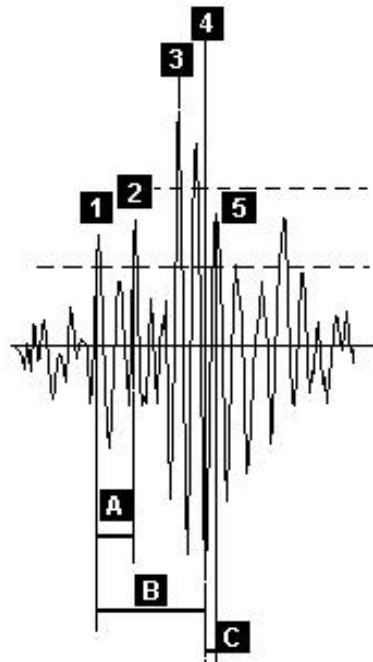


Abb. 5.: Zeitintervalle (msec) und Amplitudenhöhen (mV) der ripple-Amplituden

Definitionen bezüglich der Amplitudenspitzen **1 - 5**

- 1:** erste Amplitudenspitze über dem Schwellenniveau
- 2:** zweite Amplitudenspitze über dem Schwellenniveau
- 3 + 4:** die Amplitudenmaxima in beide Richtungen des beobachteten Ereignisses (events)
- 5:** erste invertierte Amplitudenspitze nach Amplitudenmaximum **4**

Definitionen bezüglich der Zeitintervalle **A - C** zwischen den definierten Amplitudenspitzen:

**A** < 30 msec

**B** < 50 msec

**C** < 50 msec

Die Frequenz des ripples wird zwischen den Amplitudenspitzen **2** und **4** gemessen.

Kriterien des ripple-Oszillationsmusters:

Die ersten beiden ripple-Amplituden (1 + 2) über einem Schwellenniveau von 0.1 mV treten in einem Intervall  $< 30$  msec auf. Innerhalb dieses Intervalls überschreitet keine Amplitude das Schwellenniveau um mehr als 30%. Erst die maximale positive wie negative Amplitudenspitze liegt mindestens 30% über dem Schwellenniveau, wobei der zeitliche Abstand zwischen erster und vierter ripple-Amplitude (1 + 4) nicht größer als 50 msec. ist. Die erste nach dem Amplitudenmaximum (4) invertierte Amplitude tritt innerhalb von 5 msec. auf und liegt über dem Schwellenniveau. Die Frequenz des ripples liegt über 170 Hz.

## **6.9 Histologie**

Perfusion und Hirnentnahme

Nach Abschluss der Experimente wurden die Ratten mit Nembutal (3ml/kg, i.p.; CEVA, Bad Segeberg) anästhesiert und transkardial perfundiert. Für die Perfusion wurde der Brustraum geöffnet und das Herz freipräpariert. Die Perfusionsnadel wurde in den linken Ventrikel eingestochen. Der rechte Vorhof wurde mit einem Einschnitt (ca. 0.2 cm) geöffnet. Zunächst wurden die Ratten mit einer 0.9%igen Natriumchlorid-Lösung perfundiert, bis das Blut aus dem Organismus ausgespült war. Zur Fixierung und Kryoprotektion des Gewebes folgte eine Perfusion mit einer 10%igen Saccharose-Formaldehyd-Lösung (ca. 10 – 15 min).

Anschließend wurden die Ratten mittels einer Guillotine dekapitiert und die Hirne freipräpariert. Die Gehirne wurden nach der Entnahme eine Woche in einer 30%-igen Saccharose-Formalinlösung postfixiert.

Schneiden und Färben der Gehirne

Mit einem Gefriermikrotom (Cryotome AS-600, Vogel GmbH, Giessen) wurden die Gehirne in 40  $\mu$ m dicke Frontalschnitte zerlegt. Für die Kresylviolett-Färbung wurden die Hirnschnitte auf Gelatine-Kaliumchrom (III)-Sulfat-beschichtete

Objektträger gezogen. Nach einer 24stündigen Trockenzeit wurde die Färbung (Bures et al. 1983) durchgeführt. Die Begutachtung der Elektrodenposition und der Kanülenposition erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskopes anhand des Hirnatlas von Paxinos und Watson (1986). Tiere deren hippocampale Ableitelektrode nicht in der CA1 oder deren Kanülenposition außerhalb des Ventrikels lagen, wurden nicht zur weiteren Datenanalyse herangezogen.

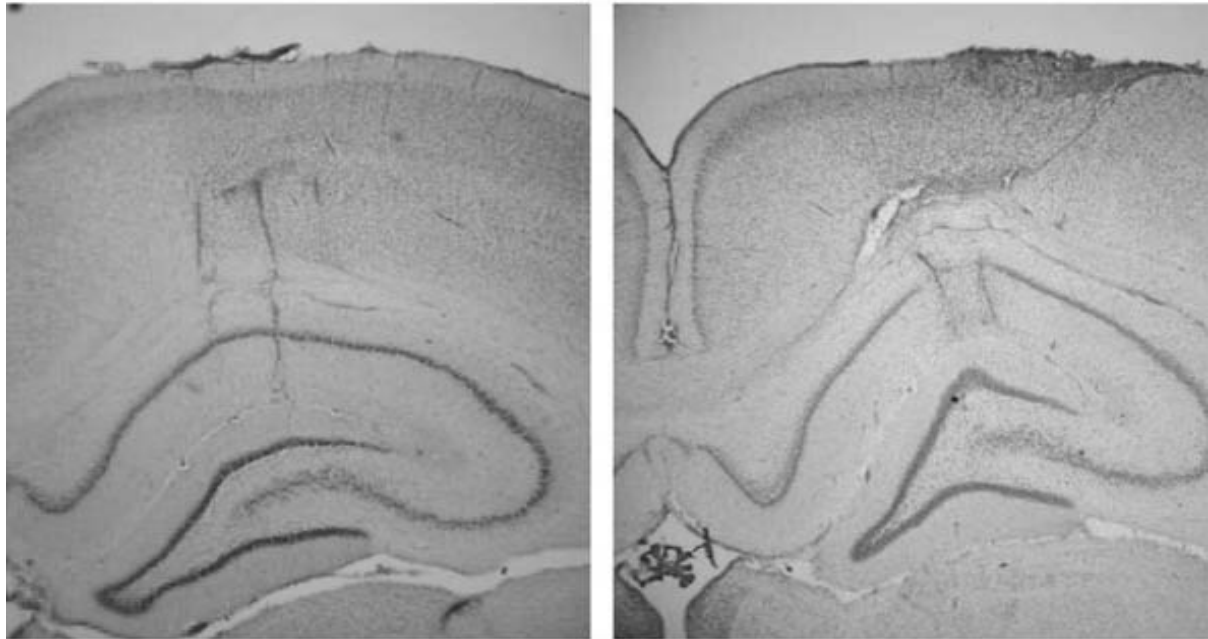


Abb. 6: Hirschnitte nach Kresylviolett-Färbung mit Elektrodenspuren in der Ca1 des Hippocampus

## 6.10 Hypothesen

Ausgehend von den unter Punkt 5. (Gegenstand und Fragestellung der vorliegenden Arbeit) erhobenen Fragestellungen werden folgende Hypothesen formuliert:

Hypothese 1: Die Auftretenshäufigkeit der ripples unterscheidet sich innerhalb der verschiedenen Verhaltensparameter Lokomotion, Aufrichten, Putzen, Schnüffeln, waches Ruheverhalten.

Hypothese 2: Das histaminerge System moduliert das Auftreten und die Ausprägung der ripples ohne Einflussnahme auf das Spontanverhalten

Hypothese 2a: Die intraventrikuläre Injektion von HA oder seiner Rezeptor-Antagonisten ändert die Auftretenshäufigkeit der ripples.

Hypothese 2b: Die intraventrikuläre Injektion von HA oder seiner Rezeptor-Antagonisten beeinflusst die Auftretensdauer der untersuchten Verhaltensparameter Lokomotion, Aufrichten, Putzen, Schnüffeln, waches Ruheverhalten.

## **6.11            Statistische Auswertung**

### **6.11.1           Auftretenshäufigkeit der ripples und Spontanverhalten**

Die Auswertung der Auftretenshäufigkeit von ripples innerhalb der untersuchten Verhaltensparameter wurde anhand von Medianwerten mit IQR vorgenommen, welche graphisch in Abb.4 in Kap. 7.1. dargestellt sind.

Die Versuchsdaten wurden in der ersten Stunde des Experiments erhoben, so dass der Median aus der Anzahl der ripples pro Minute des jeweiligen Verhaltensparameters berechnet wurde. Zur Analyse der ersten Hypothese wurde die Anzahl der ripples innerhalb der verschiedenen Verhaltensparameter unter Verwendung des Friedmann-Tests miteinander verglichen:

Lokomotion (LOCO) versus Aufrichten (REAR) versus Putzen (GROOM) versus Schnüffeln (SNIFF)



Die paarweisen Analysen der Verhaltensparameter wurden mit dem Wilcoxon-Test (zweiseitig) berechnet:

LOCO, REAR, GROOM, SNIFF jeweils versus REST

und:

LOCO vs REAR; REAR vs GROOM; GROOM vs SNIFF; SNIFF vs REST

Resultierende p-Werte wurden als Effektmaß interpretiert.

### **6.11.2 Auftretenshäufigkeit der ripples und Manipulation histaminerger Signaltransduktion**

Die graphischen Darstellungen zeigen für beide Experimentalstunden die Mittelwerte und Standardfehler der ripple-Anzahl pro 10-min-Intervall für die einzelnen Behandlungsgruppen (s. Abb.: 8 – 10 in Kap. 7.2).

Zur Untersuchung der zweiten Hypothese (2a) wird die Anzahl der ripples pro 10-min-Intervall der zweiten Experimentalstunde zwischen der Kontrollgruppe (SAL) und den jeweiligen Drogengruppen (Droge<sub>x</sub>):

SAL versus HA: 0.2, 1.0 µg, PY: 0.1, 0.5, 2.0 µg, KE: 0.5, 2.0 µg,  
Ci: 1.0, 5.0 µg, TH: 2.0, 10 µg

Die Versuchsdaten der ersten Experimentalstunde dienten zur Baselineerhebung. Mit ihnen wurden die ripple-Anzahlen zwischen der Kontrollgruppe (BSAL) und den Behandlungsgruppen (BDroge<sub>x</sub>) ebenfalls unter Verwendung des Mann-Whitney U-Tests (zweiseitig) verglichen:

BSAL versus BHA: 0.2, 1.0 µg, BPY: 0.1, 0.5, 2.0 µg, BKE: 0.5, 2.0 µg,  
BCi: 1.0, 5.0 µg, BTH: 2.0, 10 µg

Die resultierenden p-Werte dienten als deskriptives Maß des Effekts.

### 6.11.3 Auftretensdauer der untersuchten Verhaltensparameter und Manipulation Histaminergener Signaltransduktion.

In einer graphischen Übersicht (Abb.: A-D 7.4.1 – A-D 7.4.5 in Kap.7.4) wurden die Mittelwerte und Standardfehler der Verhaltensdauern innerhalb der Behandlungsgruppen der ersten Experimentalstunde, sowie der Kontroll- und Drogengruppen der zweiten Experimentalstunde dargestellt.

Berechnet wurden diese Daten für die verschiedenen Verhaltensparameter über alle 10-min-Intervalle. Zur Überprüfung der dritten Hypothese (2b) wurden die Verhaltensdauern der definierten Parameter pro 10-min-Interval der zweiten Experimentalstunde zwischen der Kontrollgruppe (SAL) und den jeweiligen Drogengruppen (Droge<sub>x</sub>) unter Verwendung des Mann-Whitney U-Tests (zweiseitig) verglichen:

SAL versus HA: 0.2, 1 µg; PY: 0.1, 0.5, 2 µg; KE: 0.5, 2 µg;  
Ci: 1, 5 µg TH: 2, 10 µg

Die Versuchsdaten der ersten Experimentalstunde dienten zur Baselineerhebung(B). Mit ihnen wurden die Verhaltensdauern zwischen der Kontrollgruppe (BSAL) und den Behandlungsgruppen (BDroge<sub>x</sub>) ebenfalls unter Verwendung des Mann-Whitney U-Tests (zweiseitig) verglichen:

BSAL versus BHA: 0.2, 1.0 µg, BPY: 0.1, 0.5, 2.0 µg, BKE: 0.5, 2.0 µg,  
BCi: 1.0, 5.0 µg, BTH: 2.0, 10 µg

Die resultierenden p-Werte dienten als deskriptives Maß des Effekts.

## C Ergebnisse

### 7.1 Anzahl der ripples während der definierten Verhaltensparameter

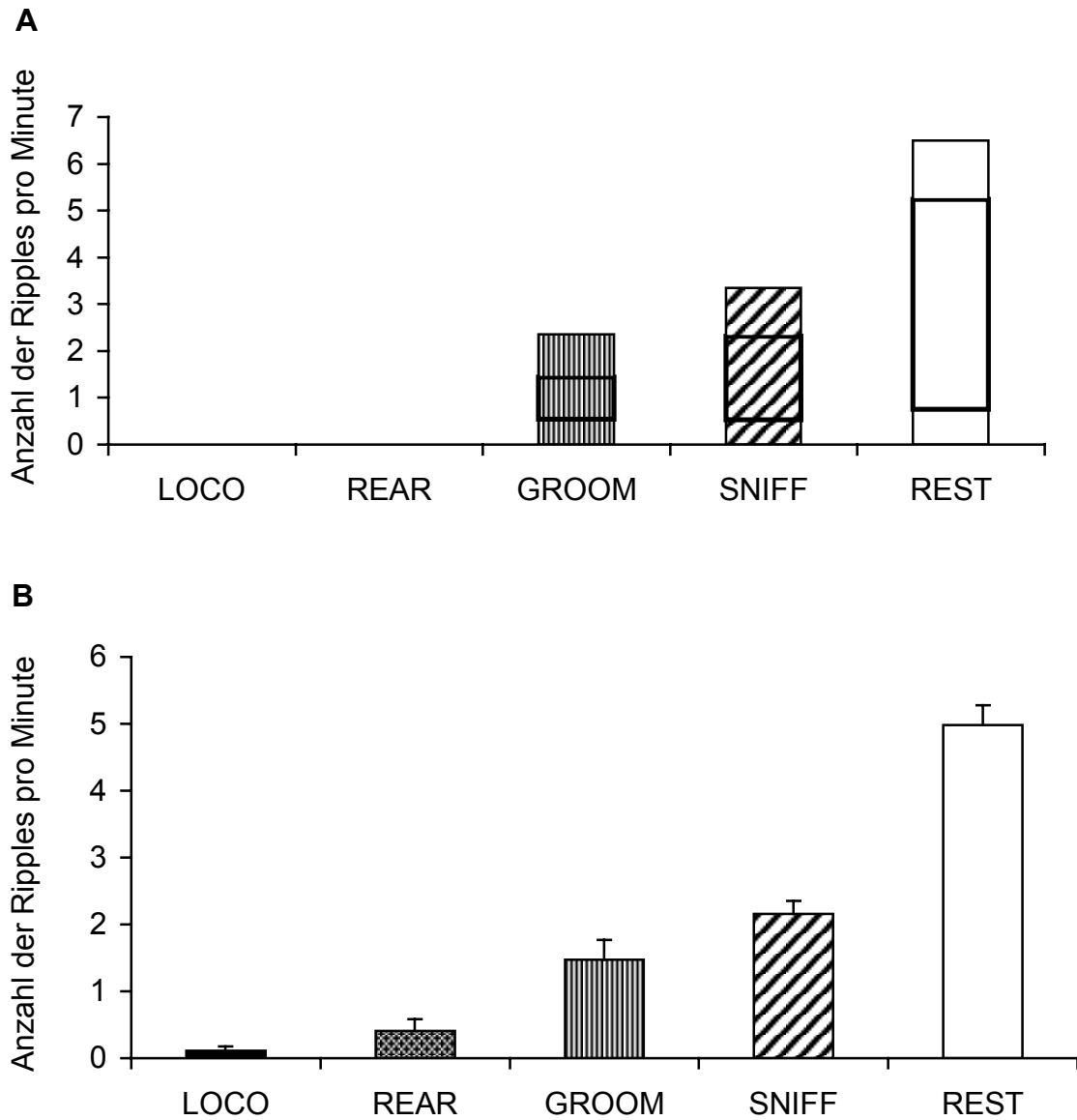


Abb. 7: Anzahl der ripples pro Minute während der definierten Verhaltensweisen Lokomotion (LOCO), Aufrichten (REAR), Putzen (GROOM), Schnüffeln (SNIFF), und Ruhe (REST). **A**: Säulen: Median mit unterem und oberem Quartil; **B**: Säulen: Mittelwert ( $\mu$ ) mit SEM

Die durchschnittliche Anzahl der ripples pro Minute [Median (M): 0.91, Quartile (Q): 0, 3.22; Mittelwert ( $\mu$ ): 1.83, Standardfehler (SEM): 0.15] – verteilte sich folgendermaßen auf die jeweiligen Verhaltensparameter:

Der Median der ripple-Anzahl während wachem Ruheverhalten M: 4.49, IQR: 3.71-5.76 ( $\mu$ : 4.98, SEM: 0.29) überstieg um 151 % den Median (für  $\mu$ : 131 %) der ripple-Anzahl während des Schnüffeln mit M: 1.79, IQR: 1.25-2.86 ( $\mu$ : 2.16, SEM: 0.19). Der ermittelte Median während des Schnüffeln überstieg um 51 % den des Putzverhaltens M: 0.91, IQR: 0.35-1.92 ( $\mu$ : 1.47, SEM: 0.29) (für  $\mu$ : 68%). Während des Aufrichtens und der Lokomotion wurde jeweils M: 0, IQR 0-0 ermittelt. Der Mittelwert  $\mu$  betrug während des Aufrichtens 0.41 (SEM: 0.17) und während der Lokomotion 0.11 (SEM: 0.07). Somit war  $\mu$  während des Aufrichtens 72% während der Lokomotion 93% kleiner als während des Putzens.

Der Friedman-Test ermittelte einen Unterschied der ripple-Anzahl über alle definierten Verhaltensparameter (Loco, Rear, Groom, Sniff, Rest:  $p < 0.001$ , zweiseitig).

Die paarweisen Datenanalysen unter Verwendung des Wilcoxon-Tests zeigten Unterschiede in der ripple-Anzahl zwischen den Bewegungs-Verhaltensparametern im Vergleich zum wachen Ruheverhalten (LOCO vs REST:  $p < 0.001$ ; REAR vs REST:  $p < 0.001$ ; GROOM vs REST:  $p < 0.001$ ; SNIFF vs REST:  $p < 0.001$ , p-Werte zweiseitig).

Der paarweise – nach Mediangröße geordnete Vergleich – zeigte, dass die Anzahl der ripples während der Lokomotion mit der ripple-Anzahl während des Aufrichtens vergleichbar ist (loco vs Rear:  $p = 0.133$ , zweiseitig). Größere Unterschiede in der ripple-Anzahl wurden zwischen Aufrichten und Putzen (Rear vs Groom  $p < 0.001$ , zweiseitig), Putzen und Schnüffeln (Groom vs Sniff  $p < 0.001$ , zweiseitig) sowie zwischen Schnüffeln und wachem Ruheverhalten festgestellt (Sniff vs Rest  $p < 0.001$ , p-Werte zweiseitig).

## 7.2. Anzahl der ripples unter dem Einfluss der icv.-Injektion von 0.9% NaCl, Histamin und Histaminergerezeptor-Antagonisten

Die Versuchsdaten der ersten Untersuchungsstunde dienten jeweils der Baselineerhebung (7.2.1.1., 7.2.2.1. und 7.2.3.1.), während die Experimentaldaten der zweiten Stunde zur Überprüfung der zweiten Hypothese herangezogen wurden (7.2.1.2., 7.2.2.2. und 7.2.3.2.). Zusammengefasst werden Baseline- und Experimentaldaten der verschiedenen Drogengruppen in 7.2.1 - 7.2.3 graphisch dargestellt.

### 7.2.1 Histamin

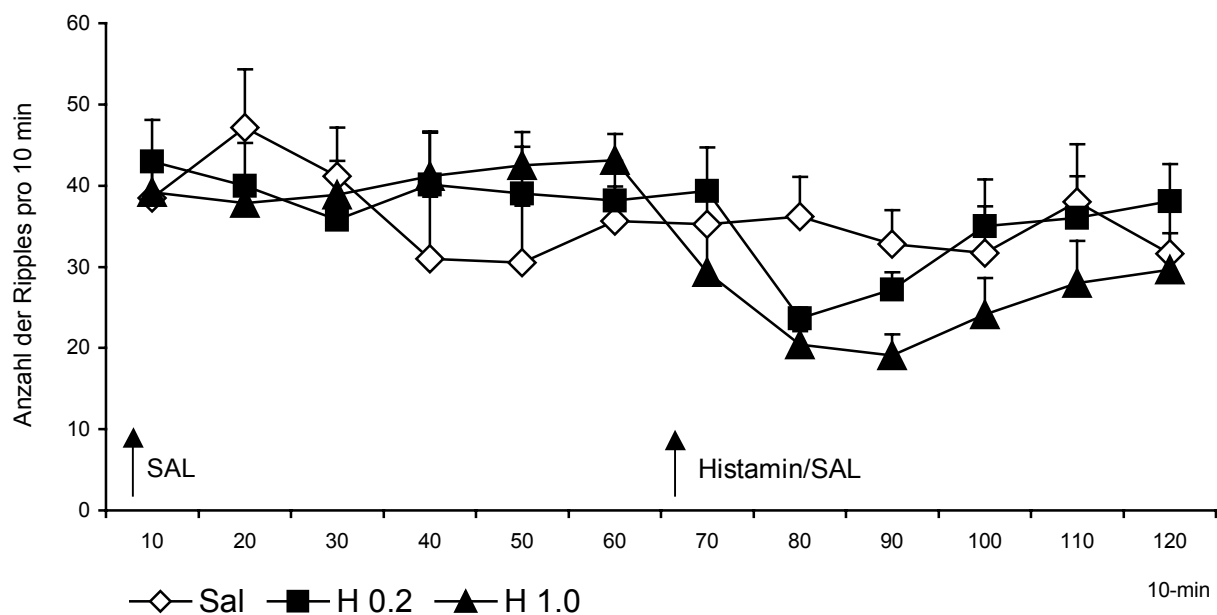


Abb. 8: Graphische Darstellung nach erfolgter Salinjektion (icv) der ersten Stunde Baselineerhebung (7.2.1.1) und Drogen- bzw. Salinjektion (icv) während der zweiten Experimentalstunde (7.2.1.2). Mittelwert ( $\pm$ SEM) über die Anzahl der ripples pro 10-min-Interval für die erste Stunde Baselinegruppen (SAL) und die zweite Stunde Kontrollgruppe (SAL) und die Experimentalgruppen Histamin (HA0.2, HA1.0). Allen Baselinegruppen (BSAL, BHA0.2, BHA1.0) wurde zu Beginn der ersten Stunde Sal injiziert.

### **7.2.1.1 Baselineerhebung (Abb. 8)**

Innerhalb der ersten Experimentalstunde waren die Baselinewerte der Tiere, die mit unterschiedlich hohen Dosierungen von Histamin weiterbehandelt wurden, mit den Tieren vergleichbar, denen im Anschluss ebenfalls Sal appliziert wurde. Keiner der im Vergleich von Kontroll-(BSAL) und Experimentalgruppen (BHA1.0 bzw. BHA0.2) ermittelten p-Werte war kleiner als 0.1 (Tab. XII im Anhang).

Die größte prozentuale Abweichung zeigte sich zwischen BSAL ( $\mu$ : 30.5, SEM: 7.07) und BHA1.0 ( $\mu$ : 42.5; SEM: 4.07) ( $\mu$ BSAL ist 28 % kleiner als  $\mu$ BHA1.0) in der 40. – 50. Minute mit einem zweiseitigen p-Wert von 0.31.

### **7.2.1.2 Datenerhebung zum Einfluss von Histamin auf die Anzahl von ripples (Abb. 8)**

Die Überprüfung der zweiten Hypothese (2a) zeigte dosisabhängige Unterschiede in der gemittelten Anzahl der ripples zwischen den Experimental- und der Kontrollgruppe. Die Injektion beider Histamindosierungen (HA0.2 und HA1.0) führte zu einem niedrigeren Vorkommen der ripple-Frequenz, wobei die Kurvenverläufe einen zeitabhängigen Verlauf aufwiesen.

Das Kurvenminimum ist für die niedrigere Dosierung (HA0.2 mit  $\mu$ : 23.66 und SEM: 1.30) in der 10. – 20. Minute erreicht und lag 35 % unter dem Wert der Kontrollgruppe. Für die hohe Dosierung von Histamin (HA1.0 mit  $\mu$ : 19.11 und SEM: 2.58) wurde das Kurvenminimum in der 20. – 30. Minute nach icv.-Injektion erzielt und lag 42 % unter dem der Kontrollgruppe.

Während der Vergleich zwischen Kontrollgruppe und niedriger Histamindosis einen p-Wert  $< 0.05$  in der 10. – 20. Minute erzielte, wies der Vergleich mit der hohen Histamindosis in diesem Zeitintervall einen p-Wert  $< 0.01$  und im 20. – 30.-min-Intervall  $p < 0.05$  (Tab. 2).

| 10-min-Intervalle | 70   | 80    | 90   | 100  | 110  | 120  |
|-------------------|------|-------|------|------|------|------|
| SAL vs HA0.2      | 0.59 | 0.01  | 0.39 | 0.94 | 1.0  | 0.82 |
| SAL vs HA1.0      | 0.49 | 0.002 | 0.04 | 0.82 | 0.24 | 0.94 |

Tab. 2: P-Werte als Maß des Effekts beruhen auf dem Vergleich zwischen der Kontrollgruppe (SAL) und den Histaminexperimentalgruppen (HA0.2 und HA1.0) (Mann-Whitney-U-Test, zweiseitig)

### 7.2.2 H<sub>1</sub>-Antagonisten: Pyrilamin (A) und Ketotifen (B)

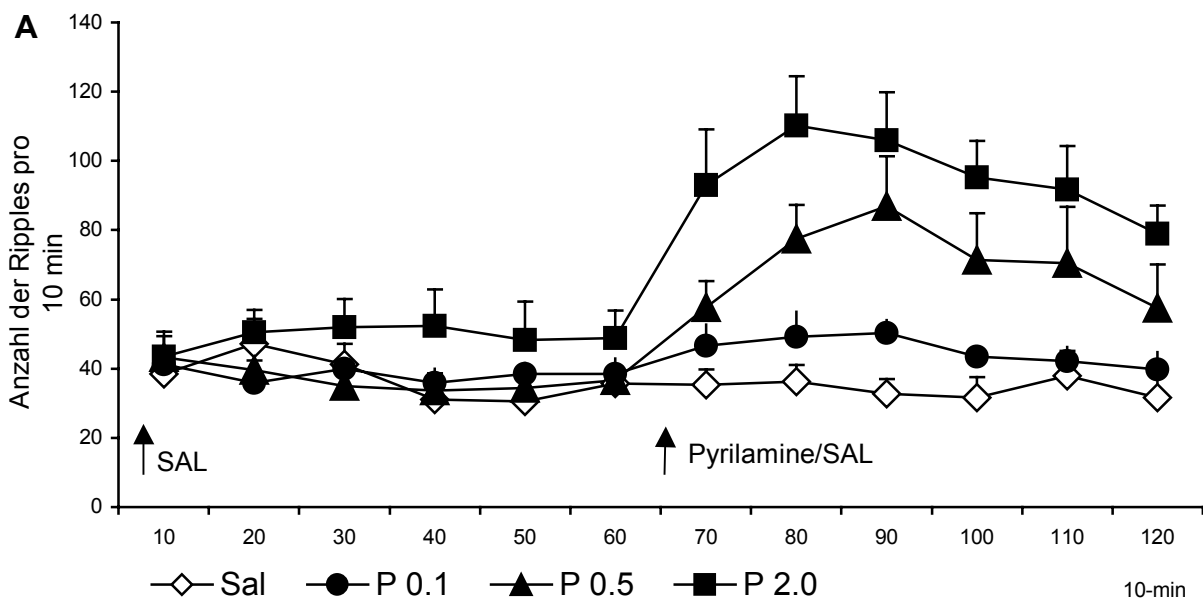


Abb. 9A : Graphische Darstellung nach erfolgter Salinjektion (icv) der ersten Stunde Baselineerhebung (7.2.2.1) und Drogen- bzw. Salinjektion (icv) während der zweiten Experimentalstunde (7.2.2.2). Mittelwert ( $\pm$ SEM) über die Anzahl der ripples pro 10-min-Interval für die erste Stunde Baselinegruppen (SAL) und die zweite Stunde Kontrollgruppe (SAL) und die Experimentalgruppen: Pyrilamin (PY 0.1, 0.5, 2.0  $\mu$ g). Allen Baselinegruppen (BSAL, BPY0.1, BPY0.5, BPY2.0) wurde zu Beginn der ersten Stunde Sal injiziert.

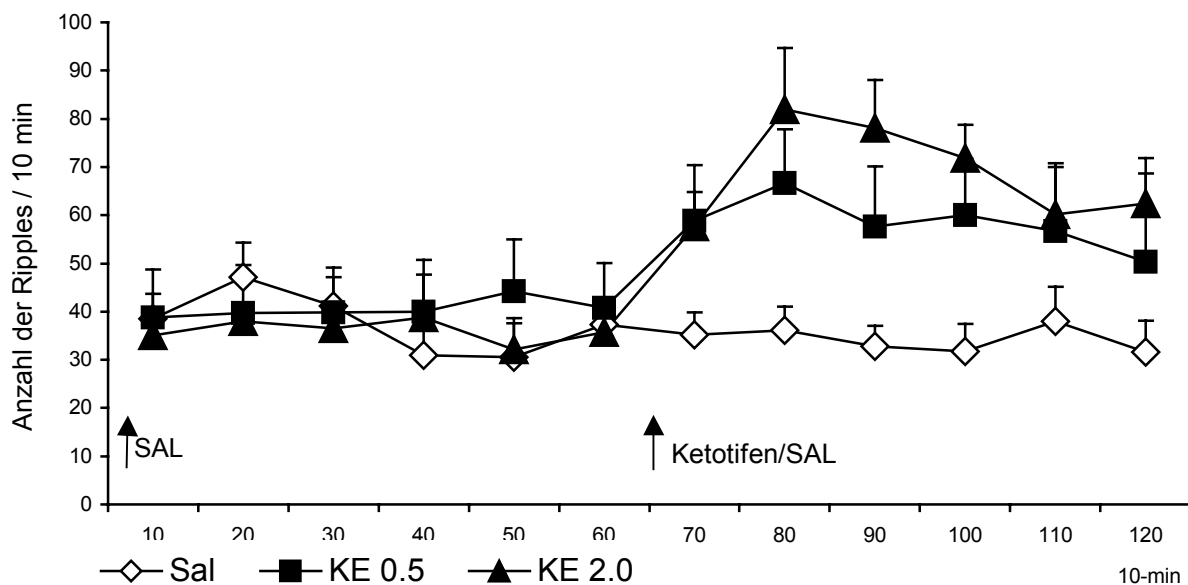
**B**

Abb. 9B : Graphische Darstellung nach erfolgter Salinjektion (icv) der ersten Stunde Baselineerhebung (7.2.2.1) und Drogen- bzw. Salinjektion (icv) während der zweiten Experimentalstunde (7.2.2.2). Mittelwert ( $\pm$ SEM) über die Anzahl der ripples pro 10-min-Interval für die erste Stunde Baselinegruppen (SAL) und die zweite Stunde Kontrollgruppe (SAL) und die Experimentalgruppen: Ketotifen (KE 0.5, 2.0  $\mu$ g). Allen Baselinegruppen (BSAL, BKE0.5 und BKE2.0) wurde zu Beginn der ersten Stunde Sal injiziert.

### 7.2.2.1 Baselineerhebung (Abb. 9A, 9B)

Innerhalb der ersten Experimentalstunde waren die Baselinewerte der Tiere, die mit unterschiedlich hoher Dosierung von Pyrilamin oder Ketotifen weiterbehandelt wurden, mit den Tieren vergleichbar, denen im Anschluss ebenfalls Sal appliziert wurde.



Die größte prozentuale Abweichung zeigte sich in den Ppyrlamingruppen in der 30. – 40. Minute zwischen BSAL ( $\mu$ : 31, SEM: 7.6) und BPY2 ( $\mu$ : 52.3; SEM: 10.5) ( $\mu$ BSAL ist 41 % kleiner als  $\mu$ BPY2) mit einem zweiseitigen p-Wert von 0.13. Dieser p-Wert ist nach Tab. XII (Anhang) der kleinste, der in den Baselinegruppen zwischen Sal und den verschiedenen Dosierungsgruppen von Ppyrlamin ermittelt wurde.

Für die Ketotifengruppen ergab sich der größte prozentuale Unterschied in der 40. – 50. Minute zwischen BSAL ( $\mu$ : 30.5; SEM: 7.1) und BKE0.5 ( $\mu$ : 43.9, SEM: 10.8) ( $\mu$ BSAL ist 31 % kleiner als  $\mu$ BKE0.5) mit einem zweiseitigen p-Wert von 0.39. Dieser p-Wert ist nach Tab. XII (Anhang) der kleinste, der in den Baselinegruppen zwischen Sal und den Dosierungsgruppen von Ketotifen ermittelt wurde.

### **7.2.2.2 Datenerhebung zum Einfluss von H<sub>1</sub>-Antagonisten auf die Anzahl von ripples (Abb. 9A, 9B)**

Die Überprüfung der zweiten Hypothese (2a) zeigte dosisabhängige Unterschiede in der gemittelten Anzahl der ripples zwischen den Experimentalgruppen und der Kontrollgruppe. Die Injektion beider H<sub>1</sub>-Antagonisten führte zu einer erhöhten Anzahl des ripple-Auftretens, wobei die Kurvenverläufe der Experimentalgruppen einen zeitabhängigen Verlauf aufwiesen.

Das Kurvenmaximum ist für die hohe Dosierungsgruppe von Ppyrlamin (PY2.0 mit  $\mu$ : 110.22 und SEM: 14.33) in der 10. – 20. Minute erreicht, für die niederen Dosierungsgruppen in der 30. – 40. Minute nach der icv.-Injektion (PY0.5 mit  $\mu$ : 86.90 und SEM: 14.40; PY0.1 mit  $\mu$ : 50.36 und SEM: 3.64). Im Vergleich zur Kontrollgruppe (SAL) wurde die Anzahl der ripples somit um maximal 54 % (SAL vs PY0.1), 165 % (SAL vs PY0.5), 205 % (SAL vs PY2.0) erhöht.

Während die niedrigste Dosierung (P0.1) im Vergleich zur SAL nur in der 20. – 30. Minute einen p-Wert < 0.05 aufwies, zeigten sich für die mittlere Dosierung innerhalb der ersten 10 Minuten und der 30. – 40.; 50. – 60. Minute p-Werte < 0.05 und zwischen 10. – 30. Minute p-Werte < 0.01.

Der Vergleich zwischen der hohen Dosierung von Pyrilamin (PY2.0) und SAL erzielte während allen sechs 10-min-Intervallen p-Werte < 0.05; in der zehnten bis vierzigsten Minute p-Werte < 0.01 (s.Tab. 3).

Das Kurvenmaximum der hohen Dosierungsgruppe von Ketotifen (KE2.0 mit  $\mu$ :75.06 und SEM: 10.27) wurde in der 20. – 30. Minute nach icv.-Injektion erreicht und zeigt auch hier die höchste prozentuale Abweichung von der Kontrollgruppe (SAL) von 224 %. Innerhalb dieses Intervalls wurde auch der kleinste p-Wert mit  $p = 0.004$  errechnet. Der Vergleich zwischen SAL und KE0.5 zeigte im zweiten und vierten Minuten-Intervall p-Werte < 0.05.

|              | 70   | 80    | 90    | 100   | 110  | 120  |
|--------------|------|-------|-------|-------|------|------|
| SAL vs PY0.1 | 0.31 | 0.13  | 0.02  | 0.07  | 0.82 | 0.59 |
| SAL vs PY0.5 | 0.02 | 0.002 | 0.002 | 0.02  | 0.24 | 0.04 |
| SAL vs PY2.0 | 0.01 | 0.002 | 0.002 | 0.004 | 0.02 | 0.01 |
| SAL vs KE0.5 | 0.18 | 0.04  | 0.09  | 0.04  | 0.49 | 0.82 |
| SAL vs KE2.0 | 0.04 | 0.01  | 0.002 | 0.01  | 0.24 | 0.03 |

Tab. 3: P-Werte als Maß des Effekts beruhen auf dem Vergleich zwischen der Kontrollgruppe (SAL) und den Pyrilamin- bzw. Ketotifen-Experimentalgruppen (PY0.1, PY0.5, PY2.0, KE0.5 und KE2.0) in 10-min-Intervallen (Mann-Whitney-U-Test, zweiseitig).

### 7.2.3

### H<sub>2</sub>- und H<sub>3</sub>-Antagonisten: Cimetidin und Thioperamid

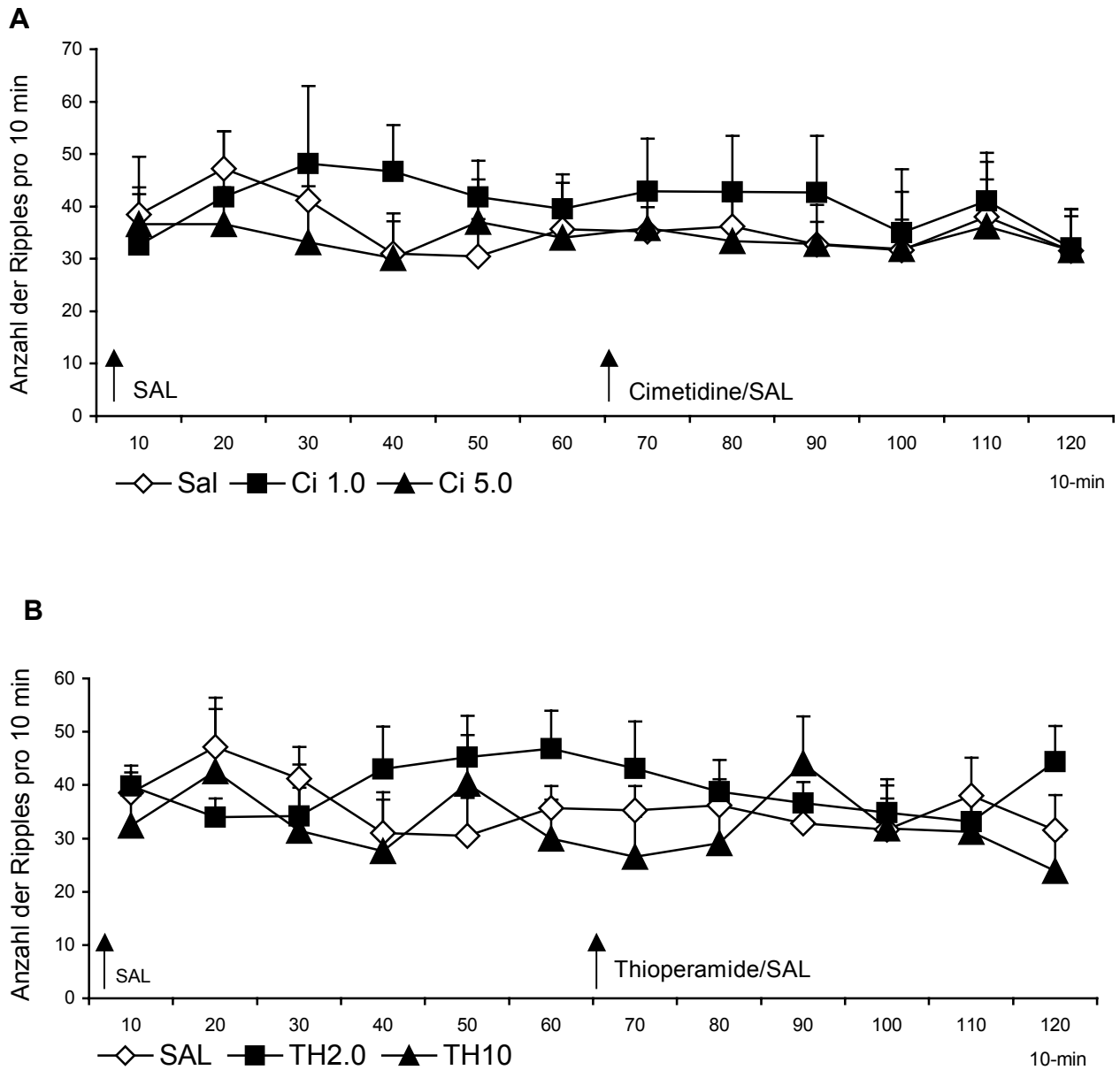


Abb. 10: Graphische Darstellung nach erfolgter Salinjektion (icv) der ersten Stunde Baselineerhebung (7.2.3.1) und Drogen- bzw. Salinjektion (icv) während der zweiten Experimentalstunde (7.2.3.2). Mittelwert ( $\pm$ SEM) über die Anzahl der ripples pro 10-min-Interval für die erste Stunde Baselinegruppen (BSAL) und die zweite Stunde Kontrollgruppe (SAL) und die Experimentalgruppen in **A**: Cimetidin (Ci1.0, 5.0  $\mu$ g) und **B**: Thioperamid (TH2.0, 10  $\mu$ g). Allen Baselinegruppen (BSAL, BCi1.0, Ci5.0, BTH2.0, BTH10) wurde zu Beginn der ersten Stunde Sal injiziert.

### **7.2.3.1 Baselineerhebung (Abb. 10)**

Innerhalb der ersten Experimentalstunde waren die Baselinewerte der Tiere, die mit unterschiedlich hoher Dosierung von Cimetidin oder Thioperamid weiterbehandelt wurden, mit den Tieren vergleichbar, denen im Anschluss ebenfalls Sal appliziert wurde. Weder der Vergleich zwischen Kontrollgruppe (BSAL) und den Dosierungsgruppen von Cimetidin (BCI1.0,BCI5.0) noch mit den Thioperamidgruppen (BTH2.0, BTH10) zeigte in einem der 10-min-Intervalle der ersten Stunde einen p-Wert  $< 0.1$  (Tab. XII im Anhang).

### **7.2.3.2 Datenerhebung zum Einfluss von H<sub>2</sub>- und H<sub>3</sub>-Antagonisten auf die Anzahl von ripples (Abb. 10)**

Innerhalb der zweiten Experimentalstunde waren die Werte der Tiere, denen unterschiedlich hohe Dosierungen von Cimetidin oder Thioperamid injiziert wurden, mit den Werten der Kontrollgruppe vergleichbar. Weder der Vergleich zwischen der Kontrollgruppe (SAL) und den Experimentalgruppen von Cimetidin (CI1.0,CI5.0) oder Thioperamid (TH2.0, TH10) zeigte in einem der 10-min-Intervalle der zweiten Stunde einen p-Wert  $< 0.1$ .

Die Überprüfung der zweiten Hypothese zeigte keine Unterschiede in der gemittelten Anzahl der ripples zwischen den Experimentalgruppen und der Kontrollgruppe. Die p-Werte als Maß des Effekts sind im Anhang dargestellt (Tab. XIII im Anhang).

## **7.3 Pilotstudie zum Einfluss des muscarinergen Antagonisten Scopolamin auf die Anzahl von ripples**

In Kongruenz zu der Untersuchungsmethode des histaminergen Einflusses auf die Auftretenshäufigkeit von ripples, wurde die ripple-Anzahl während der ersten Stunde nach Salinjektion (NaCl 0.9%) und während der zweiten Stunde nach Scopolamine-Injektion (5µg) in 10 Minuten Intervallen erhoben (n=3). Beide

Injektionen wurden icv. in einer Menge von 1 µl appliziert – Scopolamin wurde in 0.9 prozentiger Natriumchloridlösung (Sal) gelöst.

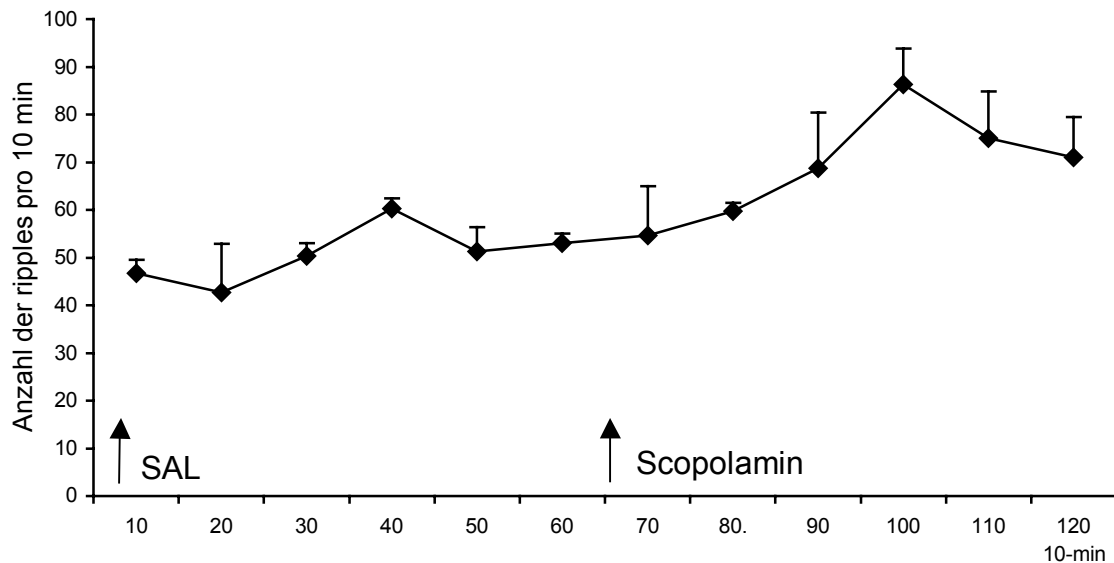


Abb. 11: Graphische Darstellung nach erfolgten icv.-Injektionen zu Beginn der ersten resp. zweiten Stunde. Mittelwert ( $\pm$ SEM) über die Anzahl der ripples pro 10-min-Intervall für die erste Stunde Salininjektion (SAL) und die zweite Stunde Scopolamininjektion (5 µg)

Nach der icv.-Injektion von Scopolamine (5µg) zeigte sich ein Anstieg der ripple Anzahl mit einem zeitabhängigen Verlauf. Das Maximum wurde im vierten 10-Minuten-Intervall nach Scopolamininjektion gemessen und liegt mit  $86 \pm 8$  ripples 43% über dem vergleichbaren Zeitabschnitt der ersten Stunde ( $60 \pm 2$ ) und 69% über dem Gesamtmittelwert der ersten Stunde ( $51 \pm 2$ ).

#### 7.4 Auftretensdauer der untersuchten Verhaltensparameter unter dem Einfluss der icv.-Injektion von 0.9% NaCl, Histamin und Histaminergem Rezeptor-Antagonisten

Auf den folgenden Seiten wird die Dauer der Verhaltensweisen Ruhe (7.4.1), Lokomotion (7.4.2), Aufrichten (7.4.3), Putzen (7.4.4), Schnüffeln (7.4.5) und für die Drogengruppen Histamin (A), Pyrilamin (B), Cimetidin (C) und Thioperamid (D)

graphisch dargestellt und in 7.4.6 deskriptiv beschrieben. Die Dauer der Verhaltensweisen der Drogengruppen von Ketotifen sind graphisch, p-Werte aller Drogengruppen tabellarisch im Anhang dargestellt.

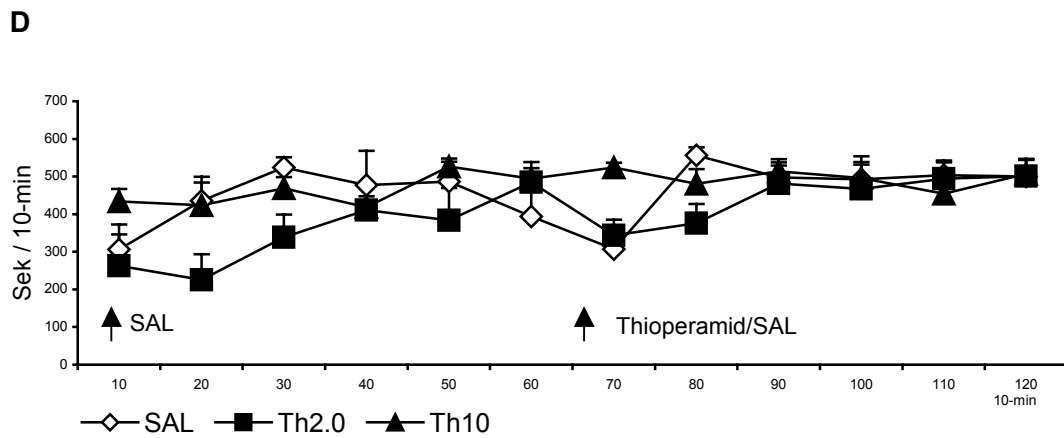
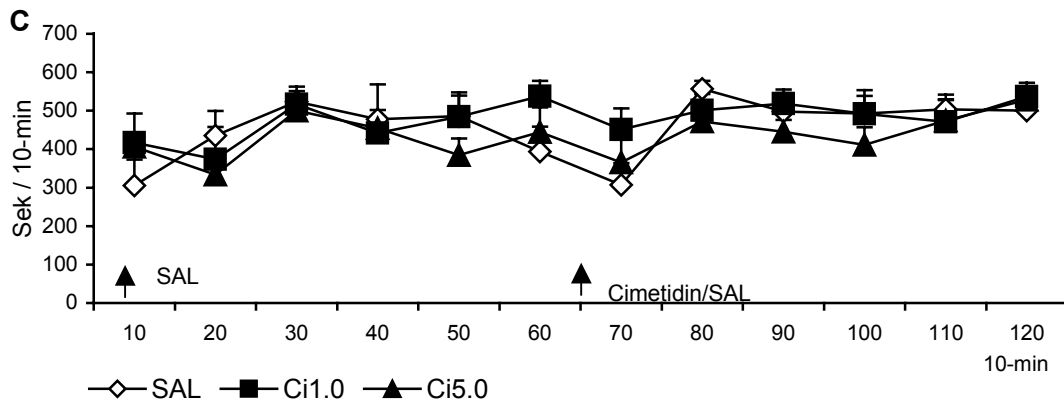
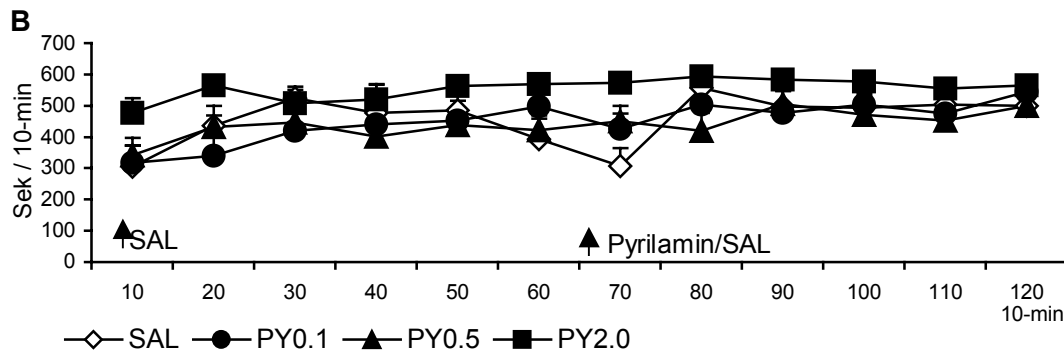
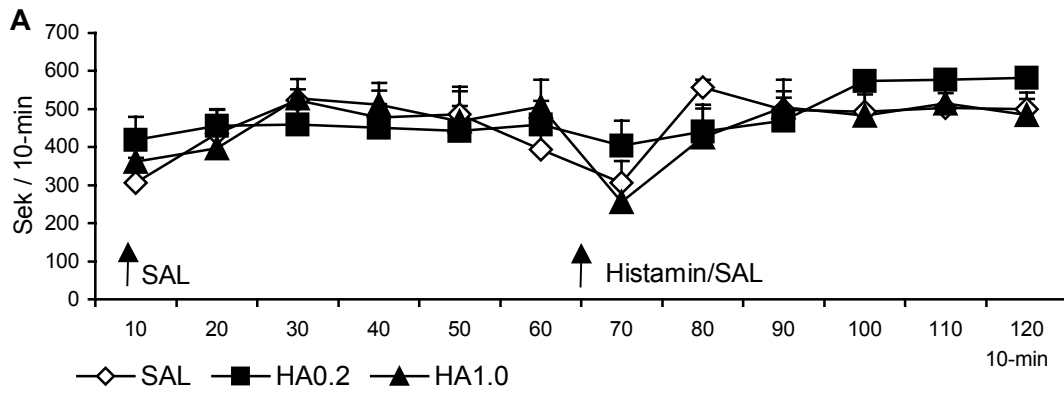
**Graphiken A 7.4.1 – 7.4.5:** Graphische Darstellung nach erfolgter Salinjektion (icv) der ersten Stunde Baselineerhebung und Drogen- bzw. Salinjektion (icv) während der zweiten Experimentalstunde. Mittelwert ( $\pm$ SEM) über die Dauer der jeweiligen Verhaltensweisen pro 10-min-Interval für die erste Stunde Baselinegruppen (BSAL) und die zweite Stunde Kontrollgruppe (SAL) und die Experimentalgruppen von Histamin (HA0.2, HA1.0).

**Graphiken B 7.4.1 – 7.4.5:** Graphische Darstellung nach erfolgter Salinjektion (icv) der ersten Stunde Baselineerhebung und Drogen- bzw. Salinjektion (icv) während der zweiten Experimentalstunde. Mittelwert ( $\pm$ SEM) über die Dauer der jeweiligen Verhaltensweisen pro 10-min-Interval für die erste Stunde Baselinegruppen (BSAL) und die zweite Stunde Kontrollgruppe (SAL) und die Experimentalgruppen von Pylilamin (PY 0.1, 0.5, 2.0  $\mu$ g).

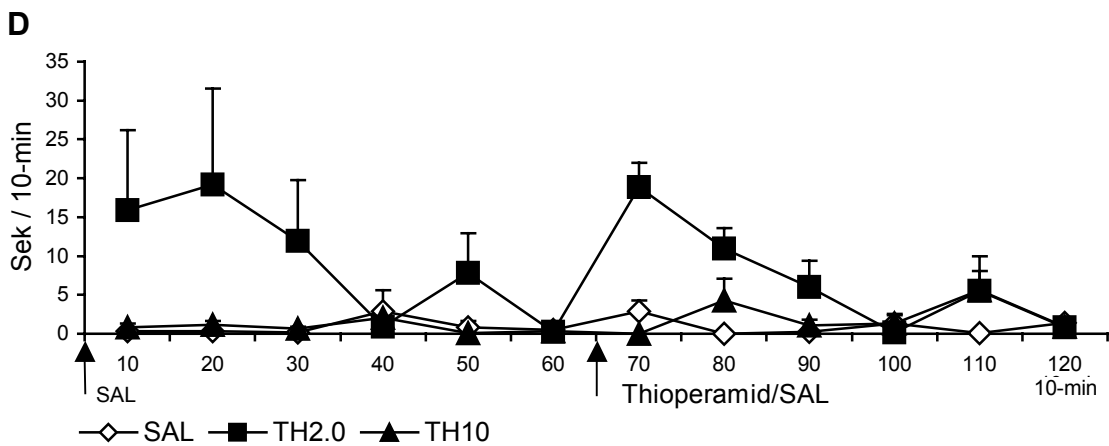
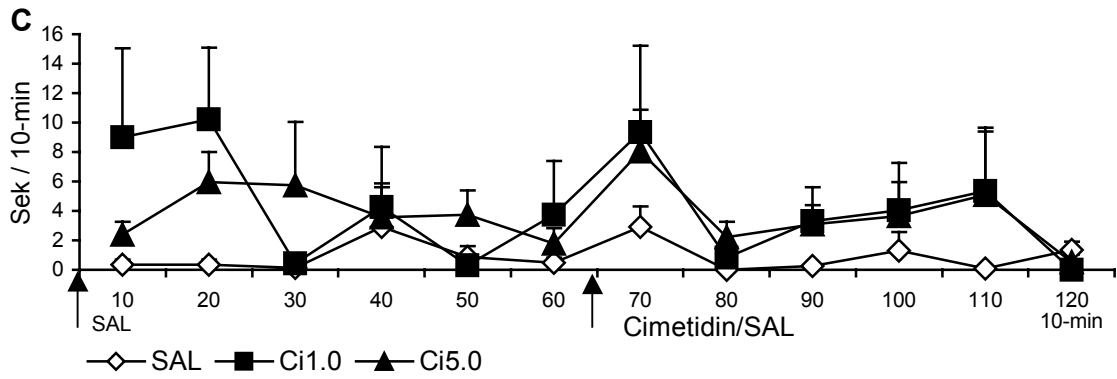
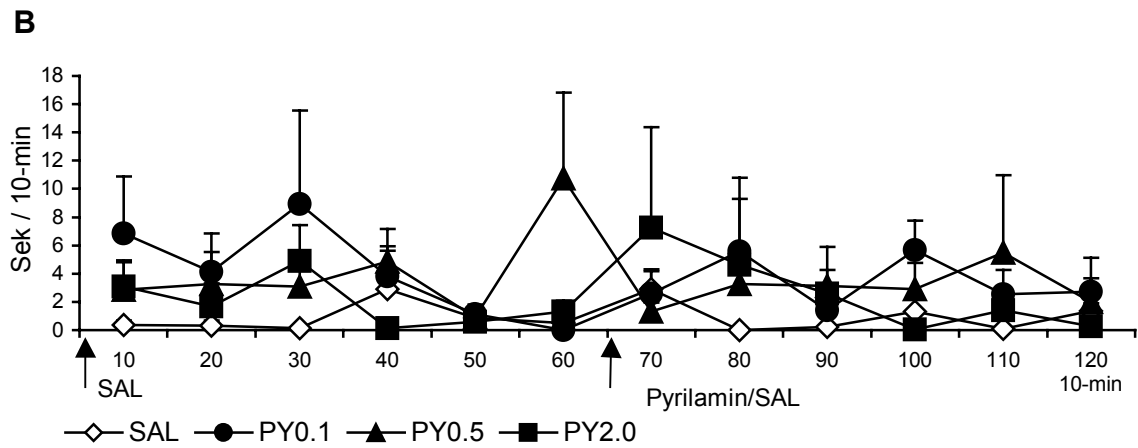
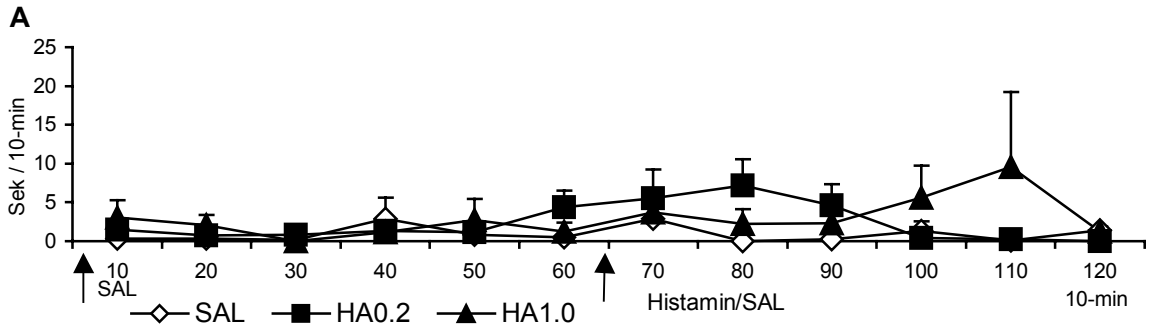
**Graphiken C 7.4.1 – 7.4.5:** Graphische Darstellung nach erfolgter Salinjektion (icv) der ersten Stunde Baselineerhebung und Drogen- bzw. Salinjektion (icv) während der zweiten Experimentalstunde. Mittelwert ( $\pm$ SEM) über die Dauer der jeweiligen Verhaltensweisen pro 10-min-Interval für die erste Stunde Baselinegruppen (BSAL) und die zweite Stunde Kontrollgruppe (SAL) und die Experimentalgruppen von Cimetidin (Ci1.0, 5.0  $\mu$ g).

**Graphiken D 7.4.1 – 7.4.5:** Graphische Darstellung nach erfolgter Salinjektion (icv) der ersten Stunde Baselineerhebung und Drogen- bzw. Salinjektion (icv) während der zweiten Experimentalstunde. Mittelwert ( $\pm$ SEM) über die Dauer der jeweiligen Verhaltensweisen pro 10-min-Interval für die erste Stunde Baselinegruppen (BSAL) und die zweite Stunde Kontrollgruppe (SAL) und die Experimentalgruppen von Thioperamid (TH2.0; TH10  $\mu$ g).

### 7.4.1 Ruhe (Dauer in Sekunden / 10-min-Intervall)

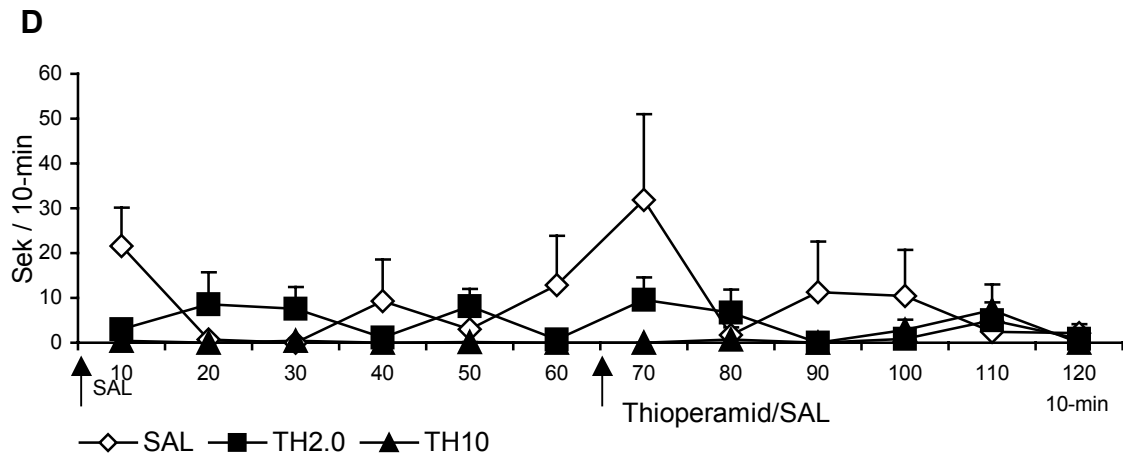
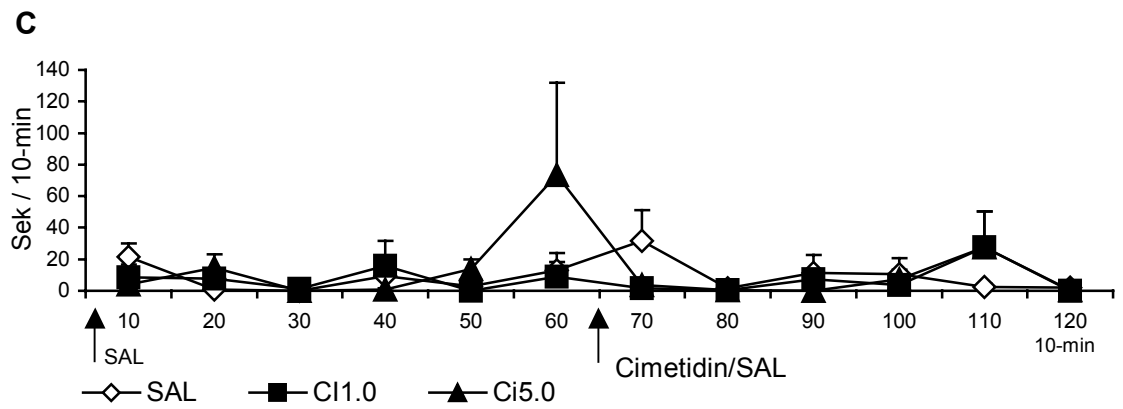
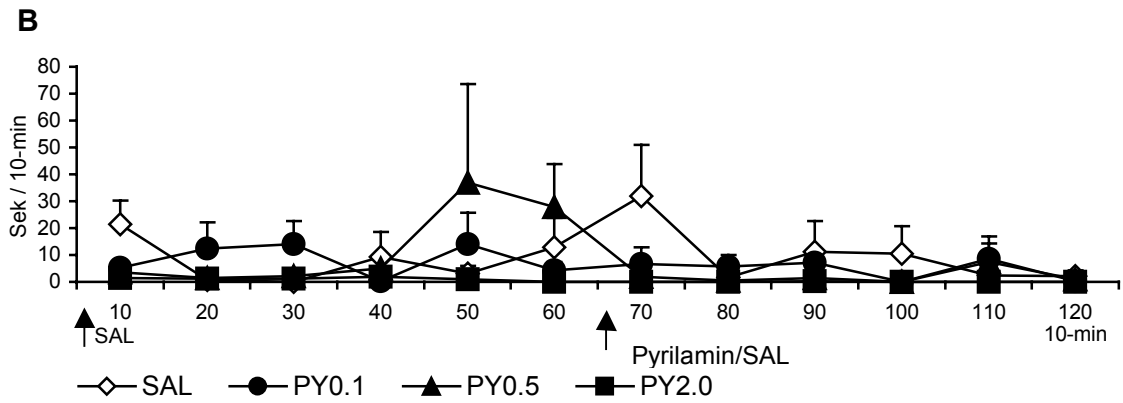
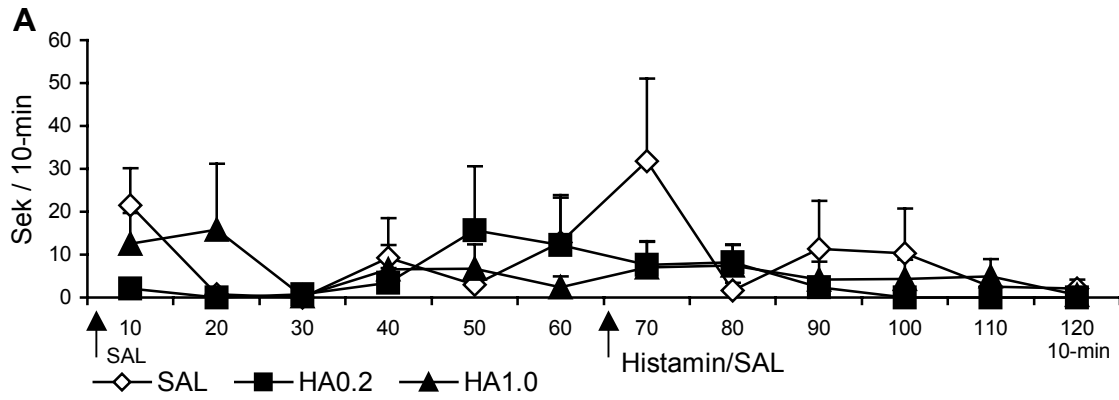


### 7.4.2 Lokomotion (Dauer in Sekunden / 10-min-Intervall)

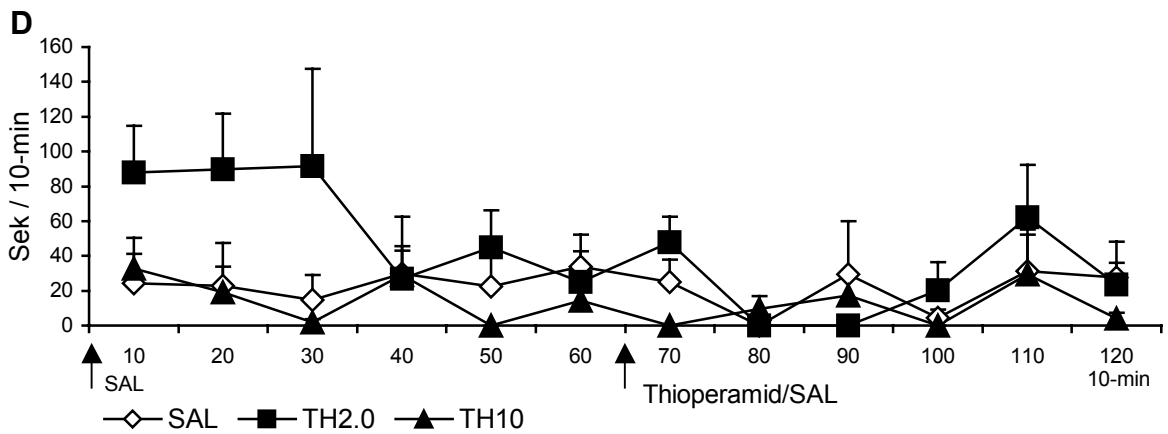
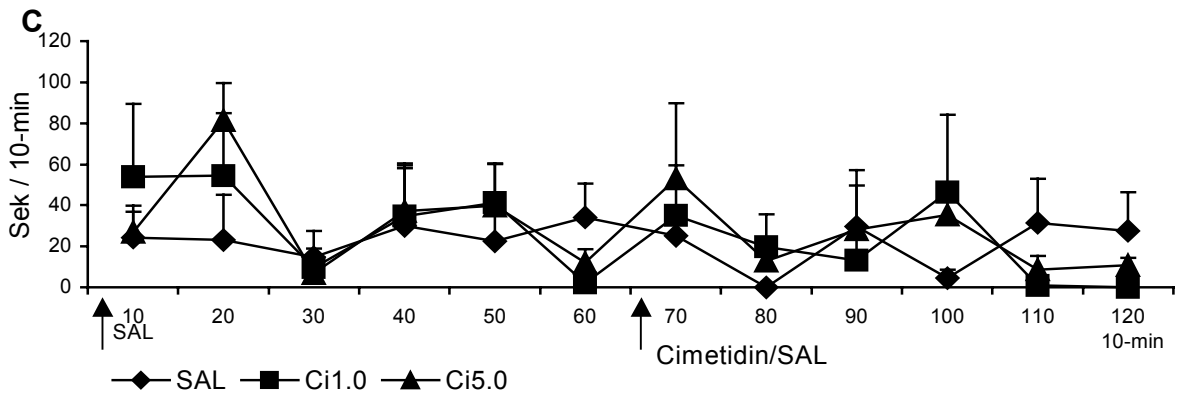
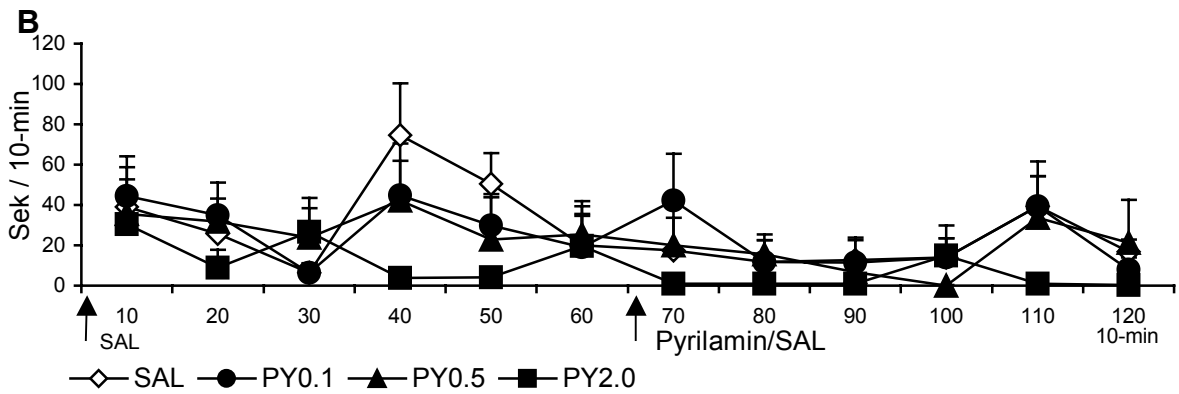
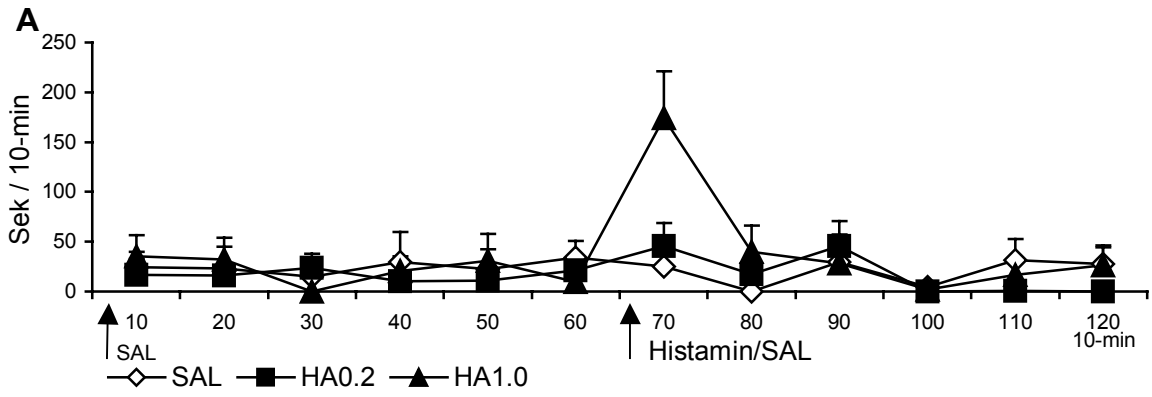




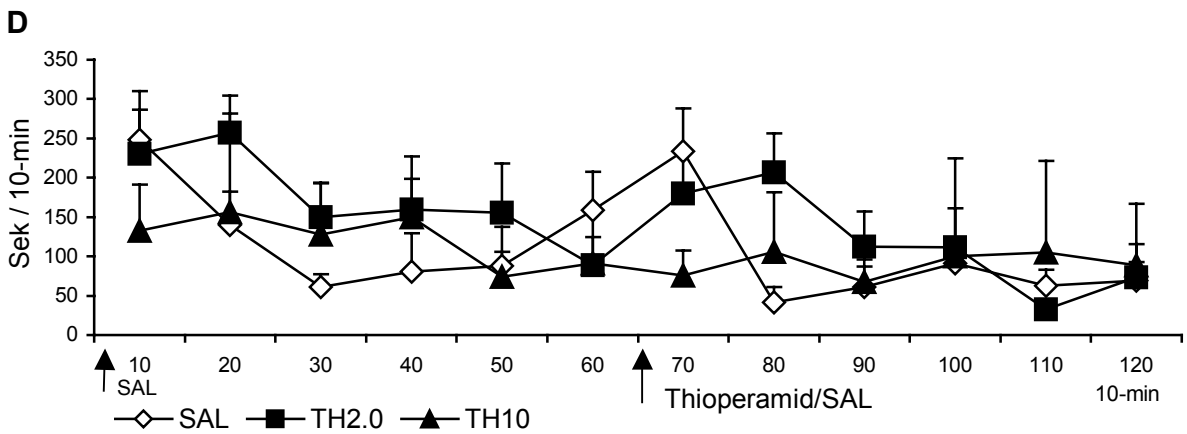
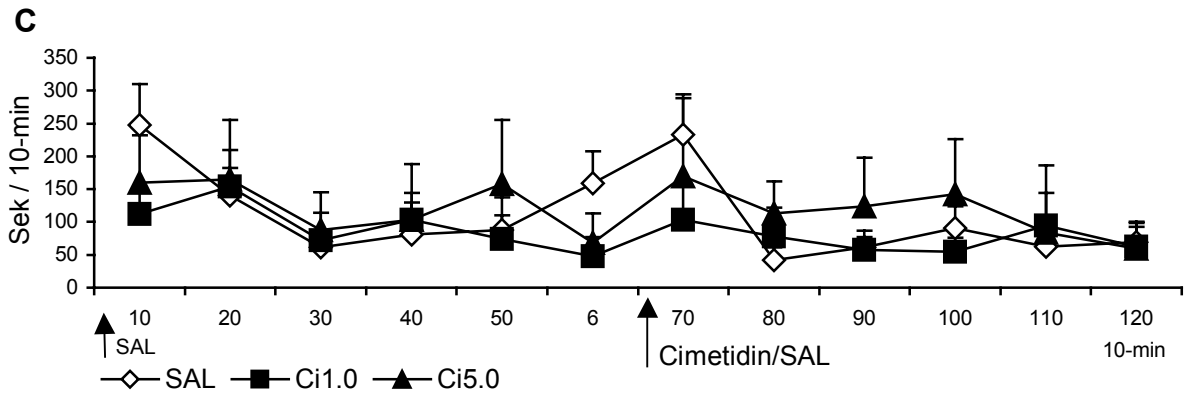
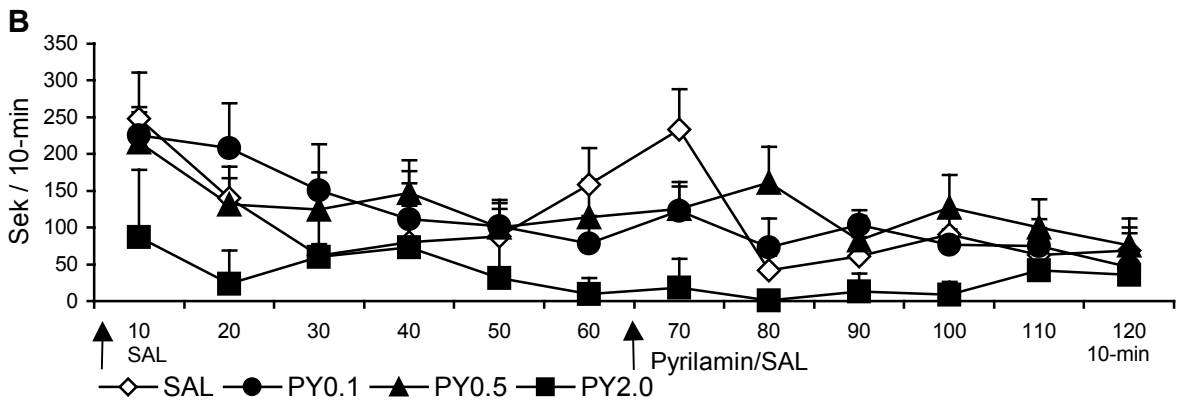
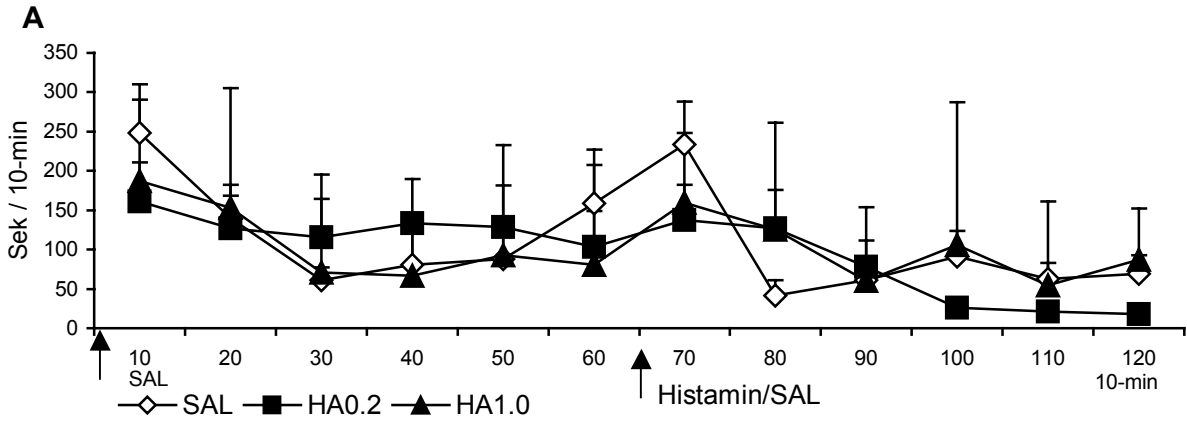
### 7.4.3 Aufrichten (Dauer in Sekunden / 10-min-Intervall)



### 7.4.4 Putzen (Dauer in Sekunden / 10-min-Intervall)



### 7.4.5 Schnüffeln (Dauer in Sekunden / 10-min-Intervall)



#### 7.4.6 Vergleich der Verhaltensdauern von Baselinegruppen sowie Kontroll- versus Experimentalgruppen

Die statistische Analyse zeigte vergleichbare Ergebnisse für die Dauer aller Verhaltensweisen im Vergleich der Baselinegruppen (BSal vs BDroge) sowie im Vergleich zwischen Experimental- und Kontrollgruppen (Droge<sub>x</sub> vs SAL). Sowohl in den Baseline- als auch in den Experimentalgruppen zeigten sich Unterschiede fast ausschließlich im ersten 10-min-Intervalle nach icv. Injektion.

Innerhalb der ersten 10 Minuten nach Injektion des **H<sub>1</sub>-Antagonisten** Pyrilamin (2µg) zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe gesteigertes Ruheverhalten (p=0.004), eine reduzierte Dauer des Aufrichtens (p=0.015) und eine Reduzierung des Schnüffeln, welche 40 Minuten persistierte (p=0.004; p=0.026; p=0.041; p=0.015).

Vergleichbare Daten wurden aber auch während der Baselineerhebung für BPY 2.0 gefunden. Im zweiten 10-min-Intervall wurden hier im Vergleich zu BSAL eine größere Ruhephase (p=0.026), sowie eine reduzierte Dauer des Schnüffeln (p=0.026) sowie des Aufrichtens im ersten 10-min-Intervall (p=0.015) beobachtet. Die niedrigeren Pyrilamindosierungen (0.1, 0.5µg) sowie die hohe Ketotifendosis (2µg) bewirkten mit der Kontrollgruppe vergleichbare Werte in der Dauer aller Verhaltensparameter (alle p-Werte > 0.05). Nur die niedrige Ketotifendosis (0.5 µg) erzeugte sowohl für die Baseline- (p=0.015) als auch für die Experimentalgruppe (p=0.026) im Vergleich zur Kontrollgruppe ein verringertes Aufrichteverhalten in den ersten 10 Minuten nach den Injektionen. Während der 20. – 30. Minute Baselineerhebung (0.041) und der 40. – 50. Minute des Experiments (0.026) wurde ein längeres Schnüffelverhalten dieser Tiergruppe beobachtet.

Zehn Minuten nach der **H<sub>2</sub>-Antagonisten**-Injektion von Cimetidin (5µg) zeigte sich eine Reduktion des Ruheverhaltens (p=0.015) und ein länger andauerndes Schnüffeln (p=0.026); die niedrige Dosis Cimetidin (1µg) rief indes in keiner Verhaltensweise Unterschiede zur Kontrollgruppe hervor (alle P-Werte > 0.05).

Innerhalb der ersten 10 Minuten nach **Histamin**-Injektion (2µg) war eine Verlängerung der Putzdauer (p=0.026) beobachtbar, während die niedrige Histamindosis (0.2µg) in keiner Verhaltensweise Unterschiede zur Kontrollgruppe zeigte (alle P-Werte > 0.05).

Innerhalb des ersten 10-min-Intervalls nach der Injektion des **H<sub>3</sub>-Antagonisten** Thioperamid (10µg) zeigte sich ein kürzeres Aufrichteverhalten (p=0.017), was ebenso in den ersten 10-min der Baselineerhebung (p=0.004) zu beobachten war. Weiterhin zeigte sich in den ersten 10-min des Experiments eine Verlängerung des Ruheverhaltens (p=0.009) und eine Verkürzung der Schnüffeldauer (p=0.017).

Im Gegensatz dazu, beobachtete man im zweiten 10-min-Intervall nach niedriger Thioperamidinjektion (2µg) längeres Schnüffeln und Lokomotion (p=0.017; p=0.004) mit verkürztem Ruheverhalten (p=0.009). Das kürzere Ruheverhalten zeigte sich ebenfalls während der Baselineerhebung (p= 0.03).

## **D Diskussion**

### **8.1 Verhalten und ripples**

#### **8.1.1 Diskussion der Ergebnisse**

Bisherige Befunde zum Zusammenhang zwischen elektrischer hippocampaler Aktivität und spontanem Verhalten zeigten, dass sharp wave assoziierte ripples während wachem Ruheverhalten, konsummatorischem Verhalten, Putzen und in der Tiefschlafphase auftreten (Suzuki und Smith, 1987; Buzsaki et al., 1994). Einige dieser Studien nutzten zur Verhaltensmessung ein Aktivitätsrad (modifizierter oder originaler „Wahman activity wheel“), welches die Ratte durch Eigenbewegung rotieren lassen kann (Buzsaki et al., 1983, 1986 a). Mit dieser Methode kann man zwar auf begrenztem Raum kontinuierliche Laufbewegung erzielen, doch hat sie im Gegensatz zu Offenfeldstudien wenig Bezug zu realen Lebensbedingungen und das

kinetische feed-back der Radbewegung stellt ebenfalls eine Einfluss nehmende Variable dar (Bures, et al. 1983).

Die bisherigen Untersuchungen beschrieben die Korrelation von hippocampaler Aktivität und spezifischem Verhalten – wobei eine quantifizierende Aussage über den Zusammenhang zwischen Verhalten und Auftretenshäufigkeit spezifischer hippocampaler Aktivität ausblieb. Die Versuchsbedingungen der vorliegenden Arbeit erzielte diese quantifizierte Aussage bezüglich der hippocampalen ripple-Aktivität; wobei die Versuchsanordnung ein breites Spektrum von spontanem Verhalten ermöglichte.

Die Versuchstiere zeigten umgebungsbezogenes Verhalten, wie Lokomotion und Aufrichten – welche dem Explorieren der Umgebung dienen – selbstbezogenes Verhalten wie Kratzen, Lecken, Körperpflege und waches Ruheverhalten wie Sitzen oder Liegen, wobei das Schnüffeln ausschließlich ohne weitere Bewegungskomponenten als solches definiert war. Meine Ergebnisse zeigten kongruent zu den bisherigen deskriptiven Befunden eine klare Abhängigkeit des ripple Auftretens zu verschiedenen Verhaltensweisen. Die in der Literatur beschriebene Assoziation von SPW bzw. ripples und wachem Ruheverhalten sowie Putzen (Buzsaki et al. 1992, 1994), kann durch meine Untersuchung detaillierter beschrieben werden. Die Auftretenshäufigkeit der ripples ist während des Putzens 80 % kleiner als im wachen Ruheverhalten. Auch während des Schnüffeln, welches in einigen Untersuchungen mit Theta assoziiert wird (Chrobak et al., 1998; Bragin et al., 1995; Buzsaki et al., 1994), konnten 40 % der ripple-Anzahl, die während des Ruheverhaltens gemessen wurde, nachgewiesen werden. Diese Diskrepanz ergibt sich aus der ungenauen Definition dieses Verhaltensparameters.

In dem Übersichtsartikel von Vanderwolf (1988), welcher die Assoziation von zerebraler Aktivität mit Verhalten anhand vieler Offenfeldversuche zusammenfasst, wird die Verhaltenskomponente „Schnüffeln“ detailliert beschrieben. Tritt Schnüffeln mit weiteren Bewegungskomponenten wie z. B. Lokomotion auf, wurde hippocampale Theta-Aktivität beobachtet. Nur das alleinige Schnüffeln ohne weitere Bewegungskomponenten war von irregulärer, großamplitudiger hippocampaler Aktivität begleitet.

Da in unserer Studie Schnüffeln ausschließlich ohne weitere Bewegungskomponenten als solches definiert war, stimmen unsere Ergebnisse bezüglich der begleitenden hippocampalen Aktivität mit denen Vanderwolfs überein.

Wenn man berücksichtigt, dass zu dieser Zeit ripples noch nicht bekannt waren man aber mittlerweile davon ausgeht, dass die hochamplitudige irreguläre hippocampale Aktivität – heute auch als SPW's determiniert – unabdingbar mit dem ripple-Auftreten assoziiert ist (Buzsaki et al., 1983 a, 1992).

Bisher wurde in der Literatur einstimmig beschrieben, dass explorative Verhaltensweisen wie Lokomotion und Aufrichten ausschließlich mit Theta-Aktivität assoziiert sind (Buzsaki et al., 1986a, 1994) – wohingegen meine Ergebnisse zeigen, dass auch während dieser Verhaltensparameter vereinzelt ripples auftraten. Im Vergleich zu der ripple-Anzahl im Ruheverhalten traten noch 2 % der ripple-Anzahl während Lokomotion und 8 % während des Aufrichtens auf.

Auch hier muß auf die Notwendigkeit einer detaillierten Verhaltensbeschreibung sowie der Problematik des Vergleiches von Ergebnissen verschiedener Meßapparaturen verwiesen werden. Im Aktivitätsrad gemessene Lokomotion muß nicht mit spontaner Lokomotion im Offenfeld übereinstimmen, zumal sich die Lokomotionsdauer im Aktivitätsrad von der in einem habituierten Offenfeld gravierend unterscheidet.

Aufgrund der gewählten Verhaltensparameterdefinitionen (s. 6.7.1) wird in der vorliegenden Arbeit „Lokomotion“ als solche definiert, wenn sich alle vier Pfoten an einen anderen Platz bewegen, auch wenn keine kontinuierliche Laufbewegung folgte. Kongruent hierzu zeigte eine Untersuchung, dass während kurzer Extremitätenbewegungen SPW's auftraten, wobei die Bewegungen nicht detailliert beschrieben wurden (Buzsaki et al., 1983 a).

Die während des Aufrichtens vereinzelt auftretenden ripples konnten in anderen Studien nicht beobachtet werden, da hier Aufrichten ausschließlich als freier Stand definiert wurde, wohingegen in unserem Experiment auch das Aufrichten an der Wand als solches definiert wurde. An der Wand abgestützt, verharren die Ratten länger in der aufgerichteten Stellung als im freien Stand – wodurch eine Ruhekomponente in das Verhaltenmuster einfließt, was zum Auftreten einzelner ripples geführt haben könnte.

Zusammengefasst spiegelte unser Experiment deutlich die Unterschiede in der ripple-Anzahl bezüglich der Verhaltensparameter Lokomotion, Aufrichten, Putzen, Schnüffeln und Ruheverhalten wider.

In einer früheren Studie wurden in Abhängigkeit zu diesen Verhaltensparametern spezifische zelluläre Aktivitätskorrelate beschrieben. Während explorativem Verhalten zeigten die Körnerzellen des Gyrus dentatus eine fünf- bis achtfach höhere Entladungsfrequenz gegenüber der im Ruheverhalten gemessenen, wohingegen die Entladungsfrequenz der Pyramidenzellen des Ammonshorns abnahm. Im Ruheverhalten wurde im SPW- bzw. ripple-Status eine gesteigerte Entladungsfrequenz der Interneurone (IPSP's) und Pyramidalzellen (EPSP's) im Ammonshorn gemessen; wobei die Pyramidenzellen von Ammonshorn und Subiculum eine synchrone Entladungsaktivität (Koaktivierung) zeigten (Rose et al., 1983).

Die Feuerungsfrequenz der SPW-assoziierten ripples liegt außerdem im optimalen Frequenzbereich zur LTP-Induktion (Douglas, 1977). Solch hochfrequentes synchrones Feuern von Zellpopulationen bieten vorteilhafte Bedingungen für synaptische Plastizität, was zur Formulierung der These führte, dass SPW assoziierte Populationsentladungen durch plastische Änderungen der Pyramidenzellsynapsen Grundlage für gedächtnisformatierende Prozesse darstellen (Buzsaki et al., 1987; Buzsaki, 1991 b).

### **8.1.2 Ausblick**

Grundlage weiterführender Experimente sollte die Überprüfung der Korrelation zwischen hochfrequenter hippocampaler Aktivität (ripples) und kognitiver Verhaltensprozesse sein. Hierbei sollten sich die Experimente methodisch der hierarchischen Abfolge von einzelnen Verhaltensparametern bis hin zu komplexen kognitiven Prozessen anpassen.

Beispiele dieser methodischen Vorgehensweise bieten die Untersuchungen zu kognitiven Korrelaten der Gamma-Oszillationen. Während zunächst nachgewiesen wurde, dass sensorische Stimuli Gamma-Oszillationen in modalitätsspezifischen Arealen evozieren (Freeman, 1983; Espinosa and Gerstein, 1988; Abeles et al., 1993), konnte später eine Oszillationssynchronisation zwischen temporalen und



parietalen Assoziations-Cortices durch multimodale Objektpräsentation nachgewiesen werden. Dies repräsentiert eine höhere Stufe kognitiver Verarbeitung – nämlich die Wahrnehmung und damit das Bewusstsein über die Identität eines Objektes (von Stein et al., 1999).

Die weitere Differenzierung sensorischer Stimuli einer Modalität stellte die Prägnanz von Gamma-Oszillation während des kognitiven Prozesses semantischer Deutung heraus. Wörter, die mit motorischen Aktionen assoziiert sind, evozierten Gamma-Oszillationen im motorischen Areal, Wörter mit visuellen Assoziationen im visuellen Areal (Pulvermuller et al., 1997).

Orientierend an dieser methodischen Vorgehensweise sollte die Komplexität von Gedächtnisformatierung in einzelne Prozesse aufgegliedert und mit dem Auftreten von ripples korreliert werden. Da das Verhalten selbst Einfluss auf das hippocampale EEG nimmt, sollten in Untersuchungen zu kognitiven ripple-Korrelaten Bewegungen möglichst ausgeschlossen werden.

Klassische Konditionierung autonomer Reflexe, wie z. B. die Herzschlagrate, am fixierten Tier bietet hierfür ideale Bedingungen, da diese Konditionierung interne Organismusbedingungen statt Bewegungsreaktionen trainiert. Außerdem bietet das zeitlich exakt bestimmbare Auftreten des konditionierten Stimulus eine genaue Überprüfung zeitlich synchron auftretender hippocampaler Aktivität. Unter der Voraussetzung, dass limitierte Extremitätenbewegungen keinen Einfluss auf das Auftreten von ripples haben, könnte sich als weiteres Lernexperiment operantes Konditionieren anschließen.

Eine höhere kognitive Leistung stellt die Aufgabe der Musterunterscheidung dar, bei welcher erlernte Muster wiedererkannt bzw. von neuen diskriminiert werden. Die Integration von Gedächtnis- und Verstärkungskonzepten, welche davon ausgeht, dass verstärkende Ereignisse dem Abschwächen einer Gedächtnisspur entgegenwirken (woraufhin eine Kurzzeit- und schließlich eine Langzeitgedächtnisspur gebildet werden kann (Huston, 1977 a&b), erlauben weitere methodische Ansätze zur Überprüfung kognitiver Lernprozesse in Korrelation zu hippocampaler Aktivität. Bei der konditionierten Platzpräferenz erlernt die Ratte, ihre Umgebung zu diskriminieren und hält sich dann an dem zuvor verstärkten Platz auf. So könnte die hippocampale ripple-Aktivität bei einem begrenzten Ruheaufenthalt an zuvor verstärkten mit nicht verstärkten Plätzen verglichen, oder aber während des Verstärkungsprozesses gemessen werden.

## **8.2 Ripples unter dem Einfluss histaminerger Substanzen**

### **8.2.1 Allgemeine Diskussion des Experiments**

Um die potentiellen Wirkungsmechanismen der verwandten Substanzen zu analysieren, wird in diesem Abschnitt die Distributionseigenschaft icv-injizierter Substanzen und deren Penetration in umliegendes Gewebe beschrieben. Im Einklang mit diesen Befunden werden die Hirnregionen extrahiert, die einen Einfluss auf das hippocampale EEG ausüben. Die histaminerge Wirkung in diesen Regionen soll schließlich den Wirkungsort der vorliegenden Befunde aufschlüsseln.

#### **8.2.1.1 Intracerebroventrikuläre Injektion**

Intracerebroventrikuläre Injektion ist eine weitverbreitete Methode, Drogen, Peptide, Neurotransmitter oder anderer chemische Substanzen in das Gehirn einzuführen, ohne zusätzlich periphere Effekte, wie nach intraperitonealer, -musculärer, -venöser oder subcutaner Injektion zu erwarten. Gegenüber den peripheren Injektionsmethoden bietet die intracerebroventrikuläre Injektion die Möglichkeit, auch Substanzen zu injizieren, welche die Blut-Hirn-Schranke nicht penetrieren können.

In der cerebrospinalen Flüssigkeit (CSF) liegen u. a. verschiedene neuroaktive Substanzen, wie Neuropeptide, Hormone und Neurotransmitter vor. Entweder reflektiert ihre Präsenz im CSF die Aktivität des Hirnmetabolismus oder sie nutzen diesen Weg um ihre Aktivität weitflächig im Gehirn zu entfalten (Proescholdt et al., 2000). Diese parasynaptische Kommunikation oder „volume transmission“ ist bei Transmittersystemen bekannt und beschreibt, dass neuroaktive Substanzen durch den extrazellulären Raum zu entfernten Zielrezeptoren diffundieren (Zoli et al., 1998).

In den letzten Jahren wird zunehmend die Diffusion und Ausbreitung neuroaktiver Substanzen im Gehirn untersucht, ebenso die Verteilung nach icv-Injektion. Fluoreszent oder radioaktiv markierte Injektate bieten die Möglichkeit, die Substanzverteilung post mortem an einem bestimmten Zeitpunkt nach der Injektion nachzuweisen. Durch die Weiterentwicklung bildgebender Verfahren, wurde nun begonnen, die dynamische Substanzverteilung in vivo nach intraventrikulärer Injektion zu untersuchen. Alle Studien beschreiben übereinstimmend die zeitliche Distribution – dem CSF-Strom folgend – einer Substanz nach icv-Injektion (Yee et al., 1994; Lapchak et al., 1993).

Zwischen dem Injektionszeitpunkt von [ $^{14}\text{C}$ ]Saccharose oder [ $^{14}\text{C}$ ]Inulin in den lateralen Ventrikel und dem Nachweis der Substanz im vierten Ventrikel – via drittem Ventrikel und Aquaedukt – vergehen 3.5 Min. Nach Fünf Minuten erreichen sie die Cisterna magna und nach weiteren fünf Minuten den subarachnoidalen Raum (Gherzi-Egea et al., 1996; Proescholdt, M.G. et al., 2000).

Die transependymale Distribution erfolgt langsamer. Fünf Minuten nach lateraler icv. Injektion dringt [ $^{14}\text{C}$ ]Inulin 0.5 mm in das Parenchym des Hirns ein, wobei die mammillären Regionen des Hypothalamus, Striatum, Septum, Nucleus raphe, Locus coeruleus und zum kleineren Teil auch der Hippocampus betroffen sind. Nach zehn Minuten wird [ $^{14}\text{C}$ ]Inulin in einer Gewebstiefe von 0.6 mm identifiziert und in geringerer Tiefe auch im Stammhirn und ventralen Vorderhirn. Erst nach einer halben Stunde ist [ $^{14}\text{C}$ ]Inulin bis in den Thalamus, den posterioren Hypothalamus, der Amygdala, dem Subiculum und nach zwei bis vier Stunden in das gesamte Gehirn vorgedrungen.

Sowohl unterschiedliche Injektionsvolumina als auch bioaktive Moleküle gleichen molekularen Gewichts (Polypeptidhormon: CRH) verfolgen diese zeitliche Distribution (Haffmans et al., 1983; Proescholdt et al., 2000).

Die Parenchympenetration des MR-Kontrastmittels Gadiamide, mit einem kleineren Molekulargewicht in der Größe einiger Transmitter, erfolgt in der gleichen Abfolge etwas schneller, so dass die intraventrikuläre Ausbreitung statt 3.5 Min. nur 2 Min. dauert und nach 10 Minuten eine 2 mm tiefe Penetration in das Hirnparenchyma erreicht wurde (Bui et al., 1999). Das radioaktiv markierte Enkephalin [ $^3\text{H}$ ]DADL ist innerhalb der ersten fünf Minuten nach icv.-Injektion im Striatum, im Hippocampus und im Septum nachweisbar (Haffmans, J. et al., 1983).

In einer Studie von Manahan-Vaughan et al. (1998) wurde ein Substanznachweis im Hippocampus erst nach 30 Minuten festgestellt.

Die Möglichkeit, das CSF als endogenen Transportweg für neuroaktive Substanzen zu nutzen, wird zunehmend diskutiert. So zeigten Pappenheimer et al. (1983), dass in Ratten transferiertes CSF schlafdeprivierter Gänse Schläfrigkeit erzeugt, wobei als verantwortlicher Kandidat Interleukin I $\beta$  diskutiert wird (Nicholson, 1999). Eine weitere Untersuchung beschrieb, dass  $\beta$ -Endorphin das CSF als Transportweg nutzt um zu entlegeneren Zielrezeptoren zu gelangen (MacMillan, et al., 1998).

Für dopaminerge und serotonerge Fasern wird ein endogener Wirkungsmechanismus über die Ausschüttung in das CSF, wo einige Neurone terminieren, diskutiert (Nicholson, 1999). Histaminerge Dendriten interagieren mit Gliazellen des mammillaren Recessus und der ventralen Oberfläche des Gehirns. Dies führte zu der Überlegung, dass Dendriten ins Ependym penetrieren und so in direkten Kontakt mit CSF kommen, wo sie Histamin ausschütten (Reiner et al., 1988). Da Histamin einen modulatorischen Einfluss auf den allgemeinen Erregungszustand (arousal) des Gehirns hat (Onodera et al., 1994) und ultrastrukturelle Studien eine limitierte Ausformung histaminerger synaptischer Kontakte zeigte (Hough, 1998), wäre eine weitflächige Wirkung durch parasynaptische Kommunikation via CSF denkbar. Somit würde unser Experiment einen Teil der endogenen Histaminwirkungen reflektieren.

### **8.2.1.2 Potentielle Wirkungsmechanismen der verwandten Substanzen**

Die in 8.2.1.1 aufgeführten Untersuchungen zeigten den Distributionsverlauf unterschiedlich großer Substanzen mit verschiedenen pharmakokinetischen Eigenschaften. Gemeinsam ist ihnen die Ausbreitungsrichtung, sowie die Abfolge der penetrierten Hirnparenchymata – wobei sich Substanzen mit geringerem Molekulargewicht schneller ausbreiten.

Unter der Annahme, dass auch die in der vorliegenden Arbeit verwandten Substanzen (welche bereits innerhalb der ersten 10 Min. nach icv.-Injektion einen Effekt zeigten), solch ein Distributionsmuster aufwiesen, ist davon auszugehen, dass

die von ihnen zuerst penetrierten Hirnparenchymata in unmittelbarer Nähe des lateralen Ventrikels lokalisiert waren.

Somit wären das Septum, welches zwischen den vorderen Seitenhörnern des lateralen Ventrikels liegt (bis  $-1.0$  von Bregma), der Hippocampus am Boden des Unterhorns des Seitenventrikels sowie der dorsale Teil des Striatums die zunächst penetrierten Hirnregionen (Paxinos, 1995). In der beschriebenen Untersuchung von Proescholdt et al. (2000) wurden innerhalb der ersten 10 Min. nach icv.-Injektion auch der Nucleus raphe, der Locus coeruleus, sowie die mammilläre Region des Hypothalamus penetriert. Einen nachgewiesenen Einfluss auf die hippocampale EEG-Generierung zeigten das Septum, der Nucleus raphe und der Hippocampus (Kap. 3).

Die histaminergen Wirkungsmechanismen auf diese Strukturen werden im folgenden beschrieben, um die Hirnregion zu ermitteln, durch die die Befunde der vorliegenden Arbeit erläutert werden können.

### *Septum*

Cholinerge Schrittmacherzellen des Septums, welche sowohl zu den Prinzipalzellen als auch zu den Interneuronen des Hippocampus projizieren, wurden als Initiatoren hippocampaler Theta-Aktivität betrachtet (Buzsaki et al., 1983; Vinogradova et al., 1998). Gestützt wurde diese These durch Studien, die zeigten, dass Läsionen des Septums oder der septohippocampalen Projektion sowie die gezielte Zerstörung cholinerg, septaler Neurone die Theta-Aktivität von Prinzipalzellen und Interneuronen im Hippocampus löscht (Lee et al., 1993; Buzsaki et al., 1983 a). Die Theta-Oszillation der CA3-Pyramidenzellen wird durch die rhythmische Hemmung benachbarter Interneurone getriggert, womit die Pyramidenzellaktivität im Theta-Status stark reduziert ist. Entfällt die cholinerge Innervation der CA3-Pyramidenzellen und ihrer benachbarten Interneurone, entsteht ein riesiges Entladungspotential, das über die Schaffer-kollaterale sowohl die Pyramidenzellen als auch Interneurone der CA1 aktiviert – wobei die Interneuronenoszillation die Feuerfrequenz der CA1-Pyramidenzellen bestimmt. Die resultierende ripple-Oszillation wird somit durch IPSP's der Pyramidenzellen in der CA1 reflektiert (Ylinen et al., 1995 b; Li et al., 1992, 1994).

Eine Reihe von Untersuchungen zeigte den modulierenden Einfluss von HA auf cholinerge Aktivität.

So wurde in einer Studie von Gorelova und Reiner (1996) gezeigt, dass eine histaminerge Aktivierung cholinergischer Neurone im Septum H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelt war. Mochizuki et al. zeigten eine erhöhte Acetylcholinausschüttung im Hippocampus durch elektrische Stimulation des TM (Mochizuki et al., 1994). Modulierende Effekte auf die ACh-Ausschüttung im Cortex und Hippocampus durch Blockade des H<sub>1</sub>-Rezeptors konnten in einer Studie von Dringenberg et al. nachgewiesen werden (Dringenberg et al., 1998).

Übertragen auf die Befunde der vorliegenden Arbeit, könnte die Blockierung der auf cholinergen Neuronen lokalisierten H<sub>1</sub>-Rezeptoren im Septum zu einer verringerten Acetylcholinausschüttung in der CA3 geführt haben. Somit wurden die CA3-Pyramidenzellen disinhibiert und das resultierende Entladungspotential führte zu einem erhöhten ripple-Auftreten in der CA1. Umgekehrt führte die Aktivierung cholinergischer Neurone im Septum durch Histamin zu einem geringeren Auftreten der ripples.

### *Nucleus raphe*

Da muscarine Rezeptorblocker das Auftreten der Theta-Wellen nicht vollständig hemmten, manipulierte man andere Transmittersysteme und fand, dass die zusätzliche Administration eines Serotoninsynthesehemmers die Theta-Generierung vollständig verhinderte (Vanderwolf und Baker, 1986). Kongruent zu diesen Ergebnissen erzeugte die Stimulation des Raphekerns trotz muscarinergischer Blockade Theta-Wellen (Robinson und Vanderwolf, 1978).

Eine dominante serotonerge Projektion zum Hippocampus erreicht diesen über den entorhinalen Cortex. Ist diese Projektion lädiert, verschwinden die Muscarinblocker-resistenten Theta-Wellen ebenfalls (Whishaw und Kolb, 1979; Vanderwolf et al., 1985) – wobei die alleinige Läsion des entorhinalen Cortex keinen Einfluss auf das Auftreten der Theta-Aktivität zeigte, sondern die Theta Amplitude um 50 % senkte (Whishaw und Sutherland, 1982; Bragin et al., 1995; Kocsis et al., 1999). Somit wurde dem serotonergen System ein modulierender Effekt auf die Theta-Generierung zugesprochen.

Da serotonerge Efferenzen aus dem Raphe Kern hauptsächlich zu hippocampalen GABAergen Interneuronen ziehen und diese die Pyramidenzellaktivität im Theta-Status hemmen (Freund et al., 1990), würde eine serotonerge Blockade ähnlich der muscarinergen Blockade zur Disinhibition benachbarter CA3-Pyramidenzellen führen und das resultierende Entladungspotential ein erhöhtes ripple-Auftreten in der CA1 bedingen. In vitro Untersuchungen zeigten, dass HA eine Depression der Feuerrate serotonerger Neurone im Nucleus raphe induziert (Lakoski, 1983) und der H<sub>2</sub>-Antagonist Cimetidin diesen Effekt antagonisiert (Lakoski, et al., 1984). In vivo wurde gezeigt, dass nach einer Ibotensäureläsion des TM der hippocampale Serotoninspiegel steigt (Maisonnette, et al., 1998). Im Gegensatz zu der H<sub>1</sub>-Antagonisten vermittelten Hemmung der Wiederaufnahme von Serotonin in die Synaptosomen, zeigte Cimetidin hierauf keinen Einfluss (Hill, 1990; Young et al., 1988; Brown und Vernikos, 1980).

Die Blockade von H<sub>2</sub>-Rezeptoren auf serotonergen Neuronen müsste demnach die Auftretenshäufigkeit der ripples in der CA1 senken und dementsprechend die Hemmung serotonerger Feuerung durch HA die ripple-Anzahl erhöhen.

Der Vergleich mit den Befunden der vorliegenden Arbeit, in welchen die H<sub>2</sub>-Rezeptorblockade keinen bzw. HA den gegenteiligen Effekt erzielte, führt zu der Hypothese, dass die Wirkungsentfaltung der applizierten Substanzen im Septum einen stärkeren Effekt auf das ripple-Auftreten als die Substanz-Penetration in den Nucleus raphe nach sich zog.

## *Hippocampus*

Histamin blockiert die Akkommodation der Aktionspotentialentladung und die langanhaltende Nachhyperpolarisation in Pyramidenzellen (Haas, Konnerth, 1983). Der exzitatorische Effekt auf die Prinzipalzellen im Hippocampus wird durch H<sub>2</sub>-Rezeptoren vermittelt (Haas und Greene 1986; Greene und Haas, 1990) und äußert sich in einer Vergrößerung der population spikes sowie der spontanen Feuerungsfrequenz (Brown et al., 1995; Yanovsky und Haas, 1998).

Weiterhin hat HA einen starken exzitatorischen Effekt auf hippocampale Interneurone, was zu einem Anstieg spontaner IPSPs in den Pyramidenzellen der CA1 und in den Körnerzellen des Gyrus dentatus führt (Haas und Greene, 1986; Greene und Haas, 1990). Auch diese Effekte scheinen H<sub>2</sub>-Rezeptor vermittelt zu sein. Eine neuere in vitro Studie zeigte, dass H<sub>2</sub>-Rezeptoraktivierung eine negative Modulation des Auswärtsstroms in inhibitorischen Interneuronen bedingt. Ein Effekt, der durch einen PKA-Phosphorylationsmechanismus an der Untereinheit des Kaliumkanals (Kv3.2) vermittelt wurde, wodurch die Feuerungsfrequenz der Interneurone und somit die Inhibition benachbarter Prinzipalzellen gesenkt wurde (Atzori, M. et al., 2000). Selbach et al. (1997) konnten durch Histamingabe einen hemmenden H<sub>1</sub>-Rezeptorvermittelten Effekt mit verstärkender Wirkung am H<sub>2</sub>-Rezeptors erzielen.

Inhibitorisch wirkt HA auf die synaptische Transmission des tractus perforans zum Gyrus dentatus. Dieser Effekt ist durch präsynaptisch lokalisierte H<sub>3</sub>-Rezeptoren in den Nervenendigungen des tractus perforans vermittelt (Brown und Reymann, 1996; Greene und Haas, 1990). Diesen inhibitorischen Effekt kann man auch in vivo nach Applikation eines H<sub>3</sub>-Agonisten (Manahan-Vaughan et al., 1998) sowie nach TM-Stimulation (Weiler et al., 1998) beobachten.

Neben den über HA-Rezeptoren-vermittelten Effekten, hat HA eine potenzierende Wirkung auf NMDA-Rezeptor-vermittelte Ströme isolierter oder kultivierter hippocampaler Pyramidenzellen – ein Effekt, der einer direkten Wirkung an der Polyamin-Bindungs-Fläche des NMDA-Rezeptors zugeschrieben wurde (Bekkers 1993; Vorobjev et al., 1993).

Zahlreiche Untersuchungen beschrieben somit histaminerge Effekte im Hippocampus, die H<sub>1</sub>-, H<sub>2</sub>-, H<sub>3</sub>- oder direkt am NMDA-Rezeptor vermittelt waren. Die vorliegende Arbeit zeigte einen H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelten Effekt. Da



Distributionsstudien icv.-injizierter Substanzen nachwiesen, dass die Substanzpenetration in den Hippocampus bis zu einer halben Stunde langsamer erfolgte als in das Septum (innerhalb von 10 Minuten), ist anzunehmen, dass die Ergebnisse dieser Arbeit nicht auf eine hippocampale Rezeptoraktivierung zurückzuführen sind (Proescholdt et al., 2000; Manahan-Vaughan et al., 1998). Vielmehr ist im Septum die primäre Wirkungsentfaltung unserer icv.-injizierten Substanzen zu erwarten.

## **8.2.2 Diskussion der Ergebnisse**

Die Befunde der vorliegenden Arbeit lassen sich also durch die bekannte histaminerge Aktivierung cholinerg septaler Neurone via H<sub>1</sub>-Rezeptoren erklären. Cholinerge Neurone ziehen zu Pyramidenzellen und Interneuronen in CA1 und CA3 und entfalten über muscarinerge Rezeptoren einen exzitatorischen sowie einen hemmenden präsynaptischen Effekt. Ein verringertes ripple-Auftreten ist durch eine muscarinerge Rezeptoraktivierung GABAerger CA3-Interneurone zu erklären. Die Erregung der Interneurone hemmt ihre benachbarten CA3-Pyramidenzellen periodisch, woraus der Theta-Status verbunden mit einem verringerten ripple-Auftreten in CA1 resultiert.

Erst die Blockade dieses Mechanismus durch icv.-Applikation von H<sub>1</sub>-Antagonisten disinhibiert die CA3-Pyramidenzellen, woraufhin ihr gewaltiges Entladungspotential via Schaffer-Kollaterale zu einem vermehrten Auftreten der ripples in CA1 führt. Diese These wird durch Befunde einer Pilotstudie gestützt, in welcher die icv.-Injektion des muscarinergen Antagonisten Scopolamin dosisabhängig zu einer Steigerung des ripple-Auftretens in der CA1 führte (eigene Beobachtungen; 7.3). Da dieser Effekt erst 20 Min. nach icv.-Injektion beobachtet wurde (8.2.1.1), ist es wahrscheinlich, dass diese Wirkung durch muscarinerge Rezeptoren auf Pyramidenzellen und Interneuronen im Hippocampus vermittelt wurde.

Zu klären bleibt, warum die H<sub>3</sub>-Rezeptorblockade durch Thioperamid, welche zu einer vermehrten Ausschüttung von Histamin führt, nicht zu ähnlichen Effekten wie das icv.-injizierte Histamin führte.

Histaminerge Neurone feuern spontan, als Schrittmacher mit einem langsamen Rhythmus bis zu 3 Hz, formen breite Aktionspotentiale (1.8 ms mittlere Amplitudendauer) und tiefe, langandauernde Nachhyperpolarisationen (15-20 mV) (Reiner und McGeer, 1987; Haas und Reiner, 1988). Die Feuerrate der TM-Neurone ist abhängig vom zirkadianen Rhythmus, wobei sie während der Wachzeiten ihr Maximum erreicht, während des Tiefschlafes abnimmt und während des REM-Schlafes stoppt (Sakai et al., 1990; Mochizuki et al., 1992).

Unsere am wachen Tier erhobenen Daten korrespondieren also mit einer spontanen tonischen HA-Ausschüttung. Der Effekt tonischer Histaminausschüttung konnte durch H<sub>3</sub>-Rezeptorblockade und der daraus resultierenden gestiegenen HA-Ausschüttung nicht gesteigert werden. Nur die zusätzliche Gabe von Histamin oder die Blockade histaminerger Zielrezeptoren konnten die histaminerge Transmission so manipulieren, dass ein Effekt auf die Auftretenshäufigkeit der ripples resultierte.

Einen weiteren Erklärungsansatz bietet die Tatsache, dass sich die Verteilung der H<sub>3</sub>-Rezeptoren nicht nur auf histaminerge Neurone beschränkt. Sie konnten auch als Heterorezeptor auf serotonergen, noradrenergen und dopaminergen Neuronen nachgewiesen werden, wobei ihre Aktivierung die jeweilige Transmitterausschüttung hemmt (Schlicker et al., 1988, 1989, 1993, 1994). Ebenso wurde die synaptische Transmission des Tractus perforans im Gyrus dentatus durch H<sub>3</sub>-Agonisten blockiert (Brown und Reymann, 1996).

Die Bindungsmöglichkeit von Thioperamid an H<sub>3</sub>-Rezeptoren verschiedenster Transmittersysteme ist demnach groß und somit auch die daraus resultierenden Effekte auf weitere Netzwerke. Hohe H<sub>3</sub>-Rezeptordichten finden sich vor allem in Hirnregionen, die erst lange nach icv.-Injektion von Thioperamid penetriert werden – z. B. der Cortex – oder denen bislang keine Modulation des hippocampalen EEGs zugewiesen wurde – wie dem Striatum.

Histamin moduliert die striatale Dopamin Synthese via H<sub>3</sub>-Heterorezeptoren auf dopaminergen Neuronen (Molina-Hernandez et al., 2000) und die Aktivität cholinergischer Neurone – wobei H<sub>3</sub>-Agonisten (Imetit und Immapip) via Stimulation von H<sub>3</sub>-Heterorezeptoren ebenso wie der Antagonist (Thioperamid) via Blockade des Autorezeptors die cholinerge Ausschüttung steigert (Kraus et al., 1999).

Es ist also denkbar, dass Thioperamid im Striatum, welches in icv.-Distributionsstudien als eine der ersten substanzpenetrierten Hirnregionen beschrieben wurde (Proescholdt et al., 2000; Haffmans et al., 1983), bindet und Effekte entfaltet, die auf das hippocampale EEG keinen Einfluss nehmen. Im Septum hingegen, welches ebenso schnell penetriert wird wie das Striatum (Proescholdt et al., 2000; Haffmans et al., 1983), wurde nur eine geringe H<sub>3</sub>-Rezeptorverteilung und somit auch eine geringe Wirkungseffizienz von Thioperamid nachgewiesen. Außerdem wurde eine präsynaptische H<sub>3</sub>-Rezeptor-Lokalisation auf cholinergen Neuronen überwiegend abgelehnt (Arrang et al., 1995) – wobei Giorgetti et al. eine H<sub>3</sub>-Rezeptor vermittelte Hemmung der Ach-Ausüttung via Aktivierung GABAerger Interneurone postulieren (Giorgetti et al. 1997).

### **8.2.3 Pathophysiologische Implikationen**

Die anatomische Organisation hippocampaler Prinzipalzellen, sowie die rekurrente und Vorwärts-Hemmung benachbarter Interneurone, prädisponieren den Hippocampus zu synchroner rhythmischer Aktivität. Epileptogene Aktivität ist wie das Auftreten der ripples durch eine synchrone Entladung von Neuronen gekennzeichnet, wobei das unterschiedliche Oszillationsmuster in Abhängigkeit von inhibitorischer Interneuronenaktivität geformt wird (2.6.7 und 3.3).

Eine Blockade GABAerger Inhibition zeigte ebenso wie die subcorticale Deafferentierung das Auftreten großamplitudiger, interiktaler Spikes, die zwar auch synchronisierte Feldpotentiale aber nicht die rhythmische ripple-Oszillation des CA1 Netzwerks widerspiegeln (Buzsaki et al., 1989 a). Eine phasenabhängige synchrone Entladung der Interneurone ist notwendig, um eine rhythmische Feuerung der durch den CA3 Input depolarisierten CA1 Pyramidenzellen zu erzeugen (Buzsaki et al., 1991 b).

In verschiedenen Untersuchungen wurde der Einfluss des histaminergen Systems auf epileptogene Aktivität nachgewiesen (Wingarden und Seevers, 1951; Yokoyama et al., 1993; Kamei, et al., 1998). Klinische sowie tierexperimentelle Studien zeigten, dass epileptische Aktivität durch Histamin, Histidin oder Thioperamid gehemmt und durch H<sub>1</sub>- nicht aber durch H<sub>2</sub>-Antagonisten verstärkt wurde (Yokoyama, et al., 1992, 1994, 1996; Kakinoki et al., 1998).

Das erhöhte Auftreten von H<sub>1</sub>-Rezeptoren in den corticalen Foci von Epilepsiepatienten (Linuma et al., 1993) deutet auf einen defensiven Mechanismus eines antikonvulsiven Systems hin, welches das Ausbreiten der elektrischen Aktivität eindämmen soll, was wiederum auf einen hemmenden Effekt des histaminergen Systems schließen lässt.

Zusammengefasst sprechen diese Befunde für einen inhibierenden H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelten Mechanismus des histaminergen Systems auf die Entwicklung oder Auftretenshäufigkeit von Epilepsie. Kongruent zu diesen Ergebnissen, zeigten die Befunde der vorliegenden Arbeit einen inhibierenden H<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelten Effekt auf die Auftretenshäufigkeit von ripples.

#### **8.2.4 Konzeptuelle Implikationen in Bezug auf kognitive und emotionale Korrelate**

##### *Lernen und Verstärkung*

In Kap. 2.6.5 wurde der Einfluss des histaminergen Systems auf Verstärkungs- und gedächtnisformatierende Prozesse erläutert (White und Rumbold, 1988; Schwartz et al., 1991). So zeigte die Applikation von Histamin eine hemmende Wirkung (Cohn et al., 1973; Bergman und Spealman, 1986) und TM-Läsionen (Wagner et al., 1993) oder H<sub>1</sub>-Antagonistenadministration einen disinhibierenden Effekt auf Verstärkungsprozesse (Privou et al. 1998; Zimmermann Doktorarbeit, 1998; Mattioli et al., 1997).

Eine Reihe von Untersuchungen zeigte einen modulatorischen Einfluss des histaminergen Systems auf Gedächtnisprozesse. Während die Administration von  $\alpha$ -FMH zu einer Leistungssteigerung aktiven Vermeidungsverhaltens führte, erzielte Histamin den gegenteiligen Effekt (Cacabelos und Alvarez, 1991; Alvarez und Banzan, 1995; Tasaka et al., 1985). Die leistungsmindernde HA-Wirkung auf aktives Vermeidungslernen wurde durch intrahippocampale H<sub>1</sub>-Rezeptor-Blockade antagonisiert, wohingegen die H<sub>2</sub>-Rezeptor-Blockade keinen Einfluss zeigte (Alvarez und Banzan, 1996). Auch intracraniale H<sub>1</sub>-Antagonisten-Injektionen in den Nbm oder Nucleus accumbens steigerten die Leistungen für inhibitorisches Vermeidungslernen

(Privou et al., 1999; Zimmermann Doktorarbeit 1998). Außerdem erzielten i.p.-Injektionen von H<sub>1</sub>-Blockern eine Lernfazilitierung bei alten Ratten (Frisch et al., 1997). Weitere Untersuchungen ergaben gegenteilige Befunde (Meguro et al., 1995; Smith et al., 1994; Tasaka et al., 1985).

Im Einklang mit der Verstärkungstheorie von Huston et al. (1977b), welche eine Verknüpfung von Verstärkungs- und Lernprozessen beschreibt (Kap. 2.6.5), wurden in Untersuchungen mit TM-Läsionen disinhibierende Effekte auf Verstärkung und Gedächtnisprozesse erzielt (Huston et al., 1997; Frisch et al., 1998; Klapdor et al., 1994; Segura-Torres et al., 1996). TM-Läsionen wurden als experimentelles Modell der Alzheimerschen Krankheit beschrieben und weisen zusammen mit anderen Studien auf eine Involvierung des histaminergen Systems in den pathologischen Prozess dieser Krankheit, die bekanntlich mit progressiver Amnesie assoziiert ist (Gallagher et al., 1993).

In Kap. 4.1 wurde Buzsakis Zwei-Stufen-Modell zur Gedächtnisbildung in Abhängigkeit zu hippocampalen EEG-Oszillationsmustern erläutert (Buzsaki, 1989b, 1991b). Eintreffende Informationen, die während des Explorierens gesammelt wurden, werden während des Theta-Status relativ labil gehalten – dieser labile Zustand wird nach Beendigung des explorativen Verhaltens in einen stabilen umgewandelt.

Hierzu werden verschiedene neuronale Subpopulationen der hippocampalen Strukturen stärker aktiviert bzw. potenziert, was sich in der Ausformung von sharp waves in der CA3 und den ripples in der CA1 widerspiegelt. Der Mechanismus der SPW's dient somit der Verstärkung aufgenommener Informationen, um diese dann zur Langzeitspeicherung über das Subiculum zum Cortex zurückzusenden.

Buzsaki postuliert, dass das Verhalten, welches mit der höchsten neuronalen Feuerungsrate und den stärksten synchronen Feuermustern (Koaktivierung) assoziiert ist, am geeignetsten ist, synaptische Plastizität zu induzieren. Somit wäre der SPW / ripple-Status der beste Kandidat für plastische Änderungen der Pyramidenzellen. In vivo Untersuchungen zeigten, dass eine LTP-Induktion durch das spontane Auftreten der sharp waves fazilitiert wurde (King et al., 1999).

Die These, dass der SPW / ripple-Status entscheidend zur Gedächtnisformatierung beiträgt, wurde durch verschiedene Untersuchungen des

hippocampalen EEGs in Schlafstadien, welche mit Gedächtniskonsolidierung assoziiert sind, gestützt.

Hier wurde gezeigt, dass hippocampale Neurone, die im wachen Tier eine hohe Feuerungsrate zeigten, auch während des darauf folgenden Schlafstadiums eine erhöhte Feuerungsrate aufwiesen (Pavlides und Winson, 1989; Wilson und McNaughton, 1994; Skaggs und McNaughton, 1996 b).

Nach Kudrimoti et al, (1999) instrumentiert die spontane Reaktivierung, der während der Exploration geformten Gedächtnisspur, den Prozess der Gedächtnisformatierung im Neocortex, wobei die hochfrequente CA1-Oszillation diesen Prozess fazilitiert (Kudrimoti et al., 1999). Somit werden während der Theta-assoziierten REM-Phase vorher erlebte Erfahrungen verarbeitet und in der anschließenden Tiefschlafphase durch die SPW / ripple-Aktivität ein verstärkender Beitrag zur Gedächtniskonsolidierung ausgeübt.

Unter Annahme der These, dass ripple Aktivität einen Beitrag zur Gedächtniskonsolidierung leistet und das histaminerge System einen inhibierenden Einfluss auf die Gedächtnisformatierung ausübt, ist ein hemmender histaminerges Einfluss auf die ripple Aktivität anzunehmen.

Die Befunde der vorliegenden Arbeit stützen diese Annahme, da die Histamininjektion eine Reduktion und die H<sub>1</sub>-Rezeptorblockierung eine Erhöhung des ripple-Auftretens induzierten. Außerdem wurde in der Tiefschlafphase ein Sistieren der TM-Neuronen-Aktivität (Monti, 1993; Sakai et al., 1990) und eine verringerte Histaminausschüttung festgestellt (Schwartz et al., 1976).

Eine verringerte Histaminausschüttung würde somit den Gedächtniskonsolidierungsprozess sowie das Auftreten von ripples während des Tiefschlafs begünstigen.

Die Befunde unserer Pilotstudie zeigten nach icv.-Injektion des muscarinergen Antagonisten Scopolamin eine Erhöhung des ripple-Auftretens (7.3). In verschiedenen Untersuchungen führte die Administration von Scopolamin zu einer Lernverschlechterung (Givens und Olton, 1990; Izquierdo et al., 1992; Izquierdo und Medina 1995). So zeigten intracerebrale Injektionen von Scopolamin amnestische Effekte im Vermeidungslernen – nach intrahippocampaler Injektion – und in einer Habituationaufgabe – nach intrahippocampaler oder intraseptaler Injektion

(Izquierdo et al., 1992). Wahrscheinlich regulieren die unterschiedlichen Strukturen verschiedene Komponenten der Gedächtniskonsolidierung. Allerdings konnte nach einer icv.-Injektion von Scopolamin erst bei einer Dosis von 20 µg bei Mäusen eine Lernverschlechterung gemessen werden (Itoh et al., 1990); während in unserer Pilotstudie bereits 5 µg (icv.) zu einem Anstieg der ripple-Anzahl führte. Weiterhin induzierte die intraseptale Injektion von Scopolamin eine Suppression des Theta-Rhythmus verbunden mit einem Leistungsabfall des Kurzzeitgedächtnisses (Givens und Olton, 1990). Wie in Kap. 3.3 beschrieben, treten ripples auf wenn die Theta-Aktivität unterdrückt ist. Ein Leistungsabfall des Kurzzeitgedächtnisses durch intraseptale Injektion von Scopolamin, könnte also mit einer erhöhten ripple-Aktivität verbunden sein. Aus dem Gedächtnismodell von Buzsaki (4.1) wird ersichtlich, dass sowohl Theta-, Gamma-, als auch ripple-Aktivität an Lernprozessen beteiligt sind. So wurden plastische Änderungen im Gyrus dentatus während Theta-assoziiertem explorativem Verhalten, in den CA1-CA3-Regionen während SPW-assoziiertem Ruheverhalten nachgewiesen (Rose and Dunwiddie, 1986; Staubli und Lynch, 1987). Ein erhöhtes Auftreten der ripple-Aktivität reflektiert demnach eine spezifische Komponente innerhalb der Gedächtniskonsolidierung, so dass ein erhöhtes ripple-Auftreten nicht generell eine Leistungsverbesserung in allen Gedächtnismodalitäten widerspiegelt.

Die in 8.1.2 angedachten weiterführenden Experimente bezüglich eines Korrelats von ripple-Aktivität und mnestischen Prozessen, könnten auch hier zur Überprüfung eines drogenbedingten ripple- und Lerneinflusses herangezogen werden – wobei diese Untersuchungen auch die Korrelationen mit den in Kap. 4 erläuterten hippocampalen EEG-Typen Gamma- und Theta-Oszillation einschliessen sollten, welchen ebenfalls Einfluss auf gedächtnisformatierende Prozesse zugesprochen wird (4.2 und 4.3).

Es ist anzunehmen, dass ein koordiniertes Auftreten der beschriebenen hippocampalen EEG-Typen, einen Baustein innerhalb der Gedächtnisformatierung reflektiert.

## Angst

Dem histaminergen System wird neben modulatorischen Wirkungen auf Gedächtnisprozesse auch ein Einfluss auf angstbezogenes Verhalten zugesprochen – wobei die Läsion des tuberomammillären Kerns E2 sowie die H<sub>1</sub>-Rezeptorblockade einen anxiolytischen Effekt entfaltete und H<sub>1</sub>-Rezeptor-knock-out-Mäuse reduziertes Angst-Verhalten zeigten (Frisch et al., 1998; Imaizumi et al., 1996; Imiazumi und Onodera, 1993; Privou et al., 1998; Douglas, 1985; Yanai et al., 1998).

Auch für das cholinerge System wird eine Einflussnahme auf angstbezogenes Verhalten diskutiert – wobei cholinerge Aktivität anxiogen wirkt, bzw. cholinerge Aktivität eine kognitive Variable in Angstprozessen repräsentiert (Hart et al., 1999; Berntson, et al., 1998). So wurden schon vor Jahren anticholinerge Prämedikation zur Angstreduktion vor Beginn einer Operation eingesetzt (Kentala et al., 1990).

Als vermittelnder Rezeptor der cholinergen anxiogenen Aktivität wird der muscarine Rezeptor diskutiert (Biro et al., 1997). Konsistent zu diesen Befunden zeigten klinische Studien, dass Demenzpatienten mit Degenerationen des cholinergen Systems, wie sie z. B. bei der Alzheimerschen Krankheit auftreten, weniger starke Angstsymptome im Vergleich zu Demenzpatienten ohne cholinerge Degenerationen aufweisen (Sultzer, et al., 1993).

Ein konzeptueller Zusammenhang zwischen Gedächtnis- und Angstprozessen wird in den letzten Jahren zunehmend diskutiert – wobei das septo-hippocampale System bzw. das hippocampale EEG eine entscheidende Rolle spielt (Berntson et al., 1998; Maren, 1997). So wurde bei Hasen durch Streßinduktion oder Methamphetamingabe die Theta-Frequenz erhöht (Yamamoto, 1998) und bei Panikpatienten eine positive Korrelation von Angstscores und Theta-Amplitude identifiziert (Knott et al., 1996). McNaughton nimmt an, dass einigen Formen von Angststörungen primär kognitive und sekundär emotionale Dysfunktionen zugrunde liegen. Die kognitive Dysfunktion führt er auf eine Hyperaktivität des Hippocampus bzw. des septohippocampalen Systems zurück (McNaughton, 1997). Humanstudien beschrieben eine emotionale Einflussnahme auf die Ausformung der Theta-Aktivität (Inanaga, 1998).

Weitere Studien zeigten, dass anxiolytische Drogen, wie z.B. Benzodiazepine, die in Humanstudien eine Lernverminderung aufwiesen, in Tierexperimenten die hippocampale Theta-Aktivität hemmten (Hirose et al., 1990, Quintero et al., 1985).



Der Hippocampus ist demnach eine Instanz, welche durch modulatorische, subcorticale Einflüsse entscheidet wie eintreffende sensorische Informationen weiterverarbeitet, miteinander verknüpft werden und welche Gewichtung sie in Bezug auf Gedächtnisformatierung erhalten. Projektionen aus der Amygdala z. B. versorgen den Hippocampus mit emotionalen Einfärbungen belohnender oder aversiver Qualität (Nishijo et al., 1993).

Demzufolge reflektiert das hippocampale Oszillationsmuster auch emotionale Einflüsse, so dass es denkbar ist, dass auch das hochfrequente ripple-Oszillationsmuster diesen Einflüssen unterliegt. Außerdem zeigte die Blockade des H<sub>1</sub>-Rezeptors, welche zu einer Erhöhung des ripple-Auftretens führte, in verschiedenen Untersuchungen anxiolytische Effekte (Kap. 2.6.4). Nachfolgende Studien könnten den Zusammenhang zwischen Auftreten oder Ausformung der ripple-Aktivität und angstbezogenem Verhalten untersuchen. So darf man beim Aufenthalt der Ratte in den offenen Armen des Plus-maze im Vergleich zum Aufenthalt in geschlossenen Armen eine Veränderung des ripple-Auftretens oder seiner Ausformung erwarten.

### **8.3 Droge und Verhalten**

Zur Kontrolle einer möglichen Interdependenz zwischen akuten Verhaltenseffekten von Histamin oder seiner Rezeptorblocker und ihrer Einwirkung auf die Anzahl der ripples wurde das Verhalten während Baseline und Testmessung einer detaillierten Analyse unterzogen.

Auffällig ist, dass die meisten Verhaltensunterschiede im ersten 10-min-Intervall nach icv.-Injektion sowohl in der Baseline- als auch in der Experimentalerhebung auftraten. Betrachtet man die Graphiken (A-D 7.4) wird ersichtlich, dass sich diese Unterschiede sowohl in den Experimentalgruppen als auch in der Kontrollgruppe widerspiegeln.

So zeigten die Gruppen PY2.0, KE0.5, TH10 in den ersten 10-min-Intervallen beider Stunden nach icv.-Injektion eine Reduktion des Aufrichtens. Das längere Ruheverhalten mit kürzerer Schnüffelphase in den ersten 10 Minuten nach Pylamin- (2µg) Injektion zeigte diese Tiergruppe auch in der Baseline.

Es ist anzunehmen, dass der manuell durchgeführte Injektionsvorgang jeweils zu Beginn beider Untersuchungsstunden einen Effekt auf das Verhalten der Ratte innerhalb der ersten 10 Minuten nach Injektion hatte. Verschiedene Untersuchungen wiesen einen Einfluss der Tier-Mensch Interaktion auf das Verhalten der Tiere nach. So zeigte das „Handling“ einen Einfluss auf das Angstverhalten von Ratten – wobei die vorherige Erfahrung der Ratten in der Interaktion mit dem Mensch eine prägnante Rolle spielt (Maier und Crown, 1993; Andrews and File, 1993).

Untersuchungen anderer Spezies verdeutlichten ebenfalls den Einfluss taktiler Interaktionen. Neben dem Einfluss auf das Angstverhalten verringerte negative taktile Interaktion die Milchproduktion von Kühen (Hemsworth et al., 2000). Weiterhin wurde festgestellt, dass das „Handling“ auch einen direkten Einfluss auf physiologische Prozesse im Gehirn nahm. In einer Mikrodialyse-Untersuchung konnte durch „Handling“ eine Erhöhung des extrazellulären ACh-Spiegel im Vorderhirn nachgewiesen werden (Thiel et al., 1998). Diese Befunde weisen auf einen nicht zu vernachlässigenden Faktor in tierexperimentellen Studien, der in der Interpretation der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit berücksichtigt wird.

Auch wenn die Ratten während der icv-Injektionen keine direkte taktile Interaktion erfahren haben, ist nicht auszuschließen, dass die Näherung der Hand des Experimentators, gekoppelt mit dem leichten Widerdrücken des Kopfes während des Injektionsvorgangs, einen Einfluss auf das sich direkt anschließende Verhalten der Ratten ausübte. Somit ließen sich die Verhaltensunterschiede im ersten 10-min-Intervall nach den icv.-Injektionen für die Baseline- und Experimentalerhebung erklären.

Während der kritischen Zeitpunkte der Experimentalstunde (10 - 30 Min.), in welcher Histamin oder die H<sub>1</sub>-Antagonisten Pyrilamin und Ketotifen einen prominenten Effekt auf die Anzahl der ripples zeigten, waren die Verhaltensdauern der untersuchten Parameter von Experimental- und Kontrollgruppen vergleichbar.

Innerhalb der 20. – 30. Minute zeigte nur die Experimentalgruppe PY2.0 eine kürzere Schnüffeldauer, die aber auch in der Baseline zu beobachten war. Während der 10. – 20. Minute zeigte die Experimentalgruppe TH2.0 längere Lokomotion und Schnüffeln verbunden mit verkürztem Ruheverhalten. Doch zeigte diese Tiergruppe auch während der Baselineerhebung kürzere Ruhephasen. Die hohe Dosierungsgruppe von Cimetidin (Ci5.0) zeigte innerhalb dieses Zeitraums länger

andauerndes Schnüffeln verbunden mit kürzerem Ruheverhalten und eine längere Lokomotionsphase während der Baselineerhebung.

Da die Unterschiede im Verhalten der jeweiligen Tiergruppen sowohl während der Baseline-, als auch während der Experimentalerhebung ermittelt wurden, ist anzunehmen, dass sich diese Tiergruppen generell durch unterschiedliche Aktivitätsmaße auszeichneten.

Der ermittelte Unterschied ist somit nicht auf einen Einfluss der Drogenwirkung zurückzuführen – womit auch ein drogenbedingter Verhaltenseinfluss auf die ripple-Anzahl ausgeschlossen werden muß.

Es ist davon auszugehen, dass die Modifikationen der ripple-Anzahl durch Histamin bzw. H<sub>1</sub>-Antagonisten nicht auf eine Änderung des Verhaltens zurückzuführen sind.

Die bisherigen Befunde zum histaminergen Einfluss auf Lokomotion sind nicht kongruent. So berichten einige Untersuchungen von einer Lokomotionsminderung nach HA-Injektion oder biphasischen Effekten, während andere Studien eine Lokomotionsminderung nach  $\alpha$ -FMH Injektionen beschrieben (Onodera und Ogura, 1985; Chiavegatto et al., 1998; Cacabelos und Alvarez, 1991). Zurückführen könnte man diese Diskrepanzen auf unterschiedliche Injektionsweisen (icv.; ip.) und verschieden hohe Dosierungen.

Eine mit unserer Studie vergleichbare Untersuchung zeigte nach icv.-Injektionen von 0.25-25  $\mu$ g HA dosisunabhängige Verringerung der Lokomotionszeit. Der H<sub>2</sub>-Antagonist Ranitidin (5.7  $\mu$ g) und der H<sub>3</sub>-Antagonist Thioperamid (6.5  $\mu$ g) zeigte eine Erhöhung der Lokomotionsdauer (Chiavegatto et al., 1998). Die Befunde der vorliegenden Arbeit zeigten nur eine Erhöhung der Lokomotionsdauer für die Thioperamidgruppe (TH2.0).

Der in der Chiavegattos Studie verwandte H<sub>2</sub>-Antagonist Ranitidin zeichnet sich durch eine größere Affinität zum H<sub>2</sub>-Rezeptor aus als Cimetidin (Kap. 6.6). Daher könnte die Dosierung von Cimetidin in unserem Experiment zu gering gewesen sein um einen Einfluss auf die Lokomotion zu nehmen.

Ein gesteigertes Aufrichteverhalten und Schnüffeln nach HA-Injektion sowie eine Abnahme der Putzdauer nach H<sub>1</sub>-Antagonisten-Injektion (Chlorpyramine) (Kalivas et al., 1982; Skuza et al., 1989) konnte in unserem Experiment nicht beobachtet werden. An dieser Stelle muss darauf hingewiesen werden, dass unsere

Versuchsapparatur nicht vergleichbar mit den üblichen „openfield“-Apparaturen ist, die zum Beobachten von Spontanverhalten eingesetzt werden. In der kreisrunden „openfield“-Apparatur hat das Versuchstier einen Bewegungsfreiraum mit einem Durchmesser von ca. 1 Meter, während wir eine Apparatur nutzten, deren quadratische Grundfläche 40 x 40 cm maß.

So könnte man sich erklären, warum die gleiche HA-Dosis icv. injiziert in unserem Experiment nicht zu einer Lokomotionsreduktion führte. Wahrscheinlich ist innerhalb eines kleinen Bewegungsraumes die Lokomotion generell verringert, wodurch sich ein zusätzlicher Drogeneffekt nicht mehr auswirken kann.

#### **8.4 Ausblick**

Um den potentiellen Wirkungsmechanismus des histaminergen Systems für das ripple-Auftreten zu ergründen, sollten anschließende Untersuchungen den Einfluss auf das ripple-Auftreten durch intracorticale Injektion von Histamin sowie seiner Antagonisten in spezifische Zielstrukturen ermitteln.

Eine Ab- resp. Zunahme des ripple-Auftretens nach Injektion von Histamin resp.  $H_1$ -Antagonisten in septale Regionen, würde die These eines cholinergen  $H_1$ -Rezeptor-vermittelten Wirkungsmechanismus auf das ripple-Auftreten der vorliegenden Arbeit stützen.

Interessant wäre ein Vergleich septaler versus hippocampaler Effekte histaminergere Drogen auf die ripple-Aktivität. Zahlreiche Untersuchungen beschrieben histaminerge Effekte im Hippocampus, die  $H_2$ -,  $H_3$ - oder direkt über den NMDA-Rezeptor vermittelt waren. Im Hippocampus wurden exzitatorische histaminerge Effekte auf die Erregbarkeit der Prinzipalzellen (Haas und Konnerth, 1983; Yanovsky und Haas, 1998; Brown et al., 1995) sowie Interneuronen nachgewiesen, welche im Gegensatz zur exzitatorischen Histaminwirkung an cholinergen septalen Neuronen nicht  $H_1$ - sondern  $H_2$ -Rezeptor vermittelt waren (Haas und Greene, 1986; Greene und Haas, 1990).

Durch präsynaptisch lokalisierte  $H_3$ -Rezeptoren entfaltet Histamin eine Hemmung der synaptischen Transmission vom perforierenden Pfad zum Gyrus dentatus (Brown und Reymann, 1996). Da eine intrahippocampale Injektion zunächst die Area CA1 penetriert, würde man hier einen Anstieg der Feuerungsrate der

Pyramidenzellen erwarten – bedingt durch Blockade der langen Nachhyperpolarisation und Feuerungsakkommodation, sowie durch die Zunahme spontaner IPSPs, wodurch ein vermehrtes Auftreten der ripples begünstigt oder die ripple-Frequenz erhöht werden könnte. Letzteres könnte demgegenüber auch zu einer epileptogenen Aktivität führen (Haas, 1985, 1987; Psarropoulou and Dallaire, 1998), was ein Ausbilden synchronisierter ripple-Muster unterbinden würde.

## Zusammenfassung

Vorrausgegangene Untersuchungen beschrieben einen Zusammenhang zwischen hippocampalen Oszillationsmustern und spezifischen Verhaltensweisen. Das postulierte Verhaltenskorrelat der hochfrequenten „ripple“-Oszillation gliedert sich demnach in waches Ruheverhalten, Essen, Trinken, Putzen und die Tiefschlaf-Phase – wobei bislang keine quantifizierende Aussage zur Auftretensverteilung der ripples über die verschiedenen Verhaltensparameter gemacht wurde: Daher wurde in dieser Arbeit die ripple-Anzahl während der spontanen Verhaltensparameter „Lokomotion“, „Aufrichten“, „Putzen“, „Schnüffeln“ und „waches Ruheverhalten“ bestimmt. Im Gegensatz zu den Befunden bisheriger Studien konnte ein ripple-Auftreten während allen untersuchten Verhaltensparametern nachgewiesen werden – wobei die höchste ripple-Anzahl während wachem Ruheverhalten gemessen wurde.

Für die Generierung der hippocampalen Oszillationsmuster wurden neben Projektionen der Nuclei raphi oder supramammillans vor allem die reziproken cholinergen und GABAergen septohippocampalen Projektionen sowie eine metabotrope Glutamatrezeptoraktivierung durch entorhinale Afferenzen verantwortlich gemacht. Frühere Studien postulierten für die Ausformung der niedrigfrequenten Theta-Aktivität einen inhibierenden septohippocampalen Einfluss auf die CA<sub>3</sub>-Pyramidenzellen – wobei das rhythmische Oszillieren septaler Neurone die Theta-Frequenz bedingt. Wird der subcorticale Einfluss gehemmt, werden die CA<sub>3</sub>-Pyramidenzellen disinhibiert und formen mittels ihres rekurrenten Kollateralsystems ein extensives Entladungspotential – die „sharp waves“. Während des sharp wave Status werden die Pyramidenzellen und Interneurone in der CA1 über die Schaffer-Kollaterale aktiviert und formen gemeinsam die hochfrequente ripple-Oszillation.

Ausgehend von diesen Befunden sollte in der vorliegenden Arbeit der subcorticale Einfluss des histaminergen Systems auf die ripple-Oszillation untersucht werden. Vorausgegangene Studien wiesen bereits eine modulierende Funktion von Histamin auf die elektrischen Eigenschaften hippocampaler Neurone nach.

Operationalisiert wurde diese Fragestellung durch die icv.-Injektionen von Histamin oder von histaminergen Antagonisten – wobei die ripple-Anzahl die abhängige Variable darstellt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen einen supressiven Effekt von Histamin auf die ripple-Anzahl, wohingegen die H<sub>1</sub>-Rezeptor-Blockade nicht aber die H<sub>2</sub>- und H<sub>3</sub>-Rezeptor-Blockade zu einem erhöhten ripple-Auftreten führte. Das histaminerge System ist demnach – neben cholinergen und serotonergen subcorticalen Einflüssen – an der Generierung hippocampaler Oszillationsmuster beteiligt.

Zur Kontrolle einer möglichen Interdependenz zwischen akuten Verhaltenseffekten von Histamin oder seiner Rezeptorblocker und ihrer Einwirkung auf die Auftretensanzahl der ripples wurde das Verhalten während des Experiments einer detaillierten Analyse unterzogen. Während der kritischen Zeitpunkte der Untersuchung, in welcher Histamin oder die H<sub>1</sub>-Antagonisten einen prominenten Effekt auf die ripple-Anzahl zeigten, waren die Verhaltensdauern der untersuchten Parameter von Kontroll- und Experimentalgruppen vergleichbar – womit ein drogenbedingter Verhaltenseinfluss auf das hippocampale EEG ausgeschlossen werden kann.

## Literaturverzeichnis

1. Abel JJ, Kubota S (1919) On the presence of histamine ( $\beta$ -imidazolethylamine) in the hypophysis cerebri and other tissues of the body and its occurrence among the hydrolytic decomposition products of proteins. *J Pharmacol Exp Ther* 13: 243-300.
2. Abeles M, Bergman H, Margalit E, Vaadia E (1993) Spatiotemporal firing patterns in the frontal cortex of behaving monkeys. *J Neurophysiol* 70: 1629-1638.
3. Agut J, Sanchez JC, Sacristan A, Ortiz JA (1997) Action of ebrotidine, ranitidine and cimetidine on the specific binding to histamine H1- and H2-receptors. *Arzneimittelforschung* 47: 447-449
4. Airaksinen MS, Panula P (1988) The histaminergic system in the guinea pig central nervous system: an immunocytochemical mapping study using an antiserum against histamine. *J Comp Neurol* 273: 163-186.
5. Airaksinen MS, Alanen S, Szabat E, Visser TJ, Panula P (1992) Multiple neurotransmitters in the tuberomammillary nucleus: comparison of rat, mouse, and guinea pig. *J Comp Neurol* 323: 103-116.
6. Alvarez EO, Guerra FA (1982) Effects of histamine microinjections into the hippocampus on open-field behavior in rats. *Physiol Behav* 28: 1035-1040.
7. Alvarez EO, Banzan AM (1986) Histamine in dorsal and ventral hippocampus. II. Effects of H1 and H2 histamine antagonists on exploratory behavior in male rats. *Physiol Behav* 37: 39-45.
8. Alvarez EO, Banzan AM (1995) Effects of localized histamine microinjections into the hippocampal formation on the retrieval of a one-way active avoidance response in rats. *J Neural Transm Gen Sect* 101: 201-211.



9. Alvarez EO, Banzan AM, (a) (1996) Hippocampal histamine receptors: possible role on the mechanisms of memory in the rat, II. *J Neural Transm* 103: 147-156.
10. Alvarez EO, Banzan AM, (b) (1996) Hippocampus and learning: possible role of histamine receptors. *Medicina (B Aires)* 56: 155-160.
11. Alves-Rodrigues A, Leurs R, Wu TS, Prell GD, Foged C, Timmerman H (1996) [3H]-thioperamide as a radioligand for the histamine H3 receptor in rat cerebral cortex. *Br J Pharmacol* 118: 2045-2052.
12. Amaral DG, Witter MP (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31: 571-591.
13. Amaral DG, Dolorfo C, Alvarez-Royo P (1991) Organization of CA1 projections to the subiculum: a PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus* 1: 415-435.
14. Andrews N, File SE (1993) Handling history of rats modifies behavioural effects of drugs in the elevated plus-maze test of anxiety. *Eur J Pharmacol* 235: 109-112.
15. Arbones L, Claro E, Picatoste F, Garcia A (1986) [3H]mepyramine binding to histamine H1 receptors in bovine retina. *Biochem Biophys Res Commun* 135: 445-450.
16. Arrang J-M, Garbarg M, Schwartz J-C (1983) Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H3) of histamine receptor. *Nature* 302: 832-837.
17. Arrang JM, Garbarg M, Lancelot JC, Lecomte JM, Pollard H, Robba M, Schunack W, Schwartz JC (1987) Highly potent and selective ligands for histamine H3-receptors. *Nature* 327: 117-123.

18. Arrang JM, Roy J, Morgat JL, Schunack W, Schwartz JC (1990) Histamine H3 receptor binding sites in rat brain membranes: modulations by guanine nucleotides and divalent cations. *Eur J Pharmacol* 188: 219-227.
19. Arrang JM, Gulat Marnay C, Defontaine N, Schwartz JC (1991) Regulation of histamine release in rat hypothalamus and hippocampus by presynaptic galanin receptors. *Peptides* 12: 1113-1117.
20. Arrang JM, Drutel G, Schwartz JC (1995) Characterization of histamine H3 receptors regulating acetylcholine release in rat entorhinal cortex. *Br J Pharmacol* 114: 1518-1522.
21. Ash AS, Schild HO (1966) Receptors mediating some actions of histamine. *Br J Pharmacol* 27: 427-439.
22. Atack C, Carlsson A (1972) In vitro release of endogenous histamine, together with noradrenaline and 5-hydroxytryptamine, from slices of mouse cerebral hemispheres. *J Pharm Pharmacol* 24: 990-992.
23. Atzori M, Lau D, Tansey EP, Chow A, Ozaita A, Rudy B, McBain CJ (2000) H2 histamine receptor-phosphorylation of Kv3.2 modulates interneuron fast spiking. *Nat Neurosci* 3: 791-798.
24. Bannoura MD, Nalwalk JW, Tang Y, Carlile M, Leurs R, Menge WM, Timmerman H, Hough LB (1998) Absence of antinociceptive tolerance to impropgan, a cimetidine analog, in rats. *Brain Res* 814: 218-221.
25. Barbin G, Palacios JM, Rodergas E, Schwartz JC, Garbarg M (1980) Characterization of the high-affinity binding sites of [3H]histamine in rat brain. *Mol Pharmacol* 18: 1-10.
26. Barger G, Dale HH (1910) 4- $\beta$ -aminoethylglyoxaline ( $\beta$ -iminazolyethylamine) and the other active principles of ergot. *J Chem Soc* 97: 2592-2595.
27. Baudry M, Martres MP, Schwartz JC (1973) Histidine decarboxylase (HD) in rat brain: studies on subcellular localization. *Agents Actions* 3: 175-176.

28. Baudry M, Martres MP, Schwartz JC (1975) H1 and H2 receptors in the histamine-induced accumulation of cyclic AMP in guinea pig brain slices. *Nature* 253: 362-364.
29. Bekkers JM (1993) Enhancement by histamine of NMDA-mediated synaptic transmission in the hippocampus. *Science* 261: 104-106.
30. Ben Ari Y, Krnjevic K, Reinhardt W, Ropert N (1981) Intracellular observations on the disinhibitory action of acetylcholine in the hippocampus. *Neuroscience* 6: 2475-2484.
31. Berger H (1929) Über das Electroencephalogramm des Menschen. *Arch f Psychiat* 87: 527-570.
32. Bergman J, Spealman RD (1986) Some behavioral effects of histamine H1 antagonists in squirrel monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 239: 104-110.
33. Bernard C, Wheal HV (1994) Model of local connectivity patterns in CA3 and CA1
34. Berntson GG, Sarter M, Cacioppo JT (1998) Anxiety and cardiovascular reactivity: the basal forebrain cholinergic link. *Behav Brain Res* 94: 225-248.
35. Best CG, Dale HH, Dudley HW, Thorpe WV (1927) The nature of the vasodilator constituents of certain tissue extracts. *J Physiol* 62: 397-417.
36. Bhattacharya SK, Parmar SS (1985) Antinociceptive effect of intracerebroventricularly administered histamine in rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 49: 125-136.
37. Bhattacharya SK (1985) Central histamine receptors in learning and memory in rats. *Eur J Pharmacol* 183: 925-931.
38. Biro E, Penke B, Telegdy G (1997) Role of different neurotransmitter systems in the cholecystokinin octapeptide-induced anxiogenic response in rats. *Neuropeptides* 31: 281-285.

39. Black JW, Duncan WA, Durant CJ, Ganellin CR, Parsons EM (1972) Definition and antagonism of histamine H<sub>2</sub>-receptors. *Nature* 236: 385-390.
40. Bland BH, Sainsbury RS, Seto M, Sinclair BR, Whishaw IQ (1981) The use of sodium pentobarbital for the study of immobility-related (Type 2) hippocampal theta. *Physiol Behav* 27: 363-368.
41. Bliss TV, Gardner-Medwin AR (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol (Lond)* 232: 357-374.
42. Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361: 31-39.
43. Bliss TVP, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232: 331-356.
44. Bovet D, Staub AM (1937) Action protectrice des éthers phénoliques au cours de l'intoxication histaminique. *Seances Soc Biol Paris* 124: 547-549.
45. Bradshaw J, Brittain RT, Clitherow JW, Daly MJ, Jack D, Price BJ, Stables R (1979) Ranitidine (AH 19065): a new potent, selective histamine H<sub>2</sub>-receptor antagonist [proceedings]. *Br J Pharmacol* 66: 464P.
46. Bragin A, Jando G, Nadasdy Z, Hetke J, Wise K, Buzsaki G (1995) Gamma (40-100 Hz) oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *J Neurosci* 15: 47-60.
47. Bristow DR, Banford PC, Bajusz I, Vedat A, Young JM (1993) Desensitization of histamine H<sub>1</sub> receptor-mediated inositol phosphate accumulation in guinea pig cerebral cortex slices. *Br J Pharmacol* 110: 269-274.

48. Bristow LJ, Bennett GW (1988) Biphasic effects of intra-accumbens histamine administration on spontaneous motor activity in the rat; a role for central histamine receptors. *Br J Pharmacol* 95: 1292-1302.
49. Brown PA, Vernikos J (1980) Antihistamine effect on synaptosomal uptake of serotonin, norepinephrine and dopamine. *Eur J Pharmacol* 65: 89-92.
50. Brown RE, Fedorov NB, Haas HL, Reymann KG (1995) Histaminergic modulation of synaptic plasticity in area CA1 of rat hippocampal slices. *Neuropharmacology* 34: 181-190.
51. Brown RE, Reymann KG (1996) Histamine H<sub>3</sub> receptor-mediated depression of synaptic transmission in the dentate gyrus of the rat in vitro. *J Physiol (Lond)* 496 ( Pt 1): 175-184.
52. Brown RE, Haas HL (1999) On the mechanism of histaminergic inhibition of glutamate release in the rat dentate gyrus. *J Physiol (Lond)* 515 ( Pt 3): 777-786.
53. Brown RE, Stevens DR, Haas HL (2001) The physiology of brain histamine. *Prog Neurobiol* 63: 637-672.
54. Bui JD, Nammari DR, Buckley DL, Inglis BA, Silver XS, Mareci TH, Phillips MI (1999) In vivo dynamics and distribution of intracerebroventricularly administered gadodiamide, visualized by magnetic resonance imaging. *Neuroscience* 90: 1115-1122.
55. Burkard WP (1978) Histamine H<sub>2</sub>-receptor binding with 3H-cimetidine in brain. *Eur J Pharmacol* 50: 449-450.
56. Buzsaki G, Leung LW, Vanderwolf CH (1983) Cellular bases of hippocampal EEG in the behaving rat. *Brain Res* 287: 139-171(a).
57. Buzsaki G, Eidelberg E (1983) Phase relations of hippocampal projection cells and interneurons to theta activity in the anesthetized rat. *Brain Res* 266: 334-339.

58. Buzsaki G (1986) Hippocampal sharp waves: their origin and significance. *Brain Res* 398: 242-252.
59. Buzsaki G, Czopf J, Kondakor I, Kellenyi L (1986) Laminar distribution of hippocampal rhythmic slow activity (RSA) in the behaving rat: current-source density analysis, effects of urethane and atropine. *Brain Res* 365: 125-137 (a).
60. Buzsaki G, Haas HL, Anderson EG (1987) Long-term potentiation induced by physiologically relevant stimulus patterns. *Brain Res* 435: 331-333.
61. Buzsaki G, Bayardo F, Miles R, Wong RK, Gage FH (1989) The grafted hippocampus: an epileptic focus. *Exp Neurol* 105: 10-22 (a).
62. Buzsaki G (1989) Two-stage model of memory trace formation: a role for "noisy" brain states. *Neuroscience* 31: 551-570 (b).
63. Buzsaki G, Hsu M, Slamka C, Gage FH, Horvath Z (1991) Emergence and propagation of interictal spikes in the subcortically denervated hippocampus. *Hippocampus* 1: 163-180 (a).
64. Buzsaki G (1991) Network properties of memory trace formation in the hippocampus. *Boll Soc Ital Biol Sper* 67: 817-835 (b).
65. Buzsaki G, Horvath Z, Urioste R, Hetke J, Wise K (1992) High-frequency network oscillation in the hippocampus. *Science* 256: 1025-1027.
66. Buzsaki G, Bragin A, Chrobak JJ, Nadasdy Z, Sik A, Hsu M, Ylinen A (1994) Oscillatory and intermittent synchrony in the hippocampus: Relevance to memory trace formation. In: *Temporal Coding in the Brain* (Buzsaki G, ed), pp 145-172.
67. Buzsaki G, Penttonen M, Nadasdy Z, Bragin A (1996) Pattern and inhibition-dependent invasion of pyramidal cell dendrites by fast spikes in the hippocampus in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 9921-9925.

68. Cacabelos R, Alvarez XA (1991) Histidine decarboxylase inhibition induced by alpha- fluoromethylhistidine provokes learning-related hypokinetic activity. *Agents Actions* 33: 131-134.
69. Cacabelos R, Alvarez XA (1991) Histidine decarboxylase inhibition induced by alpha- fluoromethylhistidine provokes learning-related hypokinetic activity. *Agents Actions* 33: 131-134.
70. Caeser M, Brown DA, Gahwiler BH, Knopfel T (1993) Characterization of a calcium-dependent current generating a slow afterdepolarization of CA3 pyramidal cells in rat hippocampal slice cultures. *Eur J Neurosci* 5: 560-569.
71. Calcutt CR (1976) The role of histamine in the brain. *Gen Pharmacol* 7: 15-25.
72. Carr GD, White NM (1983) Conditioned place preference from intra-accumbens but not intra-caudate amphetamine injections. *Life Sci* 33: 2551-2557.
73. Carswell H, Nahorski SR (1982) Distribution and characteristics of histamine H1-receptors in guinea-pig airways identified by [3H]mepyramine. *Eur J Pharmacol* 81: 301-307.
74. Cavanagh RL, Usakewicz JJ, Buyniski JP (1983) A comparison of some of the pharmacological properties of etintidine, a new histamine H2-receptor antagonist, with those of cimetidine, ranitidine and tiotidine. *J Pharmacol Exp Ther* 224: 171-179.
75. Cecchi M, Passani MB, Bacciottini L, Mannaioni PF, Blandina P (2001) Cortical acetylcholine release elicited by stimulation of histamine H1 receptors in the nucleus basalis magnocellularis: a dual-probe microdialysis study in the freely moving rat. *Eur J Neurosci* 13: 68-78.
76. Chang RS, Tran VT, Snyder SH (1978) Histamine H1-receptors in brain labeled with 3H-mepyramine. *Eur J Pharmacol* 48: 463-464.

77. Chang RS, Tran VT, Snyder SH (1979) Heterogeneity of histamine H1-receptors: species variations in [3H]mepyramine binding of brain membranes. *J Neurochem* 32: 1653-1663.
78. Charpak S, Pare D, Llinas R (1995) The entorhinal cortex entrains fast CA1 hippocampal oscillations in the anaesthetized guinea-pig: role of the monosynaptic component of the perforant path. *Eur J Neurosci* 7: 1548-1557.
79. Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M (1999) Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation [see comments]. *Cell* 98: 437-451.
80. Chen, D. F. and Fetz, E. E. Effects of synchronous neural activity on synaptic transmission in primate cortex. *Soc.Neurosci.Abstr.*19: 319.7 . 1992.
81. Cherubini E, Neuman R, Rovira C, Ben Ari Y (1988) Epileptogenic properties of the mast cell degranulating peptide in CA3 hippocampal neurones. *Brain Res* 445: 91-100.
82. Chiavegatto S, Nasello AG, Bernardi MM (1998) Histamine and spontaneous motor activity: biphasic changes, receptors involved and participation of the striatal dopamine system. *Life Sci* 62: 1875-1888.
83. Chrobak JJ, Stackman RW, Walsh TJ (1989) Intraseptal administration of muscimol produces dose-dependent memory impairments in the rat. *Behav Neural Biol* 52: 357-369.
84. Chrobak JJ, Buzsaki G (1994) Selective activation of deep layer (V-VI) retrohippocampal cortical neurons during hippocampal sharp waves in the behaving rat. *J Neurosci* 14: 6160-6170.



85. Chrobak JJ, Buzsaki G (1996) High-frequency oscillations in the output networks of the hippocampal- entorhinal axis of the freely behaving rat. *J Neurosci* 16: 3056-3066.
86. Chrobak JJ, Buzsaki G (1998) Operational dynamics in the hippocampal-entorhinal axis. *Neurosci Biobehav Rev* 22: 303-310.
87. Chrobak JJ, Buzsaki G (1998) Gamma oscillations in the entorhinal cortex of the freely behaving rat. *J Neurosci* 18: 388-398.
88. Church J, Baimbridge KG (1991) Exposure to high-pH medium increases the incidence and extent of dye coupling between rat hippocampal CA1 pyramidal neurons in vitro. *J Neurosci* 11: 3289-3295.
89. Clark EA, Hill SJ (1996) Sensitivity of histamine H3 receptor agonist-stimulated [35S]GTP gamma[S] binding to pertussis toxin. *Eur J Pharmacol* 296: 223-225.
90. Clark WG, Lipton JM (1985) Changes in body temperature after administration of amino acids, peptides, dopamine, neuroleptics and related agents: II. *Neurosci Biobehav Rev* 9: 299-371.
91. Cohn CK, Ball GG, Hirsch J (1973) Histamine: effect on self-stimulation. *Science* 180: 757-758.
92. Cole AE, Nicoll RA (1984) The pharmacology of cholinergic excitatory responses in hippocampal pyramidal cells. *Brain Res* 305: 283-290.
93. Crick F, Koch C (1992) The problem of consciousness. *Sci Am* 267: 152-159.
94. Csicsvari J, Hirase H, Czurko A, Mamiya A, Buzsaki G (1999) Fast network oscillations in the hippocampal CA1 region of the behaving rat. *J Neurosci (Online)* 19: RC20 (a).

95. Csicsvari J, Hirase H, Czurko A, Mamiya A, Buzsaki G (1999) Oscillatory coupling of hippocampal pyramidal cells and interneurons in the behaving Rat. *J Neurosci* 19: 274-287(b).
96. Cybulsky DL, Kandel SI, Wells JW, Gornall AG (1981) Guanylylimidodiphosphate modulates [3H] histamine binding in a solubilised preparation from rat brain. *Eur J Pharmacol* 72: 407-409.
97. Dam Trung TM, Garbarg M, Schwartz JC (1980) Pharmacological specificity of brain histamine H<sub>2</sub>-receptors differs in intact cells and cell-free preparations. *Nature* 287: 548-551.
98. de Almeida MA, Izquierdo I (1986) Memory facilitation by histamine. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 283: 193-198.
99. de Almeida MA, Izquierdo I (1988) Intracerebroventricular histamine, but not 48/80, causes posttraining memory facilitation in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 291: 202-207.
100. Diewald L, Heimrich B, Busselberg D, Watanabe T, Haas HL (1997) Histaminergic system in co-cultures of hippocampus and posterior hypothalamus: a morphological and electrophysiological study in the rat. *Eur J Neurosci* 9: 2406-2413.
101. Douglas RM (1977) Long lasting synaptic potentiation in the rat dentate gyrus following brief high frequency stimulation. *Brain Res* 126: 361-365.
102. Douglas WW (1985) Histamine and antihistamines; 5-hydroxytryptamine and antagonists. In: *The Pharmacological Basis of Therapeutics* pp 621 ff. New York: Macmillan.
103. Draguhn A, Traub RD, Schmitz D, Jefferys GR (1998) Electric coupling underlies high-frequency oscillations in the hippocampus in vitro. *Nature: letters to nature* 394: 189-192.

104. Dragoi G, Carpi D, Recce M, Csicsvari J, Buzsaki G (1999) Interactions between hippocampus and medial septum during sharp waves and theta oscillation in the behaving rat. *J Neurosci* 19: 6191-6199.
105. Dringenberg HC, Souza-Silva MA, Rossmuller J, Huston JP, Schwarting RK (1998) Histamine H1 receptor antagonists produce increases in extracellular acetylcholine in rat frontal cortex and hippocampus. *J Neurochem* 70: 1750-1758.
106. Eckhorn R, Bauer R, Jordan W, Brosch M, Kruse W, Munk M, Reitboeck HJ (1988) Coherent oscillations: a mechanism of feature linking in the visual cortex? Multiple electrode and correlation analyses in the cat. *Biol Cybern* 60: 121-130.
107. Engel AK, Konig P, Kreiter AK, Singer W (1991) Interhemispheric synchronization of oscillatory neuronal responses in cat visual cortex. *Science* 252: 1177-1179.
108. Engel AK, Konig P, Kreiter AK, Schillen TB, Singer W (1992) Temporal coding in the visual cortex: new vistas on integration in the nervous system. *Trends Neurosci* 15: 218-226.
109. Engel AK, Roelfsema PR, Fries P, Brecht M, Singer W (1997) Role of the temporal domain for response selection and perceptual binding. *Cereb Cortex* 7: 571-582.
110. Engel AK, Fries P, Konig P, Brecht M, Singer W (1999) Temporal binding, binocular rivalry, and consciousness [see comments]. *Conscious Cogn* 8: 128-151.
111. Ericson H, Watanabe T, Kohler C (1987) Morphological analysis of the tuberomammillary nucleus in the rat brain: delineation of subgroups with antibody against L-histidine decarboxylase as a marker. *J Comp Neurol* 263: 1-24.

112. Ericson H, Blomqvist A, Kohler C (1989) Brainstem afferents to the tuberomammillary nucleus in the rat brain with special reference to monoaminergic innervation. *J Comp Neurol* 281: 169-192.
113. Ericson H, Blomqvist A, Kohler C (1991) Origin of neuronal inputs to the region of the tuberomammillary nucleus of the rat brain. *J Comp Neurol* 311: 45-64.
114. Eriksson KS, Stevens DR, Haas HL (2000) Opposite modulation of histaminergic neurons by nociceptin and morphine [In Process Citation]. *Neuropharmacology* 39: 2492-2498.
115. Espinosa IE, Gerstein GL (1988) Cortical auditory neuron interactions during presentation of 3-tone sequences: effective connectivity. *Brain Res* 450: 39-50.
116. Feldberg W (1941) Histamine and anaphylaxis. *Annu Rev Physiol* 3: 671-694.
117. Fibiger HC (1982) The organization and some projections of cholinergic neurons of the mammalian forebrain. *Brain Res* 257: 327-388.
118. Finkbeiner S (1992) Calcium waves in astrocytes-filling in the gaps. *Neuron* 8: 1101-1108.
119. Foote SL, Aston-Jones G, Bloom FE (1980) Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77: 3033-3037.
120. Freeman WJ, Viana DP, Davis GW, Whitney TM (1983) Conditioning of relative frequency of sniffing by rabbits to odors. *J Comp Psychol* 97: 12-23.
121. Freiwald WA, Kreiter AK, Singer W (1995) Stimulus dependent intercolumnar synchronization of single unit responses in cat area 17. *Neuroreport* 6: 2348-2352.

122. Freund TF, Antal M (1988) GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature* 336: 170-173.
123. Freund TF, Gulyas AI, Acsady L, Gorcs T, Toth K (1990) Serotonergic control of the hippocampus via local inhibitory interneurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 8501-8505.
124. Frisch C, Hasenohrl RU, Huston JP (1997) The histamine H1-antagonist chlorpheniramine facilitates learning in aged rats. *Neurosci Lett* 229: 89-92.
125. Frisch C, Hasenohrl RU, Krauth J, Huston JP (1998) Anxiolytic-like behavior after lesion of the tuberomammillary nucleus E2-region. *Exp Brain Res* 119: 260-264.
126. Frisch C, Hasenohrl RU, Haas HL, Weiler HT, Steinbusch HW, Huston JP (1998) Facilitation of learning after lesions of the tuberomammillary nucleus region in adult and aged rats. *Exp Brain Res* 118: 447-456.
127. Gabarg M, Barbin G, Bischoff S, Pollard H, Schwartz JC (1976) Dual localization of histamine in non-neuronal cells evidenced by lesions in the lateral hypothalamic area. *Brain Res* 106: 333-348.
128. Gage FH, Bjorklund A, Stenevi U (1984) Cells of origin of the ventral cholinergic septohippocampal pathway undergoing compensatory collateral sprouting following fimbria-fornix transection. *Neurosci Lett* 44: 211-216.
129. Gajtkowski GA, Norris DB, Rising TJ, Wood TP (1983) Specific binding of 3H-tiotidine to histamine H2 receptors in guinea pig cerebral cortex. *Nature* 304: 65-67.
130. Gall C, Selawski L (1984) Supramammillary afferents to guinea pig hippocampus contain substance P- like immunoreactivity. *Neurosci Lett* 51: 171-176.
131. Gantz I, Munzert G, Tashiro T, Schaffer M, Wang L, DelValle J, Yamada T (1991) Molecular cloning of the human histamine H2 receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 178: 1386-1392.

132. Gaykema RP, Luiten PG, Nyakas C, Traber J (1990) Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *J Comp Neurol* 293: 103-124.
133. Geinisman Y (2000) Structural synaptic modifications associated with hippocampal LTP and behavioral learning [In Process Citation]. *Cereb Cortex* 10: 952-962.
134. Geller HM (1979) Are histamine H<sub>2</sub>-receptor depressions of neuronal activity in tissue cultures from rat hypothalamus mediated through cyclic adenosine monophosphate? *Neurosci Lett* 14: 49-53.
135. Geller HM (1981) Histamine actions on activity of cultured hypothalamic neurons: evidence for mediation by H<sub>1</sub>- and H<sub>2</sub>-histamine receptors. *Brain Res* 227: 89-101.
136. Gerald MC, Maickel RP (1972) Studies on the possible role of brain histamine in behaviour. *Br J Pharmacol* 44: 462-471.
137. Gherzi-Egea JF, Finnegan W, Chen JL, Fenstermacher JD (1996) Rapid distribution of intraventricularly administered sucrose into cerebrospinal fluid cisterns via subarachnoid velae in rat. *Neuroscience* 75: 1271-1288.
138. Giorgetti M, Bacciottini L, Bianchi L, Giovannini MG, Cecchi M, Blandina P (1997) GABAergic mechanism in histamine H<sub>3</sub> receptor inhibition of K<sup>(+)</sup>-evoked release of acetylcholine from rat cortex in vivo. *Inflamm Res* 46 Suppl 1: 33-34.
139. Givens BS, Olton DS (1990) Cholinergic and GABAergic modulation of medial septal area: effect on working memory. *Behav Neurosci* 104: 849-855.
140. Glick SD, Crane LA (1978) Opiate-like and abstinence-like effects of intracerebral histamine administration in rats. *Nature* 273: 547-549.
141. Gorelova N, Reiner PB (1996) Histamine depolarizes cholinergic septal neurons. *J Neurophysiol* 75: 707-714.

142. Gray CM, Konig P, Engel AK, Singer W (1989) Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature* 338: 334-337.
143. Gray CM, Engel AK, Konig P, Singer W (1992) Synchronization of oscillatory neuronal responses in cat striate cortex: temporal properties. *Vis Neurosci* 8: 337-347.
144. Gray CM (1994) Synchronous oscillations in neuronal systems: mechanisms and functions. *J Comput Neurosci* 1: 11-38.
145. Gray CM, McCormick DA (1996) Chattering cells: superficial pyramidal neurons contributing to the generation of synchronous oscillations in the visual cortex [see comments]. *Science* 274: 109-113.
146. Green JP (1967) Uptake, storage and release of histamine. Uptake and binding of histamine. *Fed Proc* 26(1): 211-218.
147. Green MD, Cox B, Lomax P (1976) Sites and mechanisms of action of histamine in the central thermoregulatory pathways of the rat. *Neuropharmacology* 15: 321-324.
148. Greene RW, Haas HL (1990) Effects of histamine on dentate granule cells in vitro. *Neuroscience* 34: 299-303.
149. Gulat-Marnay C, Lafitte A, Arrang JM, Schwartz JC (1990) Modulation of histamine release in the rat brain by kappa-opioid receptors. *J Neurochem* 55: 47-53.
150. Haas HL, Bucher UM (1975) Histamine H<sub>2</sub>-receptors on single central neurones. *Nature* 255: 634-635.
151. Haas HL, Wolf P (1977) Central actions of histamine: microelectrophoretic studies. *Brain Res* 122: 269-279.

152. Haas HL, Konnerth A (1983) Histamine and noradrenaline decrease calcium-activated potassium conductance in hippocampal pyramidal cells. *Nature* 302: 432-434.
153. Haas HL (1984) Histamine potentiates neuronal excitation by blocking a calcium- dependent potassium conductance. *Agents Actions* 14: 534-537.
154. Haas HL (1985) Histamine may act through cyclic AMP on hippocampal neurones. *Agents Actions* 16: 234-235.
155. Haas HL, Greene RW (1986) Effects of histamine on hippocampal pyramidal cells of the rat in vitro. *Exp Brain Res* 62: 123-130.
156. Haas HL (1987) Special features of the hippocampal formation with respect to seizure conditions. In: *Presurgical Evaluation of Epileptics* (Wieser HG, Elger CE, eds), pp 35-40. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
157. Haas HL, Reiner PB (1988) Membrane properties of histaminergic tuberomammillary neurones of the rat hypothalamus in vitro. *J Physiol (Lond)* 399: 633-646.
158. Haas HL, Greene RW, Reiner PB (1989) The brain histamine system in vitro. *J Neurosci Methods* 28: 71-75.
159. Haas HL, Reiner PB, Greene RW (1991) Histaminergic and histaminoceptive neurons: electrophysiological studies in vertebrates. In: *Histaminergic Neurons: Morphology and Function* (Watanabe T, Wada H, eds), pp 196-208. Boca Raton: CRC Press.
160. Haas HL (1992) Electrophysiology of histamine receptors. In: *The Histamine Receptor* (Schwartz JC, Haas HL, eds), pp 161-171. New York: Wiley-Liss.
161. Haffmans J, Blankwater YJ, Ukponmwan OE, Zijlstra FJ, Vincent JE, Hespe W, Dzoljic MR (1983) Correlation between the distribution of 3H-labelled enkephalin in rat brain and the anatomical regions involved in enkephalin-induced seizures. *Neuropharmacology* 22: 1021-1028.



162. Haglund L, Swanson LW, Kohler C (1984) The projection of the supramammillary nucleus to the hippocampal formation: an immunohistochemical and anterograde transport study with the lectin PHA-L in the rat. *J Comp Neurol* 229: 171-185.
163. Halasy K, Somogyi P (1993) Distribution of GABAergic synapses and their targets in the dentate gyrus of rat: a quantitative immunoelectron microscopic analysis. *J Hirnforsch* 34: 299-308.
164. Harder JA, Baker HF, Ridley RM (1998) The role of the central cholinergic projections in cognition: implications of the effects of scopolamine on discrimination learning by monkeys. *Brain Res Bull* 45: 319-326.
165. Hart S, Sarter M, Berntson GG (1999) Cholinergic inputs to the rat medial prefrontal cortex mediate potentiation of the cardiovascular defensive response by the anxiogenic benzodiazepine receptor partial inverse agonist FG 7142. *Neuroscience* 94: 1029-1038.
166. Hasenohrl RU, Gerhardt P, Huston JP (1991) Naloxone blocks conditioned place preference induced by substance P and [pGlu6]-SP(6-11). *Regul Pept* 35: 177-187.
167. Hatton GI, Yang QZ (1996) Synaptically released histamine increases dye coupling among vasopressinergic neurons of the supraoptic nucleus: mediation by H1 receptors and cyclic nucleotides. *J Neurosci* 16: 123-129.
168. Hebb D (1949) *The organization of behavior*. Wiley, New York.
169. Hegstrand LR, Kanof PD, Greengard P (1976) Histamine-sensitive adenylate cyclase in mammalian brain. *Nature* 260: 163-165.
170. Hegstrand LR, Simon JR (1985) Histidine transport into rat brain synaptosomes. *J Neurochem* 45: 407-414.
171. Hemsworth PH, Coleman GJ, Barnett JL, Borg S (2000) Relationships between human-animal interactions and productivity of commercial dairy cows [In Process Citation]. *J Anim Sci* 78: 2821-2831.

172. Hill SJ, Young JM, Marrian DH (1977) Specific binding of 3H-mepyramine to histamine H1 receptors in intestinal smooth muscle. *Nature* 270: 361-363.
173. Hill SJ (1990) Distribution, properties, and functional characteristics of three classes of histamine receptor. *Pharmacol Rev* 42: 45-83.
174. Hirose A, Tsuji R, Shimizu H, Tatsuno T, Tanaka H, Kumasaka Y, Nakamura M (1990) Inhibition by 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin and SM-3997, a novel anxiolytic drug, of the hippocampal rhythmical slow activity mediated by 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 341: 8-13.
175. Hollrigel GS, Soltesz I (1997) Slow kinetics of miniature IPSCs during early postnatal development in granule cells of the dentate gyrus. *J Neurosci* 17: 5119-5128.
176. Hough LB (1988) Cellular localization and possible functions for brain histamine: recent progress. *Prog Neurobiol* 30: 469-505.
177. Hough LB, Nalwalk JW (1992) Modulation of morphine antinociception by antagonism of H<sub>2</sub> receptors in the periaqueductal gray. *Brain Res* 588: 58-66.
178. Hough LB (1998) Histaminergic system. In: *Basic Neurochemistry* (Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD, eds), pp 293-314. Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott Raven.
179. Huerta PT, Lisman JE (1993) Heightened synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state. *Nature* 364: 723-725.
180. Huston JP, Mondadori C (1977) Reinforcement and memory: a model [proceedings]. *Act Nerv Super (Praha)* 19: 17-19 (a).

181. Huston JP (1977) Physiologische und motivationale Aspekte der Verstärkung. In: Die Psychologie des 20ten Jahrhunderts pp 429 ff. (b). Zürich: Kindler.
182. Huston JP (1982) Searching for the neural mechanism of reinforcement (of "stamping-in"). In: The Neural Basis of Feeding and Reward (Hoebel BG, Novin D, eds), pp 75 ff. Brunswick: Haer Institute.
183. Huston JP, Bures J (1983) Measurement of general activity. In: Techniques and Basic Experiments for the Study of Brain and Behavior (Bures J, Buresova O, Huston JP, eds), pp 89-92. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B.V.
184. Huston JP, Oitzl MS (1989) The relationship between reinforcement and memory: parallels in the rewarding and mnemonic effects of the neuropeptide substance P. *Neurosci Biobehav Rev* 13: 171-180.
185. Huston JP, Wagner U, Hasenohrl RU (1997) The tuberomammillary nucleus projections in the control of learning, memory and reinforcement processes: evidence for an inhibitory role. *Behav Brain Res* 83: 97-105.
186. Ibrahim MZ (1974) The mast cells of the mammalian central nervous system. 2. The effect of proton irradiation in the monkey. *J Neurol Sci* 21: 479-499.
187. Inuma K, Yokoyama H, Otsuki T, Yanai K, Watanabe T, Ido T, Itoh M (1993) Histamine H1 receptors in complex partial seizures [letter]. *Lancet* 341: 238.
188. Imaizumi M, Onodera K (1993) The behavioral and biochemical effects of thioperamide, a histamine H3-receptor antagonist, in a light/dark test measuring anxiety in mice. *Life Sci* 53: 1675-1683.
189. Imaizumi M, Miyazaki S, Onodera K (1996) Effects of betahistidine, a histamine H1 agonist and H3 antagonist, in a light/dark test in mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 18: 19-24.

190. Inagaki N, Panula P, Yamatodani A, Wada H (1990) Organization of the histaminergic system in the brain of the turtle *Chinemys reevesii*. *J Comp Neurol* 297: 132-144.
191. Inanaga K (1998) Frontal midline theta rhythm and mental activity. *Psychiatry Clin Neurosci* 52: 555-566.
192. Inoue I, Yanai K, Kitamura D, Taniuchi I, Kobayashi T, Niimura K, Watanabe T, Watanabe T (1996) Impaired locomotor activity and exploratory behavior in mice lacking histamine H1 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 13316-13320.
193. Itoh J, Nabeshima T, Kameyama T (1990) Utility of an elevated plus-maze for the evaluation of memory in mice: effects of nootropics, scopolamine and electroconvulsive shock. *Psychopharmacology (Berl)* 101: 27-33.
194. Itoh Y, Oishi R, Nishibori M, Saeki K (1988) Involvement of Mu receptors in the opioid-induced increase in the turnover of mouse brain histamine. *J Pharmacol Exp Ther* 244: 1021-1026.
195. Itowi N, Nagai K, Nakagawa H, Watanabe T, Wada H (1988) Changes in the feeding behavior of rats elicited by histamine infusion. *Physiol Behav* 44: 221-226.
196. Izquierdo I, da Cunha C, Rosat R, Jerusalinsky D, Ferreira MB, Medina JH (1992) Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. *Behav Neural Biol* 58: 16-26.
197. Izquierdo I, Medina JH (1995) Correlation between the pharmacology of long-term potentiation and the pharmacology of memory. *Neurobiol Learn Mem* 63: 19-32.
198. Jagadeesh B, Gray CM, Ferster D (1992) Visually evoked oscillations of membrane potential in cells of cat visual cortex. *Science* 257: 552-554.

199. Jay TM, Witter MP (1991) Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J Comp Neurol* 313: 574-586.
200. Jefferys JG, Traub RD, Whittington MA (1996) Neuronal networks for induced '40 Hz' rhythms [see comments]. *Trends Neurosci* 19: 202-208.
201. Joliot M, Ribary U, Llinas R (1994) Human oscillatory brain activity near 40 Hz coexists with cognitive temporal binding. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 11748-11751.
202. Jones BE (1989) The sleep-wake-cycle: basic mechanisms. *J Rheumatol Suppl* 19: 49-51.
203. Kahana MJ, Sekuler R, Caplan JB, Kirschen M, Madsen JR (1999) Human theta oscillations exhibit task dependence during virtual maze navigation. *Nature* 399: 781-784.
204. Kakinoki H, Ishizawa K, Fukunaga M, Fujii Y, Kamei C (1998) The effects of histamine H3-receptor antagonists on amygdaloid kindled seizures in rats. *Brain Res Bull* 46: 461-465.
205. Kalivas PW (1982) Histamine-induced arousal in the conscious and pentobarbital-pretreated rat. *J Pharmacol Exp Ther* 222: 37-42.
206. Kamei C, Ishizawa K, Kakinoki H, Fukunaga M (1998) Histaminergic mechanisms in amygdaloid-kindled seizures in rats. *Epilepsy Res* 30: 187-194.
207. Katsumaru H, Kosaka T, Heizmann CW, Hama K (1988) Gap junctions on GABAergic neurons containing the calcium-binding protein parvalbumin in the rat hippocampus (CA1 region). *Exp Brain Res* 72: 363-370.
208. Kauer JA, Malenka RC, Nicoll RA (1988) A persistent postsynaptic modification mediates long-term potentiation in the hippocampus. *Neuron* 1: 911-917.

209. Kentala E, Salonen M, Kanto J (1990) Anticholinergic premedication in Finland 1988. *Acta Anaesthesiol Scand* 34: 17-20.
210. Khandelwal JK, Hough LB, Morrishow AM, Green JP (1982) Measurement of tele-methylhistamine and histamine in human cerebrospinal fluid, urine, and plasma. *Agents Actions* 12: 583-590.
211. Khateb A, Fort P, Serafin M, Jones BE, Muhlethaler M (1995) Rhythmical bursts induced by NMDA in guinea-pig cholinergic nucleus basalis neurones in vitro. *J Physiol (Lond)* 487 ( Pt 3): 623-638.
212. Khateb A, Fort P, PEGNA A, Jones BE, Muhlethaler M (1995) Cholinergic nucleus basalis neurons are excited by histamine in vitro. *Neuroscience* 69: 495-506.
213. Khazipov R, Leinekugel X, Khalilov I, Gaiarsa JL, Ben Ari Y (1997) Synchronization of GABAergic interneuronal network in CA3 subfield of neonatal rat hippocampal slices. *J Physiol (Lond)* 498 ( Pt 3): 763-772.
214. King C, Henze DA, Leinekugel X, Buzsaki G (1999) Hebbian modification of a hippocampal population pattern in the rat. *J Physiol (Lond)* 521 Pt 1: 159-167.
215. Kirk IJ, McNaughton N (1991) Supramammillary cell firing and hippocampal rhythmical slow activity. *Neuroreport* 2: 723-725.
216. Kiviranta T, Tuomisto L, Airaksinen EM (1995) Histamine in cerebrospinal fluid of children with febrile convulsions. *Epilepsia* 36: 276-280.
217. Klapdor K, Hasenohrl RU, Huston JP (1994) Facilitation of learning in adult and aged rats following bilateral lesions of the tuberomammillary nucleus region. *Behav Brain Res* 61: 113-116.
218. Kleshchevnikov AM (1999) Synaptic plasticity in the hippocampus during afferent activation reproducing the pattern of the theta rhythm (theta plasticity). *Neurosci Behav Physiol* 29: 185-196.

219. Knigge U, Matzen S, Warberg J (1988) Histaminergic mediation of the stress-induced release of prolactin in male rats. *Neuroendocrinology* 47: 68-74.
220. Knott VJ, Bakish D, Lusk S, Barkely J, Perugini M (1996) Quantitative EEG correlates of panic disorder. *Psychiatry Res* 68: 31-39.
221. Kocsis B, Bragin A, Buzsaki G (1999) Interdependence of multiple theta generators in the hippocampus: a partial coherence analysis. *J Neurosci* 19: 6200-6212.
222. Kohler C, Swanson LW, Haglund L, Wu JY (1985) The cytoarchitecture, histochemistry and projections of the tuberomammillary nucleus in the rat. *Neuroscience* 16: 85-110.
223. Kollonitsch J, Patchett AA, Marburg S, Maycock AL, Perkins LM, Doldouras GA, Duggan DE, Aster SD (1978) Selective inhibitors of biosynthesis of aminergic neurotransmitters. *Nature* 274: 906-908.
224. Konig P, Engel AK, Singer W (1995) Relation between oscillatory activity and long-range synchronization in cat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 290-294.
225. Krayniak PF, Meibach RC, Siegel A (1981) A projection from the entorhinal cortex to the nucleus accumbens in the rat. *Brain Res* 209: 427-431.
226. Krettek JE, Price JL (1977) Projections from the amygdaloid complex and adjacent olfactory structures to the entorhinal cortex and to the subiculum in the rat and cat. *J Comp Neurol* 172: 723-752.
227. Krettek JE, Price JL (1978) Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat. *J Comp Neurol* 178: 225-254.
228. Kruger, L., Saporta, S., and Swanson, L. W. *Photographic Atlas of the rat brain cell and fibre architecture illustrated in three planes with stereotaxic coordinates*. 1995. Cambridge University Press.

229. Kubo N, Shirakawa O, Kuno T, Tanaka C (1987) Antimuscarinic effects of antihistamines: quantitative evaluation by receptor-binding assay. *Jpn J Pharmacol* 43: 277-282.
230. Kudrimoti HS, Barnes CA, McNaughton BL (1999) Reactivation of hippocampal cell assemblies: effects of behavioral state, experience, and EEG dynamics. *J Neurosci* 19: 4090-4101.
231. Kwiatkowsky H (1943) Histamine in nervous tissues. *J Physiol* 102: 32-41.
232. Lakoski JM, Aghajanian GK (1983) Effects of histamine, H1- and H2-receptor antagonists on the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus. *J Pharmacol Exp Ther* 227: 517-523.
233. Lakoski JM, Gallager DW, Aghajanian GK (1984) Histamine-induced depression of serotonergic dorsal raphe neurons: antagonism by cimetidine, a reevaluation. *Eur J Pharmacol* 103: 153-156.
234. Lange, W. R. and Jasinsky, D. R. (1984) The clinical pharmacology of pentazocine and triprolidine (T's and blues). *Problems of drug dependence. Adv. Alcohol Subst. Abuse* 5, 71-83.
235. Lapchak PA, Araujo DM, Carswell S, Hefti F (1993) Distribution of [125I]nerve growth factor in the rat brain following a single intraventricular injection: correlation with the topographical distribution of trkA messenger RNA-expressing cells. *Neuroscience* 54: 445-460.
236. Lee MG, Chrobak JJ, Sik A, Wiley RG, Buzsaki G (1994) Hippocampal theta activity following selective lesion of the septal cholinergic system. *Neuroscience* 62: 1033-1047.
237. Leibowitz SF (1973) Histamine: a stimulatory effect on drinking behavior in the rat. *Brain Res* 63: 440-444.
238. Leung LS (1984) Pharmacology of theta phase shift in the hippocampal CA1 region of freely moving rats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 58: 457-466.



239. Leurs R, Traiffort E, Arrang JM, Tardivel-Lacombe J, Ruat M, Schwartz JC (1994) Guinea pig histamine H1 receptor. II. Stable expression in Chinese hamster ovary cells reveals the interaction with three major signal transduction pathways. *J Neurochem* 62: 519-527.
240. Leurs R, Tulp MT, Menge WM, Adolfs MJ, Zuiderveld OP, Timmerman H (1995) Evaluation of the receptor selectivity of the H3 receptor antagonists, iodophenpropit and thioperamide: an interaction with the 5-HT3 receptor revealed. *Br J Pharmacol* 116: 2315-2321.
241. Li BY, Nalwalk JW, Hough LB (1997) Effects of naltrexone and histamine antagonists on the antinociceptive activity of the cimetidine analog SKF92374 in rats. *Brain Res* 748: 168-174.
242. Li XG, Somogyi P, Tepper JM, Buzsaki G (1992) Axonal and dendritic arborization of an intracellularly labeled chandelier cell in the CA1 region of rat hippocampus. *Exp Brain Res* 90: 519-525.
243. Li XG, Somogyi P, Ylinen A, Buzsaki G (1994) The hippocampal CA3 network: an in vivo intracellular labeling study. *J Comp Neurol* 339: 181-208.
244. Lin JS, Sakai K, Jouvet M (1988) Evidence for histaminergic arousal mechanisms in the hypothalamus of cat. *Neuropharmacology* 27: 111-122.
245. Lin JS, Sakai K, Vanni-Mercier G, Jouvet M (1989) A critical role of the posterior hypothalamus in the mechanisms of wakefulness determined by microinjection of muscimol in freely moving cats. *Brain Res* 479: 225-240.
246. Lin JS, Sakai K, Vanni-Mercier G, Arrang JM, Garbarg M, Schwartz JC, Jouvet M (1990) Involvement of histaminergic neurons in arousal mechanisms demonstrated with H3-receptor ligands in the cat. *Brain Res* 523: 325-330.

247. Lin JS, Fort P, Kitahama K, Panula P, Denney RM, Jouvét M (1991) Immunohistochemical evidence for the presence of type B monoamine oxidase in histamine-containing neurons in the posterior hypothalamus of cats. *Neurosci Lett* 128: 61-65.
248. Llinas R, Ribary U (1993) Coherent 40-Hz oscillation characterizes dream state in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 2078-2081.
249. Lovenberg TW, Roland BL, Wilson SW, Jiang X, Pyati J, Huvar A, Jackson MR, Erlander MG (1999) Cloning and functional expression of the human histamine H3 receptor. *Mol Pharmacol* 55: 1101-1107.
250. MacMillan SJ, Mark MA, Duggan AW (1998) The release of beta-endorphin and the neuropeptide-receptor mismatch in the brain. *Brain Res* 794: 127-136.
251. Madison DV, Lancaster B, Nicoll RA (1987) Voltage clamp analysis of cholinergic action in the hippocampus. *J Neurosci* 7: 733-741.
252. Madler C, Keller I, Schwender D, Poppel E (1991) Sensory information processing during general anaesthesia: effect of isoflurane on auditory evoked neuronal oscillations. *Br J Anaesth* 66: 81-87.
253. Maier SE, Crowne DP (1993) Early experience modifies the lateralization of emotionality in parietal lesioned rats. *Behav Brain Res* 56: 31-42.
254. Maisonnète S, Huston JP, Brandao M, Schwarting RK (1998) Behavioral asymmetries and neurochemical changes after unilateral lesions of tuberomammillary nucleus or substantia nigra. *Exp Brain Res* 120: 273-282.
255. Makeig S (1993) Auditory event-related dynamics of the EEG spectrum and effects of exposure to tones. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 86: 283-293.

256. Manahan-Vaughan D, Reymann KG, Brown RE (1998) In vivo electrophysiological investigations into the role of histamine in the dentate gyrus of the rat. *Neuroscience* 84: 783-790.
257. Maren S, Aharonov G, Fanselow MS (1997) Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behav Brain Res* 88: 261-274.
258. Marighetto A, Durkin T, Toumane A, Lebrun C, Jaffard R (1989) Septal alpha-noradrenergic antagonism in vivo blocks the testing-induced activation of septo-hippocampal cholinergic neurones and produces a concomitant deficit in working memory performance of mice. *Pharmacol Biochem Behav* 34: 553-558.
259. Masukawa Y, Suzuki T, Misawa M (1993) Differential modification of the rewarding effects of methamphetamine and cocaine by opioids and antihistamines. *Psychopharmacology (Berl)* 111: 139-143.
260. Matsuoka N, Maeda N, Ohkubo Y, Yamaguchi I (1991) Differential effects of physostigmine and pilocarpine on the spatial memory deficits produced by two septo-hippocampal deafferentations in rats. *Brain Res* 559: 233-240.
261. Matthies H, Reymann KG (1993) Protein kinase A inhibitors prevent the maintenance of hippocampal long-term potentiation. *Neuroreport* 4: 712-714.
262. Mattioli R, Nelson CA, Huston JP, Spieler RE (1998) Conditioned place-preference analysis in the goldfish with the H1 histamine antagonist chlorpheniramine. *Brain Res Bull* 45: 41-44.
263. McCormick DA, Williamson A (1991) Modulation of neuronal firing mode in cat and guinea pig LGNd by histamine: possible cellular mechanisms of histaminergic control of arousal. *J Neurosci* 11: 3188-3199.

264. McLennan H, Miller JJ (1974) The hippocampal control of neuronal discharges in the septum of the rat. *J Physiol (Lond)* 237: 607-624.
265. McNaughton N (1997) Cognitive dysfunction resulting from hippocampal hyperactivity--a possible cause of anxiety disorder? *Pharmacol Biochem Behav* 56: 603-611.
266. Meguro K, Yanai K, Sakai N, Sakurai E, Maeyama K, Sasaki H, Watanabe T (1995) Effects of thioperamide, a histamine H3 antagonist, on the step-through passive avoidance response and histidine decarboxylase activity in senescence-accelerated mice. *Pharmacol Biochem Behav* 50: 321-325.
267. Messier C, Destrade C (1988) Improvement of memory for an operant response by post-training glucose in mice. *Behav Brain Res* 31: 185-191.
268. Milner TA, Amaral DG (1984) Evidence for a ventral septal projection to the hippocampal formation of the rat. *Exp Brain Res* 55: 579-585.
269. Miyazaki S, Imaizumi M, Onodera K (1995) Effects of thioperamide, a histamine H3-receptor antagonist, on a scopolamine-induced learning deficit using an elevated plus-maze test in mice. *Life Sci* 57: 2137-2144.
270. Miyazaki S, Onodera K, Imaizumi M, Timmerman H (1997) Effects of clobenpropit (VUF-9153), a histamine H3-receptor antagonist, on learning and memory, and on cholinergic and monoaminergic systems in mice. *Life Sci* 61: 355-361.
271. Mochizuki T, Yamatodani A, Okakura K, Horii A, Inagaki N, Wada H (1992) Circadian rhythm of histamine release from the hypothalamus of freely moving rats. *Physiol Behav* 51: 391-394.
272. Mochizuki T, Okakura-Mochizuki K, Horii A, Yamamoto Y, Yamatodani A (1994) Histaminergic modulation of hippocampal acetylcholine release in vivo. *J Neurochem* 62: 2275-2282.

273. Molina-Hernandez A, Nunez A, Arias-Montano JA (2000) Histamine H3-receptor activation inhibits dopamine synthesis in rat striatum. *Neuroreport* 11: 163-166.
274. Mondadori C, Waser PG, Huston JP (1977) Time-dependent effects of post-trial reinforcement, punishment or ECS on passive avoidance learning. *Physiol Behav* 18: 1103-1109.
275. Monti JM, Orellana C, Boussard M, Jantos H, Olivera S (1990) Sleep variables are unaltered by zolantidine in rats: are histamine H2- receptors not involved in sleep regulation? *Brain Res Bull* 25: 229-231.
276. Monti JM (1993) Involvement of histamine in the control of the waking state. *Life Sci* 53: 1331-1338.
277. Morris RG, Halliwell RF, Bowery N (1989) Synaptic plasticity and learning. II: Do different kinds of plasticity underlie different kinds of learning? *Neuropsychologia* 27: 41-59.
278. Munakata M, Akaike N (1994) Regulation of K<sup>+</sup> conductance by histamine H1 and H2 receptors in neurones dissociated from rat neostriatum. *J Physiol Lond* 480: 233-245.
279. Murthy VN, Fetz EE (1992) Coherent 25- to 35-Hz oscillations in the sensorimotor cortex of awake behaving monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89: 5670-5674.
280. Nakai T, Kitamura N, Hashimoto T, Kajimoto Y, Nishino N, Mita T, Tanaka C (1991) Decreased histamine H1 receptors in the frontal cortex of brains from patients with chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry* 30: 349-356.
281. Netti C, Guidobono F, Sibilia V, Villa I, Cazzamalli E, Pecile A (1988) Central effects of histamine H2-receptor agonists and antagonists on nociception in the rat. *Agents Actions* 23: 247-249.

282. Neuenschwander S, Singer W (1996) Long-range synchronization of oscillatory light responses in the cat retina and lateral geniculate nucleus. *Nature* 379: 728-732.
283. Nicholson C (1999) Signals that go with the flow. *Trends Neurosci* 22: 143-145.
284. Nishijo H, Ono T, Tamura R, Nakamura K (1993) Amygdalar and hippocampal neuron responses related to recognition and memory in monkey. *Prog Brain Res* 95: 339-357.
285. Nishijo H, Ono T, Tamura R, Nakamura K (1993) Amygdalar and hippocampal neuron responses related to recognition and memory in monkey. *Prog Brain Res* 95: 339-357.
286. Nyakas C, Luiten PG, Spencer DG, Traber J (1987) Detailed projection patterns of septal and diagonal band efferents to the hippocampus in the rat with emphasis on innervation of CA1 and dentate gyrus. *Brain Res Bull* 18: 533-545.
287. O'Keefe J, Dostrovsky J (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 34: 171-175.
288. O'Driscoll, W. G. and Lindley, G. R. Self-administration of tripeleminamine by a narcotic addict. *The New England Journal of Medicine* 257: 376-377. 1957.
289. O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. New York: Clarendon Press.
290. Oishi R, Itoh Y, Nishibori M, Saeki K (1989) Effects of the histamine H3-agonist (R)-alpha-methylhistamine and the antagonist thioperamide on histamine metabolism in the mouse and rat brain. *J Neurochem* 52: 1388-1392.

291. Oishi R, Itoh Y, Saeki K (1992) Inhibition of histamine turnover by 8-OH-DPAT, buspirone and 5- hydroxytryptophan in the mouse and rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 345: 495-499.
292. Onodera K, Ogura Y (1985) Muricidal suppression by histidine and its antagonism by alpha- fluoromethylhistidine in thiamine deficient rats. *Yakubutsu Seishin Kodo* 5: 11-17.
293. Onodera K, Yamatodani A, Watanabe T (1992) Effects of alpha-fluoromethylhistidine on locomotor activity, brain histamine and catecholamine contents in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 14: 97-105.
294. Onodera K, Yamatodani A, Watanabe T, Wada H (1994) Neuropharmacology of the histaminergic neuron system in the brain and its relationship with behavioral disorders. *Prog Neurobiol* 42: 685-702.
295. Ottersen OP (1982) Connections of the amygdala of the rat. IV: Corticoamygdaloid and intraamygdaloid connections as studied with axonal transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 205: 30-48.
296. Palacios JM, Wamsley JK, Kuhar MJ (1981) The distribution of histamine H1-receptors in the rat brain: an autoradiographic study. *Neuroscience* 6: 15-37.
297. Panula P, Yang HY, Costa E (1984) Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81: 2572-2576.
298. Panula P, Pirvola U, Auvinen S, Airaksinen MS (1989) Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. *Neuroscience* 28: 585-610.
299. Panula P, Airaksinen MS, Pirvola U, Kotilainen E (1990) A histamine-containing neuronal system in human brain. *Neuroscience* 34: 127-132.
300. Papez JW (1937) A proposed mechanism of emotion. *Arch of Neurology and Psychiatry* 38: 724-744.

301. Pappenheimer JR (1983) Bayliss-Starling Memorial Lecture (1982). Induction of sleep by muramyl peptides. *J Physiol (Lond)* 336: 1-11.
302. Parra P, Gulyas AI, Miles R (1998) How many subtypes of inhibitory cells in the hippocampus? *Neuron* 20: 983-993.
303. Patton PE, McNaughton B (1995) Connection matrix of the hippocampal formation: I. The dentate gyrus. *Hippocampus* 5: 245-286.
304. Pavlides C, Winson J (1989) Influences of hippocampal place cell firing in the awake state on the activity of these cells during subsequent sleep episodes. *J Neurosci* 9: 2907-2918.
305. Paxinos G (1995) Hippocampal Formation. In: *The Rat Nervous System* (Paxinos G, ed), pp 443-486. San Diego, CA: ACADEMIC PRESS, INC.
306. Payne GW, Neuman RS (1997) Effects of hypomagnesia on histamine H1 receptor-mediated facilitation of NMDA responses. *Br J Pharmacol* 121: 199-204.
307. Philippu A, Bald M, Kraus A, Dietl H (1984) In vivo release by histamine agonists and antagonists of endogenous catecholamines in the cat hypothalamus. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 326: 116-123.
308. Philippu A (1988) Regulation of blood pressure by central neurotransmitters and neuropeptides. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 111: 1-115.
309. Pickel VM, Segal M, Bloom FE (1974) A radioautographic study of the efferent pathways of the nucleus locus coeruleus. *J Comp Neurol* 155: 15-42.
310. Poulakos JJ, Gertner SB (1989) Studies on the cardiovascular actions of central histamine H1 and H2 receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 250: 500-507.



311. Prast H, Fischer HP, Prast M, Philippu A (1994) In vivo modulation of histamine release by autoreceptors and muscarinic acetylcholine receptors in the rat anterior hypothalamus. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 350: 599-604.
312. Prast H, Fischer H, Philippu A (1994) Release of acetylcholine in the ventral striatum is influenced by histamine receptors. *Agents Actions* 41 Spec No: C85-C86.
313. Prast H, Tran MH, Fischer H, Kraus M, Lamberti C, Grass K, Philippu A (1999) Histaminergic neurons modulate acetylcholine release in the ventral striatum: role of H3 histamine receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 360: 558-564.
314. Privou C, Knoche A, Hasenohrl RU, Huston JP (1998) The H1- and H2-histamine blockers chlorpheniramine and ranitidine applied to the nucleus basalis magnocellularis region modulate anxiety and reinforcement related processes. *Neuropharmacology* 37: 1019-1032.
315. Privou, C. (1998) Applikation von histaminergen H1- und H2-Rezeptorblockern in die Region des Nucleus basalis magnocellularis der Ratte: Einfluß auf Verstärkung, Gedächtnis und Angst. Institut für Physiologische Psychologie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Dissertation).
316. Privou C, Li JS, Hasenohrl RU, Huston JP (1999) Enhanced learning by posttrial injection of H1-but not H2-histaminergic antagonists into the nucleus basalis magnocellularis region. *Neurobiol Learn Mem* 71: 308-324.
317. Proescholdt MG, Hutto B, Brady LS, Herkenham M (2000) Studies of cerebrospinal fluid flow and penetration into brain following lateral ventricle and cisterna magna injections of the tracer [<sup>14</sup>C]inulin in rat. *Neuroscience* 95: 577-592.

318. Psarropoulou C, Dallaire F (1998) Activation of muscarinic receptors during blockade of GABA(A)-mediated inhibition induces synchronous epileptiform activity in immature rat hippocampus. *Neuroscience* 82: 1067-1077.
319. Pulvermuller F, Birbaumer N, Lutzenberger W, Mohr B (1997) High-frequency brain activity: its possible role in attention, perception and language processing. *Prog Neurobiol* 52: 427-445.
320. Quintero S, Mellanby J, Thompson MR, Nordeen H, Nutt D, McNaughton N, Gray JA (1985) Septal driving of hippocampal theta rhythm: role of gamma-aminobutyrate- benzodiazepine receptor complex in mediating effects of anxiolytics. *Neuroscience* 16: 875-884.
321. Rassnick S, Kornetsky C (1991) L-histidine attenuates the effects of pentazocine on rewarding brain- stimulation. *Life Sci* 48: 1729-1736.
322. Reiner PB, McGeer EG (1987) Electrophysiological properties of cortically projecting histamine neurons of the rat hypothalamus. *Neurosci Lett* 73: 43-47.
323. Reiner PB, McGeer EG (1987) Electrophysiological properties of cortically projecting histamine neurons of the rat hypothalamus. *Neurosci Lett* 73: 43-47.
324. Reiner PB, Semba K, Fibiger HC, McGeer EG (1988) Ontogeny of histidine-decarboxylase-immunoreactive neurons in the tuberomammillary nucleus of the rat hypothalamus: time of origin and development of transmitter phenotype. *J Comp Neurol* 276: 304-311.
325. Reiner PB, Kamondi A (1994) Mechanisms of antihistamine-induced sedation in the human brain: H1 receptor activation reduces a background leakage potassium current. *Neuroscience* 59: 579-588.
326. Robinson TE, Vanderwolf CH (1978) Electrical stimulation of the brain stem in freely moving rats: II. Effects on hippocampal and neocortical electrical activity, and relations to behavior. *Exp Neurol* 61: 485-515.

327. Rockland KS, Van Hoesen GW (1999) Some temporal and parietal cortical connections converge in CA1 of the primate hippocampus. *Cereb Cortex* 9: 232-237.
328. Rosat R, Da Silva RC, Zanatta MS, Medina JH, Izquierdo I (1992) Memory consolidation of a habituation task: role of N-methyl-D- aspartate, cholinergic muscarinic and GABA-A receptors in different brain regions. *Braz J Med Biol Res* 25: 267-273.
329. Rose G, Diamond D, Lynch GS (1983) Dentate granule cells in the rat hippocampal formation have the behavioral characteristics of theta neurons. *Brain Res* 266: 29-37.
330. Rose GM, Dunwiddie TV (1986) Induction of hippocampal long-term potentiation using physiologically patterned stimulation. *Neurosci Lett* 69: 244-248.
331. Ruat M, Traiffort E, Bouthenet ML, Schwartz J-C, Hirschfeld J, Buschauer A, Schunack W (1990) Reversible and irreversible labeling and autoradiographic localization of the cerebral histamine H<sub>2</sub> receptor using [125I]iodinated probes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 1658-1662.
332. Rumore MM, Schlichting DA (1985) Analgesic effects of antihistaminics. *Life Sci* 36: 403-416.
333. Sainsbury RS, Montoya CP (1984) The relationship between type 2 theta and behavior. *Physiol Behav* 33: 621-626.
334. Sainsbury RS (1998) Hippocampal theta: a sensory-inhibition theory of function. *Neurosci Biobehav Rev* 22: 237-241.
335. Sakai K, El Mansari M, Lin JS, Zhang JG, Vanni Mercier G (1990) The posterior hypothalamus in the regulation of wakefulness and paradoxical sleep. In: *The Diencephalon and Sleep* (Mancia, Marini, eds), pp 171-198. New York: Raven Press.

336. Sakai N, Onodera K, Maeyama K, Yanai K, Watanabe T (1991) Effects of thioperamide, a histamine H3 receptor antagonist, on locomotor activity and brain histamine content in mast cell-deficient W/W<sup>v</sup> mice. *Life Sci* 48: 2397-2404.
337. Sakai N, Onodera K, Maeyama K, Yanai K, Watanabe T (1992) Effects of (S)-alpha -fluoromethylhistidine and metoprine on locomotor activity and brain histamine content in mice. *Life Sci* 51: 397-405.
338. Sakai N, Sakurai A, Sakurai E, Yanai K, Maeyama K, Watanabe T (1992) Effects of the histamine H3 receptor ligands thioperamide and (R)-alpha-methylhistamine on histidine decarboxylase activity of mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun* 185: 121-126.
339. Sakai N, Sakurai E, Sakurai E, Yanai K, Mirua Y, Watanabe T (1998) Depletion of brain histamine induced by alpha-fluoromethylhistidine enhances radial maze performance in rats with modulation of brain amino acid levels. *Life Sci* 62: 989-994.
340. Sandyk R (1998) A neuromagnetic view of hippocampal memory functions. *Int J Neurosci* 93: 251-256.
341. Schlicker E, Betz R, Gothert M (1988) Histamine H3 receptor-mediated inhibition of serotonin release in the rat brain cortex. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 337: 588-590.
342. Schlicker E, Fink K, Hinterthaler M, Gothert M (1989) Inhibition of noradrenaline release in the rat brain cortex via presynaptic H3 receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 340: 633-638.
343. Schlicker E, Fink K, Detzner M, Gothert M (1993) Histamine inhibits dopamine release in the mouse striatum via presynaptic H3 receptors. *J Neural Transm Gen Sect* 93: 1-10.

344. Schlicker E, Kathmann M, Detzner M, Exner HJ, Gothert M (1994) H3 receptor-mediated inhibition of noradrenaline release: an investigation into the involvement of Ca<sup>2+</sup> and K<sup>+</sup> ions, G protein and adenylate cyclase. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 350: 34-41.
345. Schonrock B, Busselberg D, Haas HL (1991) Properties of tuberomammillary histamine neurones and their response to galanin. *Agents Actions* 33: 135-137.
346. Schunack W (1987) What are the differences between the H<sub>2</sub>-receptor antagonists? *Aliment Pharmacol Ther* 1 Suppl 1: 493S-503S.
347. Schwartz J-C, Arrang J-M, Garbarg M, Pollard H, Ruat M (1991) Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Physiol Rev* 71: 1-51.
348. Schwartz JC, Rose C, Caillens H (1973) Metabolism of methylhistamine formed through a new pathway: decarboxylation of L-3-methylhistidine. *J Pharmacol Exp Ther* 184: 766-779.
349. Schwartz JC (1975) Histamine as a transmitter in brain. *Life Sci* 17: 503-517.
350. Schwartz JC, Barbin G, Garbarg BM, Pollard H, Rose C, Verdier M (1976) Neurochemical evidence for histamine acting as a transmitter in mammalian brain. *Adv Biochem Psychopharmacol* 15: 111-126.
351. Schwartz JC, Barbin G, Duchemin AM, Garbarg M, Palacios JM, Quach TT, Rose C (1980) Histamine receptors in the brain: characterization by binding studies and biochemical effects. *Adv Biochem Psychopharmacol* 21: 169-182.
352. Schwender D, Faber-Zullig E, Fett W, Klasing S, Finsterer U, Poppel E, Peter K (1994) Mid-latency auditory evoked potentials in humans during anesthesia with S (+) ketamine--a double-blind, randomized comparison with racemic ketamine. *Anesth Analg* 78: 267-274.

353. Schwender D, Kaiser A, Klasing S, Faber-Zullig E, Golling W, Poppel E, Peter K (1994) [Anesthesia with flunitrazepam/fentanyl and isoflurane/fentanyl. Unconscious perception and mid-latency auditory evoked potentials]. *Anaesthesist* 43: 289-297.
354. Segal M (1980) Histamine produces a Ca<sup>2+</sup>-sensitive depolarization of hippocampal pyramidal cells in vitro. *Neurosci Lett* 19: 67-71.
355. Segal M (1981) Histamine modulates reactivity of hippocampal CA3 neurons to afferent stimulation in vitro. *Brain Res* 213: 443-448.
356. Segura-Torres P, Wagner U, Massanes-Rotger E, Aldavert-Vera L, Marti-Nicolovius M, Morgado-Bernal I (1996) Tuberomammillary nucleus lesion facilitates two-way active avoidance retention in rats. *Behav Brain Res* 82: 113-117.
357. Selbach O, Brown RE, Haas HL (1997) Long-term increase of hippocampal excitability by histamine and cyclic AMP. *Neuropharmacology* 36: 1539-1548.
358. Serafin M, Williams S, Khateb A, Fort P, Muhlethaler M (1996) Rhythmic firing of medial septum non-cholinergic neurons [published errata appear in *Neuroscience* 1997 Mar;77(2):611 and 1997 Jun;78(3):927- 8]. *Neuroscience* 75: 671-675.
359. Sheer DE (1984) Focused arousal, 40-Hz EEG, and dysfunction. In: *Self-Regulation of the Brain and Behavior* (Elbert T, Rockstroh W, Lutzenberger W, Birbaumer N, eds), pp 64-84. Berlin: Springer.
360. Sheng M, Thompson MA, Greenberg ME (1991) CREB: a Ca<sup>2+</sup>-regulated transcription factor phosphorylated by calmodulin-dependent kinases. *Science* 252: 1427-1430.

361. Sherin JE, Elmquist JK, Torrealba F, Saper CB (1998) Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by GABAergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. *J Neurosci* 18: 4705-4721.
362. Sik A, Penttonen M, Ylinen A, Buzsaki G (1995) Hippocampal CA1 interneurons: an in vivo intracellular labeling study. *J Neurosci* 15: 6651-6665.
363. Sillito AM, Jones HE, Gerstein GL, West DC (1994) Feature-linked synchronization of thalamic relay cell firing induced by feedback from the visual cortex [see comments]. *Nature* 369: 479-482.
364. Simerly RB, Swanson LW (1986) The organization of neural inputs to the medial preoptic nucleus of the rat. *J Comp Neurol* 246: 312-342.
365. Singer W, Gray CM (1995) Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 18: 555-586.
366. Singer W (1996) Die Entwicklung kognitiver Strukturen - ein selbstreferentieller Lernprozeß. In: *Gedächtnis: Probleme und Perspektiven der interdisziplinären Gedächtnisforschung* (Schmidt SJ, ed), 96-126. Frankfurt am Main.
367. Skaggs WE, McNaughton BL, Wilson MA, Barnes CA (1996) Theta phase precession in hippocampal neuronal populations and the compression of temporal sequences. *Hippocampus* 6: 149-172.
368. Skaggs WE, McNaughton BL (1996) Replay of neuronal firing sequences in rat hippocampus during sleep following spatial experience [see comments]. *Science* 271: 1870-1873 (b).
369. Skuza G, Rogoz Z, Zak J (1989) Effect of antidepressant drugs and different receptor antagonists on the grooming induced by the dopamine D-1 agonist SKF 38393. *Pol J Pharmacol Pharm* 41: 421-429.

370. Smith CP, Hunter AJ, Bennett GW (1994) Effects of (R)-alpha-methylhistamine and scopolamine on spatial learning in the rat assessed using a water maze. *Psychopharmacology (Berl)* 114: 651-656.
371. Soltesz I, Deschenes M (1993) Low- and high-frequency membrane potential oscillations during theta activity in CA1 and CA3 pyramidal neurons of the rat hippocampus under ketamine-xylazine anesthesia. *J Neurophysiol* 70: 97-116.
372. Sorensen KE, Witter MP (1983) Entorhinal efferents reach the caudatoputamen. *Neurosci Lett* 35: 259-264.
373. Sorensen KE (1985) The connections of the hippocampal region. New observations on efferent connections in the guinea pig, and their functional implications. *Acta Neurol Scand* 72: 550-560.
374. Soria-Jasso LE, Bahena-Trujillo R, Arias-Montano JA (1997) Histamine H1 receptors and inositol phosphate formation in rat thalamus. *Neurosci Lett* 225: 117-120.
375. Staubli U, Lynch G (1987) Stable hippocampal long-term potentiation elicited by 'theta' pattern stimulation. *Brain Res* 435: 227-234.
376. Steriade M (1993) Central core modulation of spontaneous oscillations and sensory transmission in thalamocortical systems. *Curr Opin Neurobiol* 3: 619-625.
377. Stevens DR, Kuramasu A, Haas HL (1999) GABAB-receptor-mediated control of GABAergic inhibition in rat histaminergic neurons in vitro. *Eur J Neurosci* 11: 1148-1154.
378. Storm-Mathisen J (1981) Glutamate in hippocampal pathways. *Adv Biochem Psychopharmacol* 27: 43-55.
379. Stumpf C (1965) Drug action on the electrical activity of the hippocampus. *Int Rev Neurobiol* 8: 77-138.



380. Sturrock RR (1980) A morphological lifespan study of neurolipomastocytes in various regions of the mouse forebrain. *Neuropathol Appl Neurobiol* 6: 211-219.
381. Sultzer DL, Levin HS, Mahler ME, High WM, Cummings JL (1993) A comparison of psychiatric symptoms in vascular dementia and Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry* 150: 1806-1812.
382. Sun CL, Hui FW, Hanig JP (1985) Effect of H1 blockers alone and in combination with morphine to produce antinociception in mice. *Neuropharmacology* 24: 1-4.
383. Sunami A, Tasaka K (1991) Two aspects of the excitatory influence of histamine on hippocampal neurons in guinea pigs. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 13: 85-91.
384. Suzuki SS, Smith GK (1987) Spontaneous EEG spikes in the normal hippocampus. I. Behavioral correlates, laminar profiles and bilateral synchrony. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 67: 348-359.
385. Suzuki T, Masukawa Y, Misawa M (1990) Drug interactions in the reinforcing effects of over-the-counter cough syrups. *Psychopharmacology (Berl)* 102: 438-442.
386. Swanson LW, Cowan WM (1975) Hippocampo-hypothalamic connections: origin in subicular cortex, not ammon's horn. *Science* 189: 303-304.
387. Swanson LW, Cowan WM (1977) An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J Comp Neurol* 172: 49-84.
388. Swanson LW, Sawchenko PE, Cowan WM (1980) Evidence that the commissural, associational and septal projections of the regio inferior of the hippocampus arise from the same neurons. *Brain Res* 197: 207-212.

389. Swanson LW, Sawchenko PE, Cowan WM, (a) (1981) Evidence for collateral projections by neurons in Ammon's horn, the dentate gyrus, and the subiculum: a multiple retrograde labeling study in the rat. *J Neurosci* 1: 548-559.
390. Swanson LW, (b) (1981) A direct projection from Ammon's horn to prefrontal cortex in the rat. *Brain Res* 217: 150-154.
391. Swanson LW (1982) The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Res Bull* 9: 321-353.
392. Swanson LW, Kohler C (1986) Anatomical evidence for direct projections from the entorhinal area to the entire cortical mantle in the rat. *J Neurosci* 6: 3010-3023.
393. Swanson LW, Mogenson GJ, Simerly RB, Wu M (1987) Anatomical and electrophysiological evidence for a projection from the medial preoptic area to the 'mesencephalic and subthalamic locomotor regions' in the rat. *Brain Res* 405: 108-122.
394. Tagami H, Sunami A, Akagi M, Tasaka K (1984) Effect of histamine on the hippocampal neurons in guinea-pigs. *Agents Actions* 14: 538-542.
395. Takagi H, Morishima Y, Matsuyama T, Hayashi H, Watanabe T, Wada H (1986) Histaminergic axons in the neostriatum and cerebral cortex of the rat: a correlated light and electron microscopic immunocytochemical study using histidine decarboxylase as a marker. *Brain Res* 364: 114-123.
396. Takahashi T, Forsythe ID, Tsujimoto T, Barnes Davies M, Onodera K (1996) Presynaptic calcium current modulation by a metabotropic glutamate receptor. *Science* 274: 594-597.

397. Takemura M, Kishino J, Yamatodani A, Wada H (1989) Inhibition of histamine release from rat hypothalamic slices by omega-conotoxin GVIA, but not by nilvadipine, a dihydropyridine derivative. *Brain Res* 496: 351-356.
398. Tallon-Baudry C, Bertrand O, Delpuech C, Pernier J (1997) Oscillatory gamma-band (30-70 Hz) activity induced by a visual search task in humans. *J Neurosci* 17: 722-734.
399. Tallon-Baudry C, Bertrand O, Peronnet F, Pernier J (1998) Induced gamma-band activity during the delay of a visual short-term memory task in humans. *J Neurosci* 18: 4244-4254.
400. Tamiya R, Hanada M, Narita N, Inagaki S, Tohyama M, Takagi H (1990) Histaminergic neurons receive substance P-ergic inputs in the posterior hypothalamus of the rat. *Exp Brain Res* 79: 261-265.
401. Tasaka K, Kamei C, Akahori H, Kitazumi K (1985) The effects of histamine and some related compounds on conditioned avoidance response in rats. *Life Sci* 37: 2005-2014.
402. Taylor KM, Snyder SH (1971) Histamine in rat brain: sensitive assay of endogenous levels, formation in vivo and lowering by inhibitors of histidine decarboxylase. *J Pharmacol Exp Ther* 179: 619-633.
403. Theoharides TC (1990) Mast cells: the immune gate to the brain. *Life Sci* 46: 607-617.
404. Thiel CM, Huston JP, Schwarting RK (1998) Cholinergic activation in frontal cortex and nucleus accumbens related to basic behavioral manipulations: handling, and the role of post- handling experience. *Brain Res* 812: 121-132.
405. Thorndike EL (1933) A theory of action of the aftereffects of a connection upon it. *Psychol Rev* 40: 434-439.

406. Tiitinen H, Sinkkonen J, Reinikainen K, Alho K, Lavikainen J, Naatanen R (1993) Selective attention enhances the auditory 40-Hz transient response in humans. *Nature* 364: 59-60.
407. Toth K, Freund TF (1992) Calbindin D28k-containing nonpyramidal cells in the rat hippocampus: their immunoreactivity for GABA and projection to the medial septum. *Neuroscience* 49: 793-805.
408. Toth K, Borhegyi Z, Freund TF (1993) Postsynaptic targets of GABAergic hippocampal neurons in the medial septum-diagonal band of Broca complex. *J Neurosci* 13: 3712-3724.
409. Toth K, Freund TF, Miles R (1997) Disinhibition of rat hippocampal pyramidal cells by GABAergic afferents from the septum. *J Physiol (Lond)* 500 ( Pt 2): 463-474.
410. Traiffort E, Ruat M, Arrang JM, Leurs R, Piomelli D, Schwartz JC (1992) Expression of a cloned rat histamine H<sub>2</sub> receptor mediating inhibition of arachidonate release and activation of cAMP accumulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89: 2649-2653.
411. Traiffort E, Pollard H, Moreau J, Ruat M, Schwartz JC, Martinez MM, Palacios JM (1992) Pharmacological characterization and autoradiographic localization of histamine H<sub>2</sub> receptors in human brain identified with [<sup>125</sup>I]iodoaminopotentidine. *J Neurochem* 59: 290-299.
412. Traub RD, Whittington MA, Colling SB, Buzsaki G, Jefferys JG (1996) Analysis of gamma rhythms in the rat hippocampus in vitro and in vivo. *J Physiol (Lond)* 493 ( Pt 2): 471-484.
413. Traub RD, Spruston N, Soltesz I, Konnerth A, Whittington MA, Jefferys GR (1998) Gamma-frequency oscillations: a neuronal population phenomenon, regulated by synaptic and intrinsic cellular processes, and inducing synaptic plasticity. *Prog Neurobiol* 55: 563-575.

414. Tuominen RK, Mattila J, Mannisto PT (1983) Inhibition of the TSH secretion by histamine in male rats. *Acta Endocrinol (Copenh)* 103: 88-94.
415. Tuomisto L, Eriksson L, Fyhrquist F (1980) Vasopressin release by histamine in the conscious goat. *Eur J Pharmacol* 63: 15-24.
416. Tuomisto L (1994) Regulation of feeding behavior, with special reference to histamine. *J Physiol Pharmacol* 45: 469-477 (b).
417. Tuomisto L, Yamatodani A, Jolkkonen J, Sainio EL, Airaksinen MM (1994) Inhibition of brain histamine synthesis increases food intake and attenuates vasopressin response to salt loading in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 16: 355-359 (a).
418. Valiante TA, Perez Velazquez JL, Jahromi SS, Carlen PL (1995) Coupling potentials in CA1 neurons during calcium-free-induced field burst activity. *J Neurosci* 15: 6946-6956.
419. van Groen T, Wyss JM (1990) Extrinsic projections from area CA1 of the rat hippocampus: olfactory, cortical, subcortical, and bilateral hippocampal formation projections. *J Comp Neurol* 302: 515-528.
420. Vanderwolf CH (1969) Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 26: 407-418.
421. Vanderwolf CH, Leung LW, Cooley RK (1985) Pathways through cingulate, neo- and entorhinal cortices mediate atropine-resistant hippocampal rhythmical slow activity. *Brain Res* 347: 58-73.
422. Vanderwolf CH, Baker GB (1986) Evidence that serotonin mediates non-cholinergic neocortical low voltage fast activity, non-cholinergic hippocampal rhythmical slow activity and contributes to intelligent behavior. *Brain Res* 374: 342-356.
423. Vanderwolf CH (1988) Cerebral activity and behavior: control by central cholinergic and serotonergic systems. *Int Rev Neurobiol* 30: 225-340.

424. Vinogradova OS, Kitchigina VF, Zenchenko CI (1998) Pacemaker neurons of the forebrain medial septal area and theta rhythm of the hippocampus. *Membr Cell Biol* 11: 715-725.
425. Vogt BA, Miller MW (1983) Cortical connections between rat cingulate cortex and visual, motor, and postsubicular cortices. *J Comp Neurol* 216: 192-210.
426. von Stein A, Rappelsberger P, Sarnthein J, Petsche H (1999) Synchronization between temporal and parietal cortex during multimodal object processing in man. *Cereb Cortex* 9: 137-150.
427. Vorobjev VS, Sharonova IN, Walsh IB, Haas HL (1993) Histamine potentiates N-methyl-D-aspartate responses in acutely isolated hippocampal neurons. *Neuron* 11: 837-844.
428. Wada H, Inagaki N, Yamatodani A, Watanabe T (1991) Is the histaminergic neuron system a regulatory center for whole- brain activity? *Trends Neurosci* 14: 415-418.
429. Wagner U, Segura-Torres P, Weiler T, Huston JP (1993) The tuberomammillary nucleus region as a reinforcement inhibiting substrate: facilitation of ipsihypothalamic self-stimulation by unilateral ibotenic acid lesions. *Brain Res* 613: 269-274.
430. Wainer BH, Bolam JP, Freund TF, Henderson Z, Totterdell S, Smith AD (1984) Cholinergic synapses in the rat brain: a correlated light and electron microscopic immunohistochemical study employing a monoclonal antibody against choline acetyltransferase. *Brain Res* 308: 69-76.
431. Wainer BH, Levey AI, Rye DB, Mesulam MM, Mufson EJ (1985) Cholinergic and non-cholinergic septohippocampal pathways. *Neurosci Lett* 54: 45-52.

432. Walaas I, Fonnum F (1980) Biochemical evidence for glutamate as a transmitter in hippocampal efferents to the basal forebrain and hypothalamus in the rat brain. *Neuroscience* 5: 1691-1698.
433. Watanabe T, Taguchi Y, Shiosaka S, Tanaka J, Kubota H, Terano Y, Tohyama M, Wada H (1984) Distribution of the histaminergic neuron system in the central nervous system of rats; a fluorescent immunohistochemical analysis with histidine decarboxylase as a marker. *Brain Res* 295: 13-25.
434. Wauquier A, Niemegeers CJ (1981) Effects of chlorpheniramine, pyrilamine and astemizole on intracranial self-stimulation in rats. *Eur J Pharmacol* 72: 245-248.
435. Weiger T, Stevens DR, Wunder L, Haas HL (1997) Histamine H1 receptors in C6 glial cells are coupled to calcium- dependent potassium channels via release of calcium from internal stores. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 355: 559-565.
436. Weiler HT, Hasenohrl RU, van Landeghem AA, van Landeghem M, Brankack J, Huston JP, Haas HL (1998) Differential modulation of hippocampal signal transfer by tuberomammillary nucleus stimulation in freely moving rats dependent on behavioral state. *Synapse* 28: 294-301.
437. Whishaw IQ, Kolb B (1979) Neocortical and hippocampal EEG in rats during lateral hypothalamic lesion-induced hyperkinesia: relations to behavior and effects of atropine. *Physiol Behav* 22: 1107-1113.
438. Whishaw IQ, Sutherland RJ (1982) Sparing of rhythmic slow activity (RSA or theta) in two hippocampal generators after kainic acid CA3 and CA4 lesions. *Exp Neurol* 75: 711-728.
439. White JM, Rumbold GR (1988) Behavioural effects of histamine and its antagonists: a review. *Psychopharmacology (Berl)* 95: 1-14.

440. White NM (1989) Reward or reinforcement: what's the difference? *Neurosci Biobehav Rev* 13: 181-186.
441. White T (1959) Formation and catabolism of histamine in brain tissue in vitro. *J Physiol* 149: 34-42.
442. Whittington MA, Traub RD, Jefferys JG (1995) Synchronized oscillations in interneuron networks driven by metabotropic glutamate receptor activation [see comments]. *Nature* 373: 612-615.
443. Wilson MA, McNaughton BL (1993) Dynamics of the hippocampal ensemble code for space [see comments] [published erratum appears in *Science* 1994 Apr 1;264(5155):16]. *Science* 261: 1055-1058.
444. Wouterlood FG, Sauren YM, Steinbusch HW (1986) Histaminergic neurons in the rat brain: correlative immunocytochemistry, Golgi impregnation, and electron microscopy. *J Comp Neurol* 252: 227-244.
445. Wouterlood FG, Gaykema RP (1988) Innervation of histaminergic neurons in the posterior hypothalamic region by medial preoptic neurons. Anterograde tracing with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin combined with immunocytochemistry of histidine decarboxylase in the rat. *Brain Res* 455: 170-176.
446. Wyngaarden JB, Seevers MH (1951) The toxic effects of antihistamine drugs. *J Am Med Assoc* 145: 277-283.
447. Wyss JM (1981) An autoradiographic study of the efferent connections of the entorhinal cortex in the rat. *J Comp Neurol* 199: 495-512.
448. Yamamoto J (1998) Relationship between hippocampal theta-wave frequency and emotional behaviors in rabbits produced with stresses or psychotropic drugs. *Jpn J Pharmacol* 76: 125-127.



449. Yanai K, Son LZ, Endou M, Sakurai E, Nakagawasai O, Tadano T, Kisara K, Inoue I, Watanabe T, Watanabe T (1998) Behavioural characterization and amounts of brain monoamines and their metabolites in mice lacking histamine H1 receptors. *Neuroscience* 87: 479-487.
450. Yang QZ, Hatton GI (1997) Electrophysiology of excitatory and inhibitory afferents to rat histaminergic tuberomammillary nucleus neurons from hypothalamic and forebrain sites. *Brain Res* 773: 162-172.
451. Yanovsky Y, Haas HL (1998) Histamine increases the bursting activity of pyramidal cells in the CA3 region of mouse hippocampus. *Neurosci Lett* 240: 110-112.
452. Yee F, Ericson H, Reis DJ, Wahlestedt C (1994) Cellular uptake of intracerebroventricularly administered bi. *Cell Mol Neurobiol* 14: 475-486.
453. Ylinen A, Soltesz I, Bragin A, Penttonen M, Sik A, Buzsaki G (1995) Intracellular correlates of hippocampal theta rhythm in identified pyramidal cells, granule cells, and basket cells. *Hippocampus* 5: 78-90 (a).
454. Ylinen A, Bragin A, Nadasdy Z, Jando G, Szabo I, Sik A, Buzsaki G (1995) Sharp wave-associated high-frequency oscillation (200 Hz) in the intact hippocampus: network and intracellular mechanisms. *J Neurosci* 15: 30-46 (b).
455. Yokoyama H, Onodera K, Maeyama K, Yanai K, Iinuma K, Tuomisto L, Watanabe T (1992) Histamine levels and clonic convulsions of electrically-induced seizure in mice: the effects of alpha-fluoromethylhistidine and metoprine. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 346: 40-45.
456. Yokoyama H, Iinuma K, Yanai K, Watanabe T, Sakurai E, Onodera K (1993) Proconvulsant effect of ketotifen, a histamine H1 antagonist, confirmed by the use of d-chlorpheniramine with monitoring electroencephalography. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 15: 183-188.

457. Yokoyama H, Onodera K, Iinuma K, Watanabe T (1993) Proconvulsive effects of histamine H1-antagonists on electrically- induced seizure in developing mice. *Psychopharmacology (Berl)* 112: 199-203.
458. Yokoyama H, Onodera K, Iinuma K, Watanabe T (1993) Effect of thioperamide, a histamine H3 receptor antagonist, on electrically induced convulsions in mice. *Eur J Pharmacol* 234: 129-133.
459. Yokoyama H, Onodera K, Maeyama K, Sakurai E, Iinuma K, Leurs R, Timmerman H, Watanabe T (1994) Clobenpropit (VUF-9153), a new histamine H3 receptor antagonist, inhibits electrically induced convulsions in mice. *Eur J Pharmacol* 260: 23-28.
460. Yokoyama H, Sato M, Iinuma K, Onodera K, Watanabe T (1996) Centrally acting histamine H1 antagonists promote the development of amygdala kindling in rats. *Neurosci Lett* 217: 194-196.
461. Yoshimatsu H, Machidori H, Doi T, Kurokawa M, Ookuma K, Kang M, Fujimoto K, Sakata T (1993) Abnormalities in obese Zucker rats: defective control of histaminergic functions. *Physiol Behav* 54: 487-491.
462. Young GB, Boyd D, Kreeft J (1988) Dimenhydrinate: evidence for dependence and tolerance. *CMAJ* 138: 437-438.
463. Zimmermann, P. K. (1998) Modulation von Verstärkungs- und Gedächtnisprozessen nach intrakranieller Applikation histaminergischer Antagonisten in *Rattus norvegicus*. *Physiologische Psychologie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Dissertation)*.
464. Zoli M, Torri C, Ferrari R, Jansson A, Zini I, Fuxe K, Agnati LF (1998) The emergence of the volume transmission concept. *Brain Res Brain Res Rev* 26: 136-147.

## Anhang

Tab. I: Anzahl der ripples pro Minute während der definierten Verhaltensweisen Lokomotion (LOCO), Aufrichten (REAR), Putzen (GROOM), Schnüffeln (SNIFF), Ruhe (REST) in der Baselineerhebung

Tab. II: Baselineerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (BSAL) und der Drogengruppen von Histamin (BHA0.2; BHA1.0) pro 10-min-Intervall innerhalb der ersten Stunde

Tab. III: Experimentaldatenerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (SAL) und der Drogengruppen von Histamin (HA0.2; HA1.0) pro 10-min-Intervall innerhalb der zweiten Stunde

Tab. IV: Baselineerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (BSAL) und der Drogengruppen von Pyrilamine (BPY0.1; BPY0.5; BPY2.0) pro 10-min-Intervall innerhalb der ersten Stunde

Tab. V: Experimentaldatenerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (SAL) und der Drogengruppen von Pyrilamine (PY0.1; PY0.5; PY2.0) pro 10-min-Intervall innerhalb der zweiten Stunde

Tab. VI: Baselineerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (BSAL) und der Drogengruppen von Ketotifen (BKE0.5; BKE2.0) pro 10-min-Intervall innerhalb der ersten Stunde

Tab. VII: Experimentaldatenerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (SAL) und der Drogengruppen von Ketotifen (KE0.5; KE2.0) pro 10-min-Intervall innerhalb der zweiten Stunde

Tab. VIII: Baselineerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (BSAL) und der Drogengruppen von Cimetidine (BCi1.0; BCi5.0) pro 10-min-Intervall innerhalb der ersten Stunde

- Tab. IX: Experimentaldatenerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (SAL) und der Drogengruppen von Cimetidine (Ci1.0; Ci5.0) pro 10-min-Intervall innerhalb der zweiten Stunde
- Tab. X: Baselineerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (BSAL) und der Drogengruppen von Thioperamide (BTH2.0; BTH10) pro 10-min-Intervall innerhalb der ersten Stunde
- Tab. XI: Experimentaldatenerhebung der ripple-Anzahl für die Versuchstiere der Salinegruppe (SAL) und der Drogengruppen von Thioperamide (TH2.0; TH10) pro 10-min-Intervall innerhalb der zweiten Stunde
- Tab. XII: P-Werte der Baselineerhebung aus dem Vergleich der ripple-Anzahl von der Salinegruppe (BSAL) und den Drogengruppen von Histamin (BHA0.2; BHA1.0), Pyrilamine (BPY0.1; BPY0.5; BPY2.0), Ketotifen (BKE0.5; BKE2.0), Cimetidine (BCi1.0; BCi5.0) und Thioperamide (BTH2.0; BTH10) pro 10-min-Intervall innerhalb der ersten Stunde
- Tab. XIII: P-Werte der Experimentalerhebung aus dem Vergleich der ripple-Anzahl von der Salinegruppe (SAL) und den Drogengruppen von Histamin (HA0.2; HA1.0), Pyrilamine (PY0.1; PY0.5; PY2.0), Ketotifen (KE0.5; KE2.0), Cimetidine (Ci1.0; Ci5.0) und Thioperamide (TH2.0; TH10) pro 10-min-Intervall innerhalb der zweiten Stunde

Tab. XIV a – XVIII b: Dauer des Ruheverhaltens in Sekunden für die Versuchstiere der Salinegruppe und der Drogengruppen von Histamin, Pyrilamine, Ketotifen, Cimetidine und Thioperamide pro 10-min-Intervall. Die Daten der ersten Stunde Baselineerhebung sind in Tab. XIV a (BSAL; BHA0.2; BHA1.0), in Tab. XV a (BSAL; BPY 0.1; BPY0.5; BPY2.0), in Tab. XVI a (BSAL; BKE0.5; BKE2.0), in Tab. XVII a (BSAL; BCi1.0; BCi5.0) und in Tab. XIII a (BSAL; BTH2.0; BTH10) dargestellt. Die Daten der zweiten Stunde Experimentalerhebung sind in Tab. XIV b (SAL; HA0.2; HA1.0), in Tab. XV b (SAL; PY 0.1; PY0.5; PY2.0), in Tab. XVI b (SAL; KE0.5; KE2.0), in Tab. XVIIb (SAL; Ci1.0; Ci5.0) und in Tab XIII b (SAL; TH2.0; TH10) dargestellt.

Tab. IXX a – XXIII b: Dauer der Lokomotion in Sekunden für die Versuchstiere der Salinegruppe und der Drogengruppen von Histamin, Pyrilamine, Ketotifen, Cimetidine und Thioperamide pro 10-min-Intervall. Die Daten der ersten Stunde Baselineerhebung sind in Tab. IXX a (BSAL; BHA0.2; BHA1.0), in Tab. XX a (BSAL; BPY 0.1; BPY0.5; BPY2.0), in Tab. XXI a (BSAL; BKE0.5; BKE2.0), in Tab. XXII a (BSAL; BCi1.0; BCi5.0) und in Tab. XXIII a (BSAL; BTH2.0; BTH10) dargestellt. Die Daten der zweiten Stunde Experimentalerhebung sind in Tab. IXX b (SAL; HA0.2; HA1.0), in Tab. XX b (SAL; PY 0.1; PY0.5; PY2.0), in Tab. XXI b (SAL; KE0.5; KE2.0), in Tab. XXIIb (SAL; Ci1.0; Ci5.0) und in Tab XXIII b (SAL; TH2.0; TH10) dargestellt.

Tab. XXIV a – XXVIII b: Dauer des Aufrichtens in Sekunden für die Versuchstiere der Salinegruppe und der Drogengruppen von Histamin, Pyrilamine, Ketotifen, Cimetidine und Thioperamide pro 10-min-Intervall. Die Daten der ersten Stunde Baselineerhebung sind in Tab. XXIV a (BSAL; BHA0.2; BHA1.0), in Tab. XXV a (BSAL; BPY 0.1; BPY0.5; BPY2.0), in Tab. XXVI a (BSAL; BKE0.5; BKE2.0), in Tab. XXVII a (BSAL; BCi1.0; BCi5.0) und in Tab. XXVIII a (BSAL; BTH2.0; BTH10) dargestellt. Die Daten der zweiten Stunde Experimentalerhebung sind in Tab. XXIV b (SAL; HA0.2; HA1.0), in Tab. XXV b (SAL; PY 0.1; PY0.5; PY2.0), in Tab. XXVI b (SAL; KE0.5; KE2.0), in Tab. XXVII b (SAL; Ci1.0; Ci5.0) und in Tab. XXVIII b (SAL; TH2.0; TH10) dargestellt.

Tab. XXIX a – XXXIII b: Dauer des Putzens in Sekunden für die Versuchstiere der Salinegruppe und der Drogengruppen von Histamin, Pyrilamine, Ketotifen, Cimetidine und Thioperamide pro 10-min-Intervall. Die Daten der ersten Stunde Baselineerhebung sind in Tab. XXIX a (BSAL; BHA0.2; BHA1.0), in Tab. XXX a (BSAL; BPY 0.1; BPY0.5; BPY2.0), in Tab. XXXI a (BSAL; BKE0.5; BKE2.0), in Tab. XXXII a (BSAL; BCi1.0; BCi5.0) und in Tab. XXXIII a (BSAL; BTH2.0; BTH10) dargestellt. Die Daten der zweiten Stunde Experimentalerhebung sind in Tab. XXIXb (SAL; HA0.2; HA1.0), in Tab. XXXb (SAL; PY 0.1; PY0.5; PY2.0), in Tab. XXXI b (SAL; KE0.5; KE2.0), in Tab. XXXII b (SAL; Ci1.0; Ci5.0) und in Tab. XXXIII b (SAL; TH2.0; TH10) dargestellt.

Tab. XXXIV a – XXXVIII b: Dauer des Schnüffelns in Sekunden für die Versuchstiere der Salinegruppe und der Drogengruppen von Histamin, Pylamine, Ketotifen, Cimetidine und Thioperamide pro 10-min-Intervall. Die Daten der ersten Stunde Baselineerhebung sind in Tab. XXXIV a (BSAL; BHA0.2; BHA1.0), in Tab. XXXV a (BSAL; BPY 0.1; BPY0.5; BPY2.0), in Tab. XXXVI a (BSAL; BKE0.5; BKE2.0), in Tab. XXXVII a (BSAL; BCi1.0; BCi5.0) und in Tab. XXXVIII a (BSAL; BTH2.0; BTH10) dargestellt. Die Daten der zweiten Stunde Experimentalerhebung sind in Tab. XXXIV b (SAL; HA0.2; HA1.0), in Tab. XXXV b (SAL; PY 0.1; PY0.5; PY2.0), in Tab. XXXVI b (SAL; KE0.5; KE2.0), in Tab. XXXVII b (SAL; Ci1.0; Ci5.0) und in Tab. XXXVIII b (SAL; TH2.0; TH10) dargestellt.

Tab. I:

| <b>LOCO</b> | <b>REAR</b> | <b>GROOM</b> | <b>SNIFF</b> | <b>REST</b> |
|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| 0,00        | 0,84        | 1,31         | 1,86         | 3,52        |
| 0,50        | 0,00        | 0,69         | 2,78         | 5,51        |
| 0,00        | 0,00        | 2,13         | 5,35         | 8,95        |
| 0,00        | 0,00        | 0,00         | 0,68         | 4,11        |
| 0,00        | 0,00        | 0,60         | 1,39         | 6,65        |
| 0,00        | 0,58        | 0,72         | 1,04         | 4,36        |
| 0,00        | 0,00        | 1,21         | 3,25         | 7,89        |
| 0,58        | 0,00        | 3,92         | 4,82         | 7,78        |
| 0,00        | 0,00        | 1,30         | 2,50         | 8,83        |
| 0,00        | 0,00        | 0,00         | 0,30         | 5,90        |
| 0,00        | 5,26        | 0,92         | 3,25         | 4,52        |
| 0,00        | 0,00        | 0,23         | 1,97         | 4,51        |
| 0,00        | 0,00        | 0,00         | 1,55         | 4,42        |
| 0,00        | 0,00        | 0,00         | 4,72         | 9,11        |
| 0,00        | 0,00        | 0,41         | 3,39         | 5,76        |
| 1,58        | 0,00        | 1,66         | 0,74         | 5,66        |
| 2,74        | 1,49        | 3,04         | 2,81         | 6,50        |
| 0,00        | 0,00        | 0,00         | 1,28         | 3,36        |
| 0,00        | 0,00        | 1,57         | 2,77         | 1,90        |
| 0,00        | 0,00        | 0,19         | 1,64         | 8,12        |
| 0,00        | 0,00        | 0,90         | 1,23         | 3,98        |
| 0,00        | 3,27        | 0,72         | 1,30         | 3,98        |
| 0,00        | 0,64        | 0,47         | 1,09         | 1,96        |
| 0,00        | 0,00        | 0,00         | 0,08         | 1,12        |
| 0,00        | 0,00        | 0,00         | 3,87         | 3,42        |
| 0,00        | 0,00        | 1,77         | 2,25         | 2,35        |
| 0,00        | 0,00        | 1,52         | 1,77         | 9,92        |
| 0,00        | 0,00        | 0,62         | 1,82         | 3,89        |
| 0,00        | 0,00        | 2,19         | 1,74         | 3,42        |
| 0,00        | 0,00        | 1,98         | 2,88         | 3,76        |
| 0,00        | 0,56        | 0,88         | 1,45         | 3,45        |
| 0,00        | 0,00        | 0,99         | 1,89         | 5,41        |
| 0,00        | 0,00        | 0,38         | 1,72         | 5,47        |
| 0,00        | 0,00        | 3,06         | 2,54         | 5,58        |
| 0,00        | 0,62        | 0,00         | 0,96         | 4,90        |
| 0,00        | 0,00        | 0,33         | 1,72         | 3,69        |
| 0,00        | 0,00        | 0,00         | 5,62         | 5,04        |
| 0,00        | 0,00        | 0,73         | 0,93         | 3,20        |
| 0,00        | 0,00        | 0,98         | 0,86         | 3,80        |
| 0,00        | 0,00        | 3,12         | 2,04         | 4,47        |
| 0,00        | 0,00        | 1,97         | 1,56         | 1,99        |
| 0,00        | 0,00        | 4,89         | 1,40         | 7,88        |
| 0,00        | 1,14        | 12,55        | 3,14         | 3,78        |
| 0,00        | 0,00        | 0,49         | 0,66         | 4,38        |
| 0,00        | 0,00        | 1,00         | 4,14         | 5,75        |
| 0,00        | 0,00        | 4,53         | 2,18         | 5,38        |
| 0,00        | 0,00        | 3,26         | 4,29         | 4,26        |
| 0,00        | 5,33        | 1,49         | 0,49         | 5,56        |



**Tab. II:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 36        | 73        | 58        | 58        | 57        | 38        |
| BSAL           | 56        | 50        | 44        | 25        | 29        | 38        |
| BSAL           | 25        | 31        | 34        | 34        | 15        | 50        |
| BSAL           | 50        | 61        | 58        | 45        | 42        | 35        |
| BSAL           | 25        | 39        | 23        | 17        | 10        | 18        |
| BSAL           | 39        | 29        | 30        | 7         | 30        | 35        |
| BHA0.2         | 46        | 35        | 37        | 48        | 33        | 40        |
| BHA0.2         | 23        | 25        | 23        | 14        | 15        | 16        |
| BHA0.2         | 40        | 61        | 57        | 60        | 57        | 42        |
| BHA0.2         | 40        | 34        | 33        | 36        | 41        | 40        |
| BHA0.2         | 61        | 49        | 29        | 49        | 45        | 52        |
| BHA0.2         | 48        | 36        | 36        | 34        | 43        | 39        |
| BHA1.0         | 27        | 25        | 21        | 23        | 29        | 38        |
| BHA1.0         | 32        | 41        | 39        | 36        | 36        | 39        |
| BHA1.0         | 57        | 43        | 46        | 62        | 52        | 49        |
| BHA1.0         | 33        | 38        | 34        | 41        | 37        | 34        |
| BHA1.0         | 38        | 33        | 43        | 48        | 47        | 44        |
| BHA1.0         | 48        | 47        | 50        | 37        | 54        | 55        |

**Tab.III:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 43        | 53        | 42        | 59         | 56         | 49         |
| SAL            | 39        | 32        | 38        | 27         | 35         | 49         |
| SAL            | 52        | 50        | 44        | 22         | 48         | 31         |
| SAL            | 26        | 25        | 31        | 36         | 54         | 34         |
| SAL            | 28        | 30        | 19        | 23         | 21         | 11         |
| SAL            | 24        | 28        | 23        | 24         | 15         | 16         |
| HA0.2          | 39        | 30        | 23        | 35         | 31         | 41         |
| HA0.2          | 33        | 21        | 31        | 48         | 41         | 21         |
| HA0.2          | 63        | 24        | 36        | 56         | 58         | 48         |
| HA0.2          | 27        | 24        | 26        | 24         | 22         | 42         |
| HA0.2          | 30        | 22        | 22        | 27         | 28         | 29         |
| HA0.2          | 45        | 21        | 27        | 21         | 38         | 49         |
| HA1.0          | 18        | 14        | 10        | 11         | 12         | 17         |
| HA1.0          | 14        | 22        | 15        | 11         | 14         | 17         |
| HA1.0          | 48        | 24        | 20        | 30         | 45         | 37         |
| HA1.0          | 45        | 17        | 26        | 38         | 35         | 32         |
| HA1.0          | 30        | 24        | 18        | 26         | 28         | 30         |
| HA1.0          | 21        | 22        | 26        | 30         | 34         | 45         |

Tab. IV:

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 36        | 73        | 58        | 58        | 57        | 38        |
| BSAL           | 56        | 50        | 44        | 25        | 29        | 38        |
| BSAL           | 25        | 31        | 34        | 34        | 15        | 50        |
| BSAL           | 50        | 61        | 58        | 45        | 42        | 35        |
| BSAL           | 25        | 39        | 23        | 17        | 10        | 18        |
| BSAL           | 39        | 29        | 30        | 7         | 30        | 35        |
| BPY0.1         | 55        | 33        | 39        | 22        | 31        | 31        |
| BPY0.1         | 54        | 26        | 36        | 31        | 28        | 45        |
| BPY0.1         | 40        | 59        | 46        | 42        | 43        | 57        |
| BPY0.1         | 37        | 31        | 47        | 33        | 48        | 28        |
| BPY0.1         | 25        | 32        | 27        | 36        | 38        | 38        |
| BPY0.1         | 37        | 34        | 45        | 51        | 43        | 32        |
| BPY0.5         | 75        | 43        | 48        | 41        | 58        | 36        |
| BPY0.5         | 42        | 51        | 37        | 28        | 42        | 52        |
| BPY0.5         | 40        | 41        | 34        | 47        | 27        | 24        |
| BPY0.5         | 20        | 34        | 25        | 35        | 29        | 40        |
| BPY0.5         | 46        | 35        | 35        | 27        | 23        | 34        |
| BPY0.5         | 37        | 34        | 31        | 24        | 27        | 34        |
| BPY2.0         | 46        | 47        | 59        | 38        | 37        | 51        |
| BPY2.0         | 34        | 39        | 34        | 49        | 39        | 33        |
| BPY2.0         | 45        | 58        | 52        | 48        | 28        | 49        |
| BPY2.0         | 22        | 27        | 23        | 22        | 22        | 22        |
| BPY2.0         | 65        | 62        | 72        | 98        | 88        | 76        |
| BPY2.0         | 49        | 70        | 72        | 59        | 76        | 62        |

Tab. V:

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 43        | 53        | 42        | 59         | 56         | 49         |
| SAL            | 39        | 32        | 38        | 27         | 35         | 49         |
| SAL            | 52        | 50        | 44        | 22         | 48         | 31         |
| SAL            | 26        | 25        | 31        | 36         | 54         | 34         |
| SAL            | 28        | 30        | 19        | 23         | 21         | 11         |
| SAL            | 24        | 28        | 23        | 24         | 15         | 16         |
| PY0.1          | 39        | 39        | 43        | 40         | 35         | 30         |
| PY0.1          | 39        | 30        | 40        | 44         | 35         | 30         |
| PY0.1          | 76        | 79        | 64        | 54         | 61         | 41         |
| PY0.1          | 41        | 52        | 49        | 39         | 39         | 36         |
| PY0.1          | 49        | 58        | 57        | 44         | 39         | 64         |
| PY0.1          | 36        | 38        | 49        | 41         | 45         | 39         |
| PY0.5          | 94        | 123       | 153       | 131        | 137        | 118        |
| PY0.5          | 59        | 74        | 87        | 46         | 41         | 40         |
| PY0.5          | 44        | 63        | 89        | 87         | 87         | 54         |
| PY0.5          | 45        | 81        | 53        | 66         | 41         | 50         |
| PY0.5          | 55        | 68        | 78        | 53         | 83         | 50         |
| PY0.5          | 51        | 56        | 62        | 46         | 33         | 33         |
| PY2.0          | 41        | 70        | 73        | 49         | 38         | 48         |
| PY2.0          | 116       | 173       | 171       | 124        | 83         | 77         |
| PY2.0          | 80        | 107       | 93        | 92         | 95         | 86         |
| PY2.0          | 67        | 95        | 97        | 104        | 104        | 93         |
| PY2.0          | 153       | 122       | 108       | 91         | 129        | 103        |
| PY2.0          | 102       | 94        | 94        | 111        | 102        | 68         |

Tab. VI:

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 36        | 73        | 58        | 58        | 57        | 38        |
| BSAL           | 56        | 50        | 44        | 25        | 29        | 38        |
| BSAL           | 25        | 31        | 34        | 34        | 15        | 50        |
| BSAL           | 50        | 61        | 58        | 45        | 42        | 35        |
| BSAL           | 25        | 39        | 23        | 17        | 10        | 18        |
| BSAL           | 39        | 29        | 30        | 7         | 30        | 35        |
| BKE0.5         | 43        | 74        | 65        | 85        | 82        | 85        |
| BKE0.5         | 30        | 39        | 45        | 45        | 34        | 48        |
| BKE0.5         | 13        | 5         | 7         | 9         | 7         | 11        |
| BKE0.5         | 84        | 60        | 61        | 48        | 66        | 40        |
| BKE0.5         | 33        | 26        | 20        | 26        | 40        | 31        |
| BKE0.5         | 30        | 34        | 41        | 27        | 36        | 39        |
| BKE2.0         | 51        | 41        | 59        | 74        | 58        | 54        |
| BKE2.0         | 38        | 43        | 35        | 23        | 26        | 29        |
| BKE2.0         | 16        | 27        | 29        | 20        | 12        | 11        |
| BKE2.0         | 32        | 36        | 23        | 24        | 32        | 32        |
| BKE2.0         | 34        | 44        | 29        | 37        | 24        | 43        |
| BKE2.0         | 39        | 37        | 44        | 55        | 41        | 35        |

Tab. VII:

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 43        | 53        | 42        | 59         | 56         | 49         |
| SAL            | 39        | 32        | 38        | 27         | 35         | 49         |
| SAL            | 52        | 50        | 44        | 22         | 48         | 31         |
| SAL            | 26        | 25        | 31        | 36         | 54         | 34         |
| SAL            | 28        | 30        | 19        | 23         | 21         | 11         |
| SAL            | 24        | 28        | 23        | 24         | 15         | 16         |
| KE0.5          | 103       | 117       | 106       | 110        | 117        | 139        |
| KE0.5          | 74        | 59        | 80        | 75         | 41         | 45         |
| KE0.5          | 27        | 49        | 24        | 29         | 17         | 15         |
| KE0.5          | 39        | 45        | 46        | 48         | 53         | 46         |
| KE0.5          | 43        | 52        | 33        | 52         | 42         | 32         |
| KE0.5          | 68        | 78        | 57        | 47         | 70         | 26         |
| KE2.0          | 81        | 132       | 118       | 79         | 98         | 83         |
| KE2.0          | 57        | 60        | 81        | 79         | 50         | 51         |
| KE2.0          | 37        | 47        | 53        | 56         | 30         | 26         |
| KE2.0          | 42        | 67        | 84        | 92         | 50         | 62         |
| KE2.0          | 74        | 83        | 52        | 47         | 52         | 62         |
| KE2.0          | 55        | 102       | 81        | 78         | 80         | 90         |

**Tab. VIII:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 36        | 73        | 58        | 58        | 57        | 38        |
| BSAL           | 56        | 50        | 44        | 25        | 29        | 38        |
| BSAL           | 25        | 31        | 34        | 34        | 15        | 50        |
| BSAL           | 50        | 61        | 58        | 45        | 42        | 35        |
| BSAL           | 25        | 39        | 23        | 17        | 10        | 18        |
| BSAL           | 39        | 29        | 30        | 7         | 30        | 35        |
| BCi1.0         | 36        | 26        | 46        | 52        | 41        | 56        |
| BCi1.0         | 14        | 17        | 10        | 43        | 41        | 47        |
| BCi1.0         | 77        | 100       | 95        | 75        | 69        | 57        |
| BCi1.0         | 35        | 49        | 90        | 65        | 51        | 34        |
| BCi1.0         | 16        | 35        | 21        | 20        | 27        | 21        |
| BCi1.0         | 18        | 24        | 27        | 25        | 22        | 22        |
| BCi5.0         | 33        | 36        | 25        | 27        | 28        | 41        |
| BCi5.0         | 97        | 64        | 83        | 64        | 77        | 80        |
| BCi5.0         | 18        | 29        | 14        | 16        | 36        | 12        |
| BCi5.0         | 7         | 13        | 12        | 23        | 29        | 9         |
| BCi5.0         | 36        | 46        | 39        | 27        | 23        | 35        |
| BCi5.0         | 29        | 32        | 26        | 24        | 29        | 27        |

**Tab. IX:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 43        | 53        | 42        | 59         | 56         | 49         |
| SAL            | 39        | 32        | 38        | 27         | 35         | 49         |
| SAL            | 52        | 50        | 44        | 22         | 48         | 31         |
| SAL            | 26        | 25        | 31        | 36         | 54         | 34         |
| SAL            | 28        | 30        | 19        | 23         | 21         | 11         |
| SAL            | 24        | 28        | 23        | 24         | 15         | 16         |
| Ci1.0          | 18        | 47        | 29        | 21         | 41         | 13         |
| Ci1.0          | 56        | 42        | 47        | 18         | 46         | 34         |
| Ci1.0          | 80        | 86        | 73        | 62         | 61         | 63         |
| Ci1.0          | 54        | 49        | 74        | 82         | 68         | 27         |
| Ci1.0          | 17        | 10        | 10        | 7          | 9          | 39         |
| Ci1.0          | 33        | 23        | 23        | 20         | 22         | 18         |
| Ci5.0          | 60        | 53        | 46        | 22         | 22         | 33         |
| Ci5.0          | 60        | 62        | 61        | 86         | 92         | 65         |
| Ci5.0          | 10        | 8         | 15        | 17         | 17         | 15         |
| Ci5.0          | 18        | 16        | 15        | 14         | 11         | 13         |
| Ci5.0          | 39        | 35        | 34        | 28         | 47         | 39         |
| Ci5.0          | 28        | 26        | 26        | 25         | 28         | 25         |

**Tab. X:**

| <b>V.TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL          | 36        | 73        | 58        | 58        | 57        | 38        |
| BSAL          | 56        | 50        | 44        | 25        | 29        | 38        |
| BSAL          | 25        | 31        | 34        | 34        | 15        | 50        |
| BSAL          | 50        | 61        | 58        | 45        | 42        | 35        |
| BSAL          | 25        | 39        | 23        | 17        | 10        | 18        |
| BSAL          | 39        | 29        | 30        | 7         | 30        | 35        |
| BTH2.0        | 38        | 39        | 26        | 55        | 27        | 55        |
| BTH2.0        | 45        | 27        | 39        | 65        | 73        | 58        |
| BTH2.0        | 38        | 43        | 53        | 42        | 48        | 61        |
| BTH2.0        | 32        | 25        | 26        | 19        | 35        | 36        |
| BTH2.0        | 46        | 36        | 27        | 34        | 43        | 24        |
| BTH10         | 57        | 87        | 72        | 60        | 55        | 48        |
| BTH10         | 19        | 24        | 16        | 15        | 28        | 24        |
| BTH10         | 36        | 32        | 10        | 19        | 50        | 26        |
| BTH10         | 6         | 10        | 10        | 6         | 10        | 8         |
| BTH10         | 44        | 60        | 49        | 38        | 58        | 44        |

**Tab. XI:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 43        | 53        | 42        | 59         | 56         | 49         |
| SAL            | 39        | 32        | 38        | 27         | 35         | 49         |
| SAL            | 52        | 50        | 44        | 22         | 48         | 31         |
| SAL            | 26        | 25        | 31        | 36         | 54         | 34         |
| SAL            | 28        | 30        | 19        | 23         | 21         | 11         |
| SAL            | 24        | 28        | 23        | 24         | 15         | 16         |
| TH2.0          | 16        | 51        | 48        | 37         | 24         | 44         |
| TH2.0          | 66        | 45        | 32        | 58         | 37         | 45         |
| TH2.0          | 41        | 20        | 28        | 23         | 31         | 30         |
| TH2.0          | 34        | 30        | 31        | 29         | 27         | 34         |
| TH2.0          | 58        | 48        | 44        | 28         | 47         | 69         |
| TH10           | 48        | 39        | 56        | 45         | 44         | 40         |
| TH10           | 15        | 34        | 21        | 15         | 19         | 23         |
| TH10           | 27        | 15        | 30        | 37         | 40         | 13         |
| TH10           | 6         | 10        | 70        | 11         | 8          | 7          |
| TH10           | 37        | 47        | 44        | 51         | 45         | 37         |

## P-Werte

Tab. XII:

| <b>V.-Gruppe</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BHA0.2           | 0.59      | 0.49      | 0.49      | 0.31      | 0.31      | 0.24      |
| BHA1.0           | 0.94      | 0.49      | 0.82      | 0.31      | 0.24      | 0.24      |
| BPY0.1           | 0.69      | 0.31      | 0.94      | 0.69      | 0.31      | 1.00      |
| BPY0.5           | 0.69      | 0.82      | 0.69      | 0.69      | 0.94      | 0.94      |
| BPY2.0           | 0.82      | 0.82      | 0.31      | 0.13      | 0.39      | 0.31      |
| BKE0.5           | 0.82      | 0.59      | 0.94      | 0.49      | 0.39      | 0.59      |
| BKE2.0           | 0.69      | 0.49      | 0.69      | 0.69      | 0.94      | 0.69      |
| BCi1.0           | 0.24      | 0.31      | 0.94      | 0.24      | 0.49      | 0.82      |
| BCi5.0           | 0.39      | 0.39      | 0.31      | 0.94      | 0.94      | 0.59      |
| BTH2.0           | 0.93      | 0.18      | 0.43      | 0.33      | 0.25      | 0.25      |
| BTH10            | 0.66      | 0.66      | 0.43      | 0.79      | 0.54      | 0.66      |

Tab. XIII:

| <b>V.-Gruppe</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|------------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| HA.02            | 0.59      | 0.01      | 0.39      | 0.94       | 1.00       | 0.82       |
| HA1.0            | 0.49      | 0.002     | 0.04      | 0.82       | 0.24       | 0.94       |
| PY0.1            | 0.31      | 0.13      | 0.02      | 0.07       | 0.82       | 0.59       |
| PY0.5            | 0.02      | 0.002     | 0.002     | 0.02       | 0.24       | 0.04       |
| PY2.0            | 0.01      | 0.002     | 0.002     | 0.004      | 0.02       | 0.01       |
| KE0.5            | 0.18      | 0.04      | 0.09      | 0.04       | 0.49       | 0.82       |
| KE2.0            | 0.04      | 0.01      | 0.002     | 0.01       | 0.24       | 0.03       |
| Ci1.0            | 0.69      | 1.00      | 0.59      | 0.39       | 0.82       | 0.94       |
| Ci5.0            | 1.00      | 0.94      | 0.94      | 0.59       | 0.59       | 0.94       |
| TH2.0            | 0.54      | 0.93      | 0.54      | 0.43       | 0.66       | 0.43       |
| TH10             | 0.43      | 0.66      | 0.43      | 1.00       | 0.43       | 0.54       |

## Ruheverhalten (Tab. XIV a – XVIII b)

Tab. XIV a:

| V.-TIER | 10     | 20     | 30     | 40     | 50     | 60     |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| BSAL    | 371,29 | 494,19 | 571,11 | 582,72 | 596,29 | 447,01 |
| BSAL    | 484,81 | 509,88 | 519,58 | 558,01 | 574,08 | 196,28 |
| BSAL    | 222,11 | 531,54 | 554    | 568,9  | 576,74 | 295,33 |
| BSAL    | 146,02 | 137,11 | 570,61 | 591,97 | 585,7  | 598,29 |
| BSAL    | 125,99 | 395,72 | 392,11 | 537,6  | 285,41 | 286,22 |
| BSAL    | 484,99 | 545,39 | 535,32 | 25,67  | 298,37 | 540,83 |
| BHA0.2  | 504,91 | 358,94 | 237,76 | 574,46 | 585,69 | 567,77 |
| BHA0.2  | 425,46 | 583,25 | 564,05 | 576,69 | 566,46 | 425,6  |
| BHA0.2  | 207,23 | 469,33 | 457,17 | 262,09 | 223,15 | 483,2  |
| BHA0.2  | 540,74 | 548,91 | 594,4  | 580,83 | 285,79 | 167,09 |
| BHA0.2  | 268,66 | 319,28 | 362,97 | 272    | 421,95 | 516,2  |
| BHA0.2  | 566,15 | 457,63 | 540,76 | 444,17 | 575,67 | 594,68 |
| BHA1.0  | 373,23 | 438,43 | 545,43 | 503,35 | 571,52 | 596,06 |
| BHA1.0  | 411,42 | 587,06 | 590,78 | 599,76 | 569,99 | 571,18 |
| BHA1.0  | 242,72 | 212,47 | 581,74 | 552,49 | 600    | 585,98 |
| BHA1.0  | 260,83 | 153,27 | 282,4  | 600    | 15,74  | 149,81 |
| BHA1.0  | 441,58 | 597,48 | 585,16 | 393,56 | 545,94 | 531,64 |
| BHA1.0  | 439,9  | 389,57 | 588,78 | 419,11 | 499,85 | 600    |

Tab. XIV b:

| V.-TIER | 70     | 80     | 90     | 100    | 110    | 120    |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| SAL     | 246,29 | 600    | 558,37 | 293,23 | 515,23 | 593,21 |
| SAL     | 504,81 | 456,28 | 290,93 | 568,27 | 327,5  | 316,86 |
| SAL     | 181,22 | 573,12 | 586,86 | 442,1  | 479,49 | 560,06 |
| SAL     | 150,23 | 547,86 | 569,7  | 496,65 | 551,61 | 533,04 |
| SAL     | 333,85 | 578,39 | 416,01 | 580,1  | 581,37 | 573,08 |
| SAL     | 425,46 | 583,25 | 564,05 | 576,69 | 566,46 | 425,6  |
| HA0.2   | 572,53 | 530,71 | 536,61 | 572,39 | 563,63 | 564,7  |
| HA0.2   | 535,93 | 572,46 | 182,77 | 569,95 | 578,41 | 573,58 |
| HA0.2   | 338,63 | 237,34 | 473,87 | 579,66 | 587,04 | 592,3  |
| HA0.2   | 438,65 | 575,69 | 584,18 | 594,2  | 586,05 | 590,32 |
| HA0.2   | 408,7  | 446,36 | 474,44 | 574,01 | 578,94 | 581,79 |
| HA0.2   | 126,96 | 278,37 | 563,12 | 549,54 | 573,9  | 589,79 |
| HA1.0   | 329,91 | 579,7  | 573,64 | 599,44 | 584,06 | 369,36 |
| HA1.0   | 194,25 | 481,61 | 575,14 | 558,25 | 596,59 | 537,11 |
| HA1.0   | 62,14  | 301,19 | 592,96 | 475,53 | 597,39 | 550,95 |
| HA1.0   | 185,57 | 54,83  | 147,41 | 85,06  | 174,29 | 527,16 |
| HA1.0   | 455,59 | 580,31 | 559,09 | 599,35 | 539,68 | 335,86 |
| HA1.0   | 305,79 | 554,1  | 583,05 | 577,47 | 594,1  | 585,16 |



**Tab. XV a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 371,29    | 494,19    | 571,11    | 582,72    | 596,29    | 447,01    |
| BSAL           | 484,81    | 509,88    | 519,58    | 558,01    | 574,08    | 196,28    |
| BSAL           | 222,11    | 531,54    | 554       | 568,9     | 576,74    | 295,33    |
| BSAL           | 146,02    | 137,11    | 570,61    | 591,97    | 585,7     | 598,29    |
| BSAL           | 125,99    | 395,72    | 392,11    | 537,6     | 285,41    | 286,22    |
| BSAL           | 484,99    | 545,39    | 535,32    | 25,67     | 298,37    | 540,83    |
| BPY0.1         | 427,77    | 334,84    | 550,79    | 590,28    | 508,15    | 595,71    |
| BPY0.1         | 440,54    | 600       | 600       | 377,15    | 517,73    | 574,28    |
| BPY0.1         | 399,85    | 119,28    | 229,98    | 455,94    | 298,66    | 471,48    |
| BPY0.1         | 126,63    | 176,08    | 139,22    | 205,03    | 386,44    | 245,69    |
| BPY0.1         | 318,25    | 380,25    | 459,73    | 435,39    | 452,33    | 513,22    |
| BPY0.1         | 196,22    | 429,74    | 539,12    | 574,2     | 551,85    | 586,56    |
| BPY0.5         | 387,27    | 503,44    | 400,81    | 261,76    | 514,99    | 438,56    |
| BPY0.5         | 551,1     | 552,96    | 599,3     | 417,89    | 62,02     | 499,33    |
| BPY0.5         | 187,4     | 399,95    | 533,85    | 579,71    | 567,94    | 407,59    |
| BPY0.5         | 252,24    | 316,29    | 181,48    | 243,51    | 435,59    | 223,95    |
| BPY0.5         | 412,81    | 363,38    | 474,64    | 432,41    | 541,68    | 563       |
| BPY0.5         | 263,66    | 454,27    | 490,66    | 469,44    | 511,36    | 399,83    |
| BPY2.0         | 514,16    | 600       | 600       | 600       | 598,07    | 600       |
| BPY2.0         | 597,97    | 600       | 551,65    | 600       | 600       | 595,35    |
| BPY2.0         | 311,52    | 568,96    | 431,19    | 328,66    | 586,86    | 591,05    |
| BPY2.0         | 425,89    | 421,98    | 583,88    | 551,95    | 526,92    | 597,98    |
| BPY2.0         | 415,16    | 598,43    | 273,54    | 444,02    | 463,34    | 431,6     |
| BPY2.0         | 600       | 600       | 600       | 600       | 600       | 600       |

**Tab. XV b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 246,29    | 600       | 558,37    | 293,23     | 515,23     | 593,21     |
| SAL            | 504,81    | 456,28    | 290,93    | 568,27     | 327,5      | 316,86     |
| SAL            | 181,22    | 573,12    | 586,86    | 442,1      | 479,49     | 560,06     |
| SAL            | 150,23    | 547,86    | 569,7     | 496,65     | 551,61     | 533,04     |
| SAL            | 333,85    | 578,39    | 416,01    | 580,1      | 581,37     | 573,08     |
| SAL            | 425,46    | 583,25    | 564,05    | 576,69     | 566,46     | 425,6      |
| PY0.1          | 556,14    | 595,45    | 444,32    | 426,36     | 442,54     | 502,44     |
| PY0.1          | 574,51    | 600       | 492,14    | 555,43     | 600        | 501,5      |
| PY0.1          | 361,54    | 544,82    | 417,74    | 452,81     | 326,35     | 562,82     |
| PY0.1          | 349,69    | 282,96    | 455,97    | 455,84     | 385,35     | 559,05     |
| PY0.1          | 429,54    | 416,37    | 465,51    | 558,47     | 509,66     | 574,56     |
| PY0.1          | 284,67    | 582,59    | 584,2     | 575,54     | 584,11     | 560,45     |
| PY0.5          | 536,61    | 586,03    | 313,05    | 352,53     | 503,04     | 533,12     |
| PY0.5          | 594,81    | 399,95    | 533,85    | 579,71     | 567,94     | 557,3      |
| PY0.5          | 443,21    | 194,76    | 592,34    | 400,25     | 67,72      | 578,49     |
| PY0.5          | 252,09    | 374,68    | 465,51    | 558,47     | 509,66     | 210,87     |
| PY0.5          | 444,71    | 544,82    | 577,49    | 573,81     | 535,62     | 586,51     |
| PY0.5          | 436,15    | 417,06    | 551,22    | 354,72     | 534,28     | 534,28     |
| PY2.0          | 597,4     | 600       | 544,98    | 600        | 600        | 600        |
| PY2.0          | 460,68    | 561,94    | 585,41    | 587,82     | 569,82     | 443,27     |
| PY2.0          | 591,05    | 600       | 600       | 600        | 422,8      | 543,03     |
| PY2.0          | 593,45    | 597,4     | 567,55    | 561,18     | 557,3      | 598,11     |
| PY2.0          | 597,67    | 599,52    | 600       | 510,67     | 583,7      | 600        |
| PY2.0          | 600       | 600       | 600       | 600        | 600        | 600        |

**Tab. XVI a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 371,29    | 494,19    | 571,11    | 582,72    | 596,29    | 447,01    |
| BSAL           | 484,81    | 509,88    | 519,58    | 558,01    | 574,08    | 196,28    |
| BSAL           | 222,11    | 531,54    | 554       | 568,9     | 576,74    | 295,33    |
| BSAL           | 146,02    | 137,11    | 570,61    | 591,97    | 585,7     | 598,29    |
| BSAL           | 125,99    | 395,72    | 392,11    | 537,6     | 285,41    | 286,22    |
| BSAL           | 484,99    | 545,39    | 535,32    | 25,67     | 298,37    | 540,83    |
| BKE0.5         | 486,27    | 548,33    | 397,53    | 541,99    | 540,72    | 545,93    |
| BKE0.5         | 461,42    | 514,05    | 526,04    | 548,1     | 484,67    | 544,46    |
| BKE0.5         | 270,22    | 232,53    | 389,4     | 469,9     | 464,79    | 517,43    |
| BKE0.5         | 482,14    | 486,37    | 515,25    | 335,44    | 454,82    | 569,98    |
| BKE0.5         | 322,7     | 357,29    | 392,11    | 411,51    | 433,62    | 413,76    |
| BKE0.5         | 179,59    | 284,28    | 184,92    | 304,65    | 411,08    | 365,14    |
| BKE2.0         | 189,04    | 293,24    | 220,52    | 202,83    | 589,49    | 434,07    |
| BKE2.0         | 455,97    | 510,71    | 414,43    | 121,69    | 107,9     | 371,93    |
| BKE2.0         | 356,5     | 434,44    | 477,28    | 498,2     | 334,14    | 365,14    |
| BKE2.0         | 529,29    | 389,46    | 487,02    | 495,99    | 514,72    | 569,98    |
| BKE2.0         | 336,63    | 525,65    | 160,96    | 578,52    | 561,61    | 431,64    |
| BKE2.0         | 204,72    | 351,72    | 485,04    | 554,32    | 501,34    | 349,1     |

**Tab. XVI b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 246,29    | 600       | 558,37    | 293,23     | 515,23     | 593,21     |
| SAL            | 504,81    | 456,28    | 290,93    | 568,27     | 327,5      | 316,86     |
| SAL            | 181,22    | 573,12    | 586,86    | 442,1      | 479,49     | 560,06     |
| SAL            | 150,23    | 547,86    | 569,7     | 496,65     | 551,61     | 533,04     |
| SAL            | 333,85    | 578,39    | 416,01    | 580,1      | 581,37     | 573,08     |
| SAL            | 425,46    | 583,25    | 564,05    | 576,69     | 566,46     | 425,6      |
| KE0.5          | 334,39    | 517,34    | 502,86    | 406,86     | 403,68     | 396,51     |
| KE0.5          | 514,44    | 530,97    | 479,54    | 475,38     | 337,58     | 387,84     |
| KE0.5          | 373,87    | 358,79    | 468,64    | 512,02     | 3          | 574,07     |
| KE0.5          | 425,75    | 551,47    | 520,92    | 416,94     | 548,81     | 345,42     |
| KE0.5          | 523,42    | 534,52    | 546,68    | 570,07     | 429,92     | 569,68     |
| KE0.5          | 304,24    | 535,75    | 497,33    | 510,52     | 506,73     | 481,27     |
| KE2.0          | 153,59    | 591,63    | 537,7     | 292,37     | 402,2      | 376,57     |
| KE2.0          | 371,9     | 575,95    | 587,49    | 487,24     | 547,73     | 589,43     |
| KE2.0          | 298,09    | 448,5     | 371,31    | 338,22     | 367,13     | 345,42     |
| KE2.0          | 558,7     | 336,63    | 497,33    | 146,66     | 492,2      | 300,62     |
| KE2.0          | 132,18    | 57,63     | 47,3      | 593,42     | 29,48      | 171,89     |
| KE2.0          | 115,13    | 232,22    | 369,78    | 335,89     | 192,53     | 544,96     |

**Tab. XVII a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 371,29    | 494,19    | 571,11    | 582,72    | 596,29    | 447,01    |
| BSAL           | 484,81    | 509,88    | 519,58    | 558,01    | 574,08    | 196,28    |
| BSAL           | 222,11    | 531,54    | 554       | 568,9     | 576,74    | 295,33    |
| BSAL           | 146,02    | 137,11    | 570,61    | 591,97    | 585,7     | 598,29    |
| BSAL           | 125,99    | 395,72    | 392,11    | 537,6     | 285,41    | 286,22    |
| BSAL           | 484,99    | 545,39    | 535,32    | 25,67     | 298,37    | 540,83    |
| BCi1.0         | 600       | 600       | 600       | 534,56    | 484,95    | 600       |
| BCi1.0         | 483,97    | 85,67     | 328,86    | 393,49    | 496,62    | 595,87    |
| BCi1.0         | 343,29    | 351,29    | 596,06    | 427,18    | 600       | 598,48    |
| BCi1.0         | 89,03     | 216,16    | 430,01    | 368,05    | 491,92    | 374,58    |
| BCi1.0         | 424,44    | 389,66    | 546,41    | 328,05    | 233,2     | 457,54    |
| BCi1.0         | 559,87    | 600       | 600       | 600       | 600       | 600       |
| BCi5.0         | 416,95    | 277,9     | 406,14    | 374,24    | 416,63    | 448,19    |
| BCi5.0         | 506,71    | 347,06    | 535,31    | 524,8     | 255,32    | 549,73    |
| BCi5.0         | 309,87    | 162,84    | 456,04    | 502,48    | 309,25    | 537,59    |
| BCi5.0         | 307,65    | 528,66    | 518,68    | 273,83    | 566,83    | 136,67    |
| BCi5.0         | 490,19    | 351,77    | 583,1     | 598,75    | 376,87    | 548,85    |
| BCi5.0         | 406,34    | 332,56    | 500,36    | 454,2     | 383,67    | 443,94    |

**Tab. XVII b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 246,29    | 600       | 558,37    | 293,23     | 515,23     | 593,21     |
| SAL            | 504,81    | 456,28    | 290,93    | 568,27     | 327,5      | 316,86     |
| SAL            | 181,22    | 573,12    | 586,86    | 442,1      | 479,49     | 560,06     |
| SAL            | 150,23    | 547,86    | 569,7     | 496,65     | 551,61     | 533,04     |
| SAL            | 333,85    | 578,39    | 416,01    | 580,1      | 581,37     | 573,08     |
| SAL            | 425,46    | 583,25    | 564,05    | 576,69     | 566,46     | 425,6      |
| Ci1.0          | 557       | 600       | 538,88    | 497,84     | 372,68     | 598,15     |
| Ci1.0          | 540,54    | 464,22    | 588,15    | 598,81     | 579,15     | 590,14     |
| Ci1.0          | 383,52    | 596,39    | 600       | 600        | 594,99     | 595,12     |
| Ci1.0          | 450,16    | 526,98    | 351,4     | 197,39     | 243,42     | 369,49     |
| Ci1.0          | 213,88    | 316,7     | 515,42    | 563,89     | 564,8      | 533,19     |
| Ci1.0          | 559,99    | 500,96    | 518,35    | 491,8      | 471,44     | 537,46     |
| Ci5.0          | 197,39    | 450,16    | 526,98    | 351,4      | 256,47     | 452,47     |
| Ci5.0          | 375,49    | 451,11    | 443,5     | 534,42     | 584,14     | 532,24     |
| Ci5.0          | 588,78    | 524,77    | 379,97    | 486,89     | 593,25     | 564,5      |
| Ci5.0          | 442,88    | 521,7     | 532,15    | 457,88     | 372,68     | 563,21     |
| Ci5.0          | 213,88    | 408,34    | 340,4     | 220,23     | 561,72     | 530,52     |
| Ci5.0          | 371,978   | 473,69    | 447,93    | 414,48     | 477,44     | 528,55     |

**Tab. XVIII a:**

| <b>V.TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL          | 371,29    | 494,19    | 571,11    | 582,72    | 596,29    | 447,01    |
| BSAL          | 484,81    | 509,88    | 519,58    | 558,01    | 574,08    | 196,28    |
| BSAL          | 222,11    | 531,54    | 554       | 568,9     | 576,74    | 295,33    |
| BSAL          | 146,02    | 137,11    | 570,61    | 591,97    | 585,7     | 598,29    |
| BSAL          | 125,99    | 395,72    | 392,11    | 537,6     | 285,41    | 286,22    |
| BSAL          | 484,99    | 545,39    | 535,32    | 25,67     | 298,37    | 540,83    |
| BTH2.0        | 124,75    | 103,98    | 248,5     | 467       | 599,42    | 600       |
| BTH2.0        | 15,06     | 35,43     | 207,55    | 239,64    | 82,64     | 283,23    |
| BTH2.0        | 431,46    | 242,88    | 323,01    | 302,45    | 481,19    | 520,25    |
| BTH2.0        | 312,49    | 371,85    | 361,74    | 459,31    | 400,14    | 495,24    |
| BTH2.0        | 431,28    | 371,77    | 553,1     | 587,5     | 354,66    | 526,65    |
| BTH10         | 554,91    | 597,67    | 579,45    | 406,79    | 482,56    | 541,18    |
| BTH10         | 429,92    | 513,26    | 451,85    | 357,74    | 516,71    | 389,17    |
| BTH10         | 392,95    | 312,88    | 423,04    | 383,43    | 545,04    | 549,59    |
| BTH10         | 358,45    | 270,53    | 420,39    | 527,7     | 560,39    | 495,46    |
| BTH10         | 432,63    | 422,52    | 470,025   | 417       | 525,8     | 494,77    |

**Tab. XVIII b:**

| <b>V.TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL           | 246,29    | 600       | 558,37    | 293,23     | 515,23     | 593,21     |
| SAL           | 504,81    | 456,28    | 290,93    | 568,27     | 327,5      | 316,86     |
| SAL           | 181,22    | 573,12    | 586,86    | 442,1      | 479,49     | 560,06     |
| SAL           | 150,23    | 547,86    | 569,7     | 496,65     | 551,61     | 533,04     |
| SAL           | 333,85    | 578,39    | 416,01    | 580,1      | 581,37     | 573,08     |
| SAL           | 425,46    | 583,25    | 564,05    | 576,69     | 566,46     | 425,6      |
| TH2.0         | 387,6     | 534,05    | 579,49    | 599,45     | 600        | 600        |
| TH2.0         | 447,92    | 281,72    | 581,87    | 507,88     | 335,43     | 475,55     |
| TH2.0         | 383,83    | 245,19    | 408,25    | 520,13     | 577,31     | 584,74     |
| TH2.0         | 285,95    | 408,766   | 496,53    | 486,74     | 506,07     | 346,63     |
| TH2.0         | 213,33    | 408,69    | 341,11    | 220,23     | 454,02     | 499        |
| TH10          | 526,74    | 574,14    | 571,91    | 580,93     | 563,51     | 565        |
| TH10          | 477,06    | 400,54    | 526,28    | 544,76     | 531,96     | 360,24     |
| TH10          | 554,28    | 560,68    | 428,81    | 273,24     | 131,06     | 535,14     |
| TH10          | 537,78    | 383,28    | 528,68    | 582,89     | 585,11     | 564,4      |
| TH10          | 524,11    | 482,042   | 514,72    | 497,97     | 457,75     | 508,48     |

**Lokomotion (Tab. IXX a – XXIII b)**

**Tab.IXX a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 1,66      |
| BSAL           | 2,07      | 0         | 0         | 1,03      | 0         | 1,29      |
| BSAL           | 0         | 2,04      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 4,67      | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0,75      | 16,42     | 0,46      | 0         |
| BHA0.2         | 0         | 1,69      | 4,42      | 0         | 0         | 1,71      |
| BHA0.2         | 4,7       | 0         | 0,74      | 0         | 0         | 3,03      |
| BHA0.2         | 4,11      | 0         | 0         | 6,5       | 6,97      | 8,13      |
| BHA0.2         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 13,36     |
| BHA0.2         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA0.2         | 0         | 2,56      | 0         | 1,39      | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 0,97      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 2,65      | 4,73      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 0         | 0,16      | 0         | 0         | 16,16     | 7,29      |
| BHA1.0         | 0,87      | 0         | 0         | 1,9       | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 13,91     | 7,44      | 0         | 5,2       | 0,28      | 0         |

**Tab. IXX b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 8,95      | 0         | 0         | 7,45       | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 0,8        |
| SAL            | 1,75      | 0         | 0         | 0,47       | 0,65       | 2,56       |
| SAL            | 2,08      | 0         | 0         | 0          | 0          | 1,78       |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 4,7       | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 3,03       |
| HA0.2          | 0         | 1,25      | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 0         | 0         | 17,05     | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 4,11      | 18,46     | 5,59      | 2,28       | 1,4        | 0          |
| HA0.2          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 5,49      | 7,23      | 5,03      | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 23,57     | 16,17     | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA1.0          | 0,16      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA1.0          | 7,38      | 0         | 0         | 0,31       | 0          | 2,6        |
| HA1.0          | 14,69     | 0,9       | 0         | 7,72       | 0          | 1,11       |
| HA1.0          | 0         | 12,03     | 13,34     | 25,46      | 57,63      | 0          |
| HA1.0          | 0         | 0         | 0,38      | 0          | 0          | 3,61       |
| HA1.0          | 0         | 0,23      | 0         | 0          | 0          | 0          |

Tab. XX a:

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 1,66      |
| BSAL           | 2,07      | 0         | 0         | 1,03      | 0         | 1,29      |
| BSAL           | 0         | 2,04      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 4,67      | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0,75      | 16,42     | 0,46      | 0         |
| BPY0.1         | 8,34      | 1,49      | 3,1       | 0         | 0         | 0         |
| BPY0.1         | 0         | 0         | 0         | 3,27      | 0         | 0         |
| BPY0.1         | 0         | 17,45     | 0         | 0         | 4,48      | 0         |
| BPY0.1         | 25,62     | 3,84      | 41,37     | 13,14     | 1,1       | 0         |
| BPY0.1         | 7,02      | 2,03      | 9,01      | 6,4       | 1,09      | 0         |
| BPY0.1         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY0.5         | 0         | 0         | 7,58      | 4,17      | 0         | 4,9       |
| BPY0.5         | 0         | 0         | 0         | 1         | 2,57      | 0,14      |
| BPY0.5         | 0         | 0         | 1,9       | 0         | 0,1       | 30,29     |
| BPY0.5         | 11,59     | 13,74     | 8,16      | 11,93     | 1,46      | 29,16     |
| BPY0.5         | 5,45      | 5,74      | 0,9       | 11,99     | 1,41      | 0         |
| BPY0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 10,03     | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 1,02      | 0         | 4,2       | 0         | 0         | 4,65      |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 10,71     | 0,95      | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 7,54      | 9,96      | 0         | 0         | 3,59      | 0,56      |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 14,38     | 0         | 0         | 2,67      |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |

**Tab. XX b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 8,95      | 0         | 0         | 7,45       | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 0,8        |
| SAL            | 1,75      | 0         | 0         | 0,47       | 0,65       | 2,56       |
| SAL            | 2,08      | 0         | 0         | 0          | 0          | 1,78       |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 4,7       | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 3,03       |
| PY0.1          | 1,67      | 0         | 4,21      | 6,81       | 0          | 1,95       |
| PY0.1          | 0         | 0         | 2,36      | 11,45      | 0          | 14,49      |
| PY0.1          | 4,05      | 0         | 1,78      | 10,99      | 5,38       | 0          |
| PY0.1          | 9,87      | 2,01      | 0         | 4,76       | 9,86       | 0          |
| PY0.1          | 0         | 31,52     | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.1          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.5          | 0         | 0         | 16,86     | 9,12       | 0          | 1,63       |
| PY0.5          | 0         | 0         | 1,9       | 0          | 0,1        | 0          |
| PY0.5          | 2,49      | 15,22     | 0         | 8,41       | 32,82      | 0          |
| PY0.5          | 1,46      | 4,26      | 0         | 0          | 0          | 10,29      |
| PY0.5          | 3,87      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0,42      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 42,98     | 27,83     | 9,88      | 0,28       | 6,89       | 1,75       |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 1,62       | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 5,5       | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |



**Tab. XXI a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 1,66      |
| BSAL           | 2,07      | 0         | 0         | 1,03      | 0         | 1,29      |
| BSAL           | 0         | 2,04      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 4,67      | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0,75      | 16,42     | 0,46      | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0,42      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 26,28     | 4,85      | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 5,93      | 3,15      | 0         | 12,32     | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 4,7       | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 1,93      | 3,68      | 11,48     | 5,16      | 2,65      | 0         |
| BKE2.0         | 26,18     | 8,11      | 58,71     | 38,23     | 0         | 7,61      |
| BKE2.0         | 0         | 0,23      | 0,19      | 3,71      | 0         | 7,78      |
| BKE2.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE2.0         | 0         | 7,97      | 0         | 0         | 1,82      | 0         |
| BKE2.0         | 1,78      | 0         | 0         | 0         | 0         | 1,33      |
| BKE2.0         | 21,4      | 20,25     | 0         | 0         | 11,58     | 3,5       |

**Tab. XXI b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 8,95      | 0         | 0         | 7,45       | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 0,8        |
| SAL            | 1,75      | 0         | 0         | 0,47       | 0,65       | 2,56       |
| SAL            | 2,08      | 0         | 0         | 0          | 0          | 1,78       |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 4,7       | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 3,03       |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 3,01       | 0          | 4,22       |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE0.5          | 3,54      | 6,13      | 0         | 3,4        | 0          | 0          |
| KE0.5          | 0,36      | 0         | 0         | 9,25       | 0          | 1,18       |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE2.0          | 14,19     | 0         | 4,46      | 0,51       | 2,53       | 16,97      |
| KE2.0          | 7,78      | 0         | 0         | 7,25       | 0          | 0          |
| KE2.0          | 2,62      | 0         | 9,52      | 15,33      | 15,23      | 1,18       |
| KE2.0          | 3,01      | 1,78      | 0         | 16,53      | 0          | 0,63       |
| KE2.0          | 17        | 0         | 0         | 0          | 0          | 3,5        |
| KE2.0          | 3,02      | 9,98      | 5,96      | 6,63       | 34,47      | 0          |

**Tab. XXII a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 1,66      |
| BSAL           | 2,07      | 0         | 0         | 1,03      | 0         | 1,29      |
| BSAL           | 0         | 2,04      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 0         | 4,67      | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0,75      | 16,42     | 0,46      | 0         |
| BCi1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BCi1.0         | 13,94     | 24,35     | 0,22      | 0         | 0         | 0         |
| BCi1.0         | 3,04      | 12,97     | 0         | 0,84      | 0         | 0,43      |
| BCi1.0         | 0         | 23,96     | 2,26      | 24,72     | 1,83      | 22,02     |
| BCi1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BCi1.0         | 37,15     | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BCi5.0         | 5,79      | 0         | 26,72     | 0         | 0         | 0         |
| BCi5.0         | 0,86      | 10,36     | 0         | 0         | 10,9      | 0         |
| BCi5.0         | 0,67      | 7,83      | 0         | 3,03      | 2,31      | 2,45      |
| BCi5.0         | 3,81      | 0         | 2,14      | 14,57     | 0         | 6,48      |
| BCi5.0         | 0,86      | 11,53     | 0         | 0         | 5,13      | 0         |
| BCi5.0         | 2,45      | 6,02      | 5,56      | 3,89      | 4,01      | 1,76      |

**Tab. XXII b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 8,95      | 0         | 0         | 7,45       | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 0,8        |
| SAL            | 1,75      | 0         | 0         | 0,47       | 0,65       | 2,56       |
| SAL            | 2,08      | 0         | 0         | 0          | 0          | 1,78       |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 4,7       | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 3,03       |
| Ci1.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 0         | 3,82      | 2,16      | 0          | 0,88       | 0          |
| Ci1.0          | 8,86      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 0         | 0         | 14,7      | 19,81      | 26,53      | 0          |
| Ci1.0          | 10,31     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 36,98     | 1,03      | 2,87      | 4,35       | 4,79       | 0          |
| Ci5.0          | 19,81     | 0         | 0         | 14,7       | 26,53      | 0          |
| Ci5.0          | 2,11      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci5.0          | 0         | 0,74      | 2,39      | 1,28       | 0          | 0          |
| Ci5.0          | 7,98      | 6,41      | 4,62      | 1,76       | 0          | 0          |
| Ci5.0          | 10,31     | 3,85      | 8,53      | 0,2        | 0          | 3,03       |
| Ci5.0          | 7,98      | 2,33      | 3,02      | 4,02       | 3,88       | 0,21       |

**Tab. XXIII a:**

| <b>V.TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL          | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL          | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 1,66      |
| BSAL          | 2,07      | 0         | 0         | 1,03      | 0         | 1,29      |
| BSAL          | 0         | 2,04      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL          | 0         | 0         | 0         | 0         | 4,67      | 0         |
| BSAL          | 0         | 0         | 0,75      | 16,42     | 0,46      | 0         |
| BTH2.0        | 52,49     | 24,88     | 42,45     | 1,05      | 0         | 0         |
| BTH2.0        | 2,58      | 64,94     | 7,13      | 1,37      | 27,45     | 0         |
| BTH2.0        | 24,59     | 4,79      | 0         | 2,18      | 0         | 1,35      |
| BTH2.0        | 0         | 0         | 10        | 0         | 6,53      | 0         |
| BTH2.0        | 0         | 1,53      | 0         | 0         | 5,23      | 0         |
| BTH10         | 0         | 0         | 0,43      | 3,59      | 0         | 0         |
| BTH10         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BTH10         | 2,51      | 2,44      | 0,55      | 3,04      | 0         | 0         |
| BTH10         | 0,99      | 2,24      | 1,72      | 0,93      | 0,43      | 1,45      |
| BTH10         | 0,81      | 0,97      | 0,56      | 2,74      | 0,12      | 0,39      |

**Tab. XXIII b:**

| <b>V.TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL           | 8,95      | 0         | 0         | 7,45       | 0          | 0          |
| SAL           | 0         | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 0,8        |
| SAL           | 1,75      | 0         | 0         | 0,47       | 0,65       | 2,56       |
| SAL           | 2,08      | 0         | 0         | 0          | 0          | 1,78       |
| SAL           | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL           | 4,7       | 0         | 0,74      | 0          | 0          | 3,03       |
| TH2.0         | 25,67     | 13,23     | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH2.0         | 8,08      | 19,56     | 0         | 0,58       | 12,53      | 0          |
| TH2.0         | 24,38     | 8,92      | 6,61      | 0          | 0          | 0          |
| TH2.0         | 15,68     | 9,132     | 5,02      | 0          | 4,57       | 0          |
| TH2.0         | 20,31     | 3,95      | 18,5      | 0,2        | 10,35      | 4,3        |
| TH10          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH10          | 0         | 14,91     | 0         | 0,06       | 0          | 3,86       |
| TH10          | 0         | 0         | 3,82      | 5,35       | 22,24      | 0          |
| TH10          | 0         | 1,89      | 0,33      | 0          | 0          | 0          |
| TH10          | 0         | 4,5       | 1,1       | 1,23       | 5,89       | 0,87       |

**Aufrichten (Tab. XXIV a – XXVIII b)**

**Tab. XXIV a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 49,99     | 0         | 0         | 0         | 0         | 6,63      |
| BSAL           | 28,69     | 0         | 0         | 0         | 0         | 67,89     |
| BSAL           | 4,31      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 40,67     | 4,25      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 2,76      | 0         | 0         | 0         | 0         | 2,25      |
| BSAL           | 2,67      | 0         | 0         | 55,7      | 18,09     | 0         |
| BHA0.2         | 0         | 0         | 0,68      | 0         | 0         | 0         |
| BHA0.2         | 4,41      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA0.2         | 7,93      | 0         | 3,9       | 0         | 3,74      | 3,26      |
| BHA0.2         | 0         | 0         | 0         | 0         | 90,08     | 67,45     |
| BHA0.2         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 2,46      |
| BHA0.2         | 0         | 0         | 0         | 20,71     | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 12,8      | 0,72      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 11,08     | 0,84      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 0         | 0         | 0         | 34,8      | 34,8      | 14,71     |
| BHA1.0         | 5,36      | 0         | 0         | 4,2       | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 46,15     | 93,13     | 1,47      | 0         | 5,53      | 0         |

**Tab. XXIV b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 121,68    | 0         | 0         | 62,19      | 2,1        | 0          |
| SAL            | 18,69     | 10,13     | 67,79     | 0          | 12,73      | 12,59      |
| SAL            | 44,06     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 2,04      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 4,41      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 0         | 0         | 6,71      | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 3,78      | 22,51     | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 7,678     | 8,19      | 2,364     | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 34,61     | 18,44     | 5,11      | 0          | 0          | 0          |
| HA1.0          | 0,17      | 0         | 0         | 0          | 0          | 3,99       |
| HA1.0          | 0         | 0         | 0         | 0,23       | 0          | 0          |
| HA1.0          | 37,11     | 20,33     | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA1.0          | 0         | 24,57     | 24,91     | 26,14      | 24,67      | 0          |
| HA1.0          | 0,63      | 0         | 0         | 0          | 5,11       | 0          |
| HA1.0          | 3,87      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |

**Tab. XXV a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 49,99     | 0         | 0         | 0         | 0         | 6,63      |
| BSAL           | 28,69     | 0         | 0         | 0         | 0         | 67,89     |
| BSAL           | 4,31      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 40,67     | 4,25      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 2,76      | 0         | 0         | 0         | 0         | 2,25      |
| BSAL           | 2,67      | 0         | 0         | 55,7      | 18,09     | 0         |
| BPY0.1         | 4,83      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY0.1         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY0.1         | 5,2       | 60,1      | 21,02     | 0         | 70,62     | 3,7       |
| BPY0.1         | 2,38      | 11,55     | 53,11     | 0,85      | 0         | 18,63     |
| BPY0.1         | 5,154     | 2,95      | 10,622    | 0,17      | 14,124    | 3,726     |
| BPY0.1         | 13,36     | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY0.5         | 0         | 0         | 0,52      | 29,58     | 0         | 0         |
| BPY0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 220,01    | 99,52     |
| BPY0.5         | 18,06     | 2,38      | 0         | 0         | 1,43      | 46,82     |
| BPY0.5         | 3,13      | 2,76      | 12,04     | 1,01      | 0         | 14,54     |
| BPY0.5         | 0         | 3,2       | 0         | 0         | 0,28      | 0         |
| BPY0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 6,28      |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 6,51      | 11,45     | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 8,58      | 7,45      | 0         | 0         | 5,91      | 0         |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 1,03      | 0         | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |

**Tab. XXV b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 121,68    | 0         | 0         | 62,19      | 2,1        | 0          |
| SAL            | 18,69     | 10,13     | 67,79     | 0          | 12,73      | 12,59      |
| SAL            | 44,06     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 2,04      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 4,41      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.1          | 0         | 0,28      | 0         | 0          | 0          | 1,05       |
| PY0.1          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.1          | 37,64     | 0         | 30,35     | 0          | 50,36      | 0          |
| PY0.1          | 0         | 7,41      | 12,24     | 0          | 0,48       | 0          |
| PY0.1          | 2,95      | 26,75     | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.1          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.5          | 0         | 0         | 8,67      | 0          | 0          | 5,56       |
| PY0.5          | 0         | 2,38      | 0         | 0          | 1,43       | 0          |
| PY0.5          | 1,44      | 0         | 0         | 0          | 42,52      | 0          |
| PY0.5          | 0,53      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.5          | 9,59      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0,97      | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |

**Tab. XXVI a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 49,99     | 0         | 0         | 0         | 0         | 6,63      |
| BSAL           | 28,69     | 0         | 0         | 0         | 0         | 67,89     |
| BSAL           | 4,31      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 40,67     | 4,25      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 2,76      | 0         | 0         | 0         | 0         | 2,25      |
| BSAL           | 2,67      | 0         | 0         | 55,7      | 18,09     | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 5,65      | 1,34      | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 6,81      | 0,53      | 13,06     | 0,91      | 0         | 0         |
| BKE2.0         | 2,11      | 0         | 5,78      | 4,17      | 0         | 2,84      |
| BKE2.0         | 0,26      | 0,21      | 0,16      | 0,49      | 0         | 6,7       |
| BKE2.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE2.0         | 0         | 0         | 0         | 5,32      | 0         | 0         |
| BKE2.0         | 167,7     | 0         | 291,25    | 17,31     | 25,67     | 47,8      |
| BKE2.0         | 0,19      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |

**Tab. XXVI b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 121,68    | 0         | 0         | 62,19      | 2,1        | 0          |
| SAL            | 18,69     | 10,13     | 67,79     | 0          | 12,73      | 12,59      |
| SAL            | 44,06     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 2,04      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 4,41      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 1,24       | 0          | 11,36      |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 5,55       | 0          | 0          |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE0.5          | 4         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE2.0          | 1,22      | 0         | 0         | 0,27       | 10,04      | 0,28       |
| KE2.0          | 6,7       | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE2.0          | 0         | 0         | 86,42     | 0          | 0          | 0          |
| KE2.0          | 0         | 167,7     | 0         | 37,08      | 0          | 58,9       |
| KE2.0          | 45,9      | 542,37    | 449,24    | 0          | 427,21     | 292,95     |
| KE2.0          | 0         | 4,61      | 0         | 6,09       | 0,19       | 0          |

**Tab. XXVII a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 49,99     | 0         | 0         | 0         | 0         | 6,63      |
| BSAL           | 28,69     | 0         | 0         | 0         | 0         | 67,89     |
| BSAL           | 4,31      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 40,67     | 4,25      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 2,76      | 0         | 0         | 0         | 0         | 2,25      |
| BSAL           | 2,67      | 0         | 0         | 55,7      | 18,09     | 0         |
| BCi1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BCi1.0         | 1,22      | 40,81     | 7,77      | 93,63     | 0         | 0         |
| BCi1.0         | 0,97      | 1,24      | 0         | 0         | 0         | 0,38      |
| BCi1.0         | 49,16     | 3,53      | 0         | 2,13      | 0         | 54,17     |
| BCi1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BCi1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BCi5.0         | 6,25      | 53,89     | 0,89      | 0         | 42,6      | 0         |
| BCi5.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 7,92      | 7,26      |
| BCi5.0         | 0         | 19,31     | 0         | 0         | 6,6       | 0         |
| BCi5.0         | 13,02     | 0         | 0         | 4,66      | 0         | 360,11    |
| BCi5.0         | 0,73      | 0         | 0         | 0         | 11,96     | 0         |
| BCi5.0         | 4         | 14,64     | 0,178     | 0,932     | 13,816    | 73,474    |

**Tab. XXVII b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 121,68    | 0         | 0         | 62,19      | 2,1        | 0          |
| SAL            | 18,69     | 10,13     | 67,79     | 0          | 12,73      | 12,59      |
| SAL            | 44,06     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 2,04      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 4,41      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 138,03     | 0          |
| Ci1.0          | 10,25     | 1,47      | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 0         | 0         | 36,99     | 18,69      | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 0,4       | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 0         | 0,29      | 7,398     | 3,738      | 27,606     | 0          |
| Ci5.0          | 18,69     | 0         | 0         | 36,99      | 0          | 1,65       |
| Ci5.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci5.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci5.0          | 0         | 1,98      | 0         | 0,36       | 138,03     | 0          |
| Ci5.0          | 0,4       | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci5.0          | 3,818     | 0,396     | 0         | 7,47       | 27,606     | 0,33       |



**Tab. XXVIII a:**

| <b>V.TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL          | 49,99     | 0         | 0         | 0         | 0         | 6,63      |
| BSAL          | 28,69     | 0         | 0         | 0         | 0         | 67,89     |
| BSAL          | 4,31      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL          | 40,67     | 4,25      | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL          | 2,76      | 0         | 0         | 0         | 0         | 2,25      |
| BSAL          | 2,67      | 0         | 0         | 55,7      | 18,09     | 0         |
| BTH2.0        | 3,98      | 6,87      | 22,96     | 0,7       | 0         | 0         |
| BTH2.0        | 5,62      | 36,29     | 15,16     | 5,19      | 19,03     | 3,5       |
| BTH2.0        | 5,25      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BTH2.0        | 0         | 0         | 0         | 0         | 6,79      | 0         |
| BTH2.0        | 0         | 0         | 0         | 0         | 14,96     | 0         |
| BTH10         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BTH10         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BTH10         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BTH10         | 1,77      | 0         | 1,88      | 0         | 0,35      | 0         |
| BTH10         | 0,4425    | 0         | 0,47      | 0         | 0,0875    | 0         |

**Tab. XXVIII b:**

| <b>V.TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL           | 121,68    | 0         | 0         | 62,19      | 2,1        | 0          |
| SAL           | 18,69     | 10,13     | 67,79     | 0          | 12,73      | 12,59      |
| SAL           | 44,06     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL           | 2,04      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL           | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL           | 4,41      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH2.0         | 4,69      | 1,42      | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH2.0         | 29,34     | 26,74     | 0         | 4,32       | 20,7       | 4,55       |
| TH2.0         | 4,64      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH2.0         | 7,92      | 5,632     | 0         | 0          | 4,14       | 0          |
| TH2.0         | 0,95      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH10          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH10          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH10          | 0         | 0         | 0         | 11,53      | 29,41      | 0          |
| TH10          | 0         | 2,58      | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH10          | 0         | 0,645     | 0         | 2,8825     | 7,3525     | 0          |

**Putzen (Tab. XXIX a – XXXIII b)**

**Tab. XXIX a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 5,65      | 3,84      | 6,03      | 0         | 0         | 32,49     |
| BSAL           | 1,8       | 0         | 2,21      | 0         | 0         | 92,23     |
| BSAL           | 95,19     | 0         | 0         | 0         | 10,11     | 74,51     |
| BSAL           | 42,36     | 134,04    | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 79,61     | 0         | 2,76      | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 178,98    | 122,21    | 4,82      |
| BHA0.2         | 0         | 28,45     | 80,28     | 0         | 0         | 6,81      |
| BHA0.2         | 0         | 0         | 7,23      | 0         | 0         | 53,74     |
| BHA0.2         | 98,57     | 5,05      | 0         | 0         | 19,14     | 0         |
| BHA0.2         | 0         | 0         | 0         | 0         | 42,8      | 38,5      |
| BHA0.2         | 0         | 0         | 0         | 55,59     | 4,8       | 28,01     |
| BHA0.2         | 0         | 61,26     | 54,17     | 6,34      | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 4,52      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 108,97    | 130,57    | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BHA1.0         | 0         | 54,85     | 0         | 0         | 165,46    | 58,11     |
| BHA1.0         | 95,86     | 0         | 0         | 29,2      | 3,75      | 0         |
| BHA1.0         | 3,64      | 8,7       | 0         | 92,99     | 15,12     | 0         |

**Tab. XXIX b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 68,25     | 0         | 2,41      | 25,15      | 59,84      | 0          |
| SAL            | 1,8       | 0         | 167,79    | 2,11       | 128        | 110,73     |
| SAL            | 37,99     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 42,02     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 7,23      | 0          | 0          | 53,74      |
| HA0.2          | 4,58      | 15,9      | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 0         | 0         | 153,33    | 0,1        | 0          | 0,41       |
| HA0.2          | 144,5     | 1,44      | 75,42     | 0          | 1,29       | 0          |
| HA0.2          | 0         | 0         | 0         | 0          | 3,29       | 0          |
| HA0.2          | 46,31     | 16,97     | 44,89     | 0          | 0          | 0          |
| HA0.2          | 77,22     | 71,53     | 0         | 0          | 0          | 0          |
| HA1.0          | 50,57     | 0         | 0         | 0          | 0          | 56,39      |
| HA1.0          | 191       | 0         | 0         | 0,28       | 0          | 0          |
| HA1.0          | 213,02    | 50,6      | 1,17      | 11,17      | 0          | 0          |
| HA1.0          | 323,87    | 167,55    | 168,64    | 0          | 77,07      | 0          |
| HA1.0          | 24,55     | 0         | 0         | 0          | 24,18      | 102,18     |
| HA1.0          | 242,07    | 19,96     | 0         | 0          | 0          | 0          |

**Tab. XXX a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 5,65      | 3,84      | 6,03      | 0         | 0         | 32,49     |
| BSAL           | 1,8       | 0         | 2,21      | 0         | 0         | 92,23     |
| BSAL           | 95,19     | 0         | 0         | 0         | 10,11     | 74,51     |
| BSAL           | 42,36     | 134,04    | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 79,61     | 0         | 2,76      | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 178,98    | 122,21    | 4,82      |
| BPY0.1         | 5,16      | 42        | 0         | 0         | 89,5      | 0         |
| BPY0.1         | 50,73     | 0         | 0         | 163,21    | 0         | 0         |
| BPY0.1         | 0         | 28,72     | 29,48     | 0         | 60,26     | 0         |
| BPY0.1         | 134,04    | 34,15     | 3,91      | 49,98     | 0         | 95,38     |
| BPY0.1         | 43,87     | 49,98     | 4,05      | 54,98     | 30,24     | 18,87     |
| BPY0.1         | 32,15     | 55,58     | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY0.5         | 6,94      | 0,28      | 91,66     | 0,85      | 0         | 0         |
| BPY0.5         | 11,17     | 23,64     | 0         | 99,5      | 126,67    | 1,01      |
| BPY0.5         | 104,06    | 0         | 0         | 0         | 0         | 97,5      |
| BPY0.5         | 18,64     | 0         | 35,89     | 90,23     | 0         | 0         |
| BPY0.5         | 0         | 120,5     | 15,12     | 63,59     | 0         | 0,27      |
| BPY0.5         | 71,91     | 46,51     | 0         | 0         | 10,24     | 52,67     |
| BPY2.0         | 29,4      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 0,43      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 60,43     | 0         | 75,64     | 18,2      | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 34,88     | 53,75     | 0         | 0         | 12,94     | 0         |
| BPY2.0         | 58,48     | 0         | 84,23     | 3,73      | 12        | 117,81    |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |

**Tab. XXX b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 68,25     | 0         | 2,41      | 25,15      | 59,84      | 0          |
| SAL            | 1,8       | 0         | 167,79    | 2,11       | 128        | 110,73     |
| SAL            | 37,99     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 42,02     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 7,23      | 0          | 0          | 53,74      |
| PY0.1          | 22,05     | 3,09      | 0         | 31,1       | 49,73      | 9,49       |
| PY0.1          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 37,35      |
| PY0.1          | 60,02     | 0         | 66,28     | 53,29      | 63,52      | 0,47       |
| PY0.1          | 22,19     | 66,46     | 3,17      | 0          | 91,85      | 0          |
| PY0.1          | 0         | 0         | 0         | 0          | 31,67      | 0          |
| PY0.1          | 149,31    | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.5          | 0         | 0         | 40,75     | 0          | 0          | 0,63       |
| PY0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.5          | 1,96      | 51,82     | 0         | 0          | 171,1      | 0          |
| PY0.5          | 82,21     | 0         | 0         | 0          | 31,67      | 127,06     |
| PY0.5          | 35,12     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY0.5          | 0         | 40,78     | 0         | 0,95       | 0          | 0          |
| PY2.0          | 2,18      | 0         | 3,31      | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 3,93      | 6,03      | 1,54      | 0,36       | 0          | 1,25       |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0,42      | 0         | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 89,05      | 6,61       | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |

**Tab. XXXI a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 5,65      | 3,84      | 6,03      | 0         | 0         | 32,49     |
| BSAL           | 1,8       | 0         | 2,21      | 0         | 0         | 92,23     |
| BSAL           | 95,19     | 0         | 0         | 0         | 10,11     | 74,51     |
| BSAL           | 42,36     | 134,04    | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 79,61     | 0         | 2,76      | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 178,98    | 122,21    | 4,82      |
| BKE0.5         | 0,06      | 0         | 75,1      | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 10,19     | 55,63     | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 0         | 0         | 86,71     | 0         | 0         | 0         |
| BKE0.5         | 111,64    | 55,81     | 138,09    | 103,2     | 1,59      | 14,43     |
| BKE2.0         | 104,49    | 222,35    | 57,06     | 99,18     | 0         | 24,89     |
| BKE2.0         | 0,25      | 0,08      | 40,54     | 185,81    | 0         | 33,56     |
| BKE2.0         | 61,43     | 0         | 0         | 0         | 32,09     | 14,43     |
| BKE2.0         | 0         | 0         | 21,39     | 16,34     | 0         | 0         |
| BKE2.0         | 0         | 0         | 23,32     | 0         | 0         | 59,71     |
| BKE2.0         | 156,21    | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |

**Tab. XXXI b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 68,25     | 0         | 2,41      | 25,15      | 59,84      | 0          |
| SAL            | 1,8       | 0         | 167,79    | 2,11       | 128        | 110,73     |
| SAL            | 37,99     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 42,02     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 7,23      | 0          | 0          | 53,74      |
| KE0.5          | 44,96     | 0         | 0         | 37,15      | 3,8        | 0          |
| KE0.5          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| KE0.5          | 0         | 14,86     | 0         | 0          | 150,02     | 0          |
| KE0.5          | 128,55    | 0         | 0         | 54,97      | 0          | 0          |
| KE0.5          | 0         | 3,42      | 0         | 0          | 33,13      | 0          |
| KE0.5          | 118,57    | 0         | 12,41     | 0          | 7,04       | 41,46      |
| KE2.0          | 294,81    | 0         | 17,77     | 124,64     | 56,59      | 35,86      |
| KE2.0          | 33,56     | 0         | 0         | 53,16      | 14,19      | 0          |
| KE2.0          | 29,46     | 0         | 0,26      | 0          | 20,02      | 0          |
| KE2.0          | 5,65      | 0         | 12,41     | 0          | 5,05       | 0          |
| KE2.0          | 0,28      | 0         | 0         | 0          | 88,34      | 17,73      |
| KE2.0          | 38,55     | 0         | 0         | 60,03      | 26,52      | 28,48      |

**Tab. XXXII a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 5,65      | 3,84      | 6,03      | 0         | 0         | 32,49     |
| BSAL           | 1,8       | 0         | 2,21      | 0         | 0         | 92,23     |
| BSAL           | 95,19     | 0         | 0         | 0         | 10,11     | 74,51     |
| BSAL           | 42,36     | 134,04    | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 79,61     | 0         | 2,76      | 0         |
| BSAL           | 0         | 0         | 0         | 178,98    | 122,21    | 4,82      |
| BCi1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 32,25     | 0         |
| BCi1.0         | 0         | 177,35    | 1,03      | 0         | 50,29     | 0         |
| BCi1.0         | 122,92    | 115,51    | 0         | 155,92    | 0         | 0,31      |
| BCi1.0         | 201,1     | 33,65     | 56,31     | 52,52     | 40,21     | 11,51     |
| BCi1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 125,76    | 0         |
| BCi1.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BCi5.0         | 0         | 75,83     | 6,96      | 0         | 0         | 0         |
| BCi5.0         | 0         | 149,82    | 21,72     | 10,9      | 0         | 0         |
| BCi5.0         | 35,24     | 94,76     | 0         | 38,82     | 117,68    | 19,27     |
| BCi5.0         | 64        | 10,99     | 5,06      | 136,08    | 0         | 40,74     |
| BCi5.0         | 35,21     | 76,16     | 0         | 0         | 81,24     | 0         |
| BCi5.0         | 27,22     | 81,58     | 7,01      | 36,87     | 40,1      | 11,99     |

**Tab. XXXII b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 68,25     | 0         | 2,41      | 25,15      | 59,84      | 0          |
| SAL            | 1,8       | 0         | 167,79    | 2,11       | 128        | 110,73     |
| SAL            | 37,99     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 42,02     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL            | 0         | 0         | 7,23      | 0          | 0          | 53,74      |
| Ci1.0          | 0         | 0         | 0         | 0,42       | 4,04       | 0          |
| Ci1.0          | 0         | 98,16     | 0         | 0          | 0,13       | 0          |
| Ci1.0          | 146,04    | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 64,02     | 0         | 65,78     | 231,37     | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| Ci1.0          | 0         | 20,1      | 12,87     | 45,87      | 1,2        | 0          |
| Ci5.0          | 231,37    | 64,02     | 0         | 65,78      | 39,66      | 18,45      |
| Ci5.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 13,26      |
| Ci5.0          | 0         | 0         | 133,37    | 26,56      | 0          | 21,11      |
| Ci5.0          | 33,97     | 0         | 6,43      | 0          | 4,04       | 0          |
| Ci5.0          | 0         | 0         | 0         | 84,27      | 0          | 0          |
| Ci5.0          | 53,01     | 13,02     | 28,12     | 35,67      | 9,02       | 11,2       |

**Tab. XXXIII a:**

| <b>V.TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL          | 5,65      | 3,84      | 6,03      | 0         | 0         | 32,49     |
| BSAL          | 1,8       | 0         | 2,21      | 0         | 0         | 92,23     |
| BSAL          | 95,19     | 0         | 0         | 0         | 10,11     | 74,51     |
| BSAL          | 42,36     | 134,04    | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BSAL          | 0         | 0         | 79,61     | 0         | 2,76      | 0         |
| BSAL          | 0         | 0         | 0         | 178,98    | 122,21    | 4,82      |
| BTH2.0        | 141,86    | 212,86    | 70,22     | 99,59     | 0         | 0         |
| BTH2.0        | 164,47    | 39,95     | 306,14    | 12,9      | 87,37     | 93,71     |
| BTH2.0        | 48,2      | 79,49     | 5,89      | 0         | 0         | 11,04     |
| BTH2.0        | 49,67     | 40,27     | 76,4      | 22,09     | 37,54     | 20,95     |
| BTH2.0        | 35,71     | 76,16     | 0         | 0         | 100,34    | 0         |
| BTH10         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BTH10         | 33,13     | 0         | 0         | 71,31     | 0         | 5,43      |
| BTH10         | 0         | 75,07     | 0         | 45,64     | 0         | 0         |
| BTH10         | 96,75     | 0         | 8,49      | 0         | 0         | 52,82     |
| BTH10         | 32,98     | 21,03     | 1,035     | 29,24     | 0         | 13,86     |

**Tab. XXXIII b:**

| <b>V.TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL           | 68,25     | 0         | 2,41      | 25,15      | 59,84      | 0          |
| SAL           | 1,8       | 0         | 167,79    | 2,11       | 128        | 110,73     |
| SAL           | 37,99     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL           | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL           | 42,02     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| SAL           | 0         | 0         | 7,23      | 0          | 0          | 53,74      |
| TH2.0         | 78,01     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH2.0         | 75,93     | 0         | 0         | 0          | 153,57     | 68,16      |
| TH2.0         | 28,29     | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH2.0         | 56,44     | 0         | 0         | 16,85      | 51,78      | 19,68      |
| TH2.0         | 0         | 0         | 0         | 84,27      | 105,35     | 30,25      |
| TH10          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |
| TH10          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 16,85      |
| TH10          | 0         | 0         | 66,5      | 0          | 117,76     | 0          |
| TH10          | 0         | 38,06     | 2,64      | 0          | 0          | 0          |
| TH10          | 0         | 10,37     | 16,89     | 0          | 29,31      | 3,98       |

## Schnüffeln (Tab. XXXIV a – XXXVIII b)

Tab. XXXIV a:

| V.-TIER | 10     | 20     | 30     | 40     | 50     | 60     |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| BSAL    | 173,07 | 101,97 | 22,86  | 17,28  | 3,71   | 113,87 |
| BSAL    | 84,7   | 90,12  | 78,21  | 41,99  | 25,92  | 241,94 |
| BSAL    | 276,32 | 68,46  | 46     | 30,07  | 13,15  | 228,87 |
| BSAL    | 370,95 | 322,56 | 29,39  | 8,03   | 14,3   | 1,71   |
| BSAL    | 471,25 | 204,28 | 128,28 | 62,4   | 307,16 | 311,53 |
| BSAL    | 112,34 | 54,61  | 63,93  | 323,23 | 160,87 | 54,35  |
| BHA0.2  | 95,09  | 210,92 | 276,86 | 25,54  | 14,31  | 23,71  |
| BHA0.2  | 165,43 | 16,75  | 27,98  | 23,31  | 33,54  | 117,63 |
| BHA0.2  | 282,16 | 125,62 | 138,93 | 331,41 | 347    | 105,41 |
| BHA0.2  | 59,26  | 51,09  | 5,6    | 19,17  | 181,33 | 313,6  |
| BHA0.2  | 331,34 | 280,72 | 237,03 | 272,41 | 170,79 | 55,79  |
| BHA0.2  | 33,85  | 78,55  | 5,07   | 127,39 | 24,33  | 5,32   |
| BHA1.0  | 209,45 | 160,85 | 54,57  | 96,65  | 28,48  | 3,94   |
| BHA1.0  | 187,61 | 12,94  | 9,22   | 0,24   | 30,01  | 28,82  |
| BHA1.0  | 234,58 | 251,39 | 18,26  | 47,51  | 0      | 14,02  |
| BHA1.0  | 339,17 | 391,72 | 317,6  | 0      | 367,84 | 370,08 |
| BHA1.0  | 56,33  | 2,52   | 14,84  | 171,14 | 50,31  | 68,36  |
| BHA1.0  | 96,4   | 101,16 | 9,75   | 82,7   | 79,22  | 0      |

Tab. XXXIV b:

| V.-TIER | 70     | 80     | 90     | 100    | 110    | 120    |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| SAL     | 154,83 | 0      | 39,22  | 211,98 | 22,83  | 6,79   |
| SAL     | 74,7   | 133,59 | 72,75  | 29,62  | 131,77 | 159,02 |
| SAL     | 334,98 | 26,88  | 13,14  | 157,43 | 119,86 | 37,38  |
| SAL     | 445,65 | 52,14  | 30,3   | 103,35 | 48,39  | 65,18  |
| SAL     | 224,13 | 21,61  | 183,99 | 19,9   | 18,63  | 26,92  |
| SAL     | 165,43 | 16,75  | 27,98  | 23,31  | 33,54  | 117,63 |
| HA0.2   | 22,89  | 52,14  | 63,39  | 27,61  | 36,37  | 35,3   |
| HA0.2   | 64,07  | 27,54  | 240,14 | 29,95  | 21,59  | 26,01  |
| HA0.2   | 108,98 | 320,25 | 45,12  | 18,06  | 10,27  | 7,7    |
| HA0.2   | 161,35 | 24,31  | 15,82  | 5,8    | 10,66  | 9,68   |
| HA0.2   | 131,49 | 120,8  | 73,53  | 25,99  | 21,06  | 18,21  |
| HA0.2   | 337,64 | 215,49 | 31,77  | 50,46  | 26,1   | 10,21  |
| HA1.0   | 219,19 | 20,3   | 26,36  | 0,56   | 15,94  | 170,26 |
| HA1.0   | 207,37 | 118,39 | 24,86  | 40,93  | 3,41   | 60,29  |
| HA1.0   | 273,04 | 226,98 | 5,87   | 105,58 | 2,61   | 47,94  |
| HA1.0   | 90,56  | 341,02 | 245,7  | 463,34 | 266,34 | 72,84  |
| HA1.0   | 119,23 | 19,69  | 40,53  | 0,65   | 31,03  | 158,35 |
| HA1.0   | 48,27  | 25,71  | 16,95  | 22,53  | 5,9    | 14,84  |



**Tab. XXXV a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 173,07    | 101,97    | 22,86     | 17,28     | 3,71      | 113,87    |
| BSAL           | 84,7      | 90,12     | 78,21     | 41,99     | 25,92     | 241,94    |
| BSAL           | 276,32    | 68,46     | 46        | 30,07     | 13,15     | 228,87    |
| BSAL           | 370,95    | 322,56    | 29,39     | 8,03      | 14,3      | 1,71      |
| BSAL           | 471,25    | 204,28    | 128,28    | 62,4      | 307,16    | 311,53    |
| BSAL           | 112,34    | 54,61     | 63,93     | 323,23    | 160,87    | 54,35     |
| BPY0.1         | 153,9     | 221,67    | 46,11     | 9,72      | 2,35      | 4,29      |
| BPY0.1         | 108,73    | 0         | 0         | 56,37     | 82,27     | 25,72     |
| BPY0.1         | 194,95    | 374,45    | 319,52    | 144,06    | 165,98    | 124,82    |
| BPY0.1         | 311,33    | 374,38    | 362,39    | 331       | 212,46    | 240,3     |
| BPY0.1         | 225,88    | 164,54    | 116,2     | 103,02    | 102,45    | 63,88     |
| BPY0.1         | 358,27    | 114,68    | 60,88     | 25,8      | 48,15     | 13,44     |
| BPY0.5         | 205,79    | 96,28     | 99,43     | 303,64    | 85,01     | 156,54    |
| BPY0.5         | 37,73     | 23,4      | 0,7       | 81,61     | 188,73    | 0         |
| BPY0.5         | 290,48    | 197,67    | 64,25     | 20,29     | 30,53     | 17,8      |
| BPY0.5         | 314,4     | 267,21    | 362,43    | 253,32    | 162,95    | 332,35    |
| BPY0.5         | 181,74    | 107,18    | 109,34    | 92,01     | 56,63     | 36,73     |
| BPY0.5         | 264,43    | 99,22     | 109,34    | 130,56    | 78,4      | 141,22    |
| BPY2.0         | 46,41     | 0         | 0         | 0         | 1,93      | 0         |
| BPY2.0         | 0,58      | 0         | 44,15     | 0         | 0         | 0         |
| BPY2.0         | 228,05    | 31,04     | 75,95     | 240,74    | 13,14     | 8,95      |
| BPY2.0         | 123,11    | 106,86    | 16,12     | 48,05     | 50,64     | 1,46      |
| BPY2.0         | 126,36    | 1,57      | 226,82    | 152,25    | 124,66    | 47,92     |
| BPY2.0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |

**Tab. XXXV b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 154,83    | 0         | 39,22     | 211,98     | 22,83      | 6,79       |
| SAL            | 74,7      | 133,59    | 72,75     | 29,62      | 131,77     | 159,02     |
| SAL            | 334,98    | 26,88     | 13,14     | 157,43     | 119,86     | 37,38      |
| SAL            | 445,65    | 52,14     | 30,3      | 103,35     | 48,39      | 65,18      |
| SAL            | 224,13    | 21,61     | 183,99    | 19,9       | 18,63      | 26,92      |
| SAL            | 165,43    | 16,75     | 27,98     | 23,31      | 33,54      | 117,63     |
| PY0.1          | 20,14     | 1,18      | 151,47    | 135,73     | 107,73     | 85,07      |
| PY0.1          | 25,49     | 0         | 105,5     | 33,12      | 0          | 46,66      |
| PY0.1          | 136,75    | 55,18     | 83,85     | 82,91      | 154,39     | 36,71      |
| PY0.1          | 218,25    | 241,16    | 128,62    | 139,4      | 112,46     | 40,95      |
| PY0.1          | 167,51    | 125,36    | 134,49    | 41,53      | 58,67      | 25,44      |
| PY0.1          | 166,02    | 17,41     | 15,8      | 24,46      | 15,89      | 39,55      |
| PY0.5          | 63,39     | 13,97     | 220,67    | 238,35     | 96,96      | 59,06      |
| PY0.5          | 5,19      | 197,67    | 64,25     | 20,29      | 30,53      | 42,7       |
| PY0.5          | 150,9     | 338,2     | 7,66      | 191,34     | 285,84     | 21,51      |
| PY0.5          | 263,71    | 221,06    | 134,49    | 41,53      | 58,67      | 251,78     |
| PY0.5          | 106,71    | 55,18     | 22,51     | 26,19      | 64,38      | 13,49      |
| PY0.5          | 163,85    | 142,16    | 48,78     | 244,33     | 65,72      | 65,72      |
| PY2.0          | 0         | 0         | 51,71     | 0          | 0          | 0          |
| PY2.0          | 92,41     | 4,2       | 3,17      | 11,54      | 23,29      | 153,73     |
| PY2.0          | 8,95      | 0         | 0         | 0          | 175,58     | 56,97      |
| PY2.0          | 6,55      | 2,18      | 25,98     | 38,82      | 42,7       | 1,89       |
| PY2.0          | 2,33      | 0,48      | 0         | 0,28       | 9,69       | 0          |
| PY2.0          | 0         | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          |

**Tab. XXXVI a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 173,07    | 101,97    | 22,86     | 17,28     | 3,71      | 113,87    |
| BSAL           | 84,7      | 90,12     | 78,21     | 41,99     | 25,92     | 241,94    |
| BSAL           | 276,32    | 68,46     | 46        | 30,07     | 13,15     | 228,87    |
| BSAL           | 370,95    | 322,56    | 29,39     | 8,03      | 14,3      | 1,71      |
| BSAL           | 471,25    | 204,28    | 128,28    | 62,4      | 307,16    | 311,53    |
| BSAL           | 112,34    | 54,61     | 63,93     | 323,23    | 160,87    | 54,35     |
| BKE0.5         | 113,67    | 51,67     | 127,37    | 58,01     | 59,28     | 54,07     |
| BKE0.5         | 138,58    | 85,53     | 73,96     | 51,9      | 115,33    | 55,54     |
| BKE0.5         | 329,78    | 341,19    | 205,75    | 119,91    | 79,58     | 82,57     |
| BKE0.5         | 111,93    | 110,48    | 84,75     | 246,59    | 143,84    | 30,02     |
| BKE0.5         | 277,3     | 242,71    | 121,18    | 183,79    | 166,38    | 186,24    |
| BKE0.5         | 300,03    | 255,7     | 252,45    | 186,08    | 184,68    | 220,43    |
| BKE2.0         | 278,18    | 76,3      | 257,93    | 255,59    | 10,51     | 130,59    |
| BKE2.0         | 143,52    | 88,77     | 144,68    | 288,3     | 492,1     | 180,03    |
| BKE2.0         | 182,07    | 165,56    | 122,72    | 101,8     | 233,77    | 220,43    |
| BKE2.0         | 70,71     | 202,57    | 91,59     | 82,35     | 83,46     | 30,02     |
| BKE2.0         | 93,89     | 74,35     | 124,47    | 4,17      | 12,72     | 59,52     |
| BKE2.0         | 217,48    | 228,03    | 114,96    | 45,68     | 87,08     | 247,4     |

**Tab. XXXVI b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 154,83    | 0         | 39,22     | 211,98     | 22,83      | 6,79       |
| SAL            | 74,7      | 133,59    | 72,75     | 29,62      | 131,77     | 159,02     |
| SAL            | 334,98    | 26,88     | 13,14     | 157,43     | 119,86     | 37,38      |
| SAL            | 445,65    | 52,14     | 30,3      | 103,35     | 48,39      | 65,18      |
| SAL            | 224,13    | 21,61     | 183,99    | 19,9       | 18,63      | 26,92      |
| SAL            | 165,43    | 16,75     | 27,98     | 23,31      | 33,54      | 117,63     |
| KE0.5          | 220,65    | 82,66     | 97,14     | 151,74     | 192,52     | 187,91     |
| KE0.5          | 85,56     | 69,03     | 120,46    | 124,62     | 262,42     | 212,16     |
| KE0.5          | 222,59    | 220,22    | 131,36    | 84,58      | 446,98     | 25,93      |
| KE0.5          | 45,34     | 48,53     | 79,08     | 113,29     | 51,19      | 253,4      |
| KE0.5          | 76,58     | 62,06     | 53,32     | 29,93      | 136,95     | 30,32      |
| KE0.5          | 173,19    | 64,25     | 90,26     | 89,48      | 86,23      | 77,27      |
| KE2.0          | 136,19    | 8,37      | 40,07     | 182,21     | 128,64     | 170,32     |
| KE2.0          | 180,06    | 24,05     | 12,51     | 52,35      | 38,08      | 10,57      |
| KE2.0          | 269,83    | 151,5     | 132,49    | 246,45     | 197,62     | 253,4      |
| KE2.0          | 32,64     | 93,89     | 90,26     | 399,73     | 102,75     | 239,85     |
| KE2.0          | 404,64    | 0         | 103,46    | 6,58       | 54,97      | 113,93     |
| KE2.0          | 443,3     | 353,19    | 224,26    | 191,36     | 346,29     | 26,56      |

**Tab. XXXVII a:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL           | 173,07    | 101,97    | 22,86     | 17,28     | 3,71      | 113,87    |
| BSAL           | 84,7      | 90,12     | 78,21     | 41,99     | 25,92     | 241,94    |
| BSAL           | 276,32    | 68,46     | 46        | 30,07     | 13,15     | 228,87    |
| BSAL           | 370,95    | 322,56    | 29,39     | 8,03      | 14,3      | 1,71      |
| BSAL           | 471,25    | 204,28    | 128,28    | 62,4      | 307,16    | 311,53    |
| BSAL           | 112,34    | 54,61     | 63,93     | 323,23    | 160,87    | 54,35     |
| BCi1.0         | 0         | 0         | 0         | 65,44     | 82,8      | 0         |
| BCi1.0         | 100,87    | 271,82    | 262,12    | 112,88    | 53,09     | 4,13      |
| BCi1.0         | 129,78    | 118,99    | 3,94      | 16,06     | 0         | 0,4       |
| BCi1.0         | 260,71    | 322,7     | 111,42    | 152,58    | 66,04     | 137,72    |
| BCi1.0         | 175,56    | 210,34    | 53,59     | 271,95    | 241,04    | 142,46    |
| BCi1.0         | 2,98      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| BCi5.0         | 171,01    | 192,38    | 159,29    | 225,76    | 140,77    | 151,81    |
| BCi5.0         | 92,43     | 92,76     | 42,97     | 64,3      | 325,86    | 43,01     |
| BCi5.0         | 254,22    | 315,26    | 143,96    | 55,67     | 164,16    | 40,69     |
| BCi5.0         | 211,52    | 60,35     | 74,12     | 170,86    | 33,17     | 56        |
| BCi5.0         | 73,01     | 160,54    | 16,9      | 1,25      | 124,8     | 51,15     |
| BCi5.0         | 159,96    | 164,82    | 86,88     | 104,02    | 158,23    | 69,33     |

**Tab. XXXVII b:**

| <b>V.-TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL            | 154,83    | 0         | 39,22     | 211,98     | 22,83      | 6,79       |
| SAL            | 74,7      | 133,59    | 72,75     | 29,62      | 131,77     | 159,02     |
| SAL            | 334,98    | 26,88     | 13,14     | 157,43     | 119,86     | 37,38      |
| SAL            | 445,65    | 52,14     | 30,3      | 103,35     | 48,39      | 65,18      |
| SAL            | 224,13    | 21,61     | 183,99    | 19,9       | 18,63      | 26,92      |
| SAL            | 165,43    | 16,75     | 27,98     | 23,31      | 33,54      | 117,63     |
| Ci1.0          | 43        | 0         | 61,12     | 101,74     | 85,25      | 1,85       |
| Ci1.0          | 49,21     | 32,33     | 9,69      | 1,19       | 19,84      | 9,86       |
| Ci1.0          | 61,58     | 3,61      | 0         | 0          | 5,01       | 4,88       |
| Ci1.0          | 85,82     | 73,02     | 131,13    | 132,74     | 330,05     | 230,51     |
| Ci1.0          | 375,41    | 283,3     | 84,58     | 36,11      | 35,2       | 66,81      |
| Ci1.0          | 3,12      | 77,89     | 57,88     | 53,88      | 94,56      | 62,54      |
| Ci5.0          | 132,74    | 85,82     | 73,02     | 131,13     | 277,34     | 127,43     |
| Ci5.0          | 222,4     | 148,89    | 156,5     | 65,58      | 15,86      | 54,5       |
| Ci5.0          | 11,22     | 74,49     | 84,27     | 85,27      | 6,75       | 14,39      |
| Ci5.0          | 115,17    | 69,91     | 56,8      | 140        | 85,25      | 36,79      |
| Ci5.0          | 375,41    | 187,81    | 251,07    | 295,3      | 38,28      | 66,45      |
| Ci5.0          | 163,01    | 110,54    | 120,93    | 138,85     | 81,43      | 59,89      |

**Tab. XXXVIII a:**

| <b>V.TIER</b> | <b>10</b> | <b>20</b> | <b>30</b> | <b>40</b> | <b>50</b> | <b>60</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| BSAL          | 173,07    | 101,97    | 22,86     | 17,28     | 3,71      | 113,87    |
| BSAL          | 84,7      | 90,12     | 78,21     | 41,99     | 25,92     | 241,94    |
| BSAL          | 276,32    | 68,46     | 46        | 30,07     | 13,15     | 228,87    |
| BSAL          | 370,95    | 322,56    | 29,39     | 8,03      | 14,3      | 1,71      |
| BSAL          | 471,25    | 204,28    | 128,28    | 62,4      | 307,16    | 311,53    |
| BSAL          | 112,34    | 54,61     | 63,93     | 323,23    | 160,87    | 54,35     |
| BTH2.0        | 276,92    | 251,41    | 215,87    | 31,66     | 0,58      | 0         |
| BTH2.0        | 412,27    | 423,39    | 64,02     | 340,9     | 383,51    | 219,56    |
| BTH2.0        | 90,5      | 272,84    | 271,1     | 295,37    | 118,81    | 67,36     |
| BTH2.0        | 237,84    | 187,88    | 151,86    | 118,6     | 149       | 83,81     |
| BTH2.0        | 133,01    | 150,54    | 46,9      | 12,5      | 124,81    | 73,35     |
| BTH10         | 45,09     | 2,33      | 20,12     | 189,62    | 117,44    | 58,82     |
| BTH10         | 136,95    | 86,74     | 148,15    | 170,95    | 83,29     | 205,4     |
| BTH10         | 204,54    | 209,61    | 176,41    | 167,89    | 54,96     | 50,41     |
| BTH10         | 142,04    | 327,23    | 167,52    | 71,37     | 38,83     | 50,27     |
| BTH10         | 133,05    | 155,48    | 127,96    | 151,02    | 74,01     | 90,98     |

**Tab. XXXVIII b:**

| <b>V.TIER</b> | <b>70</b> | <b>80</b> | <b>90</b> | <b>100</b> | <b>110</b> | <b>120</b> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| SAL           | 154,83    | 0         | 39,22     | 211,98     | 22,83      | 6,79       |
| SAL           | 74,7      | 133,59    | 72,75     | 29,62      | 131,77     | 159,02     |
| SAL           | 334,98    | 26,88     | 13,14     | 157,43     | 119,86     | 37,38      |
| SAL           | 445,65    | 52,14     | 30,3      | 103,35     | 48,39      | 65,18      |
| SAL           | 224,13    | 21,61     | 183,99    | 19,9       | 18,63      | 26,92      |
| SAL           | 165,43    | 16,75     | 27,98     | 23,31      | 33,54      | 117,63     |
| TH2.0         | 104,03    | 51,3      | 20,51     | 0,55       | 0          | 0          |
| TH2.0         | 38,73     | 271,98    | 18,13     | 87,22      | 77,77      | 51,74      |
| TH2.0         | 158,86    | 345,89    | 185,14    | 79,87      | 22,69      | 15,26      |
| TH2.0         | 234,01    | 176,47    | 98,45     | 96,41      | 33,44      | 233,69     |
| TH2.0         | 365,41    | 187,36    | 240,39    | 295,3      | 30,28      | 66,45      |
| TH10          | 73,26     | 25,86     | 28,09     | 19,07      | 36,49      | 35         |
| TH10          | 122,94    | 184,55    | 73,72     | 55,18      | 68,04      | 219,05     |
| TH10          | 45,72     | 39,32     | 100,87    | 309,88     | 299,53     | 64,86      |
| TH10          | 62,22     | 174,19    | 68,35     | 17,11      | 14,89      | 35,6       |
| TH10          | 76,035    | 105,98    | 67,76     | 100,31     | 104,74     | 88,63      |