

**KORRELATIVE VERHALTENSPHYSIOLOGISCHE,
MORPHOMETRISCHE UND 2-DEOXYGLUKOSE-STOFFWECHSEL
UNTERSUCHUNGEN VON ALTERSVERÄNDERUNGEN DES
RATTENGEHIRNS UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG
DER EINWIRKUNG VON VINCAMINDERIVATEN.**

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
MATHIAS K. JUCKER
Dipl. Natw. ETH
Geboren am 7. Juli 1961 von Zürich

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. med. K. Bättig, Referent
Prof. Dr. med. W. Meier-Ruge, Korreferent

19.4.88 *K. Bättig*

Zürich 1988

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der korrelativen verhaltensphysiologischen, morphometrischen und 2-Deoxyglukose-Stoffwechsel Untersuchungen von Altersveränderungen des Rattengehirns bestand einerseits in den gegenseitigen Interpretationshilfen der Befunde, andererseits in der Suche nach möglichen sinnvollen Ansatzpunkten einer mehr kausal orientierten Altersforschung. Durch Einbezug zweier nootroper Geriatrika (Vincaminderivate) wurde zum einen die Objektivierung ihrer Wirkungscharakteristika anvisiert, zum anderen wurden die beiden Substanzen als "Stressoren" zur zuverlässigeren Erlangung eines konstruktiven Ergebnisses in die Studie miteinbezogen.

In einem ersten Telexperiment wurden die verhaltensphysiologischen Charakteristika von adulten ($15\frac{1}{2}$ Monate) vs. seneszenten (25 Monate) Fischer-344 Ratten in einem komplexen, automatisierten Tunnellabyrinth untersucht. Die adulten Tiere zeigten im Vergleich zu den alten Ratten eine verminderte Blindgangbetretung und mehr unvollständig patrouillierte Tunnelarme. Eine altersbedingte Abnahme der lokomotorischen Aktivität und eine altersbedingt verschlechterte Arm-Patrouilliereffizienz konnte erst in einer späteren Testphase gefunden werden (26 vs. $16\frac{1}{2}$ Monaten). Die Resultate können als relativ geringe altersbedingte Defizite des Arbeitsspeichers und des Referenzgedächtnisses interpretiert werden. Basierend auf diesen Befunden wurden sodann in einem nächsten Schritt die Effekte von Bromvincamin und Apovincaminsäure-ethylester (Vinpocetin) auf das spontane Explorationsmuster der zwei Altersgruppen untersucht. Akute Gaben der Vincaminderivate induzierten in beiden Altersruppen ($27\frac{1}{2}$ und 18 Monate) eine Sedation, während eine 42-tägige Applikation mit einmaliger i.p. Dosisgabe pro Tag stimulierend auf die Tiere wirkte. Die pharmakologische Wirkung auf alte und adulte Ratten unterschied sich tendenziell nur insofern, als eine Verschiebung der inversen U-förmigen Dosis-Wirkungskurve zu altersbedingt höheren maximal stimulierenden Dosierungen gefunden wurde. Bromvincamin und Vinpocetin scheinen vom verhaltensphysiologischen Standpunkt aus etwa gleich wirksam, wobei die Charakteristika der Dosis-Wirkungskurve der zwei Substanzen eine grössere therapeutische Breite für Bromvincamin im Vergleich zu Vinpocetin vermuten lassen.

Das zweite Telexperiment hatte zum Ziel, bei den gleichen Ratten Auskunft über die Stereologie der kapillaren Netzwerke zu erhalten und gleichzeitig die Bedeutung des Alterns, sowie die Effekte der zwei Vincaminderivate zu erfassen.

sen. Die Resultate dieser Untersuchung liessen eine altersbedingte Zunahme des Kapillardurchmessers und der Kapillarabstände in der CA1-Region des Hippocampus und der Area 39 des parietalen Kortex erkennen. Nicht nur altersbedingt, sondern auch nach oben erwähnter chronischer Vincaminderivaten-Applikation konnten in beiden Regionen Veränderungen in der Stereologie des Kapillarnetzwerkes nachgewiesen werden. Für die alten Ratten wurde eine dosisabhängige Abnahme des interkapillaren Abstandes bis auf das Kontrollniveau der adulten Tiere gefunden. Letztere reagierten ähnlich, jedoch waren die Veränderungen weit weniger ausgeprägt. Der Kapillardurchmesser blieb durch eine solche pharmakologische Behandlung unbeeinflusst. Lineare, signifikante negative Korrelationen wurden einerseits zwischen dem interkapillaren Abstand und der ^{14}C -2-Deoxyglukose-Aufnahme in der CA1-Region des Hippocampus und in der Area 39 (parietale Hirnrinde) gefunden, andererseits zwischen dem interkapillaren Abstand und der lokomotorischen Aktivität der Ratten im Tunnellabyrinth. Die Resultate indizieren, dass der interkapillare Abstand ein Mass für die funktionelle neuronale Aktivität darstellt.

Im dritten Telexperiment wurde wiederum bei den gleichen Tieren altersbedingte Veränderungen der lokalen ^{14}C -2-Deoxyglukose -Aufnahmerate in verschiedenen Hirnregionen untersucht und mittels einer "funktionellen Hirnkarte" das Wirkungsspektrum von Bromvincamin und Vinpocetin charakterisiert. Die $27\frac{1}{2}$ im Vergleich zu den 18 Monate alten Ratten zeigten in 10 der 13 untersuchten Hirnstrukturen altersbedingt verminderte relative 2-Deoxyglukose-Aufnahmen. Signifikante altersbedingte Abnahmen wurden in den sensomotorischen ventralen Thalamuskernen, im auditorischen System, im parietalen Kortex (Area 39) und in limbischen Strukturen gefunden. Während bei den alten Ratten nach der chronischen Vinpocetin - und Bromvincamin-Applikation eine generelle aber relativ geringe Steigerung der 2-Deoxyglukose-Aufnahmerate gefunden wurde, resultierte die Vincaminderivaten-Applikation in den adulten Tieren in einer tendenziellen Depression der 2-Deoxyglukose-Utilisation. Vinpocetin erwies sich in den untersuchten Dosierungen (2,5, 5, 10 mg/kg) als die tendenziell potentere Substanz. Die errechneten signifikanten Korrelationen zwischen der Blingangaktivität im Tunnellabyrinth (Referenzgedächtnis) und der 2-Deoxyglukose-Aufnahme in der CA1-Region des Hippocampus (nur für die seneszenten Tiere!), sowie die Korrelation zwischen der Arm-Patrouilliereffizienz (Arbeitsspeicher) und der 2-Deoxyglukose-Aufnahme in verschiedenen Strukturen der hippocampalen Formation und der Area 39 des parietalen Kortex weisen auf funktionell-anatomische Hirnkorrelate hin. Die gefundenen signifikanten Korrelationen zwischen den kognitiven Verhaltensparametern und der 2-Deoxyglukose-Aufnahme im Corp. geniculatum mediale indizieren im weiteren, dass die auditorische Orien-

tierungskomponente eine wichtige Rolle beim Patrouillieren des Tunnellabyrinthes spielt.

SUMMARY

The primary aim of the correlative behavioral, morphometric and 2-deoxyglucose studies of the age-related changes in the rat brain was mutually interpretive aids; another was the search for meaningful approaches to more etiologically oriented research on aging. Two nootropic geriatric drugs (vincamine derivatives) were included in an attempt to objectify their characteristic effects. The vincamines were used in the hope that the inclusion of these two substances as "stressors" would further support the reliable attainment of constructive results.

A first experiment examined the spontaneous behavioral pattern of adult ($15\frac{1}{2}$ months) vs. senescent (25 months) Fischer-344 rats in a complex automated tunnel maze. The adult in comparison to the old rats showed a decreased number of blind alley entries and an increased number of incomplete arm visits. Age-related declines in locomotor activity and arm-patrolling efficiency were found only in a subsequent test phase ($27\frac{1}{2}$ vs. 18 months). The results can be interpreted as small age-dependant impairments in working and reference memory performance. Based on these findings, the effects of brovincamine and apovincainic acid ethylester (Vinpocetine) on the spontaneous behavioral pattern of the two age groups were examined in a further step. Whereas the acute treatment was found to have a sedative effect in both groups (26 vs. $16\frac{1}{2}$ mo), the chronic application for 6 weeks with daily i.p. injections had a stimulative effect on the animals. The pharmacological effect in the old and the adult rats tended to differ only in that the inverted U-shaped dose-effect curve shifted to age-dependent higher maximal stimulating doses. From the behavioral point of view, the effects of brovincamine and vinpocetine seem to be similar, although the dose-effect functions of the two drugs suggest a wider therapeutic window for brovincamine.

The purpose of the second examination was to gain information about the brain capillary network in the same animals and to investigate the effects of

aging and the two vincamine derivatives on stereological capillary parameters. The results showed an age-related increase in both capillary diameter and intercapillary distance in the CA1-field of the hippocampus and the area 39 of the parietal cortex. Changes in the capillary networks in both measuring fields could be detected in association with aging, but also after the chronic vincamine derivative treatment. The results showed a dose-dependant shortening of the intercapillary distance in the old animals approaching the level of the adult controls. The pharmacological effect in the adult animals was similar but less pronounced. No changes in capillary diameter could be found after the chronic drug treatment. The correlative analysis yielded significant negative correlations between the intercapillary distance and the ^{14}C -2-deoxyglucose uptake in the CA1-field of the hippocampus and the area 39 (parietal cortex), on the one hand, and between the intercapillary distance and the locomotor activity of the rats in the tunnel maze on the other. These findings suggest that the intercapillary distance can be considered as a parameter for functional neuronal activity.

The last experiment was conducted to investigate the age-related changes in local relative ^{14}C -2-deoxyglucose uptake in the brain of the same Fischer-344 rats, but also to obtain a functional-anatomical map of the mode of action of brovincamine and vinpocetine. The $27\frac{1}{2}$ - in comparison to the 18-month-old rats showed in 10 of the 13 brain structures declines in relative 2-deoxyglucose uptake. Significant age-dependant decreases were found in the sensorimotor nucleus of the ventral thalamus, in the auditory system, in the parietal cortex (area 39) and in limbic structures. Whereas in the old animals the chronic drug treatment induced a general but rather small stimulation of 2-deoxyglucose uptake, 2-deoxyglucose utilisation in the adult animals tended to be depressed. Vinpocetine in the examined doses (2.5, 5, 10 mg/kg) appeared to be more effective. The computed significant correlations between blind alley activity in the tunnel maze (reference memory) and the 2-deoxyglucose uptake in the CA1-field of the hippocampus (only for the senescent animals!), as well as the correlations between the arm-patrolling efficiency (working memory) and the 2-deoxyglucose uptake in various structures of the hippocampal formation and area 39 of the parietal cortex, point to functional-anatomical brain correlatives. Furthermore, the obtained significant correlations between the cognitive behavioral parameters and the 2-deoxyglucose utilisation of the corpus geniculatum mediale indicate the importance of the auditory system in the patrolling of the tunnel maze.