

Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

D i s s e r t a t i o n

Kognition, Gehirnstruktur und Lebensstil bei gesunden Älteren

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicarum (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lucia Kerti

aus

Pressburg

Datum der Promotion: 22. Juni 2014

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
Zusammenfassung	6
Abstract	7
Einleitung	8
Zielstellungen	11
Methodik	11
Probanden.....	11
Neuropsychologische Testung.....	12
Strukturelle Magnetresonanztomographie.....	12
Transkranielle Magnetstimulation.....	13
Blutparameter und anthropometrische Daten.....	14
Omega-3-Index.....	14
Kapseleinnahme/Intervention.....	15
Intima-Media-Dicke-Messung.....	15
Statistik.....	15
Ergebnisse	17
Studie 1.....	17
Studie 2.....	17
Studie 3.....	18
Diskussion	19
Studie 1.....	19
Studie 2.....	20
Studie 3.....	22
Fazit und Ausblick	23

Literaturverzeichnis	25
Anteilerklärung	29
Druckexemplare der ausgewählten Publikationen	30
Publikation 1	30
Publikation 2	39
Publikation 3	47
Lebenslauf	58
Komplette Publikationsliste	59
Eidesstattliche Versicherung	62
Danksagung.....	63

Abkürzungsverzeichnis

AD	<i>engl.</i> Alzheimer's disease
APB	<i>lat.</i> abductor pollicis brevis
APO E	Apolipoprotein E
BDI	Beck depression inventory
BDNF	<i>engl.</i> brain derived neurotrophic factor
BMI	Body-Mass-Index
CCD	<i>engl.</i> coil-to-cortex distance
CIMT	<i>engl.</i> carotid intima media thickness
CR	<i>engl.</i> caloric restriction
CSF	<i>engl.</i> cerebrospinal fluid
CT	<i>engl.</i> cortical thickness
DHA	<i>engl.</i> docosahexaenoic acid
DTI	<i>engl.</i> diffusion tensor imaging
EPA	<i>engl.</i> eicosapentaenoic acid
FA	Fraktionelle Anisotropie
FAST	<i>engl.</i> FMRIB's Automated Segmentation Tool
FIRST	<i>engl.</i> FMRIB's Integrated Registration and Segmentation Tool
GM	<i>engl.</i> gray matter
HbA1c	Hämoglobin A1c
HC	Hippocampus

IL-6	Interleukin-6
LTP	<i>engl.</i> long term potentiation
M1	Primär-motorischer Kortex
MCI	<i>engl.</i> mild cognitive impairment
MD	Mittlere Diffusivität
MEP	<i>engl.</i> motor evoked potential
MRT	Magnetresonanztomographie
PAS	<i>engl.</i> paired associative stimulation
PT	Pyramidentrakt
RD	Radiale Diffusivität
rMT	<i>engl.</i> resting motor threshold
TMS	Transkranielle Magnetstimulation
TNF-α	Tumornekrosefaktor- α
ω-3 FA	<i>engl.</i> omega-3 fatty acids
VLMT	Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest
WM	<i>engl.</i> white matter

Zusammenfassung

Die steigende Prävalenz neurodegenerativer Erkrankungen, wie der Demenz, belastet zunehmend sowohl betroffene Patienten und deren Familien, als auch das Gesundheitssystem. Die frühzeitige Erkennung dementieller Risikofaktoren und die Entwicklung nichtmedikamentöser Präventionsmaßnahmen sind daher von großer Bedeutung. Ziel dieser Dissertationsschrift ist, im Rahmen dreier Studien an gesunden älteren Menschen, Zusammenhänge zwischen kognitiven und strukturellen Gehirnparametern, Neurophysiologie und peripheren Blutparametern genauer zu charakterisieren, sowie Präventivansätze zu entwickeln.

Die *erste Studie* untersuchte bei 30 Probanden den Zusammenhang zwischen strukturellen und neurophysiologischen Parametern der grauen und weißen Substanz. Vorangehende Studien hatten gezeigt, dass die individuelle motorische Ruheschwelle (rMT) bei Patienten mit Alzheimer-Demenz erniedrigt ist. In der vorliegenden Studie konnten wir mittels Regressionsanalysen unter anderem zeigen, dass die Kortexdicke und der „coil-to-cortex“ Abstand die stärksten Prädiktoren für kortikale Erregbarkeit sind, und dass eine niedrige rMT mit einer schlechteren Lernleitung bereits bei noch gesunden älteren Personen assoziiert ist. Die Ergebnisse legen daher nahe, dass eine geringere rMT auf ein Risiko für kognitive Verschlechterungen in diesem Kollektiv hinweisen könnte.

Die *zweite Studie* analysierte in 141 Probanden Zusammenhänge zwischen peripherem Glukosemetabolismus (HbA1c, Nüchternglukose), der Gedächtnisleistung und dem Volumen und der Mikrostruktur des Hippocampus (HC). Die Probanden wurden neuropsychologisch getestet, erhielten ein 3 Tesla MRT des Kopfes und es wurden Nüchternblutproben entnommen. Regressionsmodelle zeigten eine signifikante Assoziation zwischen höheren HbA1c-Werten und schlechterer Gedächtnisleistung. Mediationsanalysen ergaben, dass diese Effekte teilweise über strukturelle HC-Parameter vermittelt werden. Diese Erkenntnisse lassen vermuten, dass höhere Blutzuckerwerte einen negativen Einfluss auf die Kognition ausüben, auch wenn diese nicht pathologisch erhöht sind. Langfristig könnte es daher sinnvoll sein, Interventionen zu entwickeln, die auf Senkung eines chronisch leicht erhöhten Blutzuckerspiegels abzielen.

Die *dritte Studie* untersuchte anhand 65 Probanden die Effekte einer Omega-3-Fettsäure (O3-FS)-Supplementierung (2,2 g/Tag) auf die Gedächtnisleistung und die Gehirnstruktur. Vor und

nach der 26-wöchigen Intervention (O3-FS- bzw. Placebokapseln) wurden die Teilnehmer neuropsychologisch getestet und erhielten eine MRT-Bildgebung. Weiterhin wurden Nüchternblutproben entnommen und die Intima-Media-Dicke (CIMT) gemessen. Nach der Intervention wies die O3-FS-Gruppe einen signifikant höheren Omega-3-Index (prozentualer Anteil O3-FS in Erythrozytenmembranen), sowie Verbesserungen in den Exekutivfunktionen auf. Longitudinale MRT-Analysen zeigten für die Interventionsgruppe regionale Volumenzunahmen (präfrontaler Kortex, linker HC) sowie linkshemisphärisch regionale Verbesserungen der Integrität der weißen Substanz. Weiterhin führten O3-FS zu geringerer globaler Hirnatrophie sowie zur Abnahme der CIMT bei den Frauen. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass O3-FS positive Effekte auf Exekutivfunktionen sowie auf korrespondierende Hirnareale und Arteriosklerosemerkmale ausüben. Hieraus könnten sich Präventionsmaßnahmen ergeben, die altersassoziiertem kognitiven Abbau, sowie arteriosklerotischen Gefäßveränderungen entgegenwirken.

Abstract

The growth of neurodegenerative diseases such as dementia leads to problems for an increasing number of affected patients and their families as well as for the health economic system. Early detection of associated risk factors and the search for novel preventive strategies is thus of major importance. Within the scope of three studies, this thesis explored relationships between behavioral, structural and neurophysiological brain parameters and blood markers in a cohort of healthy older people to provide support for future prevention strategies.

The *first study* elucidated relationships between structural and neurophysiological parameters of gray and white matter in 30 subjects. Previous studies demonstrated reduced resting motor threshold (rMT) in patients with Alzheimer's disease. In the present study, regression analyses indicated that cortical excitability was best predicted by cortical thickness and coil-to-cortex distance. Moreover, lower rMT was associated with reduced learning ability. The results suggest that lower rMT may be a parameter to identify a potential risk for cognitive decline within this cohort.

The *second study* investigated associations between peripheral glucose metabolism (HbA1c, fasting glucose), memory performance, and volume as well as microstructure of the hippocampus (HC). 141 subjects underwent neuropsychological testings, 3 Tesla MRI and donated fasting blood samples. Regression models indicated a strong association between higher HbA1c levels and reduced memory performance. Mediation models revealed that the effects of HbA1c on memory are partially mediated by structural HC parameters. This indicates a negative influence of elevated glucose levels even in the absence of pathological values. Future interventions, aiming at lowering blood sugar levels, might be initiated.

The *third study* tested whether 26 weeks of omega-3 fatty acid (o-3 FA) supplementation (2.2 g/day) would benefit cognition and brain structure. 65 subjects (o-3 FA vs. placebo) underwent neuropsychological testings, MRI, collection of blood samples and measurement of carotid intima-media thickness (CIMT). A significant increase in omega-3-index (percentage of o-3 FA in membranes of erythrocytes) and executive functions was found in the o3-FA group. Longitudinal MRI analyses revealed volume increases (prefrontal cortex, left HC) as well as regional improvements of left-hemispheric white matter integrity within the intervention group. Moreover, o-3 FA lowered global brain atrophy and CIMT in females. This data suggests that o-3 FA may benefit executive functioning, corresponding brain areas and markers of atherosclerosis. Based on these findings, novel prevention strategies might be developed in the future.

Einleitung

In unserer Gesellschaft nimmt die Anzahl älterer Menschen auf Grund des demografischen Wandels kontinuierlich zu. Dies geht auch mit einer erhöhten Prävalenz dementieller Erkrankungen, wie z.B. der Alzheimer Erkrankung (*engl.* Alzheimer's disease, AD), einher [1]. Derzeit sind weltweit über 35 Millionen Menschen von Demenz betroffen. Schätzungen des *Welt-Alzheimer-Berichts 2013* [1a] zufolge soll sich diese Anzahl bis zum Jahr 2030 verdoppeln und bis 2050 sogar verdreifachen.

Es wird vermutet, dass neurodegenerative Prozesse, die zu dementiellen Erkrankungen wie der AD führen, bereits Jahre oder gar Jahrzehnte vor dem eigentlichen Auftreten der typischen

kognitiven Symptome beginnen [2]. Die Gedächtnisleistung lässt in geringerem Ausmaß jedoch auch bei gesunden älteren Menschen nach. Auch während eines „normalen Alterungsprozesses“ erfährt das Gehirn diverse strukturelle Veränderungen [3-4], die schrittweise zu einem Rückgang der kognitiven Leistungsfähigkeit führen. Die Erforschung möglicher Präventionsmaßnahmen, die neuronalen Abbauprozessen des Gehirns bereits während des gesunden Lebensstadiums entgegenwirken, ist daher von gesundheitsökonomischer und wirtschaftlicher [5], aber auch für die persönliche Lebensqualität älterer Menschen und betroffener Demenzpatienten von enormer Bedeutung.

Im Gegensatz zu Studien mit jungen Gesunden oder Patienten die bereits leichte kognitive Einschränkungen (*engl.* mild cognitive impairment, MCI) oder eine manifeste Demenz aufweisen, sind umfassende Untersuchungen an älteren gesunden Menschen hinsichtlich Gehirnstruktur, Gedächtnisleistung, peripherer Blutmarker sowie deren mögliche Zusammenhänge in der gegenwärtigen Literatur noch selten.

Vor allem neurophysiologische Aspekte, welche zu einem besseren Verständnis der Mechanismen des altersassoziierten kognitiven Abbaus beitragen können, wurden in der Vergangenheit bei gesunden älteren Menschen noch nicht untersucht. Unter Verwendung einer nicht-invasiven kombinierten Messmethode von Magnetresonanztomographie (MRT) und transkranieller Magnetstimulation (TMS) können Parameter wie die kortikale Dicke, kortikale Erregbarkeit und LTP-ähnliche Plastizität ermittelt werden. Aus früheren Studien ist bereits bekannt, dass Patienten mit kortikaler Atrophie bzw. AD Patienten eine erhöhte kortikale Erregbarkeit aufweisen [6]. Inwiefern diese neurophysiologischen Parameter bei gesunden älteren Menschen mit besseren oder schlechteren kognitiven Leistungen assoziiert sind, ist noch unklar.

Ein wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung einer Demenz ist ein chronisch erhöhter Blutzuckerspiegel [7]. Zahlreiche Studien im Tiermodell [8] und bei Menschen [9] konnten zeigen, dass eine gestörte Glukosetoleranz (*engl.* impaired glucose tolerance, IGT) und Diabetes Mellitus Typ 2, negative Auswirkungen auf die Gedächtnisleistung, sowie auf lernrelevante Gehirnareale wie den Hippocampus haben. Dass auch höhere Blutzuckerspiegel innerhalb des definierten Normbereichs bei gesunden älteren Menschen (<6,1 mmol/L laut *World Health Organization*, WHO [1b]) mit schlechterer Gedächtnisleistung assoziiert sind, konnte vor

kurzem gezeigt werden [10]. Jedoch gibt es hierzu bislang noch keine Untersuchungen hinsichtlich Langzeitparametern des Glukosemetabolismus (Hämoglobin A1c, HbA1c), sowie zu den Effekten auf den Hippocampus auf mikrostruktureller Ebene.

Zahlreiche tierexperimentelle Studien, sowie epidemiologische und interventionelle Humanstudien legen nahe, dass bestimmte Lebensstilfaktoren, wie beispielsweise Ernährungsmodifikationen in Form einer erhöhten Zufuhr von Omega-3-Fettsäuren, mit einer verbesserten kognitiven Leistungsfähigkeit assoziiert sind [11-12]. Weiterhin konnte hier ein reduziertes Demenzrisiko, sowie eine protektive Wirkung auf Struktur und Integrität des Gehirns beobachtet werden. Interventionsstudien mit einer Omega-3-Supplementierung zeigten in der Vergangenheit jedoch gegensätzliche Ergebnisse, daher ist eine positive Wirkung von Omega-3-Fettsäuren auf das menschliche Gehirn noch Gegenstand kontroverser Diskussionen. Positive Effekte auf die Gedächtnisleistung konnten in humanen Interventionsstudien des Weiteren auch in Zusammenhang mit einer kalorienreduzierten Ernährung (*engl.* caloric restriction, CR) [13] und gesteigerter körperlicher Aktivität [14] beobachtet werden. Die Erkenntnisse aus diesen Studien lassen vermuten, dass spezifische Lebensstilmodifikationen einen direkten positiven Effekt auf periphere Blutparameter, wie z.B. Glukose- und Entzündungsmarker, sowie Neurotrophine haben, die ihrerseits Prozesse auslösen, die zu gesteigerter Gedächtnisleistung führen.

Zusammenfassend konnten in der Vergangenheit einige Blutparameter und Gehirnareale identifiziert werden, die wichtige Schlüsselrollen bei neurodegenerativen Prozessen spielen, die im Verlauf eines pathologischen und normalen Alterungsprozesses zu beobachten sind. Weiterhin wurden in der Literatur verschiedene Aspekte des Lebensstils diskutiert, die das Potential haben, die oben genannten Faktoren im positiven Sinne zu modifizieren. Inwiefern jedoch genau Kognition, Gehirnstruktur und periphere Parameter miteinander interagieren, welche Mechanismen eine zentrale Rolle spielen und auf welche Weise Lebensstilmodifikationen in diese Mechanismen eingreifen können, ist beim Menschen noch weitgehend unklar.

Zielstellungen

Im Rahmen der *ersten Studie* wurde der Zusammenhang zwischen strukturellen Gehirnparametern, Neurophysiologie des Kortex und Kognition bei gesunden älteren Probanden untersucht. Ziel dieser Querschnittstudie war hierdurch ein besseres Verständnis über Mechanismen des altersassoziierten kognitiven Abbaus zu erhalten.

In der *zweiten Studie* wurde untersucht, welchen Einfluss der Glukosemetabolismus, gemessen anhand HbA1c und Nüchtern glukose, zum einen auf die Gedächtnisleistung und zum anderen auf das Volumen und die mikrostrukturelle Integrität des Hippocampus bei gesunden älteren Menschen hat.

Die *dritte Studie* ging der Frage nach, inwiefern eine 26-wöchige hochdosierte Supplementierung von Omega-3-Fettsäuren die Gedächtnisleistung und die Gehirnstruktur von gesunden älteren Menschen beeinflussen kann.

Methodik

Probanden

Für die Untersuchungen im Rahmen der drei durchgeführten Studien wurden gesunde Probanden im Alter von 50 bis 75 Jahren eingeschlossen. Die Rekrutierung erfolgte an der Poliklinik für Neurologie der Charité Berlin über Zeitungs- und Internetanzeigen und erstreckte sich über den Zeitraum Januar 2010 bis Juni 2011. Im Laufe dieser Rekrutierungsphase wurden 30 Teilnehmer in die *erste Studie* eingeschlossen, 141 Probanden nahmen im Rahmen der *zweiten Studie* teil und die Daten von 65 Probanden wurden für die *dritte Studie* ausgewertet. Zu den Ausschlusskriterien zählten unter anderem ein Body-Mass-Index (BMI) unter 25 kg/m^2 bzw. über 30 kg/m^2 , neurologische und psychiatrische Erkrankungen, Diabetes Mellitus Typ 2, Alkohol- und Nikotinabusus, sowie Linkshändigkeit. Die Studien wurden von der lokalen Ethikkommission der Charité genehmigt. Alle Probanden gaben im Vorfeld ihr schriftliches Einverständnis und erhielten am Ende der Studie eine Aufwandsentschädigung.

Neuropsychologische Testung

Die Probanden nahmen an ihren jeweiligen Untersuchungsterminen an einer umfassenden neuropsychologischen Testung teil. Hierbei handelte es sich um Tests zur Gedächtnisleistung, zu Exekutivfunktionen, Aufmerksamkeit und zum sensomotorischen System. Für die Auswertung wurden die Tests zum einen in Form von Rohwerten (z.B. Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest, VLMT [15]; *Studie 1 und 2*) verwendet und zum anderen wurden über z-Transformationen Summenwerte für die jeweiligen kognitiven Domänen gebildet (*Studie 3*).

Strukturelle Magnetresonanztomographie

Alle Teilnehmer erhielten zu jedem Untersuchungszeitpunkt eine strukturelle MRT-Aufnahme des Kopfes, welche an der Klinik für Neurologie des Campus Benjamin Franklin der Charité Berlin stattfand. Die Messungen wurden an einem 3 Tesla Scanner (Trio TIM, Siemens, Erlangen) unter Verwendung einer hochauflösenden 12-Kanal Kopfspule durchgeführt. Die dreidimensionalen Bilddatensätze wurde mittels T1-gewichteter Echo-Gradient-Sequenz (time to repeat, TR = 1900 ms, time to echo, TE = 2,52 ms, 192 Schichten, Voxelgröße = 1,0 x 1,0 x 1,0 mm³, Flipwinkel = 9°) aufgenommen. Weiterhin wurde eine Diffusions-gewichtete Bildgebung (*engl.* diffusion tensor imaging, DTI) mittels einer Spin-Echo Planar Imaging Sequenz (TR = 7500, TE = 86 ms, 61 Schichten, Voxelgröße = 2,3 x 2,3 x 2,3 mm³, 64 Richtungen mit einem *b*-Wert von 1000 s/mm² und einem *b*₀) durchgeführt.

Die MRT-Daten wurden im Rahmen aller drei Studien mit Hilfe der Softwarepakete FSL (www.fmrib.ox.ac.uk/fsl) und FreeSurfer (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>) ausgewertet.

Zur Bestimmung der Kortexdicke (*engl.* cortical thickness, CT) bei den Probanden der *ersten Studie* wurde zunächst eine FreeSurfer-basierte automatisierte Rekonstruktion der Kortexoberfläche vorgenommen [16] und die CT im primär-motorischen Kortex (M1) wie zuvor beschrieben bestimmt [17]. Hierfür wurde der individuelle „coil-to-cortex“ Abstand (*engl.* coil-to-cortex distance, CCD) auf Basis der T1-gewichteten Bilder ausgemessen.

Zur Extraktion und Berechnung des Hippocampusvolumens im Rahmen der *zweiten Studie* wurde zunächst die automatisierte Methode FIRST (*engl.* FMRIB's Integrated Registration and Segmentation tool) auf die T1-gewichteten Bilder angewendet, um eine modellbasierte Segmentierung des linken und rechten Hippocampusareals zu ermöglichen. Es folgten weitere

Vorverarbeitungsschritte mittels FAST (*engl.* FMRIB's Automated Segmentation Tool), um das Gehirn in graue Substanz (*engl.* gray matter, GM) weiße Substanz (*engl.* white matter, WM) und zerebrospinale Flüssigkeit (*engl.* cerebrospinal fluid, CSF) zu segmentieren. Das errechnete Hippocampusvolumen wurde abschließend jeweils auf das individuelle Gesamtgehirnvolumen adjustiert (siehe [18] und *Publikation 2* für Details). Die Analyse der hippocampalen Mikrostruktur erfolgte mittels der DTI-Daten, auf deren Basis man Auskunft über die Diffusionsbewegungen der Wassermoleküle im Gewebe erhält. Nach einer Bewegungskorrektur erfolgte die Anpassung eines Tensor-Modells auf die DTI-Bilder, um somit individuelle dreidimensionale Bilder der mittleren Diffusivität (*engl.* mean diffusivity, MD) zu erhalten. Die individuellen T1-gewichteten Bilder wurden auf die *b0*-Bilder mittels rigid-body-Transformation coregistriert. Anschließend wurden Masken des linken und rechten Hippocampus gebildet, auf die MD-Bilder transformiert, um somit die Mittelwerte der hippocampalen MD zu berechnen.

Um die Veränderungen des GM-Volumens im Interventionsverlauf der *dritten Studie* zu detektieren, wurde eine longitudinale Version der voxelbasierten Morphometrie (*engl.* voxel-based morphometry, VBM; [19-20]) implementiert in FSL, angewendet. Die Gesamthirnanalyse der regionalen Veränderungen der Mikrostruktur innerhalb der WM wurde in den DTI-Bildern mittels einer longitudinalen Version von TBSS (*engl.* tract-based spatial statistics; [21]) durchgeführt. Zur Berechnung der Unterschiede innerhalb GM, fraktioneller Anisotropie (FA), mittlerer Diffusivität (MD) und radialer Diffusivität (RD) wurde die FSL-implementierte „*Randomise*“ Methode angewendet. Hiermit konnten diese Parameter auf Voxel Ebene zwischen den Interventionsgruppen, sowie zwischen den zwei Zeitpunkten miteinander verglichen werden. Eine Korrektur für multiple Vergleiche erfolgte über TFCE (*engl.* threshold-free cluster enhancement) bei einer festgelegten minimalen Clustergröße von 5 Voxeln und einem Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

Transkranielle Magnetstimulation

Für die Ermittlung der Langzeitpotenzierung (LTP)-ähnlichen kortikalen Plastizität in der *ersten Studie* wurde eine nicht invasive transkranielle Magnetstimulation mittels eines Magstim 200 Stimulators (Magstim, Whitland, Dyfed, UK) durchgeführt. Der Stimulator war mit einer Magnetspule verbunden (8-förmige Doppelspule, 9 cm Durchmesser je Spule) die in einem 45° Winkel zum Interhemisphärenspalt über dem primär-motorischen Kortex platziert wurde. Die

optimale Position befand sich unmittelbar über dem linken primär-motorischen Repräsentationsfeld des rechten Musculus abductor pollicis brevis (APB). Die an dieser Stelle erzeugten motorisch evozierte Potentiale (*engl.* motor evoked potential, MEP) des APB wurden mittels Elektromyografie (Oberflächenelektroden: Ableitelektrode auf dem Muskelbauch des APB) aufgenommen.

Als Messparameter zur Quantifizierung der kortikalen Erregbarkeit wurde zunächst die motorische Ruheschwelle (*engl.* resting motor threshold, rMT) bestimmt. Hierbei handelt es sich um die minimale Stimulationsintensität (gemessen am maximalen Stimulator-Output des TMS-Gerätes), die notwendig ist, um über dem APB ein MEP von 50 μ V in mindestens fünf von zehn Durchgängen zu erzeugen [22]. Die Induktion LTP-ähnlicher Plastizität wurde mit einer modifizierten Version des gepaarten assoziativen Stimulationsprotokolls (*engl.* paired associative stimulation, PAS) durchgeführt [23] das initial von Stefan und Kollegen beschrieben worden war [24].

Blutparameter und anthropometrische Daten

Zu allen Untersuchungszeitpunkten wurden bei den Probanden Nüchternblutproben entnommen. Zu den analysierten Serumparametern zählten unter anderem HbA1c, Nüchtern glukose, Insulin, Triglyzeride, Cholesterin, BDNF (*engl.* brain-derived neurotrophic factor), TNF- α (Tumornekrosefaktor- α) und IL-6 (Interleukin-6). Alle Parameter wurden im *Institut für medizinische Diagnostik* (IMD, Berlin) analysiert.

Im Rahmen der anthropometrischen Datenerhebung wurden das Körpergewicht und die Körpergröße zur Berechnung des BMI erhoben. Des Weiteren wurden Informationen zu Ernährungsverhalten und sportlicher Aktivität (Freiburger Fragebogen zum Aktivitätsverhalten [25], sowie zu Gemütszuständen wie Depression (*engl.* Beck Depression Inventory, BDI; [26]) und Angst (*engl.* State and Trait Anxiety Inventory, STAI; [27]) über Fragebögen erhoben.

Omega-3-Index

Im Rahmen der *dritten Studie* wurde der Omega-3-Index vor und nach 26-wöchiger Kapseleinnahme mariner Omega-3-Fettsäuren als Compliance Marker bestimmt. Hierbei handelt es sich um den prozentualen Anteil von Eicosapentaensäure (*engl.* eicosapentaenoic acid, EPA; C20:5n-3) und Docosahexaensäure (*engl.* docosahexaenoic acid, DHA; C22:6n-3) des

Gesamtfettsäureanteils in der Erythrozytenmembran [28]. Die Analyse erfolgte in Kooperation mit dem externen Labor *Lipidomix* in Berlin.

Kapseleinnahme/Intervention

Alle Probanden die im Rahmen der *dritten Studie* an der 26-wöchigen Intervention teilnahmen, wurden nach Abschluss der Baseline Untersuchungen zufällig in zwei unterschiedliche Gruppen (1. Omega-3-Gruppe, n=40; 2. Placebo-Gruppe, n=40) eingeteilt. Alle Probanden nahmen über den gesamten Zeitraum zweimal täglich jeweils zwei Kapseln ein. Bei der Omega-3-Gruppe beinhalteten die Kapseln 2200mg langkettige mehrfach ungesättigte Omega-3-Fettsäuren (1320mg EPA und 880mg DHA). Als Kontrollbedingung erhielten die Probanden der Placebo-Gruppe Sonnenblumenölkapseln, welche optisch nicht von den Fischölkapseln zu unterscheiden waren. Hergestellt wurden die Kapseln durch die Firma *Via Vitamine*, Oberhausen.

Intima-Media-Dicke-Messung

Um arteriosklerotische Veränderungen zu erfassen, wurde die Halsschlagader (Arteria carotis communis) aller Probanden vor und nach der Intervention (*Studie 3*) mittels einer hochauflösender Doppler-Sonografie untersucht. Die Messung der Intima-Media-Dicke (*engl.* Carotid intima media thickness, CIMT) erfolgte in Anlehnung an das Protokoll des Mannheim Consensus [29] mit Hilfe einer automatisierten Echtzeit Messmethode (Esaote Mylab25Gold, Köln). Der CIMT-Wert repräsentiert den Mittelwert von drei separaten Messungen je Körperseite.

Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels SPSS 19 und 20 (PASW, SPSS, IBM).

Studie 1: Um die Beziehung zwischen Alter, Geschlecht, Bildung, sowie strukturellen und neurophysiologischen Gehirnparametern zu analysieren, wurden hierarchische Regressionsmodelle (Methode: rückwärts) getrennt für die Kriteriumsvariablen rMT und LTP-ähnliche Plastizität berechnet. Vorab wurden Kollinearitätsmaße (Varianzinflationsfaktor, Toleranz) bestimmt, um eine zu starke wechselseitige Abhängigkeit der Prädiktoren ausschließen zu können. Zusammenhänge zwischen rMT und Lernleistung, sowie LTP-ähnlicher Plastizität und Lernleistung wurden analysiert und mittels Partialkorrelation bereinigt, um den Einfluss von

Alter, Geschlecht und Anzahl der Bildungsjahre zu untersuchen. Das Signifikanzniveau betrug in allen Analysen $\alpha < 0,05$.

Studie 2: Mittels bivariaten Korrelationen (univariate Analysen) wurden Zusammenhänge zwischen einzelnen Glukose-, Gedächtnis- und Hippocampusparametern untersucht. Mit Hilfe schrittweiser multipler Regressionsmodelle wurde der Einfluss der Glukoseparameter (HbA1c, Glukose) auf die Gedächtnisleistung (Kriteriumsvariable: verzögerter Abruf, Lernleistung, sowie Konsolidierung) unter Berücksichtigung mehrerer Prädiktoren (HbA1c, Glukose, Insulin, Hippocampusvolumen, hippocampale MD, Alter, Geschlecht, BMI, BDI, Apolipoprotein *E* (Apo *E*) Status, körperliche Aktivität, systolischer Blutdruck, Rauchen) ermittelt. Das Signifikanzniveau betrug $\alpha < 0,05$. Um der Frage nachzugehen, ob der Effekt der Glukoseparameter auf die Gedächtnisleistung über das hippocampale Volumen und die Mikrostruktur vermittelt wird, wurden Mediationsanalysen durchgeführt. In Anlehnung an frühere Studien [30] wurden über ein Bootstrapping Verfahren indirekte Effektgrößen innerhalb der Mediationsanalysen berechnet.

Studie 3: Zum Nachweis signifikanter Effekte der Omega-3-Supplementierung auf kognitive Prozesse wurden Varianzanalysen mit Messwiederholung (*engl.* repeated-measures analysis of variance; ANOVA_{RM}) mit dem Faktor „Zeit“ (Baseline-, Follow-up Untersuchung) als Messwiederholungs- und dem Faktor „Gruppe“ (Omega-3, Placebo) als Zwischensubjektfaktor getrennt für die abhängigen Variablen „Exekutivfunktionen“ bzw. „Gedächtnisleistung“ gerechnet. Als Anschlussanalysen wurden t-Tests berechnet. Hierbei wurde das Alphafehlerniveau für multiple Vergleiche entsprechend adjustiert (Bonferroni-adjustiertes $\alpha' = 0,025$). Gruppenvergleiche hinsichtlich verschiedener Baselineparameter wurden mittels parametrischer (unabhängige t-Tests) oder non-parametrischer (Mann-Whitney *U*-Tests und χ^2 -Tests) Tests berechnet. Das Signifikanzniveau betrug $\alpha = 0,05$.

Ergebnisse

Studie 1: „Zusammenhang zwischen Erregbarkeit, Plastizität und Kortexdicke im primär-motorischen Kortex“ In einer ersten multiplen Regressionsanalyse konnten die zwei stärksten Prädiktoren für die rMT identifiziert werden. Während als unabhängige Variablen Alter, Geschlecht, Bildungsjahre, CCD_{left} , $CT-M1_{\text{HANDleft}}$ und $FA-PT_{\text{left}}$ für das Modell gewählt wurden, blieben nur CCD_{left} und $CT-M1_{\text{HANDleft}}$ als signifikante Parameter im Modell (lineare Regression: $F=9,51$, $p=0,001$, $R^2=0,40$). Der Beta-Koeffizient für den Einfluss von CCD_{left} betrug 0,282 und für $CT-M1_{\text{HANDleft}}$ 0,485. Die Kortexdicke stellt somit den Haupteinflussfaktor für rMT dar. Mittels einer zweiten multiplen Regressionsanalyse wurden die stärksten Prädiktoren für die LTP-ähnliche kortikale Plastizität (abhängige Variable) ermittelt. Als unabhängige Variablen flossen dieselben Parameter wie im zuvor beschriebenen Modell ein. Hier blieben $FA-PT_{\text{left}}$ und $CT-M1_{\text{HANDleft}}$ als erklärende Größen im Modell ($F=6,42$, $p=0,005$, $R^2=0,32$). Bei einem Beta-Koeffizienten von -0,540 für den Einfluss von $FA-PT_{\text{left}}$ und 0,339 für den Einfluss von $CT-M1_{\text{HANDleft}}$ auf die LTP-ähnliche kortikale Plastizität, erwies sich $FA-PT_{\text{left}}$ als Haupteinflussfaktor. Als Kontrollbedingung wurden jeweils Regressionsmodelle mit rMT und PAS-induzierter Plastizität als abhängige, und mit Alter, Geschlecht, Bildungsjahren, sowie den kontralateralen Werten $FA-PT_{\text{right}}$, CCD_{right} und $CT-M1_{\text{HANDright}}$ als unabhängige Variablen, gewählt. Keine dieser Variablen erwies sich in diesen Modellen als signifikant (alle $p>0,05$). In zusätzlichen explorativen Analysen konnte unter anderem eine Korrelation zwischen höherer rMT und verbesserter verbaler Lernleistung (erhoben durch den VLMT) beobachtet werden ($r=0,38$; $p=0,04$).

Studie 2: „Höhere Glukosewerte sind mit geringerer kognitiver Leistungsfähigkeit und mit reduzierter Mikrostruktur des Hippocampus assoziiert“ Mittels univariaten Korrelationsanalysen wurde zunächst der Zusammenhang zwischen Parametern des Glukosemetabolismus (HbA1c, Glukose, Insulin) und der Gedächtnisleistung (VLMT) untersucht. Höhere HbA1c- und Glukosewerte waren signifikant mit schlechteren Resultaten in allen drei über den VLMT erhobenen Gedächtnisparametern (verzögerter Abruf, Lernleistung, Konsolidierung) assoziiert (alle $r\leq-0,22$; $p\leq0,01$). Über einige Trends hinaus gab es keine Korrelationen zwischen Insulinwerten und Gedächtnisparametern (alle $r<-0,15$, alle $p<0,07$). Schlechtere Gedächtnisleistungen (Lernleistung), korrelierten weiterhin signifikant mit geringerem Volumen sowie geringerer MD des Hippocampus. In weiteren Korrelationsanalysen

konnten Zusammenhänge zwischen peripheren Parametern des Glukosemetabolismus und den Hippocampusparametern gezeigt werden. Während niedrigere HbA1c-Werte nur annähernd signifikant mit einem größeren Hippocampusvolumen assoziiert waren ($r=-0,16$; $p=0,06$), erreichte die Assoziation mit Glukose Signifikanz ($r=-0,22$; $p=0,01$). Im Hinblick auf die hippocampale Mikrostruktur konnte ein Zusammenhang zwischen niedrigeren Werten aller drei Parameter des Glukosemetabolismus und einer erhöhten MD gefunden werden (HbA1c: $r=0,22$, $p=0,01$, Glukose: $r=0,37$, $p<0,01$; Insulin: $r=0,26$, $p<0,01$). In einem nächsten Schritt wurden drei multiple Regressionsmodelle (A, B, C) durchgeführt. Hierbei galt es für jeden der drei VLMT Gedächtnisparameter (abhängige Variablen) den stärksten Prädiktor zu ermitteln. In jedes der drei Modelle sind schrittweise zahlreiche Parameter (siehe Methodenteil für Details) als unabhängige Variablen eingegangen. In Modell A (verzögerter Abruf) erwiesen sich die Variablen HbA1c und Geschlecht als stärkste Prädiktoren ($R^2=0,10$; alle $|\beta|>0,18$, alle $p<0,026$). In Modell B (Lernleistung) erreichten die Variablen HbA1c, Geschlecht und Hippocampusvolumen ($R^2=0,16$; alle $|\beta|>0,22$, alle $p<0,005$) und in Modell C (Konsolidierung) HbA1c und Alter ($R^2=0,06$; alle $|\beta|<0,17$, alle $p<0,042$) das Signifikanzniveau. Abschließend konnte mit Hilfe von Mediationsanalysen gezeigt werden, dass der Effekt eines erhöhten Glukosemetabolismus auf die verschlechterte Gedächtnisleistung zum Teil durch das Volumen und die MD des Hippocampus vermittelt wird (alle $R^2_{4,5}>0,02$), was einer Varianzerklärung von etwa 2-3% entspricht.

Studie 3: „Verbesserung der kognitiven Leistung und Gehirnstruktur im Alter durch Omega-3-Fettsäuren“ Die 26-wöchige Intervention in Form einer Omega-3-Supplementierung führte zu einem signifikant höheren Omega-3-Index in der Omega-3-Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe ($p=0,002$). Dies ging mit einer verbesserten Leistung in Tests zu Exekutivfunktionen einher (ANOVA_{RM}, $p=0,023$; Bonferroni-korrigiert). In den longitudinalen MRT Auswertungen zeigte sich für die Probanden der Omega-3-Gruppe eine selektive Zunahme der grauen Substanz im präfrontalen Kortex, sowie im linken Hippocampus ($p<0,001$; TFCE-korrigiert). Weiterhin führte die Omega-3-Supplementierung zu einer geringeren globalen Atrophie der grauen Substanz ($p<0,05$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Hinsichtlich der strukturellen Integrität der weißen Substanz führte die Omega-3-Supplementierung zu einer signifikanten Erhöhung der FA, sowie zu reduzierter MD und RD, vor allem linkshemisphärisch innerhalb frontotemporaler und okzipitaler Trakte ($p<0,001$; TFCE-korrigiert). Die Analyse der

erhobenen vaskulären Parameter zeigte nach der Intervention eine Verminderung der linken CIMT in der Omega-3-Gruppe um 4,4%. Bei den Frauen erreichte dieser Wert Signifikanz (gepaarter t-Test, $t_{(14)}=2,2$; $p=0,047$). Des Weiteren führte die Omega-3-Supplementierung zu einem signifikant niedrigeren systolischen Blutdruck (-3,4%, $t_{(31)}=2,1$, $p=0,044$) im Vergleich zu unveränderten Blutdruckwerten innerhalb der Placebo-Gruppe. Es konnten auch einige Veränderungen der Serumparameter nach 26-wöchiger Kapseleinnahme beobachtet werden. Es zeigte sich zum einen eine signifikante Absenkung des Triglyceridspiegels in der Omega-3-Gruppe (gepaarter t-Test, $t_{(31)}=2,8$; $p=0,009$). Zum anderen konnten höhere BDNF-Werte und niedrigere Spiegel von Entzündungsmarkern in beiden Gruppen nach der Intervention beobachtet werden (TNF- α und IL-6, alle $p<0,016$). Jedoch korrelierten die verbesserten BDNF-Werte in der Omega-3-Gruppe zusätzlich signifikant mit der Verbesserung in den Exekutivfunktionen ($r=0,46$, $p=0,024$). Weiterhin korrelierten niedrigere Insulinwerte signifikant mit Verbesserungen der Exekutivfunktionen ($r=-0,45$, $p=0,01$) und der Konsolidierungsleistung ($r=-0,51$, $p=0,032$). Das Gesamtvolumen der grauen Substanz korrelierte signifikant neben Insulin ($r=-0,48$, $p=0,007$) auch mit Glukose ($r=-0,47$, $p=0,009$). Zusätzlich weisen die Daten auf eine signifikante Assoziation zwischen einer global verbesserten FA der weißen Substanz mit geringeren HbA1c-Werten ($r=-0,41$, $p=0,03$) und diastolischem Blutdruck ($r=-0,38$, $p=0,043$) hin.

Diskussion

Die im Rahmen dieser Promotion durchgeführten Studien hatten zum Ziel innerhalb einer gut charakterisierten Kohorte gesunder älterer Menschen zunächst in Querschnittsanalysen die Zusammenhänge zwischen kognitiven, strukturellen und neurophysiologischen Gehirnparametern, sowie peripheren Blutmarkern zu untersuchen. Weiterhin sollte eine Interventionsstudie zeigen, ob und inwiefern eine Supplementierung mariner Omega-3-Fettsäuren zur Modifikation von Kognition und Gehirnstruktur führt.

Studie 1: In dieser Arbeit konnten in einer Gruppe gesunder älterer Probanden, sowohl die Kortexdicke, als auch der „coil-to-cortex“ Abstand als stärkste Prädiktoren für kortikale Erregbarkeit identifiziert werden. Mittels multiplen Regressionsanalysen konnte gezeigt werden, dass diese beiden Parameter 40% der Varianz innerhalb dieses Modells erklären. Im Fall der LTP-ähnlichen kortikalen Plastizität erwiesen sich $FA-PT_{left}$ und $CT-M1_{HANDleft}$, mit einer

individuellen Varianzerklärung von 32% als stärkste Prädiktoren innerhalb des Regressionsmodells. Mittels eines explorativen Ansatzes konnte weiterhin beobachtet werden, dass Probanden mit höherer kortikaler Erregbarkeit eine schlechtere verbale Lernleistung zeigten.

Diese Ergebnisse gehen mit Daten aus früheren Studien einher, bei denen gezeigt werden konnte, dass Patienten mit kortikaler Atrophie bzw mit. kognitiven Einschränkungen, eine erhöhte kortikale Erregbarkeit, gemessen über rMT, aufweisen [6]. Eine niedrigere rMT könnte durch einen fortschreitenden Abbau inhibitorischer kortikaler Interneuronen bedingt sein, wie z.B. bei AD berichtet wurde [6]. Daraus lässt sich folgern, dass rMT zukünftig ein Parameter sein könnte, um bei gesunden Menschen frühzeitig Hinweise auf neurodegenerative Veränderungen zu erhalten. Vereinbar mit den Ergebnissen früherer Studien ergeben sich auch in dieser Arbeit Hinweise auf einen möglichen Kompensationsmechanismus der LTP-ähnlichen kortikalen Plastizität bei z.B. altersbedingten Schädigungen der weißen Substanz [31-32].

Die Ergebnisse dieser Querschnittstudie müssen in weiteren Längsschnittstudien validiert werden. Insbesondere muss untersucht werden, ob eine Abnahme der Kortexdicke tatsächlich mit einer Abnahme der rMT und der Lernfähigkeit über die Zeit assoziiert ist. Unter Hinzunahme weiterer Parameter, wie beispielsweise lernrelevante genetische Polymorphismen (z.B. Apo E) oder die Bestimmung von β -Amyloid und Tau-Protein im Liquor, könnten molekulare Mechanismen der hier aufgestellten Hypothesen genauer untersucht werden.

Studie 2: Die Daten dieser Querschnittstudie legen nahe, dass chronisch erhöhte Langzeit- (HbA1c) und Kurzzeitparameter (Nüchtern glukose) des Glukosestoffwechsels bei gesunden älteren Menschen, selbst wenn die Blutzuckerspiegel noch im Normbereich liegen, zu einer Verschlechterung der kognitiven Leistungsfähigkeit führen. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass höhere HbA1c- und Nüchtern glukosewerte mit einem geringeren Volumen sowie geringerer mikrostrukturellen Integrität des Hippocampus assoziiert sind.

Frühere Studien an Patienten mit Diabetes Typ 2 konnten globale Atrophien [33], sowie einen Zusammenhang zwischen höheren HbA1c-Werten und geringerem Hippocampusvolumen berichten [34]. Die Studienlage hinsichtlich Probanden außerhalb des diabetischen Bereiches ist jedoch uneinheitlich. Während einige Studien bei IGT-Probanden ähnlich schädigende Wirkungen eines erhöhten Glukosemetabolismus auf die kognitive Leistungsfähigkeit berichten

konnten [35], wurde in anderen Arbeiten ein solcher Effekt nicht gefunden [36]. Bei Probanden mit Glukosewerten im Normbereich konnte in einer longitudinalen Studie unlängst gezeigt werden, dass höhere Glukose-Kurzzeitparameter mit verschlechterter Gedächtnisleistung und reduziertem Hippocampusvolumen assoziiert waren [10]. Mit der hier vorliegenden Publikation ist es zum einen gelungen eine solche Assoziation auch für den Langzeitglukoseparameter HbA1c zu beobachten, zum anderen konnten zusätzliche Analysen der MD den bisherigen Forschungsstand erweitern. Eine erhöhte MD, welche als inverse Maßeinheit der neuronalen Integrität von Zellkörpern, Axonen und Dendriten innerhalb der grauen Substanz gilt, zeigte einerseits Assoziationen mit erhöhten Lang- und Kurzzeitparametern des Glukosemetabolismus und andererseits einen Zusammenhang mit einer schlechteren Gedächtnisleistung. Eine mögliche Interpretation dieser Ergebnisse ist, dass chronisch erhöhte Glukosewerte einen direkten negativen Effekt auf neuronale Strukturen, in Form von Störungen intra- und interzellulärer sekundärer Botenstoffe oder Bildung fortgeschrittener Glykosylierungsendprodukte, ausüben [37]. Solche Prozesse können zu Schädigungen neuronaler Membranen führen, was somit zur Erhöhung des extrazellulären Wasseranteils beiträgt. Dies wird durch die gesteigerte MD, vorherrschend bei den Probanden mit höheren HbA1c- und Glukosewerten, widerspiegelt. Der Hippocampus konnte in früheren Studien als besonders anfällige Gehirnstruktur hinsichtlich eines gestörten Glukosemetabolismus identifiziert werden [9]. Dies kann zu neurodegenerativen Vorgängen in Form einer gestörten Neurotransmitterausschüttung und zum Verlust synaptischer Kontakte führen, welche innerhalb dieser lernrelevanten Gehirnstruktur eine Abnahme der Gedächtnisleistung bewirken kann. Die Ergebnisse der statistischen Mediationsanalysen unterstützen die Hypothese, dass der Effekt der peripheren Glukoseparameter auf die Gedächtnisleistung in Teilen durch das Volumen und die Integrität des Hippocampus vermittelt wird. Eine allgemeingültige Aussage kann hier jedoch auf Grund der relativ geringen Probandenanzahl und auf Grund weiterer möglicher Einflussfaktoren, nicht getroffen werden.

Zusammenfassend weisen die Resultate dieser Arbeit darauf hin, dass auch in Abwesenheit eines „pathologischen Blutzuckerspiegels“, höhere HbA1c- und Nüchternglukosewerte einen negativen Einfluss auf Funktion und Struktur des Gehirns ausüben. Diese Erkenntnisse könnten den Weg für zukünftige Interventionsstudien ebnen, die beispielsweise über präventive Maßnahmen wie Kalorienrestriktion oder Sport, auf eine Absenkung des Blutzuckerspiegels abzielen.

Studie 3: In dieser Interventionsstudie konnte gezeigt werden, dass eine 26-wöchige Supplementierung mariner Omega-3-Fettsäuren (2,2 g/Tag) in einer Gruppe älterer Probanden zu einer Verbesserung der Exekutivfunktionen im Vergleich zu Kontrollbedingungen führte. Gleichmaßen konnten in der Interventionsgruppe Verbesserungen hinsichtlich der mikrostrukturellen Integrität der weißen Substanz, des Volumens der grauen Substanz sowie vaskulärer Parameter beobachtet werden.

Diese Resultate gehen mit Erkenntnissen vorheriger tierexperimenteller Studien einher [12, 38]. Was die positiven Effekte von Omega-3-Fettsäuren beim Menschen betrifft, gab es in der Vergangenheit kontroverse Ergebnisse. Während in einer Studie mit MCI-Patienten eine positive Assoziation zwischen Omega-3-Index und Leistungen in Exekutivfunktionen beobachtet wurde, konnten in anderen Studie mit gesunden Älteren und AD Patienten keinerlei positive Effekte auf verschiedene kognitive Leistungsparameter beobachtet werden [39-40]. Hier könnten im direkten Vergleich zu unserer Studie, eine niedrigere Dosierung an Omega-3-Fettsäuren oder Unterschieden hinsichtlich des Probandenkollektivs ursächlich sein. Bezüglich Tests zur verbalen Gedächtnisleistung konnte, ähnlich wie in einer frühere Studie [40], in der Gesamtgruppe keine Verbesserungen durch die Omega-3-Supplementierung erzielt werden. Beim Betrachten derjenigen Probanden, die sich am besten an die regelmäßige Kapseleinnahme hielten, konnte jedoch eine verbesserte Konsolidierungsleistung im prä-post-Vergleich beobachtet werden. Mit einer längeren Interventionszeit hätten eventuell die positiven Effekte vergangener Studien an Probanden mit beginnender Demenz [41-42] repliziert werden können. Hinsichtlich struktureller Gehirnparameter zeigte sich in der Omega-3-Gruppe eine Steigerung der FA und eine verminderte MD und RD. Ursächlich hierfür könnten z.B. eine verbesserte Myelinisierung oder der Rückgang axonaler Schäden sein. In der Interventionsgruppe bewirkte die Omega-3-Supplementierung eine Verbesserung der mikrostrukturellen Integrität innerhalb frontotemporaler sowie -okzipitaler Fasertrakte, was für die gesteigerte Leistung in dieser kognitiven Domäne ursächlich sein könnte. Hinsichtlich grauer Substanz konnte für die Omega-3-Gruppe nicht nur eine geringere globale Atrophie, sondern auch regionale Zunahmen beobachtet werden. Diese Volumenzunahmen, u.a. im linken Hippocampus, im Precuneus, sowie in temporalen Bereichen gehen mit Ergebnissen früherer Studien einher [43]. Solche Veränderungen in Form von beispielsweise vermehrter Synaptogenese oder Neurogenese könnten ein Indiz für eine gesteigerte Plastizität darstellen. Neben den positiven Effekten der

Omega-3-Supplementierung auf funktionelle und strukturelle Parameter des Gehirns konnte weiterhin eine Reduktion des diastolischen Blutdrucks sowie der CIMT bei den Frauen festgestellt werden. Demnach liegt die Vermutung nahe, dass Omega-3-Fettsäuren neben neuroprotektiven auch antiatherogene und antiinflammatorische Eigenschaften besitzen. Dies geht mit Erkenntnissen früherer Studien einher, bei denen eine durch Omega-3-Fettsäuren initiierte Hochregulierung von Adiponectin und die Reduktion proinflammatorischer Zytokine diskutiert wurde [44]. Ähnlich wie bei den oben genannten Effekten auf die Gedächtnisleistung, hätten auch hier ein längerer Interventionszeitraum oder eine höhere Tagesdosis an Omega-3-Fettsäuren zu stärkeren Effekten im Gesamtkollektiv führen können. Die hier gewonnenen Erkenntnisse können dazu beitragen, den Weg für weitergehende kontrollierte Interventionsstudien zu ebnet. Langfristig könnten sich daraus neue Präventionsmaßnahmen gegen den altersassoziierten kognitiven Abbau und gegen arteriosklerotische Gefäßveränderungen entwickeln.

Fazit und Ausblick

Die Ergebnisse der drei vorliegenden Studien tragen dazu bei, den derzeitigen Forschungsstand hinsichtlich der Zusammenhänge zwischen kognitiven, strukturellen und neurophysiologischen Gehirnparametern, sowie diversen peripherer Blutmarkern bei gesunden älteren Menschen zu vertiefen und zu erweitern. Weiterhin könnten die Erkenntnisse dazu beitragen, dass eine Identifizierung möglicher potentieller Risikofaktoren für neuropathologische bzw. dementielle Prozesse bereits während eines kognitiv unbeeinträchtigten Stadiums erfolgen kann. Gegenwärtig gibt es keine kurativen Therapieoptionen für Demenzerkrankungen wie AD. Es ist daher von umso größerer Bedeutung zu einem frühestmöglichen Zeitpunkt Präventionsmaßnahmen anzusetzen, um den Verlauf einer potentiell bevorstehenden Demenz bzw. um die mit „normalem Altern“ verbundenen strukturellen und funktionellen Abbauprozesse zu verzögern bzw. abzumildern. Neben der Einhaltung bestimmter Lebensstilfaktoren, wie Vermeidung von Übergewicht, insbesondere im mittleren Lebensalter, oder vermehrte sportliche Aktivität, könnte in Zukunft neben Omega-3-Fettsäuren auch eine Behandlung mit sogenannten CR-Mimetika, an Bedeutung gewinnen. Aktuell konnten in einer Interventionsstudie unserer Arbeitsgruppe [45] positive Effekte einer 26-wöchigen Resveratrol-Supplementierung auf

periphere Glukosemarker, sowie auf funktionelle und strukturelle Gehirnparameter beobachtet werden. Resveratrol, ein Polyphenol welches in der Natur beispielweise in roten Weintrauben vorkommt, könnte in Zukunft als solch eine präventive „Ernährungs“-Modifikation fungieren. Weitere kontrollierte interventionelle Studien mit großen Probandenzahlen sind in Zukunft notwendig, um die hier aufgestellten Hypothesen zu bestätigen und die diskutierten Präventionsansätze in der Praxis umzusetzen.

Literaturverzeichnis

1. Plassman, B.L., et al., Incidence of dementia and cognitive impairment, not dementia in the United States. *Ann Neurol*, 2011. **70**(3): p. 418-26.
2. Sperling, R.A., et al., Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2011. **7**(3): p. 280-92.
3. Raz, N., et al., Aging, sexual dimorphism, and hemispheric asymmetry of the cerebral cortex: replicability of regional differences in volume. *Neurobiol Aging*, 2004. **25**(3): p. 377-96.
4. Salat, D.H., et al., Thinning of the cerebral cortex in aging. *Cereb Cortex*, 2004. **14**(7): p. 721-30.
5. Lowin, A., M. Knapp, and P. McCrone, Alzheimer's disease in the UK: comparative evidence on cost of illness and volume of health services research funding. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 2001. **16**(12): p. 1143-8.
6. Ferreri, F., et al., Motor cortex excitability in Alzheimer's disease: a transcranial magnetic stimulation study. *Ann Neurol*, 2003. **53**(1): p. 102-8.
7. Crane, P.K., et al., Glucose levels and risk of dementia, in *N Engl J Med*. 2013. p. 540-8.
8. Gispen, W.H. and G.J. Biessels, Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci*, 2000. **23**(11): p. 542-9.
9. Biessels, G.J. and W.H. Gispen, The impact of diabetes on cognition: what can be learned from rodent models? *Neurobiol Aging*, 2005. **26 Suppl 1**: p. 36-41.
10. Cherbuin, N., P. Sachdev, and K.J. Anstey, Higher normal fasting plasma glucose is associated with hippocampal atrophy: The PATH Study. *Neurology*, 2012. **79**(10): p. 1019-26.
11. Kalmijn, S., et al., Dietary intake of fatty acids and fish in relation to cognitive performance at middle age. *Neurology*, 2004. **62**(2): p. 275-80.
12. Gomez-Pinilla, F., Brain foods: the effects of nutrients on brain function. *Nat Rev Neurosci*, 2008. **9**(7): p. 568-78.
13. Witte, A.V., et al., Caloric restriction improves memory in elderly humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009. **106**(4): p. 1255-60.

14. Ruscheweyh, R., et al., Physical activity and memory functions: An interventional study, *Neurobiology of Aging*, 2009.
15. Helmstaedter, C., M. Lendt, and S. Lux, Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT). 2001, Göttingen: Beltz.
16. Fischl, B., M.I. Sereno, and A.M. Dale, Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*, 1999. **9**(2): p. 195-207.
17. Yousry, T.A., et al., Localization of the motor hand area to a knob on the precentral gyrus. A new landmark. *Brain*, 1997. **120** (Pt 1): p. 141-57.
18. den Heijer, T., et al., Structural and diffusion MRI measures of the hippocampus and memory performance. *Neuroimage*, 2012. **63**(4): p. 1782-9
19. Good, C.D., et al., A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage*, 2001. **14**(1 Pt 1): p. 21-36.
20. Douaud, G., et al., Anatomically related grey and white matter abnormalities in adolescent-onset schizophrenia. *Brain*, 2007. **130**(Pt 9): p. 2375-86.
21. Smith, S.M., et al., Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage*, 2006. **31**(4): p. 1487-505.
22. Rossini, P.M., et al., Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1994. **91**(2): p. 79-92.
23. Sale, M.V., M.C. Ridding, and M.A. Nordstrom, Factors influencing the magnitude and reproducibility of corticomotor excitability changes induced by paired associative stimulation. *Exp Brain Res*, 2007. **181**(4): p. 615-26.
24. Stefan, K., et al., Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain*, 2000. **123** Pt 3: p. 572-84.
25. Frey, I., et al., [Freiburg Questionnaire of physical activity--development, evaluation and application]. *Soz Präventivmed*, 1999. **44**(2): p. 55-64.
26. Kuhner, C., et al., [Reliability and validity of the Revised Beck Depression Inventory (BDI-II). Results from German samples]. *Nervenarzt*, 2007. **78**(6): p. 651-6.
27. Laux, L., et al., Das State-Trait-Angstinventar. Theoretische Grundlagen und Handanweisung. 1981, Weinheim: Beltz Test GmbH.
28. von Schacky, C. and W.S. Harris, Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. *Cardiovasc Res*, 2007. **73**(2): p. 310-5.

29. Touboul, P.J., et al., Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis*, 2007. **23**(1): p. 75-80.
30. Scholey, A., et al., Glucose enhancement of recognition memory: differential effects on effortful processing but not aspects of 'remember-know' responses. *Neuropharmacology*, 2013. **64**: p. 544-9.
31. List, J., et al., Enhanced rapid-onset cortical plasticity in CADASIL as a possible mechanism of preserved cognition. *Cereb Cortex*, 2011. **21**(12): p. 2774-87.
32. List, J., et al., Reperfusion does not improve impaired rapid-onset cortical plasticity in patients with severe stenosis of the internal carotid artery. *PLoS One*, 2012. **7**(7): p. e41004.
33. Exalto, L.G., et al., An update on type 2 diabetes, vascular dementia and Alzheimer's disease. *Exp Gerontol*, 2012. **47**(11): p. 858-64.
34. Gold, S.M., et al., Hippocampal damage and memory impairments as possible early brain complications of type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2007. **50**(4): p. 711-9.
35. Lamport, D.J., et al., Impairments in glucose tolerance can have a negative impact on cognitive function: a systematic research review. *Neurosci Biobehav Rev*, 2009. **33**(3): p. 394-413.
36. Hiltunen, L.A., S.M. Keinanen-Kiukaanniemi, and E.M. Laara, Glucose tolerance and cognitive impairment in an elderly population. *Public Health*, 2001. **115**(3): p. 197-200.
37. Brownlee, M., Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 2001. **414**(6865): p. 813-20.
38. Hooijmans, C.R., et al., The effects of long-term omega-3 fatty acid supplementation on cognition and Alzheimer's pathology in animal models of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis*, 2012. **28**(1): p. 191-209.
39. Quinn, J.F., et al., Docosahexaenoic acid supplementation and cognitive decline in Alzheimer disease: a randomized trial. *JAMA*, 2010. **304**(17): p. 1903-11.
40. van de Rest, O., et al., Effect of fish oil on cognitive performance in older subjects: a randomized, controlled trial. *Neurology*, 2008. **71**(6): p. 430-8.

41. Chiu, C.C., et al., The effects of omega-3 fatty acids monotherapy in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a preliminary randomized double-blind placebo-controlled study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2008. **32**(6): p. 1538-44.
42. Freund-Levi, Y., et al., Omega-3 fatty acid treatment in 174 patients with mild to moderate Alzheimer disease: OmegAD study: a randomized double-blind trial. *Arch Neurol*, 2006. **63**(10): p. 1402-8.
43. Dickerson, B.C. and H. Eichenbaum, The episodic memory system: neurocircuitry and disorders. *Neuropsychopharmacology*, 2010. **35**(1): p. 86-104.
44. Fotuhi, M., P. Mohassel, and K. Yaffe, Fish consumption, long-chain omega-3 fatty acids and risk of cognitive decline or Alzheimer disease: a complex association. *Nat Clin Pract Neurol*, 2009. **5**(3): p. 140-52.
45. Witte, A.V., et al., Effects of resveratrol on memory performance, functional connectivity of the hippocampus and glucose metabolism in healthy older adults, *publication in prep.*

Internetquellen:

- 1a. <http://www.alz.co.uk/research/world-report> [eingesehen am 10.10.2013]
- 1b. <http://www.who.int/diabetes/en/> [eingesehen am 10.10.2013]

Anteilserklärung

Lucia Kerti hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Jonathan List, Jan C. Kübke, Robert Lindenberg, Nadine Külzow, **Lucia Kerti**, A. Veronica Witte, Agnes Flöel, “Relationship between excitability, plasticity and thickness of the motor cortex in older adults“, *NeuroImage* (2013); **Beitrag im Einzelnen:** Rekrutierung der Probanden, Beteiligung an Erhebung der Daten, Beteiligung an Auswertung der Daten und Korrektur des Manuskripts

Publikation 2: **Lucia Kerti***, A. Veronica Witte*, Angela Winkler, Ulrike Grittner, Dan Rujescu, Agnes Flöel, “Higher glucose levels associated with lower memory and reduced hippocampal microstructure“, *Neurology* (2013); **Beitrag im Einzelnen:** Rekrutierung der Probanden, Koordination der Studie, Erhebung und Verwaltung der Daten, Statistische Auswertungen, Manuskriptentwurf, Bearbeitung der Revision, Einreichung des Manuskripts

Publikation 3: A. Veronica Witte*, **Lucia Kerti***, Henrike M. Hermannstädter, Jochen B. Fiebach, Stephan J. Schreiber, Jan Philipp Schuchardt, Andreas Hahn and Agnes Flöel, “Long-Chain Omega-3 Fatty Acids Improve Brain Function and Structure in Older Adults“, *Cerebral Cortex* (2013); **Beitrag im Einzelnen:** Rekrutierung der Probanden, Koordination der Studie, Erhebung und Verwaltung der Daten, Beteiligung an statistischen Auswertungen und Schreiben des Manuskripts, Bearbeitung der Revision

Unterschrift, Datum und Stempel Prof. Dr. med. Agnes Flöel

.....

Unterschrift Lucia Kerti

.....

Publikation 1:

Jonathan List, Jan C. Kùbke, Robert Lindenberg, Nadine Kùlzow, Lucia Kerti, A. Veronica Witte, Agnes Flöel, “Relationship between excitability, plasticity and thickness of the motor cortex in older adults“, *NeuroImage* (2013); doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.07.033

Publikation 2:

Lucia Kerti*, A. Veronica Witte*, Angela Winkler, Ulrike Grittner, Dan Rujescu, Agnes Flöel, “Higher glucose levels associated with lower memory and reduced hippocampal microstructure”, *Neurology* (2013); doi: 10.1212/01.wnl.0000435561.00234.ee

Publikation 3:

A. Veronica Witte*, Lucia Kerti*, Henrike M. Hermannstädter, Jochen B. Fiebach, Stephan J. Schreiber, Jan Philipp Schuchardt, Andreas Hahn and Agnes Flöel, “Long-Chain Omega-3 Fatty Acids Improve Brain Function and Structure in Older Adults”, *Cerebral Cortex* (2013); doi: 10.1093/cercor/bht163

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Komplette Publikationsliste

Publikationen:

A. Veronica Witte, **Lucia Kerti**, Daniel Margulies, Agnes Flöel, “Effects of resveratrol on memory performance, functional connectivity of the hippocampus and glucose metabolism in healthy older adults”, *in prep.*

Lucia Kerti*, A. Veronica Witte*, Angela Winkler, Ulrike Grittner, Dan Rujescu, Agnes Flöel, “Higher glucose levels associated with lower memory and reduced hippocampal microstructure”, *Neurology* 81 (2013)

Jonathan List, Jan C. Kübke, Robert Lindenberg, Nadine Külzow, **Lucia Kerti**, A. Veronica Witte, Agnes Flöel, “Relationship between excitability, plasticity and thickness of the motor cortex in older adults“, *NeuroImage* 83 (2013) 809-816

Daria Antonenko, Jens Brauer, Marcus Meinzer, Anja Fengler, **Lucia Kerti**, Angela D. Friederici, Agnes Flöel, “Functional and structural syntax networks in aging”, *NeuroImage* 83 (2013) 513-523

A. Veronica Witte*, **Lucia Kerti***, Henrike M. Hermannstädter, Jochen B. Fiebach, Stephan J. Schreiber, Jan Philipp Schuchardt, Andreas Hahn and Agnes Flöel, “Long-Chain Omega-3 Fatty Acids Improve Brain Function and Structure in Older Adults”, *Cerebral Cortex* (2013) doi: 10.1093/cercor/bht163

Shlomit Beker, Vered Kellner, **Lucia Kerti**, and Edward A. Stern, “Interaction between amyloid-beta pathology and cortical functional columnar organization”, *Journal of Neuroscience* (2012) 32(33):11241-9

Poster:

Kerti, L., Witte, A.V., Tydecks, E.M., Szela, A.M., Spranger, J., Flöel A., “Effects of formula-diet supplementation on cognition and brain structure in healthy older women”, OHBM, Seattle, U.S.A. (2013)

Witte, A.V., **Kerti, L.**, Winkler, A., Flöel, A., “Effects of resveratrol supplementation on memory performance and functional connectivity of the hippocampus in healthy older adults”, OHBM, Seattle, U.S.A. (2013)

List, J., Kübke, J., Külzow, N., Lindenberg, R., **Kerti, L.**, Witte, A.V., Flöel A., “Relationship between brain structure and cortical physiology in healthy older adults”, OHBM, Seattle, U.S.A. (2013)

Kerti, L., Witte, A.V., Flöel, A., „Verbesserung der kognitiven Leistung und Gehirnstruktur im Alter durch Omega-3-Fettsäuren“, DGN, Hamburg, Deutschland (2012)

Kerti, L., Witte, A.V., Flöel, A., “Omega-3 supplementation improves cognitive functions and brain structure in the elderly”, OHBM, Peking, China (2012)

Flöel, A., Winkler, A., **Kerti, L.**, Witte A.V., “Impact of glucose levels on memory retrieval, hippocampal volume and hippocampal barrier density”, OHBM, Peking, China (2012)

Witte, A.V, Margulies, D.S., **Kerti L.**, Rupp H., Fiebach J., Flöel A., “Impact of dietary interventions on resting state functional connectivity in healthy elderly individuals“, OHBM, Quebec City, Kanada (2011)

Kerti, L., Rupp H., Krohn C., Witte V., Flöel A., „Steigerung der kognitiven Leistungen im Alter durch Kalorienrestriktion und Omega-3-Supplementierung“, DGKN, Münster, Deutschland (2011)

Witte, A.V, Margulies, D.S., Jansen, S., **Kerti, L.**, Richels, J., Kunze, C., Fiebach, J., Flöel, A., “Impact of dietary interventions on brain structure and function is dependent on COMT genotype“, OHBM, Barcelona, Spanien (2010)

Kerti, L., Kellner, V., Beker, S., Menkes-Caspi, N., Arnon, H. and Stern, E.A., “Interaction between Alzheimer’s Disease pathology and functional columnar organization in the neocortex”, Annual Meeting of the Israel Society for Neuroscience, Eilat, Israel (2009)

Vorträge:

Kerti, L., Rupp, H., Krohn, C., Witte, A.V., Flöel, A., „Steigerung der kognitiven Leistungen im Alter durch Kalorienrestriktion und Omega-3 Supplementierung“ (*Präsentation der Längsschnittdaten*), DGN, Wiesbaden, Deutschland (2011)

Kerti, L., Richels, J., Böhnke, J., Witte, A.V., Flöel, A., „Steigerung der kognitiven Leistungen im Alter durch Kalorienrestriktion und Omega-3 Supplementierung“ (*Präsentation der vorläufigen Daten*), DGN, Mannheim, Deutschland (2010)

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Lucia Kerti, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Kognition, Gehirnstruktur und Lebensstil bei gesunden Älteren“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuerin, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

.....
Datum

.....
Lucia Kerti

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Frau Prof. Dr. med. Agnes Flöel für die Überlassung des Promotionsthemas und für die Unterstützung, Betreuung und kompetente Beratung während der Entstehung dieser Arbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. rer. nat. Veronica Witte, die von Beginn an durch Ihre freundliche, geduldige, sowie fachlich kompetente Unterstützung, maßgeblich zur Fertigstellung meiner Arbeit beitrug.

Allen meinen Kollegen der AG Kognitive Neurologie danke ich für die schöne Zusammenarbeit in den letzten Jahren.

Meiner lieben Familie und meinen Freunden danke ich für die stetige Ermutigung und wundervolle Unterstützung während der gesamten Zeit meiner Promotion.