

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

DISSERTATION

Einfluss von Lebensstil und Genetik auf Struktur und Funktion des
Gehirns von gesunden älteren Menschen und Patienten mit leichten
Gedächtniseinschränkungen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Theresa Köbe

aus Dresden

Datum der Promotion: 09.12.2016

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
Zusammenfassung	6
Abstract	7
1 Einleitung und Zielstellung	8
2 Methodik	10
Studienteilnehmer.....	10
Studiendesign	11
Neuropsychologische Testung	11
Erhebung von Blutparametern und Anthropometrie	12
Magnetresonanztomographie	12
Genotypisierung von Einzelnukleotid-Polymorphismen	14
Bestimmung des Omega-3-Index und der kardiorespiratorischen Fitness.....	14
Messung der Karotis-Intima-Media-Dicke	15
Statistische Auswertung	15
3 Ergebnisse	16
Studie 1.....	16
Studie 2.....	17
Studie 3.....	18
4 Diskussion	19
Studie 1.....	19
Studie 2.....	20
Studie 3.....	21
Fazit.....	22
5 Literaturverzeichnis	23
Eidesstattliche Versicherung	26

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen	27
Ausgewählte Publikationen	28
A. Veronica Witte*, Theresa Köbe* , Lucia Kerti, Dan Rujescu, Agnes Flöel. 2016. Impact of KIBRA Polymorphism on Memory Function and the Hippocampus in Older Adults. <i>Neuropsychopharmacology</i> . 41(3):781-790.....	29
Theresa Köbe , A. Veronica Witte, Ariane Schnelle, Ulrike Grittner, Valentina A. Tesky, Johannes Pantel, Jan Philipp Schuchardt, Andreas Hahn, Jens Bohlken, Dan Rujescu, Agnes Flöel. 2016. Vitamin B12 concentration, memory performance and hippocampal structure in patients with mild cognitive impairment. <i>American Journal of clinical nutrition</i> . 103(4):1045-54.....	39
Theresa Köbe , A. Veronica Witte, Ariane Schnelle, Anne Lesemann, Sonja Fabian, Valentina A. Tesky, Johannes Pantel, Agnes Flöel. 2015. Combined omega-3 fatty acids, aerobic exercise and cognitive stimulation prevents decline in gray matter volume of the frontal, parietal and cingulate cortex in patients with mild cognitive impairment. <i>Neuroimage</i> . doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.09.050.....	49
Lebenslauf.....	62
Komplette Publikationsliste	63
Danksagung.....	66

Abkürzungsverzeichnis

AA	engl. <i>arachidonic acid</i>
ANOVA _{RM}	engl. <i>repeated-measures analysis of variance</i>
AKTIVA	Aktive Kognitive Stimulation – Vorbeugung im Alter
APOE	Apolipoprotein E
BCAN	engl. <i>Berlin Center for Advanced Neuroimaging</i>
BDI	engl. <i>beck depression inventory</i>
BDNF	engl. <i>brain-derived neurotrophic factor</i>
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMI	engl. <i>body-mass-index</i>
CA	lat. <i>cornu ammonis</i>
cB12	Kombinierter Indikator zum Vitamin B12 Status
CIMT	engl. <i>carotid intima media thickness</i>
COMT	engl. <i>catechol-O-methyltransferase</i>
DG	Gyrus dentatus
DHA	engl. <i>docosahexaenoic acid</i>
DTI	engl. <i>diffusion tensor imaging</i>
EPA	engl. <i>eicosapentaenoic acid</i>
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
FLAME	engl. <i>FMRIB's local analysis of mixed effects</i>
GM	engl. <i>gray matter</i>
HbA1c	Hämoglobin A1c
HDL	engl. <i>high-density lipoprotein</i>
hsCRP	Hochsensitives C-reaktives Protein
IGF	engl. <i>insulin-like growth factor</i>
IL-6	Interleukin-6

KIBRA	engl. <i>kidney and brain expressed protein</i>
LDL	engl. <i>low-density lipoprotein</i>
MCI	engl. <i>mild cognitive impairment</i>
MD	engl. <i>mean diffusivity</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
PANAS	engl. <i>positive and negative affect schedule</i>
RER	engl. <i>respiratory exchange ratio</i>
STAI	engl. <i>state and trait anxiety inventory</i>
TE	Echozeit
TFCE	engl. <i>threshold-free cluster enhancement</i>
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TR	Repetitionszeit
VitB12	Vitamin B12
VLMT	Verbaler Merk- und Lernfähigkeitstest

Zusammenfassung

In unserer zunehmend älter werdenden Gesellschaft nimmt die Zahl an Demenzerkrankungen rasant zu. Daher ist es von großer Bedeutung genetische und lebensstilbezogene Risikofaktoren zu identifizieren und frühzeitige Präventions- und Interventionsstrategien zu entwickeln.

Die vorliegende Dissertationsschrift fasst zwei Querschnittsstudien und eine Interventionsstudie zusammen, in denen der Einfluss eines genetischen sowie eines ernährungsassozierten Risikofaktors und der Einfluss einer multifaktoriellen Intervention auf die Gehirnstruktur und -funktion von gesunden Älteren oder Patienten mit leichten Gedächtniseinschränkungen (MCI) untersucht wurde.

In der *ersten Studie* wurde der Einfluss des KIBRA-Genotyps auf die Lern- und Gedächtnisleistung sowie Struktur und funktionelle Konnektivität des Hippocampus von gesunden Älteren untersucht. Hierfür wurden 140 Studienteilnehmer genotypisiert, auf ihre Gedächtnisleistung getestet und erhielten eine 3-Tesla Magnetresonanztomographie (MRT). KIBRA-T-Allel-Träger zeigten gegenüber Nicht-T-Allel-Trägern eine tendenziell bessere Gedächtnisleistung und sowohl ein signifikant größeres Volumen der hippocampalen Subfelder cornu ammonis (CA)2/3 bzw. CA4/ Gyrus dentatus (DG) als auch eine bessere Mikrostruktur letzterer. Weiterhin zeigten T-Allel-Träger eine geringere funktionelle Konnektivität zwischen linkem Hippocampus und Hirnarealen außerhalb des synchronisierten Hippocampusnetzwerkes. Die Ergebnisse bekräftigen den genetischen Einfluss von KIBRA auf Hirnstruktur und -funktion, was in zukünftigen Studien berücksichtigt werden sollte.

Die *zweite Studie* wurde zur Analyse des Zusammenhangs zwischen Vitamin-B12-Konzentration (VitB12) im normalen Bereich, Gedächtnisfunktion und Hippocampusstruktur bei MCI-Patienten durchgeführt. Hierfür wurden 100 Patienten neuropsychologisch getestet, erhielten eine zerebrale 3-Tesla MRT (n=86) und bekamen Nüchternblutproben entnommen. Im Vergleich zu MCI-Patienten mit VitB12 im oberen Normbereich wiesen Patienten mit VitB12 im unteren Normbereich eine schlechtere Lern- und Gedächtnisleistung auf. Weiterhin war ein niedrigerer VitB12-Spiegel mit einer schlechteren Mikrostruktur der CA4/DG-Subfelder assoziiert, wodurch der Einfluss von VitB12 auf die Gedächtnisleistung teilweise erklärt werden kann. Zukünftige Diagnostik- und Behandlungsstrategien sollten VitB12-Werte im aktuell unteren Normbereich bereits als pathologisch betrachten.

Ziel der *dritten Studie* war es zu untersuchen, ob eine kombinierte Intervention mit Omega-3-Fettsäuren, körperlichem Training und kognitiver Stimulation (Zielintervention; n=13) effektiver

gegenüber einer Einzelintervention mit Omega-3-Fettsäuren und Gymnastikübungen (Kontrollintervention; n=9) ist. Vor und nach sechsmonatiger Intervention erhielten 22 MCI-Patienten eine neuropsychologische Testuntersuchung, ein 3-Tesla MRT (n=20), eine Nüchternblutabnahme und eine Bestimmung vaskulärer Parameter. Es war eine Volumenreduktion der grauen Substanz im frontalen, parietalen und cingulären Cortex nach der Kontrollintervention zu verzeichnen, wohingegen nach der Zielintervention keine Veränderung bzw. sogar eine Volumenzunahme festgestellt wurde – teilweise assoziiert mit einer Verringerung der Homocysteinkonzentration. Hinsichtlich der kognitiven Leistung sowie der vaskulären und entzündungsanzeigenden Marker wurden über die Zeit keine Gruppenunterschiede gefunden. Der hier gezeigte positive Effekt einer kombinierten Intervention stellt eine vielversprechende Grundlage für größere Interventionsstudien dar.

Abstract

The number of patients with dementia is steadily increasing due to the aging society. Therefore, it is from great health and socioeconomic interest to identify genetic and lifestyle risk factors and to develop early preventive and interventional strategies.

The present thesis comprising two cross-sectional studies and one longitudinal study addresses the impact of a genetic and a dietary risk factor and a multicomponent intervention on brain structure and function in healthy older adults or patients with mild cognitive impairment (MCI).

The *first study* tested the impact of KIBRA genotype on learning and memory function, hippocampal structure and functional connectivity in healthy older adults. 140 subjects were KIBRA genotyped, tested for memory performance and MRI-scanned at 3-Tesla. KIBRA T-allele carriers showed a trend for better memory performance, significantly higher volumes and partly better microstructure in the hippocampus cornu ammonis (CA)2/3 and CA4/dentate gyrus (DG) subfields, compared to non-T-allele carriers. Moreover, T-allele carriers exhibited lower functional connectivity of the left hippocampus with areas outside the synchronized hippocampus network. The results support a genetic impact of KIBRA on brain structure and function that should be considered in ongoing trials.

The *second study* determined whether vitamin B12 concentrations (VitB12) within the normal range are linked to memory function and related neuronal structures in MCI patients. 100 patients underwent fasting blood sampling, neuropsychological testing and 3-Tesla MRI (n=86). Compared to MCI patients with high-normal VitB12, patients with low-normal VitB12 showed a significant poorer learning and recognition performance and a worse microstructure of the

CA4/DG region, partially mediating the effect of VitB12 on memory performance. Future diagnostic and treatment strategies that aim to raise VitB12 to high-normal concentrations should be considered.

The *third study* aimed to elucidate potential superior effects of a six months combined intervention with omega-3 fatty acids, physical exercise and cognitive stimulation (target intervention; n=13) compared to a single intervention with omega-3 fatty acids and control exercise (control intervention; n=9). Before and after interventions, all 22 MCI patients underwent a neuropsychological testing, MRI at 3-Tesla (n=20), assessment of vascular markers and fasting blood samples. Gray matter volume of the frontal, parietal and cingulate cortex decreased after control intervention, while it was preserved or even increased after target intervention, partially associated with a decrease in homocysteine. Group differences in cognitive performance, vascular and inflammatory parameters were not observed. The beneficial effects after combined intervention provide a promising basis for larger interventional trial.

1 Einleitung und Zielstellung

Zur häufigsten Form neurodegenerativer Erkrankungen zählt die Alzheimer-Krankheit, welche durch den Verlust kognitiver, sozialer und emotionaler Fähigkeiten charakterisiert wird¹. In Anbetracht einer zunehmend alternden Gesellschaft und der damit einhergehenden steigenden Prävalenz stark alters-assoziiierter Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit wächst der medizinische und sozioökonomische Druck auf die Entwicklung kurativer Strategien¹. Die Pathologie wird bislang nur in Ansätzen verstanden und die Therapiemöglichkeiten sind sehr beschränkt bis nicht gegeben². In den letzten Jahrzehnten richtete sich der Forschungsfokus zunehmend auf die Identifikation von Risikofaktoren und die Entwicklung von Präventionsmaßnahmen im noch gesunden Stadium sowie auf die Entwicklung von Interventionsstrategien im frühen pathogenen Stadium, um den Krankheitsprozess zu verhindern bzw. zu verlangsamen oder gar zu stoppen¹. Eine erhöhte Konversionsrate zur Alzheimer-Krankheit weisen Patienten mit leichten kognitiven Einschränkungen (engl. *mild cognitive impairment*; MCI) auf, welche bereits objektiv kognitive Defizite sowie Veränderungen in verschiedenen krankheitsassoziierten Biomarkern aufzeigen². In den vergangenen Jahrzehnten wurden erste Ursachen und Risikofaktoren beschrieben, welche die Wahrscheinlichkeit an einer Alzheimer-Krankheit zu erkranken erhöhen. Hierzu zählen u.a. Alter, Ablagerung von β -Amyloid-Peptiden, Bildung von Tau-Neurofibrillen, Gefäßerkrankungen, Bluthochdruck,

Mangelernährung, erhöhter Blutzucker, Vitaminmangel, Hypercholesterinämie, Entzündungen, körperliche und geistige Trägheit sowie bestimmte genetische Variationen³.

Für die Entwicklung neuer Früherkennungs- und Diagnostikmethoden sowie effektiver Therapien wird das Verstehen interindividueller genetischer Unterschiede als wesentlich angesehen. Neben dem bislang als stärksten genetischen Prädiktor der Alzheimer-Krankheit beschriebenen Apolipoprotein E (APOE) 4–Allel⁴ zeigte sich u. a. ein positiver Zusammenhang zwischen dem T-Allel des Gens *WWCI* (rs17070145; codiert das Protein KIBRA, engl. *kidney and brain expressed protein*) und der Gedächtnisleistung sowie der Gehirnstruktur und –funktionalität von gesunden Erwachsenen^{5, 6}. Weiterhin wurde das T-Allel als protektiv gegenüber der Erkrankung an Alzheimer beschrieben^{7, 8}, wohingegen andere Studien keine oder sogar gegensätzliche Effekte zeigten^{9, 10}. In der *ersten Studie* sollte dieser noch kontrovers diskutierte Einfluss des KIBRA-Polymorphismus in Bezug auf die Gedächtnisleistung sowie Struktur und funktionelle Konnektivität des Hippocampus in gesunden älteren Probanden untersucht werden.

Der individuelle Lebensstil, welcher u. a. die Bereiche Ernährung sowie körperliche und geistige Aktivität beinhaltet, stellt einen weiteren wichtigen Einflussfaktor auf Kognition, Hirnstruktur und -funktion sowie Entwicklung einer Demenz bei Alzheimer-Krankheit dar.

Ein klinischer Mangel an Vitamin B12 (VitB12) ist beispielsweise neben hämatologischen und gastrointestinalen Symptomen mit neurologischen Defiziten und einem erhöhten Demenzrisiko assoziiert¹¹⁻¹³. Nach neueren Erkenntnissen weisen jedoch bereits Konzentrationen im unteren Normbereich auf einen negativen Einfluss von VitB12 auf die Gehirnstruktur und -funktion hin¹⁴⁻¹⁶, wobei diese Befunde noch nicht eindeutig sind^{17, 18}. Bislang liegen noch keine Analysen zum Zusammenhang zwischen VitB12-Konzentrationen im normalen Bereich, Gedächtnisfunktion und assoziierter Hippocampusstruktur in MCI-Patienten vor, die ein erhöhtes Risiko besitzen an einer Demenz vom Alzheimer-Typ zu erkranken. Diese Untersuchung sollte in der *zweiten Studie* durchgeführt werden.

Mit Hinblick auf nicht-pharmakologische Ansätze zur Krankheitsprävention und -intervention zeigten sich erste vielversprechende positive Effekte auf die Struktur und Funktion des gesunden Gehirns, sowie auf die Entwicklung und den Verlauf der Alzheimer-Krankheit. Eine Supplementierung mit Omega-3-Fettsäuren führte zu einer Erhöhung des Volumens der grauen Substanz, einer Verbesserung der Exekutivfunktion und vaskulären Parameter von gesunden Älteren¹⁹ sowie zu einer verbesserten Gedächtnisleistung von MCI-Patienten^{20, 21}. Dies konnte

jedoch in anderen Studien nicht bestätigt werden^{22, 23}. Positive Effekte auf die Kognition und Hirnstruktur wurden zudem in Zusammenhang mit gesteigerter körperlicher Aktivität beobachtet^{24, 25}, wobei auch hier noch keine eindeutige Evidenz aus kontrollierten Interventionsstudien vorliegt²⁶. Ein ähnliches Bild zeigt sich in Bezug auf kognitive Stimulationsinterventionen, welche zunehmend mit verbesserter Gedächtnisleistung und Hirnstruktur assoziiert werden^{27, 28}, deren signifikanter Effekt in prospektiven Interventionsstudien aber ebenfalls noch kontrovers diskutiert wird²⁹.

Es lässt sich vermuten, dass eine kombinierte Intervention, abzielend auf eine Verbesserung unterschiedlicher Lebensstilfaktoren, einen synergetischen Effekt auf Gehirnstruktur und -funktion hat³⁰. Erste Tierexperimente^{31, 32} sowie Humanstudien^{33, 34} weisen auf überlegenere Effekte kombinierter Interventionen gegenüber Einzelinterventionen hin. Bislang liegen jedoch noch keine Ergebnisse von Interventionsstudien vor, die den gemeinsamen Einfluss von Ernährung, Sport und kognitiver Stimulation untersuchen. Vor diesem Hintergrund beinhaltete die Zielstellung der *dritten Studie* den Vergleich des Effektes einer sechsmonatigen kombinierten Intervention mit Omega-3-Fettsäuren, aerobem körperlichem Training und kognitiver Stimulation gegenüber einer Einzelintervention mit Omega-3-Fettsäuren und Kontrollgymnastikübungen auf die Kognition und Gehirnstruktur von Patienten mit MCI.

2 Methodik

Studienteilnehmer

Insgesamt wurden 140 gesunde ältere Probanden (Alter: 50 – 80 Jahre) in die *erste Studie* sowie 100 (Alter: 50 – 80 Jahre) bzw. 22 (Alter: 60 – 80 Jahre) Patienten mit MCI in die *zweite* und *dritte Studie* eingeschlossen. Die Rekrutierung erfolgte zum einen mittels Internet- und lokalen Zeitungsannoncen und zum anderen über die Gedächtnissprechstunde der Poliklinik für Neurologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin bzw. zweier Facharztpraxen in Berlin und Frankfurt am Main. In der *zweiten* und *dritten Studie* wurde die MCI-Diagnose anhand der Kriterien der Mayo-Klinik gestellt³⁵. Für *alle drei Studien* galten unter anderem folgende Ausschlusskriterien: schwere unbehandelte medizinische, neurologische und psychiatrische Erkrankungen, Diabetes Mellitus Typ 2, keine flüssige deutsche Sprache, Nikotin- und Alkoholabusus sowie Linkshändigkeit. Die Studien wurden von der Ethikkommission der Charité genehmigt. Alle Probanden und Patienten wurden mündlich und schriftlich aufgeklärt, gaben im Anschluss ihr schriftliches Einverständnis und erhielten eine Aufwandsentschädigung.

Studiendesign

Die Studienteilnehmer *aller drei Studien* erhielten zur Eingangsuntersuchung eine umfangreiche medizinische Untersuchung inklusive Blutentnahme, eine neuropsychologische Testung und eine Magnetresonanztomographie des Kopfes. Zudem wurden anthropometrische Daten der Teilnehmer erhoben.

In *Studie 3* wurden außerdem die kardiorespiratorische Fitness und die Dicke der Intima-Media-Schicht der Halsschlagader untersucht; alle Messungen der Eingangsuntersuchung wurden zur Abschlussuntersuchung nach sechs Monaten Intervention wiederholt. In dieser Studie wurden die Patienten nach Ende der Eingangsuntersuchung zufällig einer der folgenden Interventionsgruppen zugeordnet: Entweder einer kombinierten Intervention aus Omega-3-Fettsäure-Supplementierung, aerobem Ausdauertraining und kognitiven Stimmulationsübungen (Zielintervention; n = 13) oder einer Omega-3-Fettsäure-Supplementierung mit leichtem Gymnastiktraining (Kontrollintervention; n = 9). Alle Patienten erhielten täglich 2200 mg Omega-3-Fettsäuren in Form von vier Kapseln (1320 mg Eicosapentaensäure, engl. *eicosapentaenoic acid*, EPA; C20:5n-3 und 880 mg Docosahexaensäure, engl. *docosahexaenoic acid*, DHA; C22:6n-3; hergestellt von Via Vitamine, Oberhausen, Deutschland). Das Sporttraining erfolgte zweimal wöchentlich für 45 min inklusive Aufwärmungs- und Abkühlungsphase; durchgeführt und überwacht von erfahrenen Sporttrainern. Die Leistung, mit der die Zielinterventionsgruppe zunächst für 20 min und nach 4 Wochen für 30 min trainierte (kontrolliert durch die Herzfrequenz), lag bei 80 % der Leistung, die während der Testung der kardiorespiratorischen Fitness an der anaeroben Schwelle ermittelt wurde. In der Kontrollinterventionsgruppe bestand das Training aus leichten Gymnastik- und Dehnungsübungen, wobei eine Leistung von 50 % der Leistung an der anaeroben Schwelle nicht überschritten werden sollte. Zusätzlich nahmen die Patienten der Zielinterventionsgruppe an einer kognitiven Stimulation („Aktive Kognitive Stimulation – Vorbeugung im Alter“, AKTIVA) teil. Diese zielte darauf ab, den Umgang mit bereits vorliegenden Gedächtniseinbußen zu schulen und Eigeninitiativen und Strategien der Krankheitsbewältigung zu entwickeln, wie beispielsweise ein vermehrtes Ausüben von kognitiv-anregenden Freizeitaktivitäten im Alltag³⁶.

Neuropsychologische Testung

Die deklarative Gedächtnisfunktion der Studienteilnehmer wurde mit dem „verbalen Lern- und Merkfähigkeitstest“ (VLMT³⁷) geprüft, wobei in *der ersten und zweiten Studie* zwischen Lern-, langfristiger Konsolidierungs- und Wiedererkennungslleistung unterschieden wurde. In *der*

dritten Studie wurden weitere kognitive Tests herangezogen, um zusätzlich zur Gedächtnisleistung die Exekutivfunktion, Aufmerksamkeit und sensomotorische Verarbeitungsgeschwindigkeit zu testen. Diese jeweiligen kognitiven Domänen wurden aus z-transformierten Summenwerten der einzelnen kognitiven Tests bestimmt²³.

Erhebung von Blutparametern und Anthropometrie

Den Studienteilnehmern wurde in nüchternem Zustand von mind. 10 Std. Blut abgenommen. Die Analyse des Blutes erfolgte im „Institut für Medizinische Diagnostik“ (Berlin, Deutschland) und umfasste eine studienspezifische Bestimmung von Serumparametern wie VitB12, Holotranscobalamin, Homocystein, Methylmalonylsäure, Folsäure, Kreatinin, HbA1c (Hämoglobin A1c), Nüchtern glukose, Insulin, Gesamt-, HDL- (engl. *high-density lipoprotein*), und LDL- (engl. *low-density lipoprotein*) Cholesterin, Triglyzeride, Leptin, BDNF (engl. *brain-derived neurotrophic factor*), IGF-1 (engl. *insulin-like growth factor 1*), hsCRP (hochsensitives C-reaktives Protein), TNF- α (Tumornekrosefaktor- α) und IL-6 (Interleukin-6). Zu den anthropometrischen Kennzahlen zählten das Körpergewicht, die Körpergröße, der daraus individuell berechnete Körpermasseindex (engl. *body-mass-index*, BMI) sowie der Körperfettgehalt gemessen mit einer bioelektrischen Impedanzanalyse (BIA). Weiterhin wurden das Ernährungsverhalten, die sportliche Aktivität (Freiburger Fragebogen zur körperlichen Aktivität) sowie der Gemütszustand (Fragebögen zu Depression (engl. „*beck depression inventory*“, BDI³⁸; engl. „*positive and negative affect schedule*“, PANAS³⁹) und Ängstlichkeit der Studienteilnehmer (engl. „*state and trait anxiety inventory*“, STAI⁴⁰)) erfasst.

Magnetresonanztomographie

Am Berliner Charité Campus Benjamin Franklin und am „*Berlin Center for Advanced Neuroimaging*“ (BCAN) am Charité Campus Mitte erhielten die Studienteilnehmer eine MRT-Untersuchung des Kopfes. Die Messungen erfolgten an einem 3-Tesla Siemens Trio Ganzkörperscanner mit hochauflösender 12-Kanal-Kopfspule (Trio TIM, Siemens, Erlangen, Deutschland). Zur strukturellen MRT-Analyse wurde zum einen eine hochaufgelöste dreidimensionale T1-gewichtete Echo-Gradienten-Sequenz (TR=1900 ms, TE=2,52 ms, 192 sagittale Schichten, Voxelgröße=1,0×1,0×1,0 mm³, Flipwinkel=9°) und zum anderen eine diffusionsgewichtete Spinecho-Echoplanar-Sequenz (engl. *diffusion tensor imaging*, DTI; TR=7500 ms, TE=86 ms, 61 axiale Schichten, Voxelgröße=2.3×2.3×2.3 mm³; 64 Richtungen mit einem b-Wert von 1000 s/mm² und zehn b0) aufgenommen. Für die funktionelle MRT-Analyse bei Ruhe (Ruhe-fMRT) in der *ersten Studie* diente eine T2*-gewichtete Echoplanar-

Sequenz (TR=2300 ms, TE=30 ms, 34 Schichten, Voxelgröße=3,0×3,0×4,0 mm³, Flipwinkel=90°). Die Probanden bekamen die Instruktion ihre Augen innerhalb der sechsminütigen Aufnahme geschlossen zu halten und an nichts Bestimmtes zu denken. Die Auswertung der MRT-Daten erfolgte mittels der folgenden Software: „FSL“ (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/>), „FreeSurfer“ (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>) und „AFNI“ (<http://afni.nimh.nih.gov/afni>).

Hippocampale Volumetrie

Anhand des T1-gewichteten MRT-Bildes erfolgte innerhalb der *ersten* und *zweiten Studie* eine FreeSurfer-basierte automatisierte Segmentierung des linken und rechten Hippocampus und deren Subfelder Cornu Ammonis 1-4, Gyrus dentatus, Subiculum und Hippocampusschweif⁴¹. Die Vorverarbeitung beinhaltete hierbei eine Registrierung in den Standard-MNI-Raum, eine Bewegungskorrektur, eine Intensitätsnormalisierung und die Entfernung des Schädels⁴². Das individuell berechnete Volumen vom Hippocampus und dessen Unterregionen wurde auf das jeweilige Gesamthirnvolumen adjustiert (Detaillierte Berechnung siehe erste und zweite Publikation).

Hippocampale Mikrostruktur

Zur Bestimmung der hippocampalen Mikrostruktur in der *ersten und zweiten Studie* wurde die mittlere Diffusivität der Wassermoleküle im Gewebe berechnet (engl. *mean diffusivity*, MD)⁴³. Hierfür erfolgte die Einpassung eines Tensor-Modells in alle Voxel der bewegungskorrigierten DTI-Bilder, wodurch individuelle dreidimensionale Karten der MD erstellt wurden. Mittels rigid-body-Transformation wurden die individuellen T1-gewichteten Bilder auf die b0-Bilder coregistriert. Die hierbei generierte Matrix diente als Vorlage für die Registrierung der vorher erstellten Masken des Hippocampus und dessen Unterregionen auf die MD-Karten⁴⁴. Die Extraktion der mittleren hippocampalen MD erfolgte im Anschluss, wobei höheren Werten eine schnellere Diffusion der Wassermoleküle im extrazellulären Raum, durch Verlust von Membranintegrität und damit Vergrößerung des extrazellulären Raums, zugeschrieben wird und die MD somit ein inverses Maß für Gewebsintegrität darstellt⁴³.

Hippocampale Funktionelle Konnektivität

In der *ersten Studie* sollte mittels der Ruhe-fMRT-Messung die funktionelle Konnektivität des Hippocampus zu umliegenden Hirnarealen in Abhängigkeit des genetischen KIBRA-Status⁴ untersucht werden. Hierfür wurden modifizierte Verarbeitungsskripte aus dem „1000 Functional Connectomes Project“ (www.nitrc.org/projects/fcon_1000) verwendet. Nach umfangreicher

Vorverarbeitung der funktionellen Bilder (Details siehe erste Publikation) wurde die mittlere zeitliche Aktivitätsänderung des linken und rechten Hippocampus unter Verwendung eines allgemeinen linearen Modells namens „FLAME“ (engl. *FMRIB's local analysis of mixed effects*, <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FEAT>) mit der Aktivitätsänderung innerhalb der umliegenden Voxel der grauen Substanz korreliert⁴⁵. Anschließend wurden die resultierenden Pearson'schen Korrelationskoeffizienten Fisher z-transformiert⁴⁵.

Voxel-basierte Morphometrie

Mittels longitudinaler Voxel-basierter Morphometrie sollte in *Studie 3* die Veränderung des Volumens der grauen Substanz (engl. *gray matter*, GM) in Anhängigkeit der Interventionsform untersucht werden. Die Analyse anhand der T1-gewichteten Bilder wurde in FSL durchgeführt und beinhaltete die Entfernung des Schädels, die Unterteilung in graue und weiße Substanz sowie Nervenwasser, die lineare und nicht-lineare Registrierung der GM-Bilder auf ein studienspezifisch generiertes Template im Standard-MNI-Raum sowie die Multiplikation der GM-Bilder mit der Jacobi-Determinante der Verzerrung (Details siehe¹⁹ und dritte Publikation).

Genotypisierung von Einzelnukleotid-Polymorphismen

Die DNA-Extraktion aus Vollblut erfolgte im hauseigenen Labor in Berlin mit dem „blood mini-kit“ von Qiagen (Hilden, Deutschland). Gedächtnis-assoziierte Einzelnukleotid-Polymorphismen⁴⁶ wie rs17070145 *WWCI* (KIBRA-Protein), rs6265 *BDNF*, rs4680 *COMT* (engl. *catechol-O-methyltransferase*) und rs429358, rs7412 *APOE* wurden im Labor von Prof. Dan Rujescu (Halle, Deutschland) genotypisiert (Verwendung von „Sequenom MassARRAY iPLEX plattform“ und „Taqman Assay“⁴⁷).

Bestimmung des Omega-3-Index und der kardiorespiratorischen Fitness

In der *dritten Studie* wurde der Omega-3-Index vor und nach einer sechsmonatigen Omega-3-Fettsäure-Intervention bestimmt, um die Compliance der Kapseleinnahme zu kontrollieren. Der Index berechnete sich aus dem prozentualen Anteil von EPA und DHA des gesamten Fettsäureanteils der Erythrozytenmembran⁴⁸. Weiterhin wurde der Anteil an Arachidonsäure (engl. *arachidonic acid*, AA; C20:n4-6) ermittelt. Die Analyse erfolgte durch das Labor „Omegamatrix“ (Martinsried, Deutschland).

Die Testung der aeroben kardiorespiratorischen Fitness in der *dritten Studie* erfolgte auf einem Fahrradergometer mit ansteigendem Schweregrad (25 W alle 3 min) bis zur subjektiven Erschöpfung oder bis zu körperlichen Anzeichen einer Überbelastung. Die maximale

Ausbelastung der Studienteilnehmer wurde anhand von zwei Kriterien definiert: der errechneten altersentsprechenden maximalen Herzfrequenz und dem Atemumtauschverhältnis (engl. *respiratory exchange ratio*, RER), das aus dem Anteil von CO₂-Produktion zu O₂-Aufnahme bei höchster Belastungsstufe berechnet wurde^{49, 50}. Die kardiorespiratorische Fitness der Teilnehmer wurde durch die mittlere O₂-Aufnahme bei höchster abgeschlossener Belastungsstufe relativ zum Körpergewicht (engl. *VO₂-peak*, ml/kg *min⁻¹) bestimmt. Die Messungen sowie das Sporttraining erfolgten im Institut für Sportwissenschaften der Humboldt-Universität zu Berlin (Deutschland).

Messung der Karotis-Intima-Media-Dicke

Im Rahmen der *dritten Studie* wurde die Dicke der Intima-Media-Schicht der linken und rechten Halsschlagader (engl. *carotid intima media thickness*, CIMT) als Maß für arteriosklerotische Veränderungen durch die sechsmonatige Lebensstilintervention gemessen¹⁹. Die Messung erfolgte halbautomatisiert mittels hochaufgelöster Echtzeit-Doppler-Sonografie („Esaote Mylab25Gold“, Köln), 1 cm proximal vom Karotissinus. Für einen aussagekräftigen CIMT-Wert wurde pro Körperseite der Mittelwert aus drei Messwiederholungen gebildet.

Statistische Auswertung

In allen drei Studien wurden die Daten auf Normalverteilung getestet bevor entsprechende parametrische bzw. nicht-parametrische Tests für den Gruppenvergleich von Studienteilnehmercharakteristika, Lern- und Gedächtnisfunktion sowie Hippocampusstruktur herangezogen wurden. Hierbei erfolgte die statistische Datenauswertung mittels „SPSS“ 20.0 und 22.0 (PASW, SPSS; IBM, Armonk, NY, USA) mit einem Signifikanzniveau von $\alpha < 0,05$.

In der *ersten Studie* erfolgte die Gruppeneinteilung nach KIBRA-T-Allel-Trägern und Nicht-T-Allel-Trägern. Zusätzlich zu den o.g. Analysen wurde unter Verwendung des FSL-basierten allgemeinen linearen Modells „FLAME“ die funktionelle Konnektivität des Hippocampus zur umliegenden grauen Substanz in Abhängigkeit des genetischen KIBRA-Status‘ getestet (Signifikanzniveau lag bei $z = 2,3$, $\alpha < 0,05$)⁴⁵. Untersuchungen von korrelativen Zusammenhängen zwischen Gedächtnisfunktion, Hippocampusstruktur und funktioneller Konnektivität erfolgte mittels bivariaten Korrelationen nach Spearman.

In der *zweiten Studie* wurde die MCI-Kohorte am Median der Serum-VitB12-Konzentration (304 pmol/L) in zwei Gruppen mit VitB12 im unteren (153 – 303 pmol/L) und oberen (304 – 934 pmol/L) Normbereich geteilt. Zusätzlich wurde zur genaueren Charakterisierung des

VitB12-Status‘ ein kombinierter Indikator (cB12) aus Serum-VitB12, Holotranscobalamin, Homocystein und Methylmalonsäure errechnet⁵¹. Mittels einer Mediatoranalyse nach Sobel⁵² wurde geprüft, ob die Mikrostruktur der CA4/DG Subfelder als Mediator zwischen VitB12 und der Gedächtnisfunktion fungiert. Nachdem alle Analysen zunächst unkorrigiert durchgeführt wurden, erfolgte eine Korrektur für Alter, Geschlecht, Bildung, APOE-e4-Status, Homocystein, Folsäure und Kreatinin.

In der *dritten Studie* wurden Interventionseffekte auf die kardiovaskuläre Fitness, den Omega-3-Index, die Konzentration von Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren, die kognitive Leistung sowie auf anthropometrische Daten, vaskuläre Faktoren und Serumparameter der MCI-Patienten mittels Varianzanalysen mit Messwiederholung (engl. *repeated-measures analysis of variance*; ANOVA_{RM}) und nachgeschalteten gepaarten T-Tests oder Wilcoxon-Tests geprüft. Interventionseffekte auf das Volumen der grauen Substanz wurden mittels Permutations-basierter nicht-parametrischer Interferenz namens „Randomise“ in FSL (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Randomise>) getestet. Der Gruppenvergleich erfolgte auf Voxelebene und unter Verwendung einer Maske bestehend aus Alzheimer-assoziierten Hirnregionen⁵³. Für multiple Vergleiche wurde mit TFCE (engl. *threshold-free cluster enhancement*), einer festgelegten minimalen Clustergröße von zehn Voxeln und einem Signifikanzniveau von $\alpha < 0,005$ korrigiert. Sekundär wurden alle Analysen für Alter und Geschlecht korrigiert. Assoziationen zwischen Serumparametern, kognitiver Leistung und Volumen der grauen Substanz wurden mittels bivariaten Korrelationen nach Pearson oder Spearman getestet.

3 Ergebnisse

Studie 1

Die älteren gesunden Probanden mit mindestens einem KIBRA-T-Allel unterschieden sich nicht signifikant im Alter und Geschlecht sowie in Bildung und kardiovaskulären und weiteren Gedächtnis-assoziierten genetischen Risikofaktoren zu den Probanden ohne KIBRA-T-Allel (CC-Träger; alle $p > 0,05$). In Bezug auf die Lern- und Gedächtnisfunktion, getestet mit dem VLMT, zeigte sich, dass KIBRA-T-Allel-Träger eine tendenziell bessere Leistung in der Konsolidierung ($t_{(138)} = -2,2$; $p = 0,032$; unkorrigiert) und im verzögerten Abruf ($t_{(138)} = -1,3$; $p = 0,18$; unkorrigiert) im Vergleich zu KIBRA-Nicht-T-Allel-Trägern aufwiesen. Nach der Bonferroni-Korrektur erreichten die Unterschiede jedoch keine Signifikanz. Weiterhin wiesen

KIBRA-T-Allel-Träger ein signifikant größeres Volumen der CA2/3- und CA4/DG-Subfelder (beide $t_{(138)} < -2,7$; $p < 0,008$) sowie eine signifikant bessere Mikrostruktur der CA4/DG-Subfelder ($t_{(128)} = 2,8$; $p < 0,005$) des Hippocampus auf. Im Rahmen der funktionellen Konnektivitätsanalyse in Ruhe zeigte sich ein bilaterales Synchronisationsnetzwerk des linken und rechten Hippocampus mit Hirnregionen des Temporallappens, Limbischen Systems, Precuneus, (prä)frontalen und auditiven Cortex. KIBRA-Nicht-T-Allel-Träger wiesen eine stärkere funktionelle Konnektivität zwischen dem linken Hippocampus und einem Cluster im visuellen Cortex im Vergleich zu KIBRA-T-Allel-Träger auf (Clustergröße: 548 Voxel; $p < 0,001$), das auf eine De-Differenzierung außerhalb des positiven Synchronisationsnetzwerkes hinweist. Ein statistischer Zusammenhang zwischen den Unterschieden in der funktionellen Konnektivität und der Gedächtnisleistung konnte nicht festgestellt werden (alle $p > 0,05$).

Studie 2

Ein Mangel an VitB12 wurde bei allen MCI-Patienten anhand von Serumkonzentrationen über 150 pmol/L und cB12-Werten zwischen -1,5 und +1,5 ausgeschlossen. Die VitB12-Gruppen unterschieden sich nicht signifikant im Alter, Geschlecht und Bildung sowie kardiovaskulären und genetischen Risikofaktoren (alle $p > 0,05$). Konzentrationen von Holotranscobalamin ($p < 0,001$) und Folsäure ($p = 0,042$) waren jedoch signifikant niedriger und Konzentrationen von Homocystein ($p = 0,019$) und Methylmalonsäure ($p < 0,001$) signifikant höher in der Patientengruppe mit VitB12 im unteren Normbereich. Eine schlechtere Leistung im VLMT-assoziierten Lernen ($F_{(1,98)} = 6,23$; $p = 0,014$), verzögerten Abruf ($F_{(1,98)} = 3,38$; $p = 0,069$, Trend) und Wiedererkennen ($F_{(1,98)} = 7,26$; $p = 0,008$) zeigte sich in der Patientengruppe mit VitB12 in der unteren Norm im Vergleich zu Patienten mit VitB12 im oberen Normbereich. Weiterhin wiesen Patienten mit niedrigerem VitB12 eine signifikant schlechtere Mikrostruktur (höhere MD) der CA4/DG-Subfelder des Hippocampus auf ($F_{(1,84)} = 4,93$; $p = 0,029$), was in einem Mediationsmodell zu 32-48 % die Assoziation zwischen niedrigerem VitB12 und schlechterer Lern- ($\beta = 2,46$; 95 % CI: 0,38-5,12) und Wiedererkennungslleistung ($\beta = 1,00$; 95% CI: 0,22-2,07) erklärte. Eine Korrektur für Alter, Geschlecht, Bildung, APOE-e4-Status, Homocystein, Folsäure und Kreatinin veränderte die Ergebnisse nicht. Eine sekundäre Analyse mit cB12 als unabhängige Variable bestätigte die schlechtere Wiedererkennungslleistung in der Patientengruppe mit niedrigerem VitB12-Status, mediiert durch eine schlechtere Mikrostruktur der CA4/DG Subfelder des Hippocampus.

Studie 3

In der Ziel- und Kontrollinterventionsgruppe kam es nach einer sechsmonatigen Supplementierung mit Omega-3-Fettsäuren zu einem signifikanten Anstieg des Omega-3-Index‘ und der Konzentration von DHA und EPA sowie einer signifikanten Verringerung der Konzentration von AA (alle $p < 0,05$), was auf eine regelmäßige Kapseleinnahme durch die MCI Patienten hindeutet. Die Zielinterventionsgruppe steigerte ihre körperliche Fitness durch ein sechsmonatiges aerobes Ergometertraining um 4,5 % gemessen anhand des $VO_2\text{-peak}$ -Wertes, wohingegen nach sechs Monaten Gymnastiktraining der $VO_2\text{-peak}$ -Wert in der Kontrollgruppe um 2,1 % sank. Ein Gruppenunterschied über die Interventionszeit konnte jedoch nur als Trend verzeichnet werden – womöglich zurückzuführen auf eine unzureichende Ausbelastung während der $VO_2\text{-peak}$ -Messung ($F_{(1,20)} = 2,08$; $p = 0,166$). Eine Veränderung in der Gedächtnisleistung, der Exekutivfunktion, Aufmerksamkeit und sensomotorischen Verarbeitungsgeschwindigkeit konnte weder nach der kombinierten Zielintervention, bestehend aus Omega-3-Fettsäure Supplementierung, aerobem körperlichen Training und kognitiver Stimulation, noch nach der Kontrollintervention aus Omega-3-Fettsäure Supplementierung und Gymnastik-Training verzeichnet werden (alle $p > 0,05$; Bonferroni korrigiert). Hinsichtlich der longitudinalen MRT-Auswertung zeigte sich, dass die Zielintervention zu einer selektiven Zunahme bzw. einem Erhalt der grauen Substanz im frontalen, parietalen und cingulären Cortex führte, wohingegen eine Atrophierate von durchschnittlich 4 % nach Kontrollintervention zu verzeichnen war ($p < 0,005$; TFCE-korrigiert). Die Analyse der erhobenen Blutparameter zeigte nach Zielintervention ein Absinken der Homocysteinkonzentration während diese in der Kontrollgruppe gleich blieb ($F_{(1,20)} = 5,27$; $p = 0,031$). Dieses Absinken des Homocysteinspiegels war assoziiert mit der Zunahme der grauen Substanz im mittleren frontalen Cortex ($r = -0,706$; $p = 0,010$). Sowohl nach der Ziel- als auch Kontrollintervention kam es zu einer Reduktion der Triglyceridkonzentration (beide $p < 0,011$), das vermutlich auf die Supplementierung mit Omega-3-Fettsäuren zurückzuführen ist. In allen weiteren Blutparametern sowie anthropometrischen Daten und vaskulären Markern wurden keine signifikanten Veränderungen über die Interventionszeit festgestellt ($p > 0,05$). Veränderungen der körperlichen Fitness ($VO_2\text{ peak}$) zeigten eine positive Assoziation mit der Zunahme der grauen Substanz im angularen Cortex ($r = 0,505$; $p = 0,023$), jedoch keinen Zusammenhang zur kognitiven Funktion. Der Anstieg des Omega-3-Index war weder mit Änderungen der grauen Substanz noch der kognitiven Funktionsfähigkeit assoziiert ($p > 0,05$). Die beschriebenen Effekte der Zielintervention blieben auch nach Korrektur für Alter und Geschlecht weitgehend unverändert.

4 Diskussion

Studie 1

In einer gut charakterisierten Kohorte von 140 gesunden älteren Probanden konnte gezeigt werden, dass KIBRA-T-Allel-Träger eine tendenziell bessere Gedächtnisleistung sowie ein signifikant höheres Volumen und eine bessere Mikrostruktur der Hippocampussubfelder CA2/3 und CA4/DG im Vergleich zu KIBRA-Nicht-T-Allel-Trägern aufweisen. Weiterhin deutet eine stärkere funktionelle Konnektivität zwischen linkem Hippocampus und Hirnarealen außerhalb des synchronisierten Hippocampusnetzwerkes auf eine funktionelle De-Differenzierung des Hippocampus in KIBRA-Nicht-T-Allel-Träger hin.

Frühere Studien mit jüngeren und älteren gesunden Probanden zeigten ebenfalls positive Effekte des T-Allels auf die Gedächtnisleistung^{6, 54}, wohingegen dies in anderen Arbeiten nicht bestätigt werden konnte^{9, 10}. Unterschiede in den angewandten Gedächtnistests sowie eine eher kleine Effektstärke des KIBRA-Polymorphismus auf die Gedächtnisfunktion von 0,5 %⁵⁵ könnten Erklärungen für solch divergente Ergebnisse sein.

In Bezug auf die Hippocampusstruktur konnten die in jüngeren gesunden Probanden beobachteten positiven Effekte des KIBRA-T-Allels auf das Volumen⁵ auch auf ältere gesunde Probanden erweitert werden, wobei die stärksten Effekte in den CA2/3- und CA4/DG-Subfeldern zu verzeichnen waren. Zusätzlich konnte erstmalig gezeigt werden, dass das T-Allel mit einer besseren hippocampalen Mikrostruktur – als indirektes Maß der neuronalen Integrität – vor allem in den CA4/DG-Subfeldern einhergeht. Die strukturellen Effekte von KIBRA auf spezifische Subfelder lassen auf differenzielle Effekte in der Gedächtnisfunktion schließen⁵⁶, was sich in der durchgeführten Studie in Ansätzen in der Konsolidierungsleistung abzeichnet. Bislang liegen keine Studien zur funktionellen Konnektivität des Hippocampus in Bezug auf KIBRA vor. Lediglich im aufgabenspezifischen fMRT zeigten sich kontroverse Studienergebnisse von einer erhöhten⁵⁴ bzw. erniedrigten⁶ Aktivität des Hippocampus in T-Allel-Trägern bis hin zu keinerlei KIBRA-spezifischen Effekten⁵⁷. Die hier beobachteten Unterschiede in der funktionellen Konnektivität des Hippocampus lassen eine De-Differenzierung des Hippocampusnetzwerkes in älteren KIBRA-Nicht-T-Allel-Träger vermuten⁵⁸, was möglicherweise auf Kompensationsmechanismen zurückzuführen ist⁵⁹.

Zusammenfassend untermauern die Resultate dieser Studie den positiven Einfluss des KIBRA-T-Allels auf Struktur und funktionelle Plastizität des Hippocampus sowie auf assoziierte Gedächtnisfunktionen, was zum besseren Verständnis von interindividuellen Unterschieden im

Alter beiträgt und dabei helfen kann spezifische Strategien gegen den altersassoziierten kognitiven Abbau zu entwickeln.

Studie 2

Im Rahmen dieser Querschnittsstudie wurde deutlich, dass bereits eine niedrige VitB12-Konzentration im normalen Bereich mit einer schlechteren Lern- und Wiedererkennungsleistung in MCI-Patienten assoziiert ist. Dies kann teilweise durch eine schlechtere Mikrostruktur der Hippocampussubfelder CA4/DG erklärt werden.

Diese Ergebnisse stützen bisherige Studien, welche eine Assoziation zwischen VitB12 im unteren Normbereich und schlechterer Gedächtnisfunktion, kognitivem Abbau und einem erhöhten Alzheimer-Erkrankungsrisiko beschreiben^{13, 14, 60, 61} – ein Zusammenhang, der in anderen Studien nicht festgestellt werden konnte^{17, 62}. Die Studienlage ist auch hinsichtlich vorteilhafter Effekte auf die Gedächtnisfunktion durch eine VitB12-Supplementierung noch uneinheitlich^{18, 63}.

Weiterhin ist ein VitB12-Mangel mit einer erhöhten Neurodegeneration der grauen Substanz assoziiert^{16, 64}. Die Atrophierate in Alzheimer-spezifischen Hirnregionen, u.a. im Hippocampus, konnte kürzlich durch eine VitB12-Intervention verlangsamt werden⁶⁴. In unserer Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass eine VitB12-Konzentration im unteren Normbereich mit einer erhöhten MD und damit einer schlechteren Mikrostruktur im Hippocampus, spezifisch in den CA4/DG Subfeldern, assoziiert ist. In Bezug auf das Hippocampusvolumen zeigten sich hingegen keine Unterschiede zwischen MCI-Patienten mit VitB12 im unteren und oberen Normbereich. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass eine höhere Sensitivität des DTI auf subtile Veränderungen der Hippocampusstruktur besteht^{43, 65}.

In einem Mediationsmodell zeigte sich, dass der Einfluss von VitB12 auf die Gedächtnisleistung zu 32-48 % durch die mikrostrukturelle Integrität der CA4/DG-Subfelder erklärt werden konnte. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass bereits vor dem Auftreten einer ausgeprägten Atrophie eine VitB12-Konzentration im unteren Normbereich (150 - 300 pmol/L) zu einer erhöhten MD führt, was ein Indikator sein könnte für eine regionale De-Myelinisierung, beeinträchtigte Neurogenese, eingeschränkte Signalübertragung bis hin zum Verlust synaptischer Kontakte und weiterreichenden Gedächtniseinschränkungen^{43, 66, 67}. Die hier innerhalb des Hippocampus beschriebenen strukturell regionalen, jedoch auf die Hippocampusfunktion als Ganzes bezogen Resultate könnten damit erklärt werden, dass der Gyrus dentatus eine besondere Region darstellt,

die durch adulte Neurogenese, erhöhte Vulnerabilität gegenüber Nahrungskomponenten und den Einfluss auf sowohl Lang- als auch Kurzzeitgedächtnisfunktion charakterisiert ist⁶⁷⁻⁶⁹.

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Publikation deuten darauf hin, dass VitB12-Werte im aktuell unteren Normbereich (150 - 300 pmol/L) bereits als pathologisch betrachtet werden sollten und eine frühzeitigere Supplementierung bei älteren Menschen empfehlenswert ist, besonders wenn diese erste Anzeichen eines kognitiven Abbaus zeigen. Diese Annahme sollte jedoch in künftigen randomisiert-kontrollierten Interventionsstudien geprüft werden.

Studie 3

In dieser Pilot-Interventionsstudie konnte erstmalig gezeigt werden, dass im Vergleich zu einer Einzelintervention mit Omega-3-Fettsäuren und Gymnastikübungen eine kombinierte sechsmonatige Intervention bestehend aus Omega-3-Fettsäuren, aerobem körperlichen Training und kognitiver Stimulation zu einer signifikant geringeren Atrophie der grauen Substanz in „Alzheimer-spezifischen“ Hirnregionen⁵³ von MCI-Patienten führt. Gruppenunterschiede in der kognitiven Leistung über die Interventionszeit wurden jedoch nicht gefunden.

Die Wirkung kombinierter Interventionsansätze auf die Hirnstruktur wurde bislang kaum untersucht, doch erste Studien weisen auf additive und stärkere Effekte im Vergleich zu Einzelinterventionen hin^{30, 70}. In der hier vorliegenden Arbeit konnte die Atrophierate im frontalen, parietalen und cingulären Cortex von MCI-Patienten durch die kombinierte Intervention gestoppt bzw. sogar eine Zunahme der grauen Substanz verzeichnet werden. In der Kontrollinterventionsgruppe kam es hingegen zu einer signifikanten Verringerung des Volumens in diesen Hirnregionen, was auf eine höhere Effektivität durch einen multimodalen Interventionsansatz hindeutet. Hier kann angenommen werden, dass eine ausreichende Versorgung an Omega-3-Fettsäuren, als metabolische Grundlage für neuronale Zellstruktur und -funktion, die Basis für schützende und förderliche Effekte von physischem und kognitivem Training auf das Volumen der grauen Substanz darstellt^{30, 71, 72}.

Der hier beobachtete positive Einfluss auf spezifische Hirnregionen deckt sich mit Ergebnissen anderer Interventionsstudien^{28, 73}. Diese regionalen Effekte könnten damit erklärt werden, dass eine Zunahme an Omega-3-Fettsäuren und physischer Aktivität zunächst zu einer globalen Veränderung in der Blutversorgung und in biochemischen (z.B. Neurotrophin-Synthese) und neuroplastischen Prozessen führt, woraufhin die kognitive Stimulation spezifische Hirnregionen aktiviert und somit regionale Effekte induziert^{30, 72, 74}.

Entgegen unserer negativen Resultate bezüglich der kognitiven Leistung der Patienten, zeigten erste Studien ein verbesserte Kognition nach kombiniertem körperlichem und kognitivem Training gegenüber den Interventionen im Einzelnen⁷⁵⁻⁷⁷. Ursachen für diese divergenten Ergebnisse könnten zum einen die relativ kleine Anzahl an Patienten in der vorliegenden Studie sein und zum anderen eine Verminderung des Gruppeneffekts durch einen potenziell positiven Einfluss von Omega-3-Fettsäuren in beiden Studiengruppen¹⁹.

Hinsichtlich der Suche nach potentiell zugrundeliegenden molekularen Mechanismen konnte die Zunahme der grauen Substanz im mittleren frontalen Cortex mit einer Reduktion der Homocysteinkonzentration nach kombinierter jedoch nicht nach Kontrollintervention assoziiert werden. Dies steht in Einklang mit einer Studie, in der die Atrophierate des mittleren frontalen Cortex‘ durch eine Homocystein-reduzierende Intervention verzögert werden konnte⁶⁴.

Die hier gewonnenen Erkenntnisse untermauern den potenziell stärkeren Effekt einer kombinierten Lebensstilintervention gegenüber Einzelinterventionen. Ob eine derart gut verträgliche und leicht umsetzbare Interventions- und Präventionsmaßnahme den strukturellen und vielleicht auch funktionellen Abbau in MCI-Patienten sowie gesunden Älteren langfristig verzögern bzw. verhindern kann, sollte in größeren kontrollierten Interventionsstudien untersucht werden.

Fazit

Zusammenfassend konnten die in der Dissertationsschrift präsentierten Studien sowohl genetische als auch modifizierbare lebensstilbezogene Faktoren darlegen, welche die Struktur und Funktion des Gehirns im gesunden bzw. beginnend pathogenen Altern beeinflussen. Ein damit einhergehendes Verständnis von interindividuellen Unterschieden ist eminent wichtig für die Entwicklung frühzeitiger Präventions- und Interventionsstrategien. Die hier durchgeführte Interventionsstudie stellt dabei einen vielversprechenden Ansatz dar, in dem der strukturelle Abbau der grauen Substanz in Alzheimer-Risikopatienten durch eine kombinierte Intervention verzögert bzw. teilweise aufgehalten werden konnte. Die vorliegende Arbeit verlangt nach der weiteren Identifikation potenzieller Risikofaktoren sowie nach größeren Interventionsstudien, idealerweise mit multimodalen Ansätzen, um die rasant steigende Prävalenz der Alzheimer-Krankheit einzudämmen.

5 Literaturverzeichnis

- 1 Dementia. A public health priority. World Health Organization 2012. (Accessed 20.01.2016, at http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75263/1/9789241564458_eng.pdf).
- 2 Eshkoor SA, Hamid TA, Mun CY, Ng CK. Mild cognitive impairment and its management in older people. *Clinical interventions in aging* 2015;10:687-93.
- 3 Mangialasche F, Xu W, Kivipelto M. Prevention of Alzheimer's Disease: Intervention Studies, Understanding Alzheimer's Disease, 2013, 978-953-51-1009-5.
- 4 Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993;261(5123):921-3.
- 5 Palombo DJ, Amaral RS, Olsen RK, Muller DJ, Todd RM, Anderson AK, Levine B. KIBRA polymorphism is associated with individual differences in hippocampal subregions: evidence from anatomical segmentation using high-resolution MRI. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2013;33(32):13088-93.
- 6 Papassotiropoulos A, Stephan DA, Huentelman MJ, Hoernkli FJ, Craig DW, Pearson JV, Huynh KD, Brunner F, Corneveaux J, Osborne D, Wollmer MA, Aerni A, Coluccia D, Hanggi J, Mondadori CRA, Buchmann A, Reiman EM, Caselli RJ, Henke K, de Quervain DJF. Common KIBRA alleles are associated with human memory performance. *Science* 2006;314(5798):475-8.
- 7 Burgess JD, Pedraza O, Graff-Radford NR, Hirpa M, Zou F, Miles R, Nguyen T, Li M, Lucas JA, Ivnik RJ, Crook J, Pankratz VS, Dickson DW, Petersen RC, Younkin SG, Ertekin-Taner N. Association of common KIBRA variants with episodic memory and AD risk. *Neurobiology of aging* 2011;32(3):557.e1-9.
- 8 Corneveaux JJ, Liang WS, Reiman EM, Webster JA, Myers AJ, Zismann VL, Joshipura KD, Pearson JV, Hu-Lince D, Craig DW, Coon KD, Dunckley T, Bandy D, Lee W, Chen K, Beach TG, Mastroeni D, Grover A, Ravid R, Sando SB, Aasly JO, Heun R, Jessen F, Kolsch H, Rogers J, Hutton ML, Melquist S, Petersen RC, Alexander GE, Caselli RJ, Papassotiropoulos A, Stephan DA, Huentelman MJ. Evidence for an association between KIBRA and late-onset Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging* 2010;31(6):901-9.
- 9 Nacmias B, Bessi V, Bagnoli S, Tedde A, Cellini E, Piccini C, Sorbi S, Bracco L. KIBRA gene variants are associated with episodic memory performance in subjective memory complaints. *Neuroscience letters* 2008;436(2):145-7.
- 10 Werschling H, Guske K, Hasenkamp S, Hagedorn C, Schiwiek S, Jansen S, Witte V, Wellmann J, Lohmann H, Duning K, Kremerskothen J, Knecht S, Brand E, Floel A. Impact of common KIBRA allele on human cognitive functions. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 2011;36(6):1296-304.
- 11 Clarke R, Smith AD, Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland PM. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Archives of neurology* 1998;55(11):1449-55.
- 12 Gupta PK, Gupta RK, Garg RK, Rai Y, Roy B, Pandey CM, Malhotra HS, Narayana PA. DTI correlates of cognition in conventional MRI of normal-appearing brain in patients with clinical features of subacute combined degeneration and biochemically proven vitamin B(12) deficiency. *AJNR American journal of neuroradiology* 2014;35(5):872-7.
- 13 Wang HX, Wahlin A, Basun H, Fastbom J, Winblad B, Fratiglioni L. Vitamin B(12) and folate in relation to the development of Alzheimer's disease. *Neurology* 2001;56(9):1188-94.
- 14 Clarke R, Birks J, Nexo E, Ueland PM, Schneede J, Scott J, Molloy A, Evans JG. Low vitamin B-12 status and risk of cognitive decline in older adults. *The American journal of clinical nutrition* 2007;86(5):1384-91.
- 15 Hin H, Clarke R, Sherliker P, Atoyebi W, Emmens K, Birks J, Schneede J, Ueland PM, Nexo E, Scott J, Molloy A, Donaghy M, Frost C, Evans JG. Clinical relevance of low serum vitamin B12 concentrations in older people: the Banbury B12 study. *Age Ageing* 2006;35(4):416-22.
- 16 Vogiatzoglou A, Refsum H, Johnston C, Smith SM, Bradley KM, de Jager C, Budge MM, Smith AD. Vitamin B12 status and rate of brain volume loss in community-dwelling elderly. *Neurology* 2008;71(11):826-32.
- 17 Kang JH, Irizarry MC, Grodstein F. Prospective study of plasma folate, vitamin B12, and cognitive function and decline. *Epidemiology* 2006;17(6):650-7.
- 18 van der Zwaluw NL, Dhonukshe-Rutten RA, van Wijngaarden JP, Brouwer-Brolsma EM, van de Rest O, In 't Veld PH, Enneman AW, van Dijk SC, Ham AC, Swart KM, van der Velde N, van Schoor NM, van der Cammen TJ, Uitterlinden AG, Lips P, Kessels RP, de Groot LC. Results of 2-year vitamin B treatment on cognitive performance: secondary data from an RCT. *Neurology* 2014;83(23):2158-66.
- 19 Witte AV, Kerti L, Hermannstadter HM, Fiebach JB, Schreiber SJ, Schuchardt JP, Hahn A, Floel A. Long-chain omega-3 fatty acids improve brain function and structure in older adults. *Cerebral cortex (New York, NY : 1991)* 2014;24(11):3059-68.
- 20 Chiu CC, Su KP, Cheng TC, Liu HC, Chang CJ, Dewey ME, Stewart R, Huang SY. The effects of omega-3 fatty acids monotherapy in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a preliminary randomized double-blind placebo-controlled study. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 2008;32(6):1538-44.
- 21 Freund-Levi Y, Eriksson-Jonhagen M, Cederholm T, Basun H, Faxen-Irving G, Garlind A, Vedin I, Vessby B, Wahlund LO, Palmblad J. Omega-3 fatty acid treatment in 174 patients with mild to moderate Alzheimer disease: OmegAD study: a randomized double-blind trial. *Archives of neurology* 2006;63(10):1402-8.
- 22 Dangour AD, Allen E, Elbourne D, Fasey N, Fletcher AE, Hardy P, Holder GE, Knight R, Letley L, Richards M, Uauy R. Effect of 2-y n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation on cognitive function in older people: a randomized, double-blind, controlled trial. *The American journal of clinical nutrition* 2010;91(6):1725-32.

- 23 van de Rest O, Geleijnse JM, Kok FJ, van Staveren WA, Dullemeijer C, Olderikkert MG, Beekman AT, de Groot CP. Effect of fish oil on cognitive performance in older subjects: a randomized, controlled trial. *Neurology* 2008;71(6):430-8.
- 24 Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, Kim JS, Heo S, Alves H, White SM, Wojcicki TR, Mailey E, Vieira VJ, Martin SA, Pence BD, Woods JA, McAuley E, Kramer AF. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011;108(7):3017-22.
- 25 Ruscheweyh R, Willemer C, Kruger K, Duning T, Warnecke T, Sommer J, Volker K, Ho HV, Mooren F, Knecht S, Floel A. Physical activity and memory functions: an interventional study. *Neurobiology of aging* 2011;32(7):1304-19.
- 26 Young J, Angevaren M, Rusted J, Tabet N. Aerobic exercise to improve cognitive function in older people without known cognitive impairment. *The Cochrane database of systematic reviews* 2015;4:Cd005381.
- 27 Belleville S, Gilbert B, Fontaine F, Gagnon L, Menard E, Gauthier S. Improvement of episodic memory in persons with mild cognitive impairment and healthy older adults: evidence from a cognitive intervention program. *Dementia and geriatric cognitive disorders* 2006;22(5-6):486-99.
- 28 Engvig A, Fjell AM, Westlye LT, Skaane NV, Dale AM, Holland D, Due-Tonnessen P, Sundseth O, Walhovd KB. Effects of cognitive training on gray matter volumes in memory clinic patients with subjective memory impairment. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 2014;41(3):779-91.
- 29 Vidovich MR, Lautenschlager NT, Flicker L, Clare L, McCaul K, Almeida OP. The PACE study: a randomized clinical trial of cognitive activity strategy training for older people with mild cognitive impairment. *The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry* 2015;23(4):360-72.
- 30 Bamidis PD, Vivas AB, Styliadis C, Frantzidis C, Klados M, Schlee W, Siountas A, Papageorgiou SG. A review of physical and cognitive interventions in aging. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 2014;44:206-20.
- 31 Chytrava G, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Exercise contributes to the effects of DHA dietary supplementation by acting on membrane-related synaptic systems. *Brain research* 2010;1341:32-40.
- 32 Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Docosahexaenoic acid dietary supplementation enhances the effects of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Neuroscience* 2008;155(3):751-9.
- 33 Fabre C, Chamari K, Mucci P, Masse-Biron J, Prefaut C. Improvement of cognitive function by mental and/or individualized aerobic training in healthy elderly subjects. *International journal of sports medicine* 2002;23(6):415-21.
- 34 Styliadis C, Kartsidis P, Paraskevopoulos E. Neuroplastic effects of combined computerized physical and cognitive training in elderly individuals at risk for dementia: an eLORETA controlled study on resting states. 2015;2015:172192.
- 35 Morris JC, Heyman A, Mohs RC, Hughes JP, van Belle G, Fillenbaum G, Mellits ED, Clark C. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1989;39(9):1159-65.
- 36 Tesky VA, Sahlender S, Matura S, Roth I, Pantel J. AKTIVA-MCI Ein Trainingsmanual zur Steigerung kognitiv-stimulierender Freizeitaktivitäten für Menschen mit Mild Cognitive Impairment (MCI) - Psychosoziale Interventionen zur Prävention und Therapie der Demenz Berlin: Logos, 2014, 978-3-8325-3771-5.
- 37 Lezak M. Neuropsychological assessment. New York, Oxford: Oxford University Press, 2004,
- 38 Kuhner C, Burger C, Keller F, Hautzinger M. Reliability and validity of the Revised Beck Depression Inventory (BDI-II). Results from German samples. *Der Nervenarzt* 2007;78(6):651-6.
- 39 Krohne H, Egloff B, Kohlmann C, Tausch A. Untersuchung mit einer deutschen Version der "Positive and Negative Affective Schedule" (PANAS). *Diagnostica* 1996;42:139-56.
- 40 Laux L, Glanzmann P, Schaffner P, Spielberger CD. Das State-Trait-Angstinventar. Theoretische Grundlagen und Handanweisung. Weinheim: Beltz Test GmbH, 1981,
- 41 Van Leemput K, Bakkour A, Benner T, Wiggins G, Wald LL, Augustinack J, Dickerson BC, Golland P, Fischl B. Automated segmentation of hippocampal subfields from ultra-high resolution in vivo MRI. *Hippocampus* 2009;19(6):549-57.
- 42 Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, van der Kouwe A, Killiany R, Kennedy D, Klaveness S, Montillo A, Makris N, Rosen B, Dale AM. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 2002;33(3):341-55.
- 43 den Heijer T, der Lijn F, Vernooij MW, de Groot M, Koudstaal PJ, der Lugt A, Krestin GP, Hofman A, Niessen WJ, Breteler MM. Structural and diffusion MRI measures of the hippocampus and memory performance. *Neuroimage* 2012;63(4):1782-9.
- 44 Kerti L, Witte AV, Winkler A, Grittner U, Rujescu D, Floel A. Higher glucose levels associated with lower memory and reduced hippocampal microstructure. *Neurology* 2013;81(20):1746-52.
- 45 Witte AV, Kerti L, Margulies DS, Floel A. Effects of resveratrol on memory performance, hippocampal functional connectivity, and glucose metabolism in healthy older adults. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2014;34(23):7862-70.
- 46 Papenberg G, Salami A, Persson J, Lindenberger U, Backman L. Genetics and functional imaging: effects of APOE, BDNF, COMT, and KIBRA in aging. *Neuropsychology review* 2015;25(1):47-62.
- 47 O'Dwyer L, Lambertson F, Matura S, Tanner C, Scheibe M, Miller J, Rujescu D, Prvulovic D, Hampel H. Reduced hippocampal volume in healthy young ApoE4 carriers: an MRI study. *PloS one* 2012;7(11):e48895.
- 48 von Schacky C, Harris WS. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. *Cardiovascular research* 2007;73(2):310-5.
- 49 Barnes DE, Yaffe K, Satariano WA, Tager IB. A longitudinal study of cardiorespiratory fitness and cognitive function in healthy older adults. *Journal of the American Geriatrics Society* 2003;51(4):459-65.
- 50 Tanaka H, Monahan KD, Seals DR. Age-predicted maximal heart rate revisited. *Journal of the American College of Cardiology* 2001;37(1):153-6.
- 51 Fedosov SN, Brito A, Miller JW, Green R, Allen LH. Combined indicator of vitamin B12 status: modification for missing biomarkers and folate status and recommendations for revised cut-points. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC* 2015;53(8):1215-25.

- 52 Preacher KJ, Hayes AF. Asymptotic and resampling strategies for assessing and comparing indirect effects in multiple mediator models. *Behavior research methods* 2008;40(3):879-91.
- 53 Villeneuve S, Reed BR, Madison CM, Wirth M, Marchant NL, Kriger S, Mack WJ, Sanossian N, DeCarli C, Chui HC, Weiner MW, Jagust WJ. Vascular risk and Aβ interact to reduce cortical thickness in AD vulnerable brain regions. *Neurology* 2014;83(1):40-7.
- 54 Kauppi K, Nilsson LG, Adolfsson R, Eriksson E, Nyberg L. KIBRA polymorphism is related to enhanced memory and elevated hippocampal processing. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2011;31(40):14218-22.
- 55 Milnik A, Heck A, Vogler C, Heinze HJ, de Quervain DJ, Papassotiropoulos A. Association of KIBRA with episodic and working memory: a meta-analysis. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 2012;159b(8):958-69.
- 56 Mueller SG, Chao LL, Berman B, Weiner MW. Evidence for functional specialization of hippocampal subfields detected by MR subfield volumetry on high resolution images at 4 T. *Neuroimage* 2011;56(3):851-7.
- 57 Muse J, Emery M, Sambataro F, Lemaitre H, Tan HY, Chen Q, Kolachana BS, Das S, Callicott JH, Weinberger DR, Mattay VS. WWC1 genotype modulates age-related decline in episodic memory function across the adult life span. *Biological psychiatry* 2014;75(9):693-700.
- 58 Antonenko D, Floel A. Healthy aging by staying selectively connected: a mini-review. *Gerontology* 2014;60(1):3-9.
- 59 Qi Z, Wu X, Wang Z, Zhang N, Dong H, Yao L, Li K. Impairment and compensation coexist in amnesic MCI default mode network. *Neuroimage* 2010;50(1):48-55.
- 60 Bryan J, Calvaresi E, Hughes D. Short-term folate, vitamin B-12 or vitamin B-6 supplementation slightly affects memory performance but not mood in women of various ages. *The Journal of nutrition* 2002;132(6):1345-56.
- 61 Goodwin JS, Goodwin JM, Garry PJ. Association between nutritional status and cognitive functioning in a healthy elderly population. *Jama* 1983;249(21):2917-21.
- 62 Riggs KM, Spiro A, 3rd, Tucker K, Rush D. Relations of vitamin B-12, vitamin B-6, folate, and homocysteine to cognitive performance in the Normative Aging Study. *The American journal of clinical nutrition* 1996;63(3):306-14.
- 63 de Jager CA, Oulhaj A, Jacoby R, Refsum H, Smith AD. Cognitive and clinical outcomes of homocysteine-lowering B-vitamin treatment in mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. *International journal of geriatric psychiatry* 2012;27(6):592-600.
- 64 Douaud G, Refsum H, de Jager CA, Jacoby R, Nichols TE, Smith SM, Smith AD. Preventing Alzheimer's disease-related gray matter atrophy by B-vitamin treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2013;110(23):9523-8.
- 65 Muller MJ, Greverus D, Weibrich C, Dellani PR, Scheurich A, Stoeter P, Fellgiebel A. Diagnostic utility of hippocampal size and mean diffusivity in amnesic MCI. *Neurobiology of aging* 2007;28(3):398-403.
- 66 Hughes CF, Ward M, Hoey L, McNulty H. Vitamin B12 and ageing: current issues and interaction with folate. *Annals of clinical biochemistry* 2013;50(Pt 4):315-29.
- 67 Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *The Lancet Neurology* 2006;5(11):949-60.
- 68 Brickman AM, Khan UA, Provenzano FA, Yeung LK, Suzuki W, Schroeter H, Wall M, Sloan RP, Small SA. Enhancing dentate gyrus function with dietary flavanols improves cognition in older adults. *Nature neuroscience* 2014;17(12):1798-803.
- 69 Eldridge LL, Engel SA, Zeineh MM, Bookheimer SY, Knowlton BJ. A dissociation of encoding and retrieval processes in the human hippocampus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2005;25(13):3280-6.
- 70 Holzschneider K, Wolbers T, Roder B, Hotting K. Cardiovascular fitness modulates brain activation associated with spatial learning. *Neuroimage* 2012;59(3):3003-14.
- 71 Crupi R, Marino A, Cuzzocrea S. n-3 fatty acids: role in neurogenesis and neuroplasticity. *Current medicinal chemistry* 2013;20(24):2953-63.
- 72 Denis I, Potier B, Vancassel S, Heberden C, Lavielle M. Omega-3 fatty acids and brain resistance to ageing and stress: body of evidence and possible mechanisms. *Ageing research reviews* 2013;12(2):579-94.
- 73 Colcombe SJ, Erickson KI, Scalf PE, Kim JS, Prakash R, McAuley E, Elavsky S, Marquez DX, Hu L, Kramer AF. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences* 2006;61(11):1166-70.
- 74 Thomas AG, Dennis A, Bandettini PA, Johansen-Berg H. The effects of aerobic activity on brain structure. *Frontiers in psychology* 2012;3:86.
- 75 Anderson-Hanley C, Arciero PJ, Brickman AM, Nimon JP, Okuma N, Westen SC, Merz ME, Pence BD, Woods JA, Kramer AF, Zimmerman EA. Exergaming and older adult cognition: a cluster randomized clinical trial. *American journal of preventive medicine* 2012;42(2):109-19.
- 76 Maillot P, Perrot A, Hartley A. Effects of interactive physical-activity video-game training on physical and cognitive function in older adults. *Psychology and aging* 2012;27(3):589-600.
- 77 Mortimer JA, Ding D, Borenstein AR, DeCarli C, Guo Q, Wu Y, Zhao Q, Chu S. Changes in brain volume and cognition in a randomized trial of exercise and social interaction in a community-based sample of non-demented Chinese elders. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 2012;30(4):757-66.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Theresa Köbe, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema *„Einfluss von Lebensstil und Genetik auf Struktur und Funktion des Gehirns von gesunden älteren Menschen und Patienten mit leichten Gedächtniseinschränkungen“* 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

Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Theresa Köbe hatte folgenden Anteil an den nachkommenden Publikationen:

Publikation 1: A. Veronica Witte*, **Theresa Köbe***, Lucia Kerti, Dan Rujescu, Agnes Flöel. Impact of KIBRA Polymorphism on Memory Function and the Hippocampus in Older Adults. *Neuropsychopharmacology*. 2016.

Beitrag im Einzelnen: Beteiligung an Datenaufbereitung, Datenanalyse, Mitarbeit bei Manuskriptverfassung und Revision.

Publikation 2: **Theresa Köbe**, A. Veronica Witte, Ariane Schnelle, Ulrike Grittner, Valentina A. Tesky, Johannes Pantel, Jan Philipp Schuchardt, Andreas Hahn, Jens Bohlken, Dan Rujescu, Agnes Flöel. Vitamin B12 concentration, memory performance and hippocampal structure in patients with mild cognitive impairment. *American Journal of clinical nutrition*. 2016.

Beitrag im Einzelnen: Studienkoordination, Patientenrekrutierung, Erhebung, Verwaltung, und Analyse der Daten, Verfassung und Revision des Manuskripts.

Publikation 3: **Theresa Köbe**, A. Veronica Witte, Ariane Schnelle, Anne Lesemann, Sonja Fabian, Valentina A. Tesky, Johannes Pantel, Agnes Flöel. Combined omega-3 fatty acids, aerobic exercise and cognitive stimulation prevents decline in gray matter volume of the frontal, parietal and cingulate cortex in patients with mild cognitive impairment. *Neuroimage*. 2015.

Beitrag im Einzelnen: Studienkoordination, Patientenrekrutierung, Erhebung, Verwaltung, und Analyse der Daten, Verfassung und Revision des Manuskripts.

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

Unterschrift Dipl.-Biol. Theresa Köbe

Ausgewählte Publikationen

Publikation 1:

A. Veronica Witte*, **Theresa Köbe***, Lucia Kerti, Dan Rujescu, Agnes Flöel. 2016. Impact of KIBRA Polymorphism on Memory Function and the Hippocampus in Older Adults. *Neuropsychopharmacology*. 41(3):781-790. <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2015.203>.

Impact Factor: 7.048

Publikation 2:

Theresa Köbe, A. Veronica Witte, Ariane Schnelle, Ulrike Grittner, Valentina A. Tesky, Johannes Pantel, Jan Philipp Schuchardt, Andreas Hahn, Jens Bohlken, Dan Rujescu, Agnes Flöel. 2016. Vitamin B12 concentration, memory performance and hippocampal structure in patients with mild cognitive impairment. *American Journal of clinical nutrition*. 103(4):1045-54. <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.115.116970>.

Impact Factor: 6.770

Publikation 3:

Theresa Köbe, A. Veronica Witte, Ariane Schnelle, Anne Lesemann, Sonja Fabian, Valentina A. Tesky, Johannes Pantel, Agnes Flöel. 2015. Combined omega-3 fatty acids, aerobic exercise and cognitive stimulation prevents decline in gray matter volume of the frontal, parietal and cingulate cortex in patients with mild cognitive impairment. *Neuroimage*. 131(1):226-38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.09.050>.

Impact Factor: 6.357

Lebenslauf

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

Komplette Publikationsliste

Originalartikel

Tesky, V.A., **Köbe, T.**, Witte, A.V., Flöel, A., Pantel, J. Cognitive Stimulation for people with Mild Cognitive Impairment: the AKTIVA – training-study. In Bearbeitung.

Köbe, T., Witte, A.V., Schnelle, A., Tesky, V.A., Pantel, J., Schuchardt, J.P., Hahn, A., Flöel, A. Effects of resveratrol on glucose control and hippocampus functional connectivity and structure in patients with mild cognitive impairment. Eingereicht.

Witte, A.V., **Köbe, T.**, Graunke, A., Kerti, L., Maertens, I., Flöel, A. Decreased serum leptin concentrations in patients with mild cognitive impairment, in Revision.

Köbe, T., Witte, A.V., Schnelle, A., Grittner, U., Tesky, V.A., Pantel, J., Schuchardt, J.P. Hahn, A., Bohlken, J., Rujescu, D., Flöel, A. Vitamin B12 concentration, memory performance and hippocampal structure in patients with mild cognitive impairment. *American Journal of clinical nutrition*. 2016.

Wirth, M., Pichet Binette, A., Brunecker, P., **Köbe, T.**, Witte, A.V., Floel, A. Divergent regional patterns of cerebral hypoperfusion and gray matter atrophy in MCI patients. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2016.

Schuchardt, J.P., **Köbe, T.**, Witte, A.V., Willers, J., Gingrich, A., Tesky, V.A., Pantel, J., Rujescu, D., Illig, T, Flöel, A, Hahn, A. Genetic variants of the FADS gene cluster are associated with erythrocyte membrane LC PUFA levels in patients with mild cognitive impairment. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2015.

Witte*, A.V., **Köbe* T.**, Kerti*, L., Rujescu, D., Flöel, A. Impact of KIBRA Polymorphism on Memory Function and the Hippocampus in Older Adults, *Neuropsychopharmacology*. 2016.

Köbe, T., Witte, A.V., Schnelle, A., Lesemann, A., Fabian, S., Tesky, V.A., Pantel, J., Flöel, A. Combined omega-3 fatty acids, aerobic exercise and cognitive stimulation prevents decline in gray matter volume of the frontal, parietal and cingulate cortex in patients with mild cognitive impairment. *Neuroimage*. 2015.

Bohlken, J., **Köbe, T.**, Dietz, L.M., Rapp, M.A., Kohlmann, T., Flöel, A. Unterscheiden sich die Einstellungen von MCI-Patienten einer Gedächtnissprechstunde von denen einer Versorgerpraxis? *Fortschr Neurol Psychiatr*. 2015.

Konferenzbeiträge

Poster

Köbe, T., Witte, A.V., Schnelle, A., Tesky, V.A., Pantel, J., Schuchardt, J.P., Hahn, A., and Flöel, A. Effects of resveratrol on glucose control and hippocampus functional connectivity and structure in patients with mild cognitive impairment. OHBM, Genf, Schweiz 2016.

Köbe, T., Witte, A.V., Schnelle, A., Grittner, U., Tesky, V.A., Pantel, J., Schuchardt, J.P., Hahn, A., Bohlken, J., Rujescu, D. and Flöel, A. Impact of Vitamin B12 on memory performance, hippocampus structure and function in patients with mild cognitive impairment. AAIC, Washington, USA 2015.

Wirth, M., Binette, A.P., Brunecker, P., **Köbe, T.**, Witte, A.V., Floel, A. Cerebral hypoperfusion, gray-matter atrophy and white-matter pathology in incipient AD. AAIC, Washington, USA 2015.

Tesky, V.A., Sahlender, S., Mann, S., **Köbe, T.**, Witte, A.V., Flöel, A., Pantel, J. Das-AKTIVA-MCI-Training führt zu einer Steigerung kognitiv-stimulierender Freizeitaktivitäten. DGPPN, Berlin, Deutschland 2014.

Tesky, V.A., Sahlender, S., **Köbe, T.**, Mann, S., Witte, A.V., Flöel, A., Pantel, J. Participation in the AKTIVA-MCI-intervention-training seems to influence cognition and mood positive – first results show stability for duration over 6 months. AAIC, Kopenhagen, Denmark 2014.

Köbe, T., Graunke, A. Schnelle, A., Kerti, L., Schuchardt, J.P., Hahn, A., Tesky, V.A., Pantel, J., Flöel, A., Witte, A.V. Decreased serum leptin in patients with mild cognitive impairment. AAIC, Kopenhagen, Denmark 2014.

Witte, A.V., **Köbe, T.**, Kerti L., Graunke, A., Schuchardt, J.P., Hahn, A., Tesky, V.A. Pantel, J., Flöel A. Serum leptin is associated with microstructure of the hippocampus in mild cognitive impairment. AAIC, Kopenhagen, Denmark 2014.

Witte, A.V, Kerti L., **Köbe, T.**, Flöel A. Serum leptin is associated with microstructure of the hippocampus in healthy older men. OHBM, Hamburg, Germany 2014.

Köbe, T., Witte, A.V, Kerti, L., Flöel, A. Impact of KIBRA-SNP rs17070145 on memory performance and hippocampal volume and microstructure of healthy older adults. OHBM, Hamburg, Germany 2014.

Köbe, T., Witte, A.V, Kerti, L., Flöel, A. Einfluss des KIBRA-Polymorphismus rs17070145 auf die Gedächtnisleistung und das Hippocampusvolumen gesunder älterer Menschen. DGKN, Berlin, Germany 2014.

Tesky, V., Sahlender, S., **Köbe, T.**, Witte, VA., Flöel, A., Pantel, J. AKTIVA-MCI: First results of a new intervention program. International Conference on Alzheimer's Disease, Boston, USA 2013.

Öffentliche Vorträge

Köbe, T., Witte, VA., Flöel, A. Impact of caloric restriction and caloric restriction-mimetics on brain structure and function in older adults and patients with mild cognitive impairment, Symposium, AAIC, Washington, USA 2015.

Danksagung

Zu Beginn möchte ich meinen Mentoren Frau Prof. Dr. Agnes Flöel (Charité – Universitätsmedizin Berlin) und Frau Dr. A. Veronica Witte (Max Planck Institut für Kognitions- und Neurowissenschaften Leipzig) für die Bereitstellung des Promotionsthemas und für die großartige Betreuung sowie für die unerschöpfliche fachliche und persönliche Unterstützung danken. Mir wurde nicht nur die Möglichkeit gegeben klinische Studien durchzuführen und zu koordinieren, sondern diese auch auszuwerten und die Ergebnisse auf nationaler und internationaler Ebene zu präsentieren und zu veröffentlichen. Dies stellt nun eine wesentliche Grundlage für meinen weiteren Weg als Wissenschaftlerin dar.

Ein sehr persönlicher Dank geht an meine unglaublich lieben Arbeitskollegen und Kooperationspartner. Ohne deren wissenschaftlichen Austausch, fachliche Hilfe und kritische Diskussionen sowie ohne das herzliche und intensive Zusammensein auf und außerhalb der Arbeit wäre die Promotionszeit nicht halb so effektiv und schön gewesen.

Ebenso danke ich allen Probanden sowie Patienten für die Studienteilnahme und für das entgegengebrachte Vertrauen.

Abschließend und besonders möchte ich meiner Familie, meinen Freunden und vor allem meinem Freund für die Unterstützung, Geduld, Kraft und Liebe auf diesem bedeutungsvollen Weg danken.