

Aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin  
(Leiter Prof. Dr. med. M. Nauck)

der Universitätsmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

**Die positive Assoziation zwischen Testosteron, Blutdruck  
und arterieller Hypertonie bei Frauen**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin  
(Dr. med.)

der  
Universitätsmedizin  
der  
Ernst-Moritz-Arndt-Universität  
Greifswald  
2013

vorgelegt von  
Benedict Tobias Ziemens  
geb. am 23.01.1989  
in Vechta

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. M. P. Baur

1. Gutachter: Prof. Dr. med. H. Wallaschofski

2. Gutachter: Prof. Dr. med. S. Blankenberg

Ort, Raum: Greifswald, Universitätsmedizin O 0.88

Tag der Disputation: Freitag, 03. Juni 2016

# **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>3</b>
1.1. Arterielle Hypertonie	3
1.2. Testosteron	3
1.3. Assoziation zwischen Testosteron und arterieller Hypertonie	4
<b>2. METHODEN</b>	<b>7</b>
2.1. Studiendesign und Studienpopulation	7
2.2. Datenerhebung	8
2.3. Laboranalysen	9
2.4. Statistische Methoden	10
<b>3. ERGEBNISSE</b>	<b>12</b>
<b>4. DISKUSSION</b>	<b>17</b>
<b>5. AUSBLICK</b>	<b>22</b>
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>23</b>
<b>7. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>24</b>
<b>8. ANHANG</b>	<b>29</b>
8.1. Wissenschaftliche Arbeit	29
8.2. Eidestaatliche Erklärung	47
8.3. Danksagung	48

## **Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen**

aHT	Arterielle Hypertonie
ATC-Code	Anatomisch-Therapeutisch-Chemisches Klassifikationssystem
$\beta$	Regressionskoeffizient
BMI	Body Mass Index
CI	Konfidenzintervall
PCOS	Polyzystisches Ovarialsyndrom
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RR	Relatives Risiko
SD	Standardabweichung
SHBG	Sexualhormon-bindendes Globulin
SHIP	Study of Health in Pomerania
WHO	World Health Organization
20-HETE	20-Hydroxyeicosatetraensäure

## **1. Einleitung**

### **1.1. Arterielle Hypertonie**

Als arterielle Hypertonie (aHT) gilt laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO) ein systolischer Blutdruck von  $\geq 140$  mmHg oder ein diastolischer Blutdruck von  $\geq 90$  mmHg<sup>1</sup>. Ätiologisch wird die aHT in die primäre (essentielle) sowie sekundäre aHT eingeteilt. Die Entstehung der primären aHT, die ca. 95% aller Hypertonien ausmacht, ist bis heute nicht endgültig geklärt und wird weiterhin kontrovers diskutiert. Neben einer genetischen Prädisposition sollen Faktoren wie der Kochsalzkonsum, das sympathische Nervensystem, das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS), Adipositas, sowie verschiedene renale und vaskuläre Faktoren an der multifaktoriellen Pathogenese beteiligt sein. Die sekundäre aHT lässt sich je nach zugrundeliegender Ursache weiter in renale, endokrine, kardiovaskuläre und neurogene aHT unterteilen<sup>2</sup>. Unbehandelt führt die aHT bei den Betroffenen zu Folgeveränderungen und Komplikationen wie der Atherosklerose der Koronar- oder Zerebralarterien, der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, der Linksherzinsuffizienz, der Arteriolosklerose der Nierengefäße oder hypertonen Massenblutungen<sup>2,3</sup>.

Laut WHO Gesundheitsreport 2012 lassen sich weltweit 13% aller Todesfälle durch erhöhten Blutdruck und dessen klinische Komplikationen erklären<sup>4</sup>. In Deutschland liegt die Prävalenz der aHT in der Altersgruppe der 35-64-Jährigen bei circa 55% und ist damit im internationalen Vergleich mit anderen europäischen Staaten oder den USA als hoch einzustufen<sup>5</sup>. Darüber hinaus lässt sich in der Bundesrepublik ein Nord-Süd Gefälle beobachten, wobei die Prävalenz der aHT in Vorpommern mit 57% bei Männern und 32% bei Frauen bundesweit am höchsten ist<sup>6</sup>.

### **1.2. Testosteron**

Das männliche Sexualhormon Testosteron gehört wie seine Präkursoren zu der Gruppe der lipophilen Steroidhormone, welche ausgehend vom Cholesterin synthetisiert werden. Bei Männern sind die Leydig-Zellen des Hodens Hauptproduktionsort des Testosterons, wohingegen das Sexualhormon bei Frauen in verschie-

denen Geweben produziert wird. So entstammen jeweils ca. 25% des im Blut zirkulierenden Testosterons bei prämenopausalen Frauen den Ovarien bzw. der Zona reticularis der Nebennierenrinde und etwa 50% entstehen aus der Umwandlung von Testosteron-Präkursoren wie Androstendion, Dehydroepiandrosteron und Dehydroepiandrosteron-Sulfat in peripheren Geweben. Postmenopausal ändert sich die prozentuale Verteilung der Testosteronproduktion leicht aufgrund der altersbedingten Atrophie von Ovar und Nebennierenrinde<sup>7</sup>. Bei Frauen sinkt die Testosteron Serumkonzentration mit zunehmendem Alter stetig<sup>8</sup>. Die Sekretion von Testosteron aus den Ovarien wird durch das luteinisierende Hormon gefördert und durch Estrogene gehemmt. Die Ausschüttung von Testosteron aus der Nebennierenrinde wird durch das Adrenocorticotrope Hormon positiv und durch Cortisol negativ reguliert<sup>7</sup>.

Im Blut wird Testosteron zu ca. 66% an das Sexualhormon-bindende Globulin (SHBG) gebunden transportiert, 33% sind unspezifisch an Albumin gebunden. Etwa ein bis zwei Prozent des Gesamttestosterons, das sogenannte freie Testosteron, wird ungebunden transportiert<sup>7</sup>.

Da die durchschnittlichen, absoluten Testosteron Serumkonzentrationen bei Frauen mit etwa 0,8 nmol/l<sup>8</sup> im Vergleich zu denen der Männer (ca. 25 nmol/l)<sup>9</sup> sehr niedrig sind, bedarf es einer genauen Messmethode, um bei diesen niedrigen Konzentrationen verlässliche Messergebnisse zu erhalten. Die üblicherweise verwendeten, auf Immunoassays basierenden Verfahren, zeigen im Bereich dieser äußerst niedrigen Sexualhormonkonzentrationen teilweise erhebliche Messungenauigkeiten. So differieren mittels Immunassays gewonnene Sexualhormonmessungen im Vergleich zum aktuellen Goldstandard, der Tandem-Massenspektrometrie, um bis zu 40%<sup>10</sup>.

### **1.3. Assoziation zwischen Testosteron und arterieller Hypertonie**

Da die aHT zu den bedeutendsten Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen zählt<sup>11,12</sup>, wird in wissenschaftlichen Arbeiten neben anderen möglichen Ursachen auch die potentielle Rolle von Androgenen bei der Entstehung der aHT diskutiert<sup>7</sup>. Bei der Blutdruckregulation steht die nach einer direkten Testosteronapplikation zu

beobachtende Vasodilatation im Gegensatz zu dem durch Testosteron induzierten Langzeiteffekt einer Vasokonstriktion<sup>13</sup>. Die Mechanismen der durch Testosteron induzierten Vasodilatation sind nicht abschließend geklärt. Sie scheinen jedoch nicht Rezeptor-vermittelt zu sein, sondern auf direkten Effekten wie induzierter Stickstoffmonoxid Synthese und Beeinflussung der Ionenkanäle von vaskulären Muskelzellen zu beruhen<sup>14</sup>. Die langfristig resultierende Vasokonstriktion kann durch die durch Testosteron induzierte Synthese verschiedener vasokonstriktorischer Autakoide erklärt werden<sup>13</sup>. Zusätzlich zu den vaskulären Effekten bewirkt Testosteron bei Kardiomyozyten, welche regelhaft Testosteronrezeptoren exprimieren, eine Hypertrophie. Des Weiteren bewirken Androgene Veränderungen in renalen Blutdruckregulationsmechanismen und nehmen Einfluss auf das RAAS. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Auswirkungen des Testosterons auf den Blutdruck und dessen Regulation zwar vielfältig, aber bislang noch nicht vollständig verstanden sind<sup>13</sup>.

Bei Männern haben Beobachtungstudien eine inverse Assoziation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und der Höhe des Blutdrucks belegen können. Auch zeigten Männer mit niedrigen Testosteron Serumkonzentrationen ein erhöhtes Risiko einer inzidenten aHT<sup>15</sup>.

Bei Frauen hingegen gibt es zu dieser Fragestellung bis heute ausschließlich Querschnittsstudien<sup>16,17,18,19,20,21,22,23,24</sup> und Studien, deren Forschungsschwerpunkt primär nicht auf der Assoziation zwischen Sexualhormonen und Blutdruck liegt, sondern auf anderen Zusammenhängen, wie beispielsweise jenen zwischen Androgenen und Erkrankungen wie dem metabolischen Syndrom<sup>22,23</sup>. Bisherige Studien konnten jedoch keine eindeutigen Ergebnisse liefern, da neben einigen positiven<sup>17,21,24</sup> Zusammenhängen zwischen der Testosteron Serumkonzentration und aHT auch von ergebnislosen Untersuchungen berichtet wurde<sup>23</sup>.

Die komplexe Regulation zwischen Testosteron und Blutdruck spiegelt sich in weiteren Untersuchungen wider, welche vermuten lassen, dass die Stärke des Zusammenhangs zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck der Frau vom jeweiligen absoluten Blutdruck abhängig ist. So postulierten Khatibi et al., dass bei normotensiven Frauen eine inverse Assoziation zwischen

der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck vorliegt, bei hypertensiven Frauen hingegen eine positive Assoziation<sup>24</sup>.

Aufgrund dieser widersprüchlichen Ergebnisse und des geäußerten Bedarfs<sup>7</sup> an großen Beobachtungsstudien zur Untersuchung der Assoziation zwischen Androgenen und Blutdruck bei Frauen, ist es das Ziel der vorliegenden Arbeit den Zusammenhang zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck sowohl im Quer- als auch im Längsschnitt bei 1428 Frauen im Alter von 20 bis 80 Jahren zu analysieren. Des Weiteren soll die Assoziation des Präkursors Androstendion sowie des SHBG untersucht werden. Um verlässliche Messergebnisse der Testosteron Serumkonzentrationen für die Analysen zu erhalten, wurde der heutige Goldstandard<sup>10</sup>, die Tandem-Massenspektrometrie, zur Konzentrationsbestimmung genutzt. Die zu erwartenden Ergebnisse dieser Studie sind die ersten, welche sich auf kürzlich ermittelte Referenzwerte für altersspezifische Testosteron Serumkonzentrationen bei Frauen stützen<sup>8</sup>.

## **2. Methoden**

### **2.1. Studiendesign und Studienpopulation**

Die zu analysierenden Daten wurden im Rahmen der Study of Health in Pomerania (SHIP), einer bevölkerungsbasierten Kohortenstudie, gewonnen, deren Ziel neben der Abschätzung der Prävalenz verbreiteter Volkserkrankungen und deren Risikofaktoren auch die Erhebung populationsbezogener Gesundheitsdaten ist. Im Jahr 1996 wurde aus den insgesamt 212157 Einwohnern der Studienregion Nord-Ostvorpommern eine umfassende Zufallsstichprobe von 7008 Frauen und Männern im Alter von 20-79 Jahren gezogen. Hierzu wurden mit Hilfe der Einwohnermeldeämter in Greifswald, Stralsund und Anklam, in 12 weiteren Städten und Gemeinden mit mehr als 1500 Einwohnern und in 17 Orten mit weniger als 1500 Einwohnern zufällig Bewohner mit deutscher Staatsangehörigkeit, stratifiziert nach Alter und Geschlecht, ausgewählt. In der Folge erhielten die zufällig Ausgewählten maximal drei schriftliche Einladungen. Bei Nichtbeantwortung dieser wurden die Teilnehmer und Teilnehmerinnen telefonisch oder schlussendlich persönlich kontaktiert<sup>25</sup>. Von den 6265 in Frage kommenden Personen nahmen zwischen 1997 und 2001 2116 Männer und 2192 Frauen an den SHIP-0 Baseline-Untersuchungen teil (Responserate: 68,8%). Diese beinhaltete neben einer medizinischen und zahnmedizinischen Untersuchung auch einen Gesundheits- und Risikofaktor-bezogenen Fragebogen sowie ein computergestütztes, gesundheitsbezogenes Interview. Detailliertere Ausführungen zu Studiendesign, Studienpopulation und Studienregion sind in früheren Publikationen zu finden<sup>25,26</sup>.

Für die Analysen zur Assoziation von Testosteron und Blutdruck bei Frauen wurden von den 2192 verfügbaren Studienteilnehmerinnen jene mit einer geschätzten glomerulären Filtrationsrate von < 30ml/min/1,73m<sup>2</sup> (n=4), Schwangere (n=18), Frauen mit einer Serumprolaktinkonzentration von > 100 µg/L (n=93), ovarektomierte Frauen (n=44), Probandinnen mit fehlenden Sexualhormondaten (n=489) oder fehlenden Kovariablen (n=12) ausgeschlossen. Außerdem wurden nach Angabe der in den letzten sieben Tagen eingenommenen Medikamente weitere 61 Frauen, welche Testosteron-5α-Reduktaseinhibitoren, Sexualhormonantagonisten, Ketoconazol, Spironolacton, Glukokortikoide, anabole Steroide oder

Opiate einnahmen, sowie Frauen unter Chemotherapie von den Analysen ausgenommen.

Für das Fünf-Jahres Follow-up (SHIP-1) wurden die Studienteilnehmerinnen zwischen 2002 und 2006 erneut untersucht. Somit standen für Längsschnittanalysen die Daten von 1124 Frauen zur Verfügung.

## **2.2. Datenerhebung**

Informationen zu Geschlecht, Alter, Alkoholkonsum, Schwangerschaft, gynäkologischen Operationen (einschließlich Ovarektomie und/oder Hysterektomie) und der Einnahme von Medikamenten wurden in einem computergestützten Interview erfragt. Die Studienteilnehmerinnen wurden in Gruppen von Nichtraucherinnen, frühere Raucherinnen und jetzige Raucherinnen eingeteilt. Der durchschnittliche tägliche Alkoholkonsum wurde mittels der jeweiligen getränkespezifischen Ethanolgehalte errechnet<sup>27</sup>. Um als körperlich aktiv eingestuft zu werden, musste eine Mindesttrainingszeit von einer Stunde pro Woche gegeben sein. Für die Einteilung der Frauen in prä- und postmenopausal wurde nach einer schon früher in der SHIP-Kohorte verwendeten Definition verfahren: alle Frauen jünger als 40 Jahre und Frauen zwischen 40 und 60 Jahren mit selbstberichtetem Menstruationszyklus wurden als prämenopausal klassifiziert. Frauen über 60 Jahre und diejenigen Frauen zwischen 40 und 60 Jahren ohne selbstberichteten Menstruationszyklus wurden als postmenopausal eingestuft<sup>28,29</sup>. Sowohl die Einnahme oraler Kontrazeptiva als auch eine Hormontherapie wurden anhand der Codes des Anatomisch-Therapeutisch-Chemischen Klassifikationssystems (ATC) klassifiziert<sup>8</sup>. Die Berechnung des Body Mass Index (BMI) erfolgte aus den erhobenen anthropometrischen Daten zu Körpergewicht in Kilogramm (kg) und der Körpergröße in Metern (m) mittels der Formel kg/m<sup>2</sup>.

Die Messung des systolischen und diastolischen Blutdrucks erfolgte nach einer mindestens fünfminütigen Ruhepause dreimal im Abstand von drei Minuten am rechten Arm der sitzenden Probandinnen. Hierzu wurde ein digitales oszillometrisches Blutdruckmessgerät verwendet (HEM-705CP, Omron Corporati-

on, Tokyo, Japan). Der Mittelwert aus der zweiten und dritten Messung diente in der Folge für die Analysen.

Die aHT wurde definiert anhand des Gebrauches von antihypertensiver Medikation (ATC Codes C02, C03, C04, C07, C08, C09) oder anhand der gemessenen Blutdruckwerte wobei eine aHT gemäß der WHO-Definition bei Werten von systolischem oder diastolischem Blutdruck von  $\geq 140$  mmHg bzw. 90 mmHg vorlag<sup>30,31</sup>.

Die Differenz der Mittelwerte von systolischem und diastolischem Blutdruck ergab den Pulsdruck<sup>15</sup>. Ein prävalenter Typ 2 Diabetes mellitus wurde anhand von Selbstangaben, dem Gebrauch antidiabetischer Medikation (ATC Code A10) innerhalb der letzten sieben Tage und/oder einer HbA<sub>1c</sub> Konzentration von  $> 6,5\%$  erhoben.

Kardiovaskuläre Erkrankungen wurden anhand einer Summe von Einzelpunkten klassifiziert, welche die Diagnosen einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, einer Herzinsuffizienz, eines Koronarsyndroms, eines Herzinfarkts und/oder eines Schlaganfalls beinhalteten.

### **2.3. Laboranalysen**

Zur Bestimmung der Sexualhormonkonzentrationen erfolgte zwischen 8:00 Uhr und 19:00 Uhr eine nicht-nüchterne Blutentnahme aus der Vena cubitalis mediana am supinierten Unterarm der Probandinnen. Kleine Anteile des entnommenen Serums wurden in der Folge bei -80°C gelagert, um für weitere Analysen zur Verfügung zu stehen. Die Messungen der Testosteron Serumkonzentration und der Androstendion Serumkonzentration wurden zwischen Dezember 2010 und März 2011 im Institut für Klinische Chemie des Universitätskrankenhauses von South Manchester (Manchester, UK) durchgeführt. Hierzu wurden Teilproben der Seren mit Hilfe eines auf eine Flüssigchromatographie folgenden Tandem-Massenspektrometrischen Verfahrens untersucht, welches eine zuverlässige Routinemethode darstellt<sup>32</sup>. Die Standardkurve war bis zu einer Konzentration von 50,0 nmol/L linear, die untere Messgrenze lag bei 0,25 nmol/L. Die intra- und interassay Variationskoeffizienten lagen sowohl für die Testosteron als auch Androstendion Serumkonzentrationen zwischen 0,3 und 35 nmol/L jeweils unterhalb von zehn Prozent.

SHBG-Konzentrationen wurden aus tiefgefrorenen Serumproben mittels eines Advia Centaur (Siemens, Eschborn, Germany) bestimmt, wobei der interassay Variationskoeffizient 6,6% bei einer Konzentration von 27,1 nmol/L, 7,6% bei einer Konzentration von 48,2 nmol/L und 7,7% bei einer Konzentration von 52,3 nmol/L betrug. Mittels der gemessenen SHBG- und Testosteron Serumkonzentration wurde das freie Testosteron bei einer Standard-Albuminkonzentration von 4,3 g/dL, anhand folgender Formel<sup>33</sup> berechnet:  $\left(\frac{\text{nmol}}{\text{L}}\right) = \frac{-a+\sqrt{b}}{10^{-9}}$  mit a = SHBG  $\left(\frac{\text{nmol}}{\text{L}}\right)$  + 23,43 – Testosteron  $\left(\frac{\text{nmol}}{\text{L}}\right)$ , b = a<sup>2</sup> + (4 \* 23,43 \* Testosteron  $\left(\frac{\text{nmol}}{\text{L}}\right)$ ) und c = 2 \* 23,43 \* 10<sup>9</sup>.

## 2.4. Statistische Methoden

Kategoriale Daten wurden in Prozent angegeben und kontinuierliche Daten als Mittelwert (SD) oder Median (Q1, Q3). Nach der logarithmischen Transformation der Sexualhormonkonzentrationen wurden Assoziationen von Testosteron, SHBG, freiem Testosteron und Androstendion mit Blutdruck sowohl im Querschnitt als auch im Längsschnitt untersucht. Hierzu wurden alters- und multivariabel-adjustierte lineare Regressionsmodelle mit robusten Standardfehlern implementiert<sup>34</sup>. Die multivariaten Regressionsmodelle beinhalteten Adjustierungen für die Kovariablen Alter, BMI, Rauchverhalten, körperliche Aktivität, Alkoholkonsum, Typ 2 Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Erkrankungen. Die Regressionsmodelle für die Längsschnittanalysen wurden zusätzlich für den SHIP-0 Ausgangswert des Blutdrucks der jeweiligen Probandin adjustiert.

Die Ergebnisse wurden als Regressionskoeffizienten ( $\beta$ ) zusammen mit der jeweiligen Standardabweichung (SD) dargestellt. Um den Zusammenhang zwischen Testosteron, SHBG, freiem Testosteron und Androstendion mit prävalenter als auch inzidenter aHT zu untersuchen, wurden die kontinuierlichen Serum-Sexualhormonkonzentrationen in altersspezifische Quartile kategorisiert. In der Folge wurden alters- und multivariabel-adjustierte Poisson-Regressionsmodelle mit robusten Standardfehlern durchgeführt, um relative Risiken und dazugehörige 95% Konfidenzintervalle zu ermitteln. Als Referenzkategorie diente das vierte Quartil. Analysen zur inzidenten aHT wurden nur bei Frauen durchgeführt, die zu

Beginn der Studie noch keine manifeste aHT aufwiesen. Zur Ermittlung eines Trends wurden die altersspezifischen Quartile der Serum-Sexualhormonkonzentrationen als kontinuierliche Variable in die Poisson-Regressionsmodelle eingeschlossen. Alle Analysemodelle wurden zusätzlich nach dem menopausalen Status stratifiziert.

Aufgrund der geringen Anzahl (n=79) postmenopausaler Frauen mit medikamentöser Hormontherapie entschlossen wir uns keine weitere Stratifikation anhand dieser Subgruppe durchzuführen.

Um die Validität der Studienergebnisse zu gewährleisten, wurden verschiedene Sensitivitätsanalysen durchgeführt. In einer Subpopulation von 1099 Frauen, welche keine blutdrucksenkenden Medikamente einnahmen, wurden die Analysen wiederholt, um so einen potentiellen Effekt antihypertensiver Medikation bewerten zu können. Um die Unabhängigkeit der Assoziation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck zu validieren, wurden die multivariablen Analysemodelle zusätzlich für die SHBG-Konzentrationen adjustiert. Des Weiteren wurden die Analysen nach Ausschluss von 393 Frauen, die orale Kontrazeptiva einnahmen oder eine Hormontherapie erhielten, erneut durchgeführt. Es wurde außerdem eine statistische Gewichtung auf Grundlage der Studienteilnahme durchgeführt, um potenzielle Verzerrungen durch Nichtteilnahme zu berücksichtigen<sup>35</sup>.

Zusätzlich wurden die multivariablen Regressionsmodelle für die Blutentnahmezeit adjustiert, um den potenziellen Effekt der tageszeitlich bedingten Schwankungen der Sexualhormonmesswerte bewerten zu können. P-Werte < 0,05 wurden als statistisch signifikant bewertet. Alle Analysen wurden mithilfe der Statistiksoftware Stata 11.0 (Stata Corp., College Station, TX, USA) durchgeführt.

### 3. Ergebnisse

Die Tabelle I zeigt die Charakteristika sowohl der gesamten Studienpopulation als auch für die beiden Subgruppen prä- und postmenopausaler Frauen zu Beginn der Datenerhebung. Dabei betrug der Anteil prämenopausaler Frauen an der gesamten Studienpopulation 54,4%. Prämenopausale Frauen zeigten im Vergleich zu postmenopausalen Frauen ein vorteilhafteres kardiovaskuläres Risikoprofil mit niedrigeren Blutdruckwerten und einer geringeren Prävalenz von aHT, Typ 2 Diabetes mellitus und kardiovaskulären Erkrankungen.

*Tabelle I: SHIP-0 Charakteristika der Studienpopulation.*

Variable	Gesamtpopulation (n = 1428)	Prämenopausale Frauen (n = 777)	Postmenopausale Frauen (n = 651)
<b>Alter in Jahren</b>	48,8 (16,1)	36,8 (9,4)	63,1 (9,2)
<b>Body Mass Index, kg/m<sup>2</sup></b>	27,0 (5,4)	25,4 (5,1)	29,0 (5,2)
<b>Taillenumfang, cm</b>	83,1 (13,4)	78,2 (11,9)	89,0 (12,7)
<b>Testosteron, nmol/L</b>	0,76 (0,55, 1,05)	0,82 (0,60, 1,13)	0,66 (0,49, 0,94)
<b>SHBG, nmol/L</b>	83,6 (58,7, 125,1)	98,6 (67,2, 157,6)	71,0 (48,8, 98,3)
<b>Freies Testosteron, nmol/L</b>	0,007 (0,004, 0,01)	0,006 (0,004, 0,01)	0,007 (0,005, 0,011)
<b>Androstendion, pmol/L</b>	1,69 (1,13, 2,58)	2,30 (1,59, 3,24)	1,25 (0,93, 1,69)
<b>Raucherinnen, %</b>	28,3	38,2	16,4
<b>Alkoholkonsum, g/Tag</b>	2,5 (0,0, 7,5)	2,7 (0,0, 8,7)	0,0 (0,0, 5,0)
<b>Körperliche Aktivität, %</b>	43,4	51,7	33,3
<b>Orale Kontrazeption, %</b>	18,7	34,1	0,3
<b>Hormontherapie, %</b>	9,0	6,4	12,1
<b>Diastolischer Blutdruck, mmHg</b>	81,4 (10,7)	78,8 (9,6)	84,5 (11,0)
<b>Systolischer Blutdruck, mmHg</b>	130,1 (21,4)	120,4 (11,0)	141,7 (21,4)
<b>Pulsdruck, mmHg</b>	48,7 (15,2)	41,6 (9,5)	57,2 (16,3)
<b>Antihypertensive Medikation, %</b>	19,9	4,3	35,3
<b>Arterielle Hypertonie, %</b>	38,5	18,0	63,0
<b>Typ 2 Diabetes mellitus, %</b>	8,1	1,0	16,5
<b>Kardiovaskuläre Erkrankungen, %</b>	16,5	7,1	27,8

Die Daten sind Prozentsätze, Mittelwerte (SD) oder Mediane (Q1, Q3). SHBG, Sexualhormon-bindendes Globulin

Die Einnahme oraler Kontrazeptiva wurde anhand des Anatomisch-Therapeutisch-Chemischen (ATC) Klassifikationscodes G03A und die Hormontherapie anhand der ATC Codes G03C, G03D oder G03F definiert.

*Tabelle II: Querschnitt- und Längsschnittassoziationen von Sexualhormonkonzentrationen mit Blutdruck bei Frauen.*

		Alle Frauen (n = 1428)			Prämenopausale Frauen (n = 777)			Postmenopausale Frauen (n = 651)		
		Diastolischer Blutdruck	Systolischer Blutdruck	Pulsdruck	Diastolischer Blutdruck	Systolischer Blutdruck	Pulsdruck	Diastolischer Blutdruck	Systolischer Blutdruck	Pulsdruck
<b>Querschnittsanalysen</b>										
<b>T</b>	<b>Model 1</b>	1,27 (0,61)*	3,63 (1,10)*	2,36 (0,74)*	0,57 (0,70)	-0,07 (1,13)	-0,64 (0,68)	3,68 (0,97)*	7,51 (1,83)*	3,83 (1,23)*
	<b>Model 2</b>	0,92 (0,60)	3,22 (1,10)*	2,30 (0,74)*	0,03 (0,64)	-0,79 (1,04)	-0,82 (0,68)	3,33 (0,98)*	7,11 (1,85)*	3,77 (1,25)*
<b>SHBG</b>	<b>Model 1</b>	-1,47 (0,50)*	-1,93 (0,83)*	-0,46 (0,55)	-0,62 (0,56)	-0,12 (0,89)	0,49 (0,55)	-1,31 (0,98)	-5,63 (1,70)*	-4,32 (1,10)*
	<b>Model 2</b>	-0,09 (0,52)	0,60 (0,85)	0,69 (0,58)	1,04 (0,52)*	2,55 (0,85)*	1,51 (0,56)*	-0,73 (1,12)	-3,66 (1,88)	-2,93 (1,22)*
<b>Freies T</b>	<b>Model 1</b>	1,52 (0,42)*	2,91 (0,70)*	1,39 (0,47)*	0,51 (0,46)	-0,19 (0,72)	-0,70 (0,46)	3,26 (0,78)*	8,10 (1,38)*	4,84 (0,93)*
	<b>Model 2</b>	0,53 (0,43)	1,33 (0,73)	0,80 (0,50)	-0,74 (0,43)	-2,18 (0,70)*	-1,44 (0,48)*	2,86 (0,85)*	7,08 (1,48)*	4,22 (0,99)*
<b>ASD</b>	<b>Model 1</b>	0,17 (0,59)	1,22 (1,02)	1,04 (0,71)	-1,00 (0,68)	-3,07 (1,08)*	-2,10 (0,65)*	3,61 (1,01)*	7,68 (1,85)*	4,07 (1,34)*
	<b>Model 2</b>	0,47 (0,59)	1,78 (1,02)	1,31 (0,72)	-0,57 (0,65)	-2,30 (1,03)*	-1,74 (0,66)*	3,47 (1,01)*	7,55 (1,87)*	4,08 (1,34)*
<b>Längsschnittanalysen</b>										
<b>T</b>	<b>Model 1</b>	0,04 (0,53)	2,17 (0,95)*	2,06 (0,65)*	0,74 (0,66)	1,50 (0,96)	0,73 (0,65)	0,21 (0,83)	3,40 (1,67)*	3,05 (1,16)*
	<b>Model 2</b>	0,07 (0,54)	2,35 (0,96)*	2,23 (0,66)*	0,54 (0,66)	1,27 (0,97)	0,71 (0,67)	0,31 (0,86)	3,46 (1,64)*	3,08 (1,12)*
<b>SHBG</b>	<b>Model 1</b>	0,10 (0,41)	0,16 (0,71)	0,16 (0,49)	-0,12 (0,48)	-0,66 (0,71)	-0,53 (0,46)	0,92 (0,75)	1,28 (1,59)	0,66 (1,12)
	<b>Model 2</b>	0,26 (0,43)	0,82 (0,75)	0,52 (0,50)	0,07 (0,49)	-0,24 (0,75)	-0,25 (0,49)	1,03 (0,82)	1,26 (1,76)	1,61 (1,23)
<b>Freies T</b>	<b>Model 1</b>	-0,02 (0,37)	1,05 (0,62)	0,96 (0,43)*	0,40 (0,41)	1,09 (0,60)	0,66 (0,42)	-0,32 (0,66)	1,67 (1,33)	1,72 (0,94)
	<b>Model 2</b>	-0,10 (0,39)	0,85 (0,64)	0,94 (0,45)*	0,21 (0,42)	0,76 (0,62)	0,49 (0,45)	-0,26 (0,71)	1,35 (1,39)	1,53 (0,98)
<b>ASD</b>	<b>Model 1</b>	0,66 (0,52)	1,74 (0,89)*	1,17 (0,59)*	1,15 (0,61)	1,21 (0,93)	-0,06 (0,62)	0,84 (0,90)	3,51 (1,75)*	2,67 (1,19)*
	<b>Model 2</b>	0,75 (0,53)	2,17 (0,91)*	1,46 (0,62)*	0,97 (0,62)	1,08 (0,95)	-0,05 (0,65)	1,08 (0,91)	4,05 (1,78)*	2,95 (1,20)*

T, Testosteron; SHBG, Sexualhormon-bindendes Globulin; Freies T, freies Testosteron; ASD, Androstendion.

Model 1 ist altersadjustiert.

Model 2 ist adjustiert für Alter, Body Mass Index, Rauchverhalten, körperliche Aktivität, Alkoholkonsum, Typ 2 Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Erkrankungen. Die vorliegenden Daten zeigen den Regressionskoeffizienten pro Standardabweichung Erhöhung für die jeweiligen Sexualhormonkonzentrationen mit  $p < 0,05$  markiert als \*.

Längsschnittanalysen mit Follow-up Blutdruck als abhängige Variable wurden zusätzlich für den Ausgangsblutdruck adjustiert.

Lineare Regressionsmodelle zeigten im Querschnitt eine positive Assoziation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und systolischem Blutdruck in der Gesamtpopulation ( $\beta$  pro SD Erhöhung: 3,22, SD: 1,10) sowie Pulsdruck ( $\beta$  pro SD Erhöhung: 2,30, SD: 0,74) (Tabelle II).

Die weitere Stratifizierung nach dem menopausalen Status zeigte nur in der Gruppe der postmenopausalen Frauen eine weiterhin statistisch signifikante positive Assoziation (diastolischer Blutdruck:  $\beta$  pro SD Erhöhung: 3,33, SD: 0,98; systolischer Blutdruck:  $\beta$  pro SD Erhöhung: 7,11, SD: 1,85; und Pulsdruck:  $\beta$  pro SD Erhöhung: 3,77, SD: 1,25) (Tabelle II). Ähnlich der Testosteron Serumkonzentration, zeigte sich ebenfalls eine positive Assoziation zwischen dem freiem Testosteron und systolischem bzw. diastolischem Blutdruck bei postmenopausalen Frauen. Des Weiteren war auch Androstendion positiv assoziiert mit diastolischem bzw. systolischem Blutdruck in der Subgruppe postmenopausaler Frauen.

Die multivariabel-adjustierten Längsschnittanalysen zeigten eine positive Assoziation zwischen den Ausgangskonzentrationen von Testosteron und Androstendion und dem Follow-up Blutdruck (Testosteron:  $\beta$  pro SD Erhöhung: 2,35, SD: 0,96; Androstendion:  $\beta$ : 2,17, SD: 0,91) sowie Pulsdruck (Testosteron:  $\beta$  pro SD Erhöhung: 2,23, SD: 0,66; Androstendion:  $\beta$ : 1,46, SD: 0,62) in der gesamten Studienpopulation und in der postmenopausalen Subgruppe (Tabelle II).

In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen zeigten multivariabel-adjustierte Poisson-Regressionsmodelle, dass niedrigere Testosteron Serumkonzentrationen mit einer niedrigeren Prävalenz der aHT, sowohl in der Gesamtpopulation (Q1 vs. Q4: relatives Risiko (RR), 0,79; 95% CI, 0,67 – 0,94), als auch in der prämenopausalen (Q1 vs. Q4: RR, 0,61; 95% CI, 0,40 – 0,94) und postmenopausalen (Q1 vs. Q4: RR, 0,82; 95% CI, 0,70 – 0,97) Untergruppe zusammenhingen (Tabelle III). Außerdem konnte festgestellt werden, dass bei postmenopausalen Frauen niedrigere SHBG-Konzentrationen mit prävalenter aHT assoziiert waren (Q1 vs. Q4: RR, 1,27; 95% CI, 1,06 – 1,53). Hingegen zeigten Frauen mit freiem Testosteron im untersten Quartil ein erniedrigtes Risiko für die prävalente aHT (Q1 vs. Q4: RR, 0,76; 95% CI, 0,64 – 0,91) (Tabelle III).

Die Prävalenz der manifesten aHT stieg im Laufe des rund fünf-jährigen Beobachtungszeitraums von Beginn 38,5% leicht auf 40,5% an.

Bei 705 Frauen mit verfügbaren Follow-up Daten und negativer aHT Diagnose zu Studienbeginn konnte eine Assoziation zwischen niedrigen SHBG-Konzentrationen und erhöhtem Risiko einer inzidenten aHT gezeigt werden (Q1 vs. Q4: RR, 1,73; 95% CI, 1,10 – 2,75). Sensitivitätsanalysen, bei denen Frauen mit antihypertensiver Medikation ausgeschlossen wurden, bestätigten diese Assoziation von niedrigen SHBG-Konzentrationen mit erhöhter aHT Inzidenz in der Gesamtpopulation (Q1 vs. Q4: multivariable-adjustiert RR: 1,74; 95% CI, 1,04 – 2,92). Außerdem konnten wir feststellen, dass niedrigere Testosteron Serumkonzentration mit einer Erniedrigung der Inzidenz der aHT bei postmenopausalen Frauen einhergingen (Q1 vs. Q4: multivariabel-adjustiert RR: 0,43, 95% CI: 0,19 – 0,99).

Weitere Sensitivitätsanalysen wie die Gewichtung der Ergebnisse mittels der Studienteilnahmewahrscheinlichkeit, sowie zusätzliche Adjustierung für den Blutentnahme Zeitpunkt, zeigten keinen Effekt hinsichtlich der Signifikanz der Ergebnisse.

**Tabelle III: Assoziation der Sexualhormonausgangskonzentrationen mit prävalenter und inzidenter arterieller Hypertonie**

Testosteron		Sexualhormon-bindendes Globulin		Freies Testosteron		Androstendion	
Prävalente aHT	Inzidente aHT	Prävalente aHT	Inzidente aHT	Prävalente aHT	Inzidente aHT	Prävalente aHT	Inzidente aHT
<b>Relatives Risiko (95% Konfidenzintervall)</b>							
<b>Alle Frauen</b>						<b>Alters-adjustiertes Modell</b>	
< 25 <sup>th</sup>	0,76 (0,64, 0,89)*	0,90 (0,56, 1,43)	1,43 (1,21, 1,69)*	2,03 (1,31, 3,15)*	0,71 (0,60, 0,85)*	0,72 (0,44, 1,17)	0,90 (0,77, 1,06)
25-50 <sup>th</sup>	0,97 (0,83, 1,13)	1,15 (0,71, 1,86)	1,22 (1,03, 1,45)*	0,97 (0,58, 1,64)	0,82 (0,71, 0,96)*	0,81 (0,50, 1,32)	0,92 (0,79, 1,07)
50-75 <sup>th</sup>	0,98 (0,85, 1,15)	1,24 (0,77, 2,00)	1,09 (0,90, 1,30)	1,14 (0,71, 1,84)	1,01 (0,88, 1,17)	1,41 (0,90, 2,22)	1,00 (0,86, 1,16)
> 75 <sup>th</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Trend	0,001	0,497	< 0,001	0,007	< 0,001	0,029	0,131
							0,260
<b>Alle Frauen</b>						<b>Multivariabel-adjustiertes Modell</b>	
< 25 <sup>th</sup>	0,79 (0,67; 0,94)*	0,92 (0,58, 1,47)	1,10 (0,93, 1,31)	1,73 (1,10, 2,75)*	0,84 (0,71, 1,00)	0,84 (0,54, 1,41)	0,90 (0,77, 1,06)
25-50 <sup>th</sup>	0,97 (0,83, 1,13)	1,14 (0,71, 1,86)	1,04 (0,87, 1,24)	0,87 (0,52, 1,47)	0,92 (0,79, 1,07)	0,88 (0,56, 1,48)	0,92 (0,79, 1,07)
50-75 <sup>th</sup>	1,03 (0,89, 1,20)	1,19 (0,74, 1,92)	0,96 (0,80, 1,15)	1,08 (0,67, 1,75)	1,07 (0,93, 1,24)	1,44 (0,94, 2,31)	1,00 (0,86, 1,16)
> 75 <sup>th</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Trend	0,005	0,632	0,150	0,064	0,017	0,142	0,042
							0,247
<b>Prämenopausale Frauen</b>							
< 25 <sup>th</sup>	0,61 (0,40, 0,94)*	1,42 (0,66, 3,06)	0,79 (0,55, 1,15)	1,96 (1,02, 3,79)*	1,11 (0,73, 1,67)	1,28 (0,64, 2,64)	0,77 (0,50, 1,17)
25-50 <sup>th</sup>	0,84 (0,59, 1,22)	1,42 (0,61, 3,28)	0,75 (0,50, 1,14)	0,74 (0,32, 1,69)	0,99 (0,67, 1,48)	1,00 (0,46, 2,16)	1,04 (0,70, 1,55)
50-75 <sup>th</sup>	1,00 (0,70, 1,44)	1,70 (0,78, 3,72)	0,79 (0,53, 1,19)	1,04 (0,52, 2,09)	1,09 (0,75, 1,58)	1,83 (0,92, 3,63)	1,02 (0,68, 1,52)
> 75 <sup>th</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Trend	0,015	0,515	0,246	0,102	0,769	0,968	0,227
							0,905
<b>Postmenopausale Frauen</b>							
< 25 <sup>th</sup>	0,82 (0,70, 0,97)*	0,63 (0,35, 1,16)	1,27 (1,06, 1,53)*	1,56 (0,81, 3,00)	0,76 (0,64, 0,91)*	0,56 (0,29, 1,08)	0,87 (0,74, 1,01)
25-50 <sup>th</sup>	0,96 (0,83, 1,12)	0,95 (0,52, 1,72)	1,25 (1,04, 1,50)*	1,08 (0,56, 2,09)	0,89 (0,76, 1,04)	0,77 (0,41, 1,44)	0,81 (0,69, 0,94)*
50-75 <sup>th</sup>	1,00 (0,86, 1,16)	0,81 (0,43, 1,53)	1,10 (0,90, 1,34)	1,04 (0,54, 2,00)	1,07 (0,94, 1,22)	1,15 (0,62, 2,13)	0,94 (0,81, 1,09)
> 75 <sup>th</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Trend	0,018	0,180	0,003	0,234	< 0,001	0,037	0,024
							0,054

Das multivariabel-adjustierte Modell wurde adjustiert für Alter, Body Mass Index, Rauchverhalten, körperliche Aktivität, Typ 2 Diabetes mellitus, kardiovaskuläre Erkrankungen und Alkoholkonsum. aHT, arterielle Hypertonie.

\*p < 0,05.

## **4. Diskussion**

Durch die vorliegende Auswertung der Daten der großen, populations-basierten Beobachtungsstudie SHIP konnten wir in Querschnitts- und Längsschnittanalysen eine konsistente positive Assoziation zwischen Testosteron, Blutdruck und aHT bei Frauen beobachten. Zusätzlich zeigte sich, dass niedrige Testosteron Serumkonzentrationen protektiv auf prävalente aHT wirken, wohingegen niedrige SHBG-Konzentrationen mit einer erhöhten Inzidenz aHT assoziiert waren. Weitere Stratifizierungen nach dem menopausalen Status der Frauen zeigten ähnliche Ergebnisse in der Subgruppe post- und prämenopausaler Frauen.

Die Ergebnisse dieser Studie bestätigen mehrere vorangegangene Querschnittsstudien, die ebenfalls die Assoziation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck bei Frauen untersuchten<sup>17,20,21</sup>. Eine bereits im Zeitraum von 1988-1990 in Wisconsin durchgeführte Studie mit 253 postmenopausalen Frauen postulierte eine positive Korrelation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und systolischem sowie diastolischem Blutdruck<sup>21</sup>. Weitere Studien konnten diese Ergebnisse in der Folge bestätigen<sup>17,20</sup>. Im Gegensatz hierzu konnten andere Querschnittsstudien in ihren Analysen jedoch keine oder nur inkonsistente Assoziationen zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck feststellen<sup>7,16,19,36</sup>.

Die bis dato größte Studie von Khatibi et al. zu der Assoziation zwischen Testosteron und Blutdruck stammt aus dem Jahr 2007 und wurde an 6893 schwedischen Frauen durchgeführt. In der Gesamtpopulation dieser Studie konnte allerdings keine Beziehung zwischen Testosteron Serumkonzentrationen und Blutdruck nachgewiesen werden, Analysen einer Subgruppe von Frauen mit antihypertensiver Medikation zeigten hingegen eine positive Korrelation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck. Bei den normotensiven Studienteilnehmerinnen konnten die Autoren eine inverse Assoziation nachweisen. Jedoch wurde in den durchgeführten Analysen von Khatibi et al. nicht für kardiovaskuläre Erkrankungen oder Diabetes mellitus adjustiert. Interessanterweise wurden in dieser schwedischen Studie unseren Ergebnissen ähnliche Assoziationen zwischen den SHBG-Konzentrationen und dem Blutdruck sowie Androstendion und Blutdruck gefunden<sup>24</sup>. Erst kürzlich veröffentlichte Studien

konnten ebenfalls beweisen, dass niedrige SHBG-Konzentrationen mit einem erhöhten Risiko für aHT assoziiert waren<sup>37,38</sup>.

Einige Studien, deren Schwerpunkt auf der Assoziation zwischen Blutdruck und manifester aHT lag, zeigten, dass die Testosteron Serumkonzentrationen bei Frauen mit aHT höher waren als bei denen ohne aHT<sup>18,39</sup>. Analysen der Daten aus der 344 Frauen umfassenden Cardiovascular Health Study konnten hingegen keine Korrelation zwischen Testosteron Serumkonzentrationen und prävalenter aHT nachweisen<sup>23</sup>. Diese bisherigen Studien waren jedoch aufgrund ihres Designs als Querschnittstudien, ihrer kleinen Studiengrößen und der zur Sexualhormonkonzentrationsbestimmung genutzten auf Immunoassays basierenden Methoden in ihrer Aussagekraft eingeschränkt<sup>40</sup>. Besonders die letztgenannten Immunoassays bieten nur eine eingeschränkte Messgenauigkeit sowie Spezifität und führen daher zu Verzerrungen und potentiell falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen. Gerade im Testosteron Serumkonzentrationsbereich unterhalb von 3,47 nmol/L, wie er bei Frauen zu finden ist<sup>8</sup>, können die Messergebnisse von Immunassays und massenspektrometrischen Messverfahren, die den heutigen Goldstandard darstellen, um bis zu 40% voneinander abweichen<sup>10</sup>.

Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung ist die vorliegende Studie die erste Längsschnittstudie, welche die Assoziation zwischen Androgenen und Blutdruck sowie inzidenter aHT bei prä- und postmenopausalen Frauen aus der normalen Bevölkerung untersucht. Die Ergebnisse aus den Querschnittsanalysen konnten durch die Auswertung der fünf Jahres Follow-up Daten bestätigt werden und so zeigte sich in den Längsschnittanalysen ebenfalls eine positive Assoziation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck sowohl in der Gesamtpopulation als auch in der postmenopausalen Subgruppe. Zusätzlich waren niedrige SHBG-Konzentrationen mit einem erhöhten Risiko von inzidenter aHT assoziiert.

Aufgrund fehlender vorheriger Beobachtungsstudien bietet sich ein Vergleich der gefundenen Ergebnisse mit patientenbasierten Studien an. Studien mit Schwerpunkt auf der Wirkung von endogenen Androgenen zeigen, dass Frauen mit Hyperandrogenämie ein signifikant erhöhtes Risiko haben, an aHT zu erkranken<sup>41</sup>. Bei Patientinnen mit dem Krankheitsbild des Polyzystischen Ovarialsyndroms (PCOS) lässt sich eine signifikant positive und vom BMI unabhängige Assoziation

zwischen Testosteron Serumkonzentration und Blutdruck beobachten<sup>42</sup>. Bei Frau zu Mann Transsexualismus führt eine Supplementation mit exogenem Testosteron neben weiteren kardiovaskulären Nebenwirkungen auch zu einer Erhöhung des Blutdruckes<sup>43</sup>. Die positive Assoziation zwischen Testosteron und Blutdruck wird weiterhin von der Tatsache unterstützt, dass supraphysiologische Testosterongaben bei weiblichen Athletinnen und Bodybuilderinnen kardiovaskuläre Nebenwirkungen aufweisen können<sup>44</sup>.

Ergebnisse aus Tierstudien legen einen dosisabhängigen Effekt von Testosteron auf den Blutdruck nahe<sup>13,45,46,47,48,49</sup>. So zeigten Experimente, bei denen weibliche Ratten über mehrere Wochen Gaben von 5α-Dihydrotestosteron, einem potenteren Androgen, erhielten, dass der Blutdruck dosisabhängig stieg<sup>46,48</sup>. Die genauen Wirkmechanismen von Androgenen auf den Blutdruck bleiben weiterhin unklar und sind noch immer Forschungsgegenstand.

Bisherige Erklärungsansätze der blutdrucksteigernden Wirkung des Testosterons beinhalten den langfristigen vasokonstriktorischen Effekt des Hormones, der durch die Testosteron-vermittelte Verstärkung der Noradrenalin-Synthese und eine Erhöhung der Produktion vasokonstriktorischer Autakoide wie Thromboxan A<sub>2</sub>, Neuropeptid Y und Endothelin 1 bedingt zu sein scheint und der die nach Testosteronapplikation direkt zu beobachtende Vasodilatation zu überwiegen scheint<sup>13</sup>.

Eine Schlüsselrolle in der von Testosteron vermittelten Wirkung auf den Blutdruck kommt der 20-Hydroxyeicosatetraensäure (20-HETE) zu, einem vom Cytochrom P450 synthetisierten ω-hydroxylierten Metaboliten der Arachidonsäure. In Tierstudien konnte nachgewiesen werden, dass die exogene Androgengabe die 20-HETE Produktion erhöht und dass die Erhöhung der vaskulären 20-HETE Produktion bei hypertensiven Mäusen durch eine Androgen-bedingte Expressionssteigerung der Cytochrom P450 Enzyme bedingt war.

Obwohl die renale 20-HETE Wirkung durch eine Steigerung der Diurese eher antihypertensiv ist, scheinen die Wirkmechanismen der 20-HETE auf die Gefäße, zu denen unter anderem die Sensibilisierung von glatter vaskulärer Muskulatur für konstriktorische Stimuli und die Erhöhung der Öffnungswahrscheinlichkeit der L-Typ Ca<sup>2+</sup> Kanäle der glatten Muskulatur zählen, den insgesamt prohypertensiven

Effekt dieses Metaboliten zu erklären. 20-HETE vermindert zudem die Produktion des Vasodilatators Stickstoffmonoxid und wirkt so vasokonstriktorisch.

Zusätzlich zu den oben genannten Wirkungen ist als Erklärungsansatz für die blutdrucksteigernde Wirkung des Testosterons der Effekt der 20-HETE auf das RAAS zu betrachten. So induziert 20-HETE vaskuläre und renale Angiotensin-Konversionsenzyme, was in der Folge durch eine Aktivierung des RAAS eine Steigerung des Blutdrucks zur Folge haben könnte. Das RAAS nimmt in der Blutdruckregulation eine Schlüsselrolle ein. Zu den Effektoren dieses Systems zählt Angiotensin II, das über verschiedene Mechanismen wie Erhöhung des Sympathikotonus, Vasokonstriktion und Produktion sowie Freisetzung von Aldosteron zu einer Erhöhung des Blutdrucks führt<sup>45</sup>. Interessanterweise konnte nachgewiesen werden, dass die Gabe von Testosteron bei ovarektomierten Ratten die Plasma-Renin-Aktivität dosisabhängig steigert<sup>14</sup>.

Da bei Männern eine inverse Assoziation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck zu beobachten ist, scheinen bei Frauen die oben genannten prohypertensiven Mechanismen der Testosteronwirkung gegenüber jenen Wirkmechanismen zu überwiegen, welche die Assoziation bei Männern bedingen<sup>15,50</sup>.

Die vorliegende Studie hat verschiedene Stärken aufzuweisen. Sie ist die erste Längsschnittstudie, welche die Assoziation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck untersucht und hierbei Daten einer großen populationsbasierten Stichprobe von Frauen nutzt. Durch die gewonnenen Ergebnisse können ältere Ergebnisse aus Querschnittsstudien gestützt und zugleich neue Erkenntnisse gewonnen werden. Außerdem beziehen sich die Ergebnisse unserer Analysen auf die erst kürzlich etablierten altersspezifischen Referenzwerte für Testosteron Serumkonzentrationen bei Frauen, welche mittels Tandem-Massenspektrometrie bestimmt wurden. Die durchgeföhrten Sensitivitätsanalysen sichern die Validität der Ergebnisse.

Potentielle Limitationen und Schwachstellen der Studie schließen die fehlende Diagnostik von Patientinnen auf PCOS ein. Da das Studiendesign die Bestimmung der Estradiol Serumkonzentration nicht vorsah, kann die potentielle Bedeutung

des Estradiols (und damit die Bedeutung der Aromatisierung des Testosterons) sowie der potentielle Effekt des Verhältnisses von Testosteron zu Estradiol für den Blutdruck nicht beurteilt werden. Die Generalisierbarkeit unserer Ergebnisse ist aufgrund der kaukasischen Studienpopulation nicht gegeben.

## **5. Ausblick**

Die vorliegende Beobachtungsstudie hilft aufgrund der durchgeführten Längsschnittanalysen Zusammenhänge zwischen dem Sexualhormon Testosteron und dessen Wirkung auf den Blutdruck bei der Frau besser zu verstehen.

Die beobachtete positive Assoziation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck ist unabhängig von den wichtigsten Kovariablen. Weiterhin wird diese Assoziation durch die Beobachtung gestützt, dass niedrige Testosteron Serumkonzentrationen bei der Frau mit einer geringeren Prävalenz der aHT verknüpft sind.

Da diese Ergebnisse jedoch aus einer Beobachtungsstudie gewonnen wurden, können die gezeigten Zusammenhänge nicht mit einer kausalen Beziehung gleichgesetzt werden<sup>51</sup>. Daher stützen die gewonnenen Ergebnisse in Bezug auf erhöhten Blutdruck bzw. aHT eher eine Rolle des Testosterons als Risikomarker, statt als Risikofaktor. Um die Kausalität der gezeigten Assoziationen weiter zu überprüfen, sind randomisierte, kontrollierte, klinische Studien bei Frauen mit entsprechender Androgenersatztherapie notwendig<sup>7</sup>. Hierbei müssen jedoch potentielle Nebenwirkungen der Androgentherapie wie beispielweise der Hirsutismus<sup>52</sup> beachtet und gegenüber dem Nutzen einer solchen Therapie abgewogen werden.

## **6. Zusammenfassung**

Die aHT stellt einen der wichtigsten Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen dar. Der Einfluss der Androgene auf den Blutdruck bei Frauen ist durch bisherige Studien, welche die Assoziation zwischen der Testosteron Serumkonzentration und dem Blutdruck bei Frauen untersuchten, aufgrund von widersprüchlichen Ergebnissen noch unzureichend geklärt.

Daher war es Ziel dieser Studie, die Assoziation von Testosteron, Androstendion, freiem Testosteron, Sexualhormon-bindendem Globulin und Blutdruck bei Frauen sowohl im Quer- als erstmals auch im Längsschnitt zu untersuchen. Grundlagen für die Analysen waren die Daten von 1428 Teilnehmerinnen der Study of Health in Pomerania (SHIP), einer bevölkerungsbasierten Studie, die seit 1996 in der Studienregion Nord-Ostvorpommern durchgeführt wird. Um Assoziationen feststellen zu können, wurden multivariate Regressionsmodelle sowohl an der Gesamtpopulation als auch an prä- und postmenopausalen Untergruppen durchgeführt.

In der Gesamtpopulation war die Testosteron Serumkonzentration im Querschnitt betrachtet positiv mit Blutdruck assoziiert, allerdings bedingt durch die starke Assoziation in der postmenopausalen Subgruppe. Längsschnittanalysen konnten die im Querschnitt festgestellten Assoziationen bestätigen. Weiterhin waren im Längsschnitt niedrigere Testosteron Serumkonzentrationen mit einem erniedrigten Risiko von prävalenter aHT vergesellschaftet. Niedrige SHBG-Konzentrationen waren mit erhöhtem Risiko von prävalenter aHT in der postmenopausalen Untergruppe und einem erhöhtem Risiko von inzidenter aHT in der Gesamtpopulation assoziiert.

Obwohl die genauen Wirkmechanismen der Beeinflussung des Blutdruckes durch Testosteron noch nicht abschließend geklärt sind, scheinen Androgene bei Frauen eine Steigerung des Blutdrucks zu bewirken. Die Kausalität dieser Beziehung muss noch überprüft werden und daher kann Testosteron zum jetzigen Zeitpunkt nur als Risikomarker und nicht als Risikofaktor für erhöhten Blutdruck und aHT bezeichnet werden.

## 7. Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup> WHO/ISH-Guidelines-Subcommittee: World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. Guidelines Subcommittee. *Hypertension* 1999; 21 (5&6), 1009-1 060
- <sup>2</sup> Böcker W, Denk H, Heitz Ph, Moch H. *Pathologie*. Elsevier, München, 2008, S.240-242
- <sup>3</sup> Piper W. *Innere Medizin*. Springer, Heidelberg, 2007, S.19-30
- <sup>4</sup> World Health Organization: World health statistics 2012, www.who.int, 09.08.2012
- <sup>5</sup> Wolf-Meyer K, Cooper RS, Banegas JR, Giampaoli S, Hense HW, Joffres M, Kastarinen M, Poultre N, Primatesta P, Rodríguez-Artalejo F, Stegmayr B, Thamm M, Tuomilehto J, Vanuzzo D, Vescio F. Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 European countries, Canada, and the United States. *JAMA*. 2003;289:2363–2369
- <sup>6</sup> Lowel H, Meisinger C, Heier M, Hymer H, Alte D, Völzke H. Epidemiology of hypertension in Germany. Selected results of population-representative cross-sectional studies. *Dtsch Med Wochenschr*. 2006;131:2586–2591
- <sup>7</sup> Brand JS, van der Schouw YT. Testosterone, SHBG and cardiovascular health in postmenopausal women. *Int J Impot Res* 2010; 22:91-104
- <sup>8</sup> Haring R, Hannemann A, John U, Radke D, Nauck M, Wallaschofski H, Owen L, Adaway J, Keevil BG, Brabant G. Age-specific reference ranges for serum testosterone and androstenedione concentrations in women measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2012; 97:408-415
- <sup>9</sup> Bhasin S, Pencina M, Jasuja GK, Travison TG, Coviello A, Orwoll E, Wang PY, Nielson C, Wu F, Tajar A, Labrie F, Vesper H, Zhang A, Ulloor J, Singh R, D'Agostino R, Vasan RS. Reference ranges for testosterone in men generated using liquid chromatography tandem mass spectrometry in a community-based sample of healthy nonobese young men in the Framingham Heart Study and applied to three geographically distinct cohorts. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(8):2430-9
- <sup>10</sup> Vesper HW, Botelho JC. Standardization of testosterone measurements in humans. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 2010; 121:513-519
- <sup>11</sup> Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *Jama* 1996; 275:1571-1576
- <sup>12</sup> Stokes J, 3rd, Kannel WB, Wolf PA, D'Agostino RB, Cupples LA. Blood pressure as a risk factor for cardiovascular disease. The Framingham Study--30 years of follow-up. *Hypertension* 1989; 13:I13-18
- <sup>13</sup> Kienitz T, Quinkler M. Testosterone and blood pressure regulation. *Kidney & blood pressure research* 2008; 31:71-79

<sup>14</sup> Kelly DM, Jones TH. Testosterone: a vascular hormone in health and disease. *Journal of Endocrinology* 2013; 7;217(3):R47-71

<sup>15</sup> Torkler S, Wallaschofski H, Baumeister SE, Volzke H, Dorr M, Felix S, Rettig R, Nauck M, Haring R. Inverse association between total testosterone concentrations, incident hypertension and blood pressure. *Aging Male* 2011; 14:176-182

<sup>16</sup> Gannage-Yared MH, Chedid R, Abs L. Relation between androgens and cardiovascular risk factors in a young population. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011; 74:720-725

<sup>17</sup> Maturana MA, Breda V, Lhullier F, Spritzer PM. Relationship between endogenous testosterone and cardiovascular risk in early postmenopausal women. *Metabolism: clinical and experimental* 2008; 57:961-965

<sup>18</sup> Huisman HW, Schutte AE, Van Rooyen JM, Malan NT, Malan L, Schutte R, Kruger A. The influence of testosterone on blood pressure and risk factors for cardiovascular disease in a black South African population. *Ethnicity & disease* 2006; 16:693-698

<sup>19</sup> Lambrinoudaki I, Christodoulakos G, Rizos D, Economou E, Argeitis J, Vlachou S, Creatsa M, Kouskouni E, Botsis D. Endogenous sex hormones and risk factors for atherosclerosis in healthy Greek postmenopausal women. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 2006 154:907-916

<sup>20</sup> Phillips GB, Tuck CH, Jing TY, Boden-Albala B, Lin IF, Dahodwala N, Sacco RL. Association of hyperandrogenemia and hyperestrogenemia with type 2 diabetes in Hispanic postmenopausal women. *Diabetes Care* 2000; 23:74-79

<sup>21</sup> Haffner SM, Newcomb PA, Marcus PM, Klein BE, Klein R. Relation of sex hormones and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-SO<sub>4</sub>) to cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *American journal of epidemiology* 1995; 142:925-934

<sup>22</sup> Korhonen S, Hippelainen M, Vanhala M, Heinonen S, Niskanen L. The androgenic sex hormone profile is an essential feature of metabolic syndrome in premenopausal women: a controlled community-based study. *Fertility and sterility* 2003; 79:1327-1334

<sup>23</sup> Patel SM, Ratcliffe SJ, Reilly MP, Weinstein R, Bhasin S, Blackman MR, Cauley JA, Sutton-Tyrrell K, Robbins J, Fried LP, Cappola AR. Higher serum testosterone concentration in older women is associated with insulin resistance, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2009; 94:4776-4784

<sup>24</sup> Khatibi A, Agardh CD, Nyberg P, Lidfeldt J, Samsioe G. Blood pressure in middle-aged women: are androgens involved? A population-based study of Swedish women: the Women's Health in the Lund Area study. *Journal of hypertension* 2007; 25:2044-2050

<sup>25</sup> John U, Greiner B, Hensel E, Lüdemann J, Piek M, Sauer S, Adam C, Born G, Alte D, Greiser E, Haertel U, Hense HW, Haerting J, Willich S, Kessler C. Study of Health In Pomerania (SHIP): a health examination survey in an east German region: objectives and design. *Soz.- Präventivmed.* 2001; 46 186-194

<sup>26</sup> Völzke H, Alte D, Schmidt CO, Radke D, Lorbeer R, Friedrich N, Aumann N, Lau K, Piontek M, Born G, et al. Cohort profile: the study of health in Pomerania. *Int J Epidemiol*, 2011; 40(2):294-307

<sup>27</sup> Alte D, Luedemann J, Rose HJ, John U. Laboratory markers carbohydrate-deficient transferrin, gamma-glutamyltransferase, and mean corpuscular volume are not useful as screening tools for high-risk drinking in the general population: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP). *Alcoholism, clinical and experimental research* 2004; 28:931-940

<sup>28</sup> Schwarz S, Volzke H, Alte D, Schwahn C, Grabe HJ, Hoffmann W, John U, Doren M. Menopause and determinants of quality of life in women at midlife and beyond: the study of health in pomerania (SHIP). *Menopause New York NY* 2007; 14:123-134

<sup>29</sup> Völzke H, Schwarz S, Baumeister SE, Wallaschofski H, Schwahn C, Grabe HJ, et al. Menopausal status and hepatic steatosis in a generalfemale population. *Gut* 2007; 56:594-595

<sup>30</sup> Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Jr., Roccella EJ. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Jama* 2003; 289:2560-2572

<sup>31</sup> Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty AM, Kjeldsen SE, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A, Schmieder RE, Boudier HA, Zanchetti A, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellermann I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Erdine S, Kiowski W, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Lindholm LH, Viigimaa M, Adamopoulos S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Bertomeu V, Clement D, Erdine S, Farsang C, Gaita D, Lip G, Mallion JM, Manolis AJ, Nilsson PM, O'Brien E, Ponikowski P, Redon J, Ruschitzka F, Tamargo J, van Zwieten P, Waeber B, Williams B. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of hypertension* 2007; 25:1105-1187

<sup>32</sup> Thienpont LM, Van Uytfanghe K, Blincko S, Ramsay CS, Xie H, Doss RC, Keevil BG, Owen LJ, Rockwood AL, Kushnir MM, Chun KY, Chandler DW, Field HP, Sluss PM. State-of-the-art of serum testosterone measurement by isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clinical chemistry* 2008; 54:1290-1297

<sup>33</sup> Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 1999; 84:3666-3672

<sup>34</sup> McCullagh P, Nelder JA. Generalized linear models, 2nd ed. London: Chapman & Hall/CRC; 1989

- <sup>35</sup> Afifi AA, Kotlerman JB, Ettner SL, Cowan M. Methods for improving regression analysis for skewed continuous or counted responses. *Ann Rev Public Health* 2007; 28:95–111
- <sup>36</sup> Perry A, Wang X, Goldberg R, Ross R, Jackson L. Racial Disparities between the Sex Steroid Milieu and the Metabolic Risk Profile. *Journal of obesity* 2010
- <sup>37</sup> Daka B, Rosen T, Jansson PA, Larsson CA, Råstam L, Lindblad U. Low sex hormone-binding globulin is associated with hypertension: a cross-sectional study in a Swedish population. *BMC Cardiovasc Disord.* 2013; 1186/1471-2261-13-30
- <sup>38</sup> Wang L, Szklo M, Folsom AR, Cook NR, Gapstur SM, Ouyang P. Endogenous sex hormones, blood pressure change, and risk of hypertension in postmenopausal women: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012; 224(1):228-34
- <sup>39</sup> Phillips GB, Jing TY, Laragh JH. Serum sex hormone levels in postmenopausal women with hypertension. *Journal of human hypertension* 1997; 11:523-526
- <sup>40</sup> Moal V, Mathieu E, Reynier P, Malthiery Y, Gallois Y. Low serum testosterone assayed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Comparison with five immunoassay techniques. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2007; 386:12-19
- <sup>41</sup> Ayala C, Steinberger E, Sweeney A, Mueller WH, Waller DK, Hardy R, Petak SM, Rodriguez-Rigau LJ, Smith KD. The relationship of serum androgens and ovulatory status to blood pressure in reproductive-age women. *American journal of hypertension* 1999; 12:772-777
- <sup>42</sup> Chen MJ, Yang WS, Yang JH, Chen CL, Ho HN, Yang YS. Relationship between androgen levels and blood pressure in young women with polycystic ovary syndrome. *Hypertension* 2007; 49:1442-1447
- <sup>43</sup> Mueller A, Kiesewetter F, Binder H, Beckmann MW, Dittrich R. Long-term administration of testosterone undecanoate every 3 months for testosterone supplementation in female-to-male transsexuals. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2007; 92:3470-3475
- <sup>44</sup> Ling S, Komesaroff PA, Sudhir K. Cardiovascular physiology of androgens and androgen testosterone therapy in postmenopausal women. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets* 2009; 9:29-37
- <sup>45</sup> Wu CC, Schwartzman ML. The role of 20-HETE in androgen-mediated hypertension. *Prostaglandins & other lipid mediators* 2011; 96:45-53
- <sup>46</sup> Singh H, Schwartzman ML. Renal vascular cytochrome P450-derived eicosanoids in androgen-induced hypertension. *Pharmacological reports* 2008; PR 60:29-37
- <sup>47</sup> Reckelhoff JF, Yanes LL, Iliescu R, Fortepiani LA, Granger JP. Testosterone supplementation in aging men and women: possible impact on cardiovascular-renal disease. *American journal of physiology Renal physiology* 2005; 289:F941-948

<sup>48</sup> Nakagawa K, Marji JS, Schwartzman ML, Waterman MR, Capdevila JH. Androgen-mediated induction of the kidney arachidonate hydroxylases is associated with the development of hypertension. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 2003; 284:R1055-1062

<sup>49</sup> Seachrist D, Dunphy G, Daneshvar H, Caplea A, Milsted A, Ely D. Testosterone increases blood pressure and cardiovascular and renal pathology in spontaneously hypertensive rats. *Blood pressure* 2000; 9:227-238

<sup>50</sup> Empen K, Lorbeer R, Dorr M, Haring R, Nauck M, Glaser S, Krebs A, Reffelmann T, Ewert R, Volzke H, Wallaschofski H, Felix SB. Association of testosterone levels with endothelial function in men: results from a population-based study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2012; 32:481-486

<sup>51</sup> Rothman KJ, Greenland S. Causation and causal inference in epidemiology. *American journal of public health* 2005; 95 Suppl 1:S144-150

<sup>52</sup> Shufelt CL, Braunstein GD. Safety of testosterone use in women. *Maturitas* 2009; 63:63-66

## **8. Anhang**

### **8.1. Wissenschaftliche Arbeit**

Benedict Ziemens, Henri Wallaschofski, Henry Völzke, Rainer Rettig, Marcus Dörr, Matthias Nauck, Brian G. Keevil, Georg Brabant, Robin Haring

**Positive association between testosterone, blood pressure, and hypertension in women: longitudinal findings from the Study of Health in Pomerania.**

Journal of Hypertension 2013 June; 31(6): 1106-13.

Homepage des Journals mit Zugang zum Artikel:

<http://journals.lww.com/jhypertension/Pages/default.aspx>

Entsprechend des Copyrights von Lippincott Williams & Wilkins wird im Rahmen dieser Dissertation nur das finale Manuscript veröffentlicht: "This is a non-final version of an article published in final form in Journal of Hypertension 2013 June; 31(6): 1106-13.".

# **Positive association between testosterone, blood pressure, and hypertension in women**

## **Longitudinal findings from the Study of Health in Pomerania**

Benedict Ziemens<sup>1\*</sup>, Henri Wallaschofski<sup>1\*</sup>, Henry Völzke<sup>2</sup>, Rainer Rettig<sup>3</sup>,

Marcus Dörr<sup>4</sup>, Matthias Nauck<sup>1</sup>, Brian G. Keevil<sup>5</sup>, Georg Brabant<sup>5</sup>, Robin Haring<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, <sup>2</sup>Institute for Community Medicine, <sup>3</sup>Institute of Physiology, <sup>4</sup>Department of Cardiology; University Medicine Greifswald, Germany; <sup>5</sup>Department of Clinical Chemistry, University Hospital South Manchester, UK

\* B.Z. and H.W. contributed equally.

**Short title:** Testosterone and blood pressure in women.

**Key words:** Testosterone, blood pressure, hypertension, women, sex hormones

**Word count:** 3,112

## ABSTRACT

**Background:** The association between sex hormones and blood pressure (BP) in women has been investigated mostly in cross-sectional studies yielding inconsistent results.

**Methods:** Data from 1,428 women from the population-based Study of Health in Pomerania were used. Associations of total testosterone, androstenedione, sex hormone-binding globulin (SHBG), and free testosterone concentrations with BP and hypertension were analyzed in multivariable cross-sectional and longitudinal regression models in the full sample and stratified by menopausal status.

**Results:** A positive association between total testosterone (TT) and BP was revealed in the full sample [systolic blood pressure (SBP):  $\beta$  per standard deviation (SD) increase: 3.22; pulse pressure (PP):  $\beta$  per SD increase: 2.30] and among postmenopausal women [diastolic blood pressure (DBP):  $\beta$  per SD increase: 3.33; SBP:  $\beta$  per SD increase: 7.11; PP:  $\beta$  per SD increase: 3.77]. Longitudinal analyses also showed a positive association between baseline total testosterone and follow-up BP. Furthermore, low total testosterone concentrations were associated with a decreased risk of prevalent hypertension in all women [relative risk (RR) quartile 1 (Q1) vs. Q4, 0.79; 95% CI, 0.67 – 0.94]. Low SHBG was associated with prevalent hypertension in postmenopausal women (RR, 1.27; 95%CI, 1.06 – 1.53) and with incident hypertension in the full sample (RR, 1.73; 95%CI, 1.10 – 2.75).

**Conclusions:** The present population-based study is the first to show a consistent positive association between total testosterone and BP in both, cross-sectional and longitudinal analyses; suggesting high total testosterone as a risk marker of increased BP as well as prevalent hypertension in women.

**Abbreviations:** 95% CI, 95% confidence interval; ASD, androstenedione; ATC, Anatomical Therapeutic Chemical Classification Index; BP, blood pressure; CVD, cardiovascular disease; LC-MS/MS, liquid chromatographytandem mass spectrometry; PP, pulse pressure; RR, relative risk; SHBG, sex hormone-binding globulin; SHIP, Study of Health in Pomerania

## **INTRODUCTION**

As hypertension and elevated blood pressure (BP) are major risk factors for cardiovascular disease (CVD) (1, 2), recent research focussed on the potential role of sex hormones in blood pressure regulation (3). Testosterone is known to have variable effects on BP. Thus this sex hormone may activate pathways involved in both vasodilatation and vasoconstriction. Moreover, testosterone induces cardiac hypertrophy, proliferation of cardiac myocytes, and changes in renal BP regulation mechanisms (4). Circulating levels of testosterone differ profoundly between the sexes and are subject to changes throughout life. The exact physiologic role of male sex hormones in women is currently poorly understood (3). Epidemiological data in men suggest that total testosterone (TT) is inversely associated with BP (5). The available studies in women are exclusively of cross-sectional design (6-15) and focus on secondary endpoints such as metabolic syndrome or CVD (12, 13). While some studies (7, 11, 15) reported a positive association of TT with the metabolic syndrome or CVD, another study could not confirm this correlation (13).

Other results showing an inverse association of serum testosterone concentrations in women with normal BP levels and a positive association in women with high BP suggest that the effect of testosterone on BP might depend on the actual BP level (14). In view of the inconsistent findings regarding the association of TT with BP in women, a recent meta-analysis demanded for further research in large-scale observational cohort studies (3). Therefore, our aim was to investigate not only cross-sectional, but also longitudinal associations of TT and sex hormone-binding globulin (SHBG) with BP in a population-based sample of women. Additionally, we analyzed the prohormone androstenedione (ASD), which is the most common sex hormone precursor in women and plays an important role in the biosynthesis of testosterone. Of note, this is the first outcome study on the role of testosterone as a potential cardiovascular risk marker in women to substantially build on recently established age-specific reference ranges (16).

## **METHODS**

### **Study Population**

Data from the Study of Health in Pomerania (SHIP), a population-based cohort study in north-eastern Germany, were used. Details of the study design, recruitment, and procedures have been published previously (17). In brief, the net sample drawn for the SHIP comprised 6,265 eligible individuals (3,160 women) with German citizenship and main residency in the study area, whereof 4,308 (2,192 women) aged 20 to 80 years finally participated between 1997 and 2001 in the baseline study (response 68.8%). Written informed consent

was obtained from each participant, and the study protocol is consistent with the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of the University of Greifswald. We excluded women with (overlap exists): estimated glomerular filtration rate (eGFR) <30 mL/min/1.73m<sup>2</sup> (n = 4), pregnancy (n = 18), serum prolactin concentrations >100 µg/L (n = 93), self-reported bilateral oophorectomy (n = 44), missing sex hormone data (n = 489), and missing covariate or outcome data (n = 12). Furthermore, all prescribed drugs taken in the last seven days were recorded based on the medication packages or, if not available, on self-statement and categorized based on the Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification index. Thus, we excluded another 61 women who received testosterone 5α reductase inhibitors, sex hormone antagonists, ketoconazol, spironolactone, glucocorticoids, anabolic steroids, opiates, or chemotherapy, yielding a final study population of 1,428 women with complete data. At the five-year follow-up, female baseline participants were re-examined between 2002 and 2006. For the longitudinal analyses, complete BP measurements at baseline and follow-up were available for 1,124 women.

## Measures

A computer-assisted personal interview was conducted to assess information about sex, age, alcohol consumption, pregnancy, gynecological surgery (including bilateral oophorectomy and/or hysterectomy), and medication use. Smoking habits were assessed by dividing women into categories of current, former, and never-smokers. Mean daily alcohol consumption was calculated using beverage-specific pure ethanol volume proportions (18). Women who participated in physical training for at least one hour a week were classified as being physically active. Menopausal status (pre- and postmenopausal) was defined according to a previously established definition from our cohort: premenopausal: all women <40 years of age and between 40 – 60 years who reported menstrual cycle; postmenopausal: all women ≥60 years of age and all women between 40 – 60 years who reported no menstrual cycle (19, 20). Assessment of oral contraceptive (G03A) and hormone therapy (G03C, G03D, or G03F) was based on ATC codes (16). Anthropometric measurements were taken, and body mass index (BMI) was calculated from the body weight in kilogram and height in meters according to the formula: kg / m<sup>2</sup>.

After a resting period of at least five minutes, systolic (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured three times on the right arm of seated subjects by use of an oscillometric digital blood pressure monitor (HEM-705CP, Omron Corporation, Tokyo, Japan). The interval between the readings was three minutes. The

mean of the second and third measurements was calculated and used for the present analyses. Hypertension was defined as SBP or DBP of  $\geq 140$  mmHg or  $\geq 90$  mmHg, respectively, or use of antihypertensive medication (ATC codes C02, C03, C04, C07, C08, C09) (21, 22). Pulse pressure (PP) was defined as the difference between mean SBP and DBP (5). Type 2 diabetes mellitus was defined based on self-reported physician's diagnosis, use of antidiabetic medication (ATC code A10) in the last seven days, and/or HbA1c concentrations  $\geq 6.5\%$ . CVD was defined based on a summative score comprising diagnosis of angina pectoris, peripheral artery disease, heart failure, stroke, and/or myocardial infarction.

We previously established age-specific reference ranges for concentrations of TT and ASD including a detailed description of the performed measurements (16). In brief, a blood sample was drawn from the cubital vein in the supine position between 8:00 a.m. – 7:00 p.m., and serum aliquots were prepared for storage at -80°C. Measurements of serum TT and ASD concentrations were carried out between December 2010 and March 2011 in the Department of Clinical Chemistry at the University Hospital of South Manchester (Manchester, UK) from frozen aliquots using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with a validated routine method (23). The standard curve was linear to 50.0 nmol/L, the lower limit of quantitation was 0.25 nmol/L, and intra- and inter-assay coefficients of variation were <10% for both TT and ASD over the range 0.3 – 35 nmol/L. Sex hormone-binding globulin (SHBG) concentrations were measured from frozen serum aliquots using a Advia Centaur (Siemens, Eschborn, Germany) with an inter-assay coefficient of variation of 6.6% at the 27.1 nmol/L level, 7.6% at the 48.2 nmol/L level, and 7.7% at the 52.3 nmol/L level. Measured TT and SHBG concentrations were used to calculate free T as previously described [free T (nmol/L) =  $((-a + \sqrt{b})/c)/10^{-9}$  with  $a = \text{SHBG}$  (nmol/L) - TT (nmol/L) + 23.43,  $b = a^2 + (4 * 23.43 * \text{TT}$  (nmol/L)) and  $c = 2 * 23.43 * 10^9$  for a standard average albumin concentration of 4.3 g/dL (24)].

### **Statistical Analysis**

Categorical data are given as percentage; continuous data are given as mean (standard deviation) or median (p25<sup>th</sup>, p75<sup>th</sup>). We used the natural logarithmic transformation of the continuous sex hormone levels to examine cross-sectional and longitudinal associations of TT, SHBG, free T and ASD with BP in age- and multi-variable-adjusted generalized linear regression models with Gaussian distribution, identity link function, and robust standard errors (25). Multivariable regression models were adjusted for age, BMI, smoking, physical activity, alcohol consumption, type 2 diabetes mellitus, and CVD. Longitudinal regression models, analyzing

follow-up BP as outcome, were additionally adjusted for baseline BP. Results are presented as regression coefficients ( $\beta$ ) together with their standard deviation (SD). To assess the association of baseline TT, SHBG, free T and ASD with prevalent and incident hypertension, sex hormone concentrations were categorized into age-specific (in each 10-year age group) quartiles. We implemented age- and multivariable-adjusted generalized linear regression models with Poisson distribution, log link function, and robust standard errors to report the relative risk (RR) and 95% confidence interval (95% CI) by sex hormone quartiles (reference: Q4). Incidence analyses restricted the sample to women without prevalent baseline hypertension. P for trend test was conducted by including sex hormone quartiles as an ordinal score into the Poisson regression models. All models were additionally stratified by menopausal status. Given the low number of postmenopausal women using hormone therapy ( $n = 79$ ), we decided due to reasons of statistical power to not further stratify analyses in postmenopausal women by hormone therapy use.

Several separate sensitivity analyses were performed. To assess the association between TT and BP independent of SHBG, we additionally adjusted the according multivariable models for continuous SHBG concentrations. We repeated our analyses after the exclusion of 393 women indicative of oral contraceptive and/or hormone therapy use. To evaluate the potential impact of antihypertensive medication, we also repeated our analyses in 1,099 women without any medication. Furthermore, longitudinal regression models were weighted by the inverse of participating in the follow-up to account for possible non-response bias introduced by drop-out (26). Finally, we additionally adjusted multivariable regression models for blood sampling time to assess the potential impact of daytime-dependent measurement variability on the results. Two-sided probability values  $<0.05$  were considered statistically significant. This manuscript was written in accordance with the STROBE statement, giving guidelines for reporting of observational studies (27). All the statistical analyses were performed with Stata 11.0 (Stata Corp., College Station, TX, USA).

## RESULTS

Table 1 presents the baseline characteristics for the full study sample and according to menopausal status. Premenopausal women constituted 54.4% of the sample and showed a more favorable cardiovascular risk factor profile including lower BP values and prevalence of hypertension, type 2 diabetes mellitus, and CVD, than postmenopausal women.

Cross-sectional multivariable linear regression models revealed a positive association of TT with SBP ( $\beta$  per SD increase: 3.22, SD: 1.10 and PP ( $\beta$  per SD increase: 2.30, SD: 0.74) in the total sample (Table 2). After stratification for menopausal status, the positive association between TT and BP remained statistically significant in postmenopausal women (DBP:  $\beta$  per SD increase: 3.33, SD: 0.98; SBP:  $\beta$  per SD increase: 7.11, SD: 1.85; and PP:  $\beta$  per SD increase: 3.77, SD: 1.25), but not in premenopausal women (Table 2). Similarly, free T showed a positive association with DBP in all women, as well as with SBP and DBP among postmenopausal women. ASD also showed consistent positive associations with DBP and SBP in postmenopausal women (Table 2). Longitudinal multivariable linear regression models revealed a positive associations of baseline TT and ASD with follow-up SBP (TT:  $\beta$  per SD increase: 2.35, SD: 0.96; ASD:  $\beta$ : 2.17, SD: 0.91) and PP (TT:  $\beta$  per SD increase: 2.23, SD: 0.66; ASD:  $\beta$ : 1.46, SD: 0.62) in the full sample as well as in post-menopausal women only (Table 2).

Conversely, multivariable-adjusted Poisson regression models showed lower TT concentrations to be linked to lower prevalence of hypertension in the full sample (Q1 vs. Q4: RR, 0.79; 95% CI, 0.67 – 0.94) as well as in premenopausal (Q1 vs. Q4: RR, 0.61; 95% CI, 0.40 – 0.94) and in postmenopausal women (Q1 vs. Q4: RR, 0.82; 95% CI, 0.70 – 0.97) with a significant trend noted across TT quartiles ( $p < 0.05$ ). Furthermore, stratified analyses among postmenopausal women revealed that low SHBG was associated with prevalent hypertension (Q1 vs. Q4: RR, 1.27; 95% CI, 1.06 – 1.53) and low free T showed a protective effect (Q1 vs. Q4: RR, 0.76; 95% CI, 0.64 – 0.91) after adjustment for age and other confounders (Table 3).

Over the 5.1-year (median) follow-up period, the prevalence of hypertension showed only a slight increase from 38.5% in the baseline sample to 40.5% in the follow-up sample. Multivariable Poisson regression models showed an association of low SHBG with an increased risk of incident hypertension (Q1 vs. Q4: RR, 1.73; 95% CI, 1.10 – 2.75) in 705 women free of baseline hypertension and with available follow-up data. Sensitivity analyses excluding individuals using antihypertensive medication confirmed the association of low SHBG with incident hypertension (Q1 vs. Q4: multivariable-adjusted RR: 1.74; 95% CI, 1.04 – 2.92) in the full sample and revealed that low TT was associated with a lower risk of incident hypertension in postmenopausal women (Q1 vs. Q4: multivariable-adjusted RR: 0.43, 95% CI: 0.19 – 0.99). The overall effect size and level of significance for the association between TT and BP remained unchanged after SHBG was entered into the multivariable models. Also the exclusion of women using oral contraceptives or hormone

therapy did not substantially alter the revealed estimates. Further sensitivity analyses including drop-out weights and adjustment for blood sampling time also showed no impact on the overall estimates and an unchanged level of significance (data not shown).

## DISCUSSION

Using data from a large population-based sample of women, we observed a positive and independent association of TT with BP. This association was consistent in cross-sectional and longitudinal analyses. In addition, low TT concentrations were protective of prevalent hypertension, whereas low SHBG concentrations were associated with an increased risk of incident hypertension. Further stratification by menopausal status yielded largely similar results among pre- and postmenopausal women.

The present findings are in line with several previous cross-sectional studies investigating the association between TT concentrations and BP in women (7, 10, 11). An early study among 253 postmenopausal women reporting a positive correlation of TT with SBP and DBP (11) was confirmed by subsequent studies (7, 10). In contrast, other cross-sectional studies failed to show an association between TT and BP or yielded inconsistent results (3, 6, 9, 28). Using data from 6,893 Swedish women, the largest cross-sectional study to date found no correlation between T and BP, although subgroup analyses among women using antihypertensive medication showed a positive correlation. Interestingly, this study observed similar associations of SHBG and ASD with BP, respectively (14).

Assessing hypertension as a clinical endpoint, several studies found higher TT concentrations in women with essential hypertension than in normotensive women (8, 15). In contrast, data from the Cardiovascular Health Study showed no correlation between TT and prevalent hypertension (13). However, these previous studies were limited by their cross-sectional design, small-scale study samples, and conventional immunoassays-based sex hormone measurements (29). Especially with regard to the latter, immunoassays-based TT assessment offers only limited precision and specificity, thereby leading to measurement bias and potential false negative or false positive results in epidemiological outcome studies. Notably, when measuring TT concentrations below 100 ng/dL (3.47 nmol/L), the results between immunoassay and mass spectrometry-based assays can differ up to 40% (30).

To our knowledge, the present study is the first to investigate longitudinal associations between sex hormones, BP, and incident hypertension in women from the general population. Harvesting five-year follow-up data we observed, consistent with previous cross-sectional results, a positive relationship between TT and BP in the full sample, as well as among post-menopausal women. Furthermore, low SHBG concentrations were associated with an increased risk of incident hypertension. Lacking previous observational studies, our findings are in line with patient-based data focusing on endogenous androgen levels suggesting that hyperandrogenic women with high TT concentrations have a higher risk of elevated BP (31). Also in female patients suffering from polycystic ovary syndrome, which is often associated with hyperandrogenemia, a significant positive correlation between TT and BP was observed even when adjusted for BMI (32). On the other hand, exogenous testosterone supplementation in female-to-male transsexuals led to a significant increase in BP and cardiovascular side effects (33). This notion is further supported by the observed increase in BP and general adverse cardiovascular effects following supraphysiologic testosterone doses in doping of female athletes and body builders (34). On contrary, supplementation with physiological doses of exogenous testosterone in postmenopausal women did not alter BP (34, 35), suggesting dose-dependent effects of TT on BP.

Furthermore, findings from experimental and animal studies support a dose-dependent effect of TT on BP (4, 36-40). The administration of 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone, a potent androgen, to female rats increased BP in a dose-dependent manner (37, 39). However, exact mechanisms are still subject of research and potential explanations relate to the upregulation of norepinephrine synthesis, an increase of autacoids such as angiotensin II and endothelins, as well as an induction of several pro-hypertensive mechanisms in the kidney (4). Moreover, 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE), the cytochrome P450 (CYP)-derived  $\omega$ -hydroxylated metabolite of arachidonic acid, is suggested to play a crucial role. Animal studies showed that exogenous androgens increase 20-HETE production and that the increased vascular 20-HETE production found in mice with elevated BP was caused by elevated expression of CYP driven by androgens. 20-HETE's various effects on BP include not only sensitizing smooth muscle cells to constrictor stimuli through protein kinase C, but also increasing the conductance of L-type Ca<sup>2+</sup> channels in vascular smooth muscle cells and the enhancement of the conductance of vascular transient receptor potential canonical 6 channels thus leading to an amplification in myogenic tone. Also the endothelium-dependent vasorelaxation is impaired by 20-HETE. Additionally, this eicosanoid, whose synthesis is known to take place in vascular smooth muscle

cells, causes endothelial dysfunction and induces vascular and renal angiotensin I-converting enzyme and thereby might promote high BP through the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS), which is a key regulator of BP. Angiotensin II, the final effector of the RAAS, increases BP through vasoconstriction, increasing sympathetic tone and the production and release of aldosterone from the adrenal glands (36). In women, those prohypertensive mechanisms seem to outweigh not only potential pathways responsible for the inverse association between TT and BP observed in men but also the observed vasodilatation following the acute administration of testosterone (5, 41).

### **Strengths & Limitations**

The present study has several strengths. It is the first longitudinal observational study to investigate the association between TT and BP using data from a large-scale population-based sample of women from the general population. Thereby, we were able to confirm and extent previous results of cross-sectional studies. Furthermore, the present findings substantially built on recently established age-specific reference ranges for TT concentrations measured by LS-MS/MS. Finally, comprehensive sensitivity analyses were conducted to assess the validity of our findings. Potential limitations of our study include the lacking assessment of polycystic ovary syndrome and estradiol to investigate its influence on BP and the role of aromatization on the investigated association of sex hormones with BP, respectively. Thus, we were also not able to assess the impact of the testosterone-to-estradiol ratio, relative to absolute levels for these sex hormones, and in relation to BP (42). Furthermore, the generalizability of our findings is limited due to the exclusively Caucasian study sample.

### **Conclusions & Perspectives**

The observed positive association of TT with BP in women is independent of other major confounders and supported by the protective effect of low TT on prevalent hypertension. Thus we consider TT to be a risk marker for hypertension in women. Despite this observational evidence, epidemiological research does not allow any causal inferences (43). Therefore randomized controlled trials of testosterone supplementation in women receiving androgen replacement therapy are needed to further investigate potential causal mechanisms (3).

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

SHIP is part of the Community Medicine Research net (CMR) of the University of Greifswald, Germany, which is funded by the Federal Ministry of Education and Research (grants no. 01ZZ9603, 01ZZ0103, and 01ZZ0403), the Ministry of Cultural Affairs as well as the Social Ministry of the Federal State of Mecklenburg-West Pomerania. This work is also part of the research project Greifswald Approach to Individualized Medicine (GANI\_MED), and was supported by the DZHK (Deutsches Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung – German Centre for Cardiovascular Research), the BMBF (German Ministry of Education and Research), and the Ministry of Cultural Affairs of the Federal State of Mecklenburg, West Pomerania, Germany.

## REFERENCES

1. **Kannel WB** 1996 Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *Jama* 275:1571-1576
2. **Stokes J, 3rd, Kannel WB, Wolf PA, D'Agostino RB, Cupples LA** 1989 Blood pressure as a risk factor for cardiovascular disease. The Framingham Study--30 years of follow-up. *Hypertension* 13:I13-18
3. **Brand JS, van der Schouw YT** 2010 Testosterone, SHBG and cardiovascular health in postmenopausal women. *Int J Impot Res* 22:91-104
4. **Kienitz T, Quinkler M** 2008 Testosterone and blood pressure regulation. *Kidney & blood pressure research* 31:71-79
5. **Torkler S, Wallaschofski H, Baumeister SE, Volzke H, Dorr M, Felix S, Rettig R, Nauck M, Haring R** 2011 Inverse association between total testosterone concentrations, incident hypertension and blood pressure. *Aging Male* 14:176-182
6. **Gannage-Yared MH, Chedid R, Abs L** 2011 Relation between androgens and cardiovascular risk factors in a young population. *Clin Endocrinol (Oxf)* 74:720-725
7. **Maturana MA, Breda V, Lhullier F, Spritzer PM** 2008 Relationship between endogenous testosterone and cardiovascular risk in early postmenopausal women. *Metabolism: clinical and experimental* 57:961-965
8. **Huisman HW, Schutte AE, Van Rooyen JM, Malan NT, Malan L, Schutte R, Kruger A** 2006 The influence of testosterone on blood pressure and risk factors for cardiovascular disease in a black South African population. *Ethnicity & disease* 16:693-698
9. **Lambrinoudaki I, Christodoulakos G, Rizos D, Economou E, Argeitis J, Vlachou S, Creatsa M, Kouskouni E, Botsis D** 2006 Endogenous sex hormones and risk factors for atherosclerosis in healthy Greek postmenopausal women. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 154:907-916
10. **Phillips GB, Tuck CH, Jing TY, Boden-Albala B, Lin IF, Dahodwala N, Sacco RL** 2000 Association of hyperandrogenemia and hyperestrogenemia with type 2 diabetes in Hispanic postmenopausal women. *Diabetes Care* 23:74-79
11. **Haffner SM, Newcomb PA, Marcus PM, Klein BE, Klein R** 1995 Relation of sex hormones and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-SO<sub>4</sub>) to cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *American journal of epidemiology* 142:925-934
12. **Korhonen S, Hippelainen M, Vanhala M, Heinonen S, Niskanen L** 2003 The androgenic sex hormone profile is an essential feature of metabolic syndrome in premenopausal women: a controlled community-based study. *Fertility and sterility* 79:1327-1334
13. **Patel SM, Ratcliffe SJ, Reilly MP, Weinstein R, Bhasin S, Blackman MR, Cauley JA, Sutton-Tyrrell K, Robbins J, Fried LP, Cappola AR** 2009 Higher serum testosterone concentration in older women is associated with insulin resistance, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 94:4776-4784
14. **Khatibi A, Agardh CD, Nyberg P, Lidfeldt J, Samsioe G** 2007 Blood pressure in middle-aged women: are androgens involved? A population-based study of Swedish women: the Women's Health in the Lund Area study. *Journal of hypertension* 25:2044-2050
15. **Phillips GB, Jing TY, Laragh JH** 1997 Serum sex hormone levels in postmenopausal women with hypertension. *Journal of human hypertension* 11:523-526
16. **Haring R, Hannemann A, John U, Radke D, Nauck M, Wallaschofski H, Owen L, Adaway J, Keevil BG, Brabant G** 2012 Age-specific reference ranges for serum testosterone and androstenedione concentrations in women measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 97:408-415
17. **Volzke H, Alte D, Schmidt CO, Radke D, Lorbeer R, Friedrich N, Aumann N, Lau K, Piontek M, Born G, Havemann C, Ittermann T, Schipf S, Haring R, Baumeister SE, Wallaschofski H, Nauck M, Frick S, Arnold A, Junger M, Mayerle J, Kraft M, Lerch MM, Dorr M, Reffelmann T, Empen K, Felix SB, Obst A, Koch B, Glaser S, Ewert R, Fietze I, Penzel T, Doren M, Rathmann W, Haerting J, Hannemann M, Ropcke J, Schminke U, Jurgens C, Tost F, Rettig R, Kors JA, Ungerer S, Hegenscheid K, Kuhn JP, Kuhn J, Hosten N, Puls R, Henke J, Gloer O, Teumer A, Homuth G, Volker U, Schwahn C, Holtfreter B, Polzer J, Kohlmann T, Grabe HJ, Rosskopf D, Kroemer HK, Kocher T, Biffar R, John U, Hoffmann W** 2010 Cohort Profile: The Study of Health in Pomerania. *International journal of epidemiology*
18. **Alte D, Luedemann J, Rose HJ, John U** 2004 Laboratory markers carbohydrate-deficient transferrin, gamma-glutamyltransferase, and mean corpuscular volume are not useful as screening

- tools for high-risk drinking in the general population: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP). *Alcoholism, clinical and experimental research* 28:931-940
19. Schwarz S, Volzke H, Alte D, Schwahn C, Grabe HJ, Hoffmann W, John U, Doren M 2007 Menopause and determinants of quality of life in women at midlife and beyond: the study of health in pomerania (SHIP). *Menopause* (New York, NY) 14:123-134
20. Völzke H, Schwarz S, Baumeister SE, Wallaschofski H, Schwahn C, Grabe HJ, Kohlmann T, John U, Doren M 2007 Menopausal status and hepatic steatosis in a general female population. *Gut* 56:594-595
21. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Jr., Roccella EJ 2003 The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Jama* 289:2560-2572
22. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty AM, Kjeldsen SE, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A, Schmieder RE, Boudier HA, Zanchetti A, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Erdine S, Kiowski W, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Lindholm LH, Viigimaa M, Adamopoulos S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Bertomeu V, Clement D, Erdine S, Farsang C, Gaita D, Lip G, Mallion JM, Manolis AJ, Nilsson PM, O'Brien E, Ponikowski P, Redon J, Ruschitzka F, Tamargo J, van Zwieten P, Waeber B, Williams B 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of hypertension* 25:1105-1187
23. Thienpont LM, Van Uytfanghe K, Blincko S, Ramsay CS, Xie H, Doss RC, Keevil BG, Owen LJ, Rockwood AL, Kushnir MM, Chun KY, Chandler DW, Field HP, Sluss PM 2008 State-of-the-art of serum testosterone measurement by isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clinical chemistry* 54:1290-1297
24. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM 1999 A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 84:3666-3672
25. McCullagh P, Nelder JA 1989 Generalized Linear Models: 2nd ed. London: Chapman & Hall/CRC
26. Afifi AA, Kotlerman JB, Ettner SL, Cowan M 2007 Methods for improving regression analysis for skewed continuous or counted responses. *Annual review of public health* 28:95-111
27. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gotzsche PC, Vandebroucke JP 2007 The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Lancet* 370:1453-1457
28. Perry A, Wang X, Goldberg R, Ross R, Jackson L 2010 Racial Disparities between the Sex Steroid Milieu and the Metabolic Risk Profile. *Journal of obesity* 2010
29. Moal V, Mathieu E, Reynier P, Malthiery Y, Gallois Y 2007 Low serum testosterone assayed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Comparison with five immunoassay techniques. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 386:12-19
30. Vesper HW, Botelho JC 2010 Standardization of testosterone measurements in humans. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 121:513-519
31. Ayala C, Steinberger E, Sweeney A, Mueller WH, Waller DK, Hardy R, Petak SM, Rodriguez-Rigau LJ, Smith KD 1999 The relationship of serum androgens and ovulatory status to blood pressure in reproductive-age women. *American journal of hypertension* 12:772-777
32. Chen MJ, Yang WS, Yang JH, Chen CL, Ho HN, Yang YS 2007 Relationship between androgen levels and blood pressure in young women with polycystic ovary syndrome. *Hypertension* 49:1442-1447
33. Mueller A, Kiesewetter F, Binder H, Beckmann MW, Dittrich R 2007 Long-term administration of testosterone undecanoate every 3 months for testosterone supplementation in female-to-male transsexuals. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 92:3470-3475
34. Ling S, Komesaroff PA, Sudhir K 2009 Cardiovascular physiology of androgens and androgen testosterone therapy in postmenopausal women. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets* 9:29-37
35. Shufelt CL, Braunstein GD 2009 Safety of testosterone use in women. *Maturitas* 63:63-66
36. Wu CC, Schwartzman ML 2011 The role of 20-HETE in androgen-mediated hypertension. *Prostaglandins & other lipid mediators* 96:45-53

37. **Singh H, Schwartzman ML** 2008 Renal vascular cytochrome P450-derived eicosanoids in androgen-induced hypertension. *Pharmacological reports* : PR 60:29-37
38. **Reckelhoff JF, Yanes LL, Iliescu R, Fortepiani LA, Granger JP** 2005 Testosterone supplementation in aging men and women: possible impact on cardiovascular-renal disease. *American journal of physiology Renal physiology* 289:F941-948
39. **Nakagawa K, Marji JS, Schwartzman ML, Waterman MR, Capdevila JH** 2003 Androgen-mediated induction of the kidney arachidonate hydroxylases is associated with the development of hypertension. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 284:R1055-1062
40. **Seachrist D, Dunphy G, Daneshvar H, Caplea A, Milsted A, Ely D** 2000 Testosterone increases blood pressure and cardiovascular and renal pathology in spontaneously hypertensive rats. *Blood pressure* 9:227-238
41. **Empen K, Lorbeer R, Dorr M, Haring R, Nauck M, Glaser S, Krebs A, Reffelmann T, Ewert R, Volzke H, Wallaschofski H, Felix SB** 2012 Association of testosterone levels with endothelial function in men: results from a population-based study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 32:481-486
42. **Lima R, Wofford M, Reckelhoff JF** 2012 Hypertension in postmenopausal women. *Current hypertension reports* 14:254-260
43. **Rothman KJ, Greenland S** 2005 Causation and causal inference in epidemiology. *American journal of public health* 95 Suppl 1:S144-150

Table 1: Baseline characteristics of the study population

<b>Variable</b>	<b>All women (n = 1,428)</b>	<b>Pre-menopausal women (n = 777)</b>	<b>Post-menopausal women (n = 651)</b>
<b>Age, years</b>	48.8 (16.1)	36.8 (9.4)	63.1 (9.2)
<b>Body Mass Index, kg/m<sup>2</sup></b>	27.0 (5.4)	25.4 (5.1)	29.0 (5.2)
<b>Waist Circumference, cm</b>	83.1 (13.4)	78.2 (11.9)	89.0 (12.7)
<b>Serum Total Testosterone, nmol/L</b>	0.76 (0.55, 1.05)	0.82 (0.60, 1.13)	0.66 (0.49, 0.94)
<b>Serum SHBG, nmol/L</b>	83.6 (58.7, 125.1)	98.6 (67.2, 157.6)	71.0 (48.8, 98.3)
<b>Serum Free Testosterone, nmol/L</b>	0.007 (0.004, 0.010)	0.006 (0.004, 0.010)	0.007 (0.005, 0.011)
<b>Serum Androstenedione, pmol/L</b>	1.69 (1.13, 2.58)	2.30 (1.59, 3.24)	1.25 (0.93, 1.69)
<b>Current Smoking, %</b>	28.3	38.2	16.4
<b>Alcohol Consumption, g/day</b>	2.5 (0.0, 7.5)	2.7 (0.0, 8.7)	0.0 (0.0, 5.0)
<b>Physically Active, %</b>	43.4	51.7	33.3
<b>Oral Contraceptive Use, %</b>	18.7	34.1	0.3
<b>Hormone Therapy, %</b>	9.0	6.4	12.1
<b>Diastolic Blood Pressure, mmHg</b>	81.4 (10.7)	78.8 (9.6)	84.5 (11.0)
<b>Systolic Blood Pressure, mmHg</b>	130.1 (21.4)	120.4 (11.0)	141.7 (21.4)
<b>Pulse Pressure, mmHg</b>	48.7 (15.2)	41.6 (9.5)	57.2 (16.3)
<b>Antihypertensive Medication, %</b>	19.9	4.3	35.3
<b>Hypertension, %</b>	38.5	18.0	63.0
<b>Type 2 Diabetes Mellitus, %</b>	8.1	1.0	16.5
<b>Metabolic syndrome, %</b>	21.7	10.0	35.7
<b>Cardiovascular Disease, %</b>	16.5	7.1	27.8

Data are percentages, mean (SD), or median (Q1, Q3).

SHBG, sex hormone-binding globulin.

Oral contraceptive use was defined according to Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification code G03A and hormone therapy ATC codes G03C, G03D, or G03F.

Table 2: Cross-sectional and longitudinal associations of sex hormones with blood pressure in women

All women (n = 1,428)			Pre-menopausal (n = 777)			Post-menopausal (n = 651)				
	Diastolic BP	Systolic BP	Pulse Pres- sure	Diastolic BP	Systolic BP	Pulse Pres- sure	Diastolic BP	Systolic BP	Pulse Pres- sure	
<b>Cross-sectional analyses</b>										
<b>Total T</b>	<b>Model 1</b>	1.27 (0.61)*	3.63 (1.10)*	2.36 (0.74)*	0.57 (0.70)	-0.07 (1.13)	-0.64 (0.68)	3.68 (0.97)*	7.51 (1.83)*	3.83 (1.23)*
	<b>Model 2</b>	0.92 (0.60)	3.22 (1.10)*	2.30 (0.74)*	0.03 (0.64)	-0.79 (1.04)	-0.82 (0.68)	3.33 (0.98)*	7.11 (1.85)*	3.77 (1.25)*
<b>SHBG</b>	<b>Model 1</b>	-1.47 (0.50)*	-1.93 (0.83)*	-0.46 (0.55)	-0.62 (0.56)	-0.12 (0.89)	0.49 (0.55)	-1.31 (0.98)	-5.63 (1.70)*	-4.32 (1.10)*
	<b>Model 2</b>	-0.09 (0.52)	0.60 (0.85)	0.69 (0.58)	1.04 (0.52)*	2.55 (0.85)*	1.51 (0.56)*	-0.73 (1.12)	-3.66 (1.88)	-2.93 (1.22)*
<b>Free T</b>	<b>Model 1</b>	1.52 (0.42)*	2.91 (0.70)*	1.39 (0.47)*	0.51 (0.46)	-0.19 (0.72)	-0.70 (0.46)	3.26 (0.78)*	8.10 (1.38)*	4.84 (0.93)*
	<b>Model 2</b>	0.53 (0.43)	1.33 (0.73)	0.80 (0.50)	-0.74 (0.43)	-2.18 (0.70)*	-1.44 (0.48)*	2.86 (0.85)*	7.08 (1.48)*	4.22 (0.99)*
<b>ASD</b>	<b>Model 1</b>	0.17 (0.59)	1.22 (1.02)	1.04 (0.71)	-1.00 (0.68)	-3.07 (1.08)*	-2.10 (0.65)*	3.61 (1.01)*	7.68 (1.85)*	4.07 (1.34)*
	<b>Model 2</b>	0.47 (0.59)	1.78 (1.02)	1.31 (0.72)	-0.57 (0.65)	-2.30 (1.03)*	-1.74 (0.66)*	3.47 (1.01)*	7.55 (1.87)*	4.08 (1.34)*
<b>Longitudinal analyses</b>										
<b>Total T</b>	<b>Model 1</b>	0.04 (0.53)	2.17 (0.95)*	2.06 (0.65)*	0.74 (0.66)	1.50 (0.96)	0.73 (0.65)	0.21 (0.83)	3.40 (1.67)*	3.05 (1.16)*
	<b>Model 2</b>	0.07 (0.54)	2.35 (0.96)*	2.23 (0.66)*	0.54 (0.66)	1.27 (0.97)	0.71 (0.67)	0.31 (0.86)	3.46 (1.64)*	3.08 (1.12)*
<b>SHBG</b>	<b>Model 1</b>	0.10 (0.41)	0.16 (0.71)	0.16 (0.49)	-0.12 (0.48)	-0.66 (0.71)	-0.53 (0.46)	0.92 (0.75)	1.28 (1.59)	0.66 (1.12)
	<b>Model 2</b>	0.26 (0.43)	0.82 (0.75)	0.52 (0.50)	0.07 (0.49)	-0.24 (0.75)	-0.25 (0.49)	1.03 (0.82)	1.26 (1.76)	1.61 (1.23)
<b>Free T</b>	<b>Model 1</b>	-0.02 (0.37)	1.05 (0.62)	0.96 (0.43)*	0.40 (0.41)	1.09 (0.60)	0.66 (0.42)	-0.32 (0.66)	1.67 (1.33)	1.72 (0.94)
	<b>Model 2</b>	-0.10 (0.39)	0.85 (0.64)	0.94 (0.45)*	0.21 (0.42)	0.76 (0.62)	0.49 (0.45)	-0.26 (0.71)	1.35 (1.39)	1.53 (0.98)
<b>ASD</b>	<b>Model 1</b>	0.66 (0.52)	1.74 (0.89)*	1.17 (0.59)*	1.15 (0.61)	1.21 (0.93)	-0.06 (0.62)	0.84 (0.90)	3.51 (1.75)*	2.67 (1.19)*
	<b>Model 2</b>	0.75 (0.53)	2.17 (0.91)*	1.46 (0.62)*	0.97 (0.62)	1.08 (0.95)	0.05 (0.65)	1.08 (0.91)	4.05 (1.78)*	2.95 (1.20)*

TT, total testosterone; SHBG, sex hormone-binding globulin; free T, free testosterone; ASD, androstenedione; BP, blood pressure. Model 1 is adjusted for age only. Model 2 is adjusted for age, body mass index, smoking status, physical activity, alcohol consumption, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease. The presented data show the regression coefficients per standard deviation increase for the respective sex hormones with  $p < 0.05$  marked as \*. Longitudinal analyses assessed follow-up blood pressure as outcome with the adjustment for baseline blood pressure level.

Table 3: Association of baseline sex hormones with prevalent and incident hypertension in women

Total Testosterone		Sex Hormone-Binding Globulin		Free Testosterone		Androstenedione		
Prevalent Hypertension	Incident Hypertension	Prevalent Hypertension	Incident Hypertension	Prevalent Hypertension	Incident Hypertension	Prevalent Hypertension	Incident Hypertension	
<b>Relative risk (95% confidence interval)</b>								
<b>All women</b>						<b>Age-adjusted models</b>		
<25 <sup>th</sup>	0.76 (0.64, 0.89)*	0.90 (0.56, 1.43)	1.43 (1.21, 1.69)*	2.03 (1.31, 3.15)*	0.71 (0.60, 0.85)*	0.72 (0.44, 1.17)	0.90 (0.77, 1.06)	0.76 (0.47, 1.21)
25-50 <sup>th</sup>	0.97 (0.83, 1.13)	1.15 (0.71, 1.86)	1.22 (1.03, 1.45)*	0.97 (0.58, 1.64)	0.82 (0.71, 0.96)*	0.81 (0.50, 1.32)	0.92 (0.79, 1.07)	0.88 (0.55, 1.39)
50-75 <sup>th</sup>	0.98 (0.85, 1.15)	1.24 (0.77, 2.00)	1.09 (0.90, 1.30)	1.14 (0.71, 1.84)	1.01 (0.88, 1.17)	1.41 (0.90, 2.22)	1.00 (0.86, 1.16)	0.88 (0.55, 1.41)
>75 <sup>th</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>P for Trend</b>	0.001	0.497	<0.001	0.007	<0.001	0.029	0.131	0.260
<b>All women</b>						<b>Multivariable-adjusted models</b>		
<25 <sup>th</sup>	0.79 (0.67; 0.94)*	0.92 (0.58, 1.47)	1.10 (0.93, 1.31)	1.73 (1.10, 2.75)*	0.84 (0.71, 1.00)	0.84 (0.54, 1.41)	0.90 (0.77, 1.06)	0.73 (0.45, 1.19)
25-50 <sup>th</sup>	0.97 (0.83, 1.13)	1.14 (0.71, 1.86)	1.04 (0.87, 1.24)	0.87 (0.52, 1.47)	0.92 (0.79, 1.07)	0.88 (0.56, 1.48)	0.92 (0.79, 1.07)	0.84 (0.52, 1.32)
50-75 <sup>th</sup>	1.03 (0.89, 1.20)	1.19 (0.74, 1.92)	0.96 (0.80, 1.15)	1.08 (0.67, 1.75)	1.07 (0.93, 1.24)	1.44 (0.94, 2.31)	1.00 (0.86, 1.16)	0.82 (0.51, 1.31)
>75 <sup>th</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>P for Trend</b>	0.005	0.632	0.150	0.064	0.017	0.142	0.042	0.247
<b>Pre-menopausal women</b>								
<25 <sup>th</sup>	0.61 (0.40, 0.94)*	1.42 (0.66, 3.06)	0.79 (0.55, 1.15)	1.96 (1.02, 3.79)*	1.11 (0.73, 1.67)	1.28 (0.64, 2.64)	0.77 (0.50, 1.17)	0.91 (0.46, 1.80)
25-50 <sup>th</sup>	0.84 (0.59, 1.22)	1.42 (0.61, 3.28)	0.75 (0.50, 1.14)	0.74 (0.32, 1.69)	0.99 (0.67, 1.48)	1.00 (0.46, 2.16)	1.04 (0.70, 1.55)	1.15 (0.57, 2.30)
50-75 <sup>th</sup>	1.00 (0.70, 1.44)	1.70 (0.78, 3.72)	0.79 (0.53, 1.19)	1.04 (0.52, 2.09)	1.09 (0.75, 1.58)	1.83 (0.92, 3.63)	1.02 (0.68, 1.52)	0.74 (0.35, 1.57)
>75 <sup>th</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>P for Trend</b>	0.015	0.515	0.246	0.102	0.769	0.968	0.227	0.905
<b>Post-menopausal women</b>								
<25 <sup>th</sup>	0.82 (0.70, 0.97)*	0.63 (0.35, 1.16)	1.27 (1.06, 1.53)*	1.56 (0.81, 3.00)	0.76 (0.64, 0.91)*	0.56 (0.29, 1.08)	0.87 (0.74, 1.01)	0.54 (0.27, 1.05)
25-50 <sup>th</sup>	0.96 (0.83, 1.12)	0.95 (0.52, 1.72)	1.25 (1.04, 1.50)*	1.08 (0.56, 2.09)	0.89 (0.76, 1.04)	0.77 (0.41, 1.44)	0.81 (0.69, 0.94)*	0.64 (0.34, 1.21)
50-75 <sup>th</sup>	1.00 (0.86, 1.16)	0.81 (0.43, 1.53)	1.10 (0.90, 1.34)	1.04 (0.54, 2.00)	1.07 (0.94, 1.22)	1.15 (0.62, 2.13)	0.94 (0.81, 1.09)	0.80 (0.43, 1.49)
>75 <sup>th</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>P for Trend</b>	0.018	0.180	0.003	0.234	<0.001	0.037	0.024	0.054

The multivariable model was adjusted for age, body mass index, smoking status (three categories), physical activity, alcohol consumption, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease.

\*p < 0.05

## **8.2. Eidesstaatliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorgelegte Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät, keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Greifswald, den 1. Juli 2016

Benedict Ziemens

Benedict Tobias Ziemens

### **8.3. Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich für die Unterstützung dieser Arbeit bei folgenden Personen bedanken.

Herrn Prof. Dr. med. Henri Wallaschofski gilt als mein Dank für die exzellente Betreuung von der Publikation des Artikels und bis zur Erstellung dieser Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn PD Dr. rer. med. Robin Haring für die herausragende Betreuung und Unterstützung während der gesamten Zeit sowie für die biomathematische Auswertung.

Ein weiterer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Henry Völzke für die Bereitstellung der SHIP-Daten sowie den einzelnen Mitarbeitern der verschiedenen Fachgebiete in der Community Medicine und den Mitarbeitern des ICKL.

Mein Dank gilt weiterhin allen Co- Autoren des Artikels für die freundliche Zusammenarbeit.

Ich danke meinen Eltern, Geschwistern und Freunden, die mich beim Fertigstellen dieser Arbeit stets unterstützt haben.