

Aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
(Direktor Univ.- Prof. Dr. med. Matthias Nauck)
der Universitätsmedizin der Universität Greifswald

**Assoziation von Insulin-like growth factor I und Insulin-like growth factor-
binding protein-3 zur Gefäßwanddicke der Karotiden sowie zu NT-proBNP in der
bevölkerungsbasierten Study of Health in Pomerania (SHIP)**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin
(Dr. med.)

der

Universitätsmedizin

der

Universität Greifswald

2021

vorgelegt von:

Maximilian Eichner

geb. am 13.09.1991

in Dorsten

Dekan: Prof. Dr. med. Karlhans Endlich

1. Gutachter: PD Dr. rer. med. Nele Friedrich

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Christian Strasburger

Ort, Raum: Klinik für Innere Medizin B, Raum 6.0.1
Greifswald, Universitätsklinikum

Tag der Disputation: Mittwoch, 24.08.2022 um 13 Uhr

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1. Einleitung	5
1.1 IGF-I-System	5
1.2 IGF-I und das kardiovaskuläre System	7
1.3 Fragestellung und Zielsetzung	9
2. Material und Methoden	10
2.1 Study of Health in Pomerania	10
2.2 Studienpopulation und Studiendesign	11
2.3 Interview und körperliche Untersuchung	13
2.4 Labormessverfahren	14
2.5 Echokardiographie des linken Ventrikels	15
2.6 Ultraschalluntersuchung der A. carotis communis	15
2.7 Statistische Auswertung	16
3. Ergebnisse	18
3.1 Merkmale der Studienteilnehmer	18
3.2 Intima-Media-Dicke (IMD)	19
3.3 Linksventrikulärer Massenindex (LVMI)	21
3.4 NT-proBNP	23
4. Diskussion	25
4.1 Intima-Media-Dicke (IMD)	25
4.1.1 Querschnittsstudien	25
4.1.2 Längsschnittstudien	26
4.1.3 Pathomechanismen	28
4.1.4 Zusammenfassung	30
4.2 Linksventrikulärer Massenindex (LVMI)	30
4.3 NT-proBNP	32
4.4 Stärken und Schwächen der Studie	34
4.5 Schlussfolgerung	34
5. Zusammenfassung	35
6. Literaturverzeichnis	36
7. Anhang	43
7.1 Publikation	43
7.2 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift	56
7.3 Eidesstattliche Erklärung	57

Abkürzungsverzeichnis

ALS	Acid labile subunit
BNP	Brain natriuretic peptide
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EPC	Endothelial progenitor cell
GH	Growth hormone
GHD	Growth hormone deficiency
GHRH	Growth hormone-releasing hormone
HbA1c	Glykiertes Hämoglobin
HDL	High density lipoprotein
IGF	Insulin-like growth factor
IGF-I	Insulin-like growth factor I
IGF-II	Insulin-like growth factor II
IGFBP	Insulin-like growth factor-binding protein
IGFBP-3	Insulin-like growth factor-binding protein-3
IMD	Intima-Media-Dicke
IVS	Interventrikuläre Septumdicke
LDL	Low density lipoprotein
LVDD	Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
LVDS	Linksventrikulärer systolischer Durchmesser
LVH	Linksventrikuläre Hypertrophie
LVM	Linksventrikuläre Masse
LVMI	Linksventrikulärer Massenindex
LVPW	Dicke der linksventrikulären Hinterwand
NT-proBNP	N-terminal pro-brain natriuretic peptide
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
SHIP	Study of Health in Pomerania
SS	Somatostatin

1. Einleitung

1.1 IGF-I-System

Wachstum und Entwicklung des menschlichen Organismus werden in einem komplexen und auf negativem Feedback basierenden Zusammenspiel von Hypothalamus, Hypophyse und dem episodisch sezernierten Wachstumshormon Somatotropin (engl. growth hormone/GH) gesteuert [1]. Der wachstumsfördernde Effekt dieses im Blut zirkulierenden Hormons beruht dabei auf der direkten Stimulation empfindlicher Zellen sowie auf der in Leber und in verschiedenen Geweben lokal induzierten Synthese des insulinähnlichen Wachstumsfaktors I (engl. insulin-like growth factor I/IGF-I) [2-5]. IGF-I ist ein aus 70 Aminosäuren bestehendes Polypeptid, welches zusammen mit dem ähnlich aufgebauten IGF-II zur Gruppe der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren gehört, die letztlich aufgrund ihrer teilweisen Übereinstimmung in der Aminosäuresequenz mit Proinsulin so benannt wurden [4, 6, 7].

Untersuchungen an Mäusen zeigten auf, dass im Blutkreislauf befindliches IGF-I mehrheitlich der Leber entstammt [8, 9]. Es zirkuliert im Serum hauptsächlich als Bestandteil von zwei- oder dreiteiligen Proteinkomplexen in gebundener Form [4, 10]. Aus der übergeordneten Gruppe von IGF-Bindungsproteinen (engl. insulin-like growth factor-binding proteins/IGFBPs), von denen sich sechs durch eine hohe Affinität zu IGF-I auszeichnen, überwiegt der Verbund von IGF-I mit IGF-Bindungsprotein-3 (engl. insulin-like growth factor-binding protein-3/IGFBP-3) und einer säureinstabilen Untereinheit (engl. acid labile subunit/ALS) [4, 10-12]. IGFBP-3 und ALS werden wie IGF-I unter regulierendem Einfluss von Somatotropin in der Leber synthetisiert, wobei im Fall der IGFBPs zusätzlich die lokale und spezifische Sekretion durch verschiedene Zelltypen bekannt ist [10, 13, 14]. IGFBPs besitzen vielfältige Funktionen im Hinblick auf die IGFs: Sie transportieren diese, blockieren oder steigern gar ihre Aktivität, verlängern ihre Halbwertszeit oder beeinflussen ihre Bioverfügbarkeit [4, 10, 11]. Zusätzlich besitzen sie weitere Funktionen, die nicht unmittelbar in Zusammenhang mit den IGFs zu stehen scheinen und zelluläre, zum Teil rezeptorvermittelte Signalwege sowie Proteine außerhalb der Zellen betreffen [4, 10, 11, 14].

Der Anteil an nicht gebundenem (freiem) und damit biowirksamen IGF-I im Serum beträgt <1% [13]. Als ungefähres Maß für diesen Anteil kann die IGF-I/IGFBP-3-Ratio verwendet werden [13]. IGF-I wird nicht nur in der Leber, sondern auch lokal von

unterschiedlichen Zelltypen wie beispielsweise Osteoblasten oder glatten Gefäßmuskelzellen synthetisiert und sezerniert, sodass ganzheitlich betrachtet die Wirkungsweise von IGF-I auf dem endokrinen, parakrinen oder autokrinen Weg in verschiedenen Geweben im menschlichen Organismus erfolgen kann [3-5, 13, 15, 16]. Einen schematischen Überblick über das IGF-I-System verschafft Abbildung 1.

Auf zellulärer Ebene wird die Wirkung von IGF-I hauptsächlich durch Bindung an den in der Zellmembran verankerten IGF-I-Rezeptor vermittelt [13, 15]. Wird der IGF-I-Rezeptor durch IGF-I stimuliert, so wird dessen Tyrosinkinase-Aktivität angeregt und im Rahmen von Phosphorylierungen starten intrazelluläre Signalkaskaden, die letztlich u.a. Zellproliferation, Zellüberleben und Zelldifferenzierung fördern [4, 15]. Im Vergleich zum strukturell verwandten Insulin beeinflusst IGF-I damit eher das auf Dauer verfolgte Zellkonzept und weniger stark den unmittelbaren Zellmetabolismus, obwohl beispielsweise auch Einflüsse auf den Glukosestoffwechsel bekannt sind [4, 13, 15]. Darüber hinaus kann die Wirksamkeit von IGF-I durch gleichzeitige Anwesenheit wachstumsfördernder Botenstoffe verstärkt werden, sowie IGF-I auch selber die Hormonsekretion in bestimmten Geweben wie Ovar oder Hoden fördert [4, 15]. Des Weiteren befinden sich IGF-I-Rezeptoren u.a. auch auf Fibroblasten, Skelettmuskelzellen

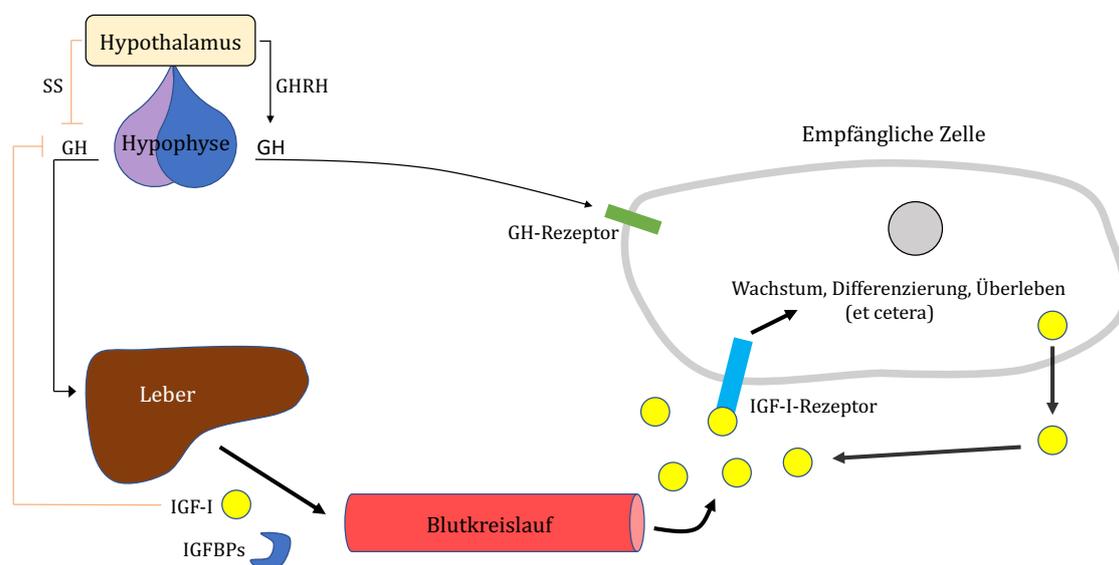


Abbildung 1. Überblick über das IGF-I-System. Abbildung modifiziert nach Pivonello et al. [17] und Hakuno et al. [15].

SS = Somatostatin; GHRH = Growth hormone-releasing hormone; GH = Growth hormone; IGF-I = Insulin-like growth factor I; IGFBP = Insulin-like growth factor-binding protein.

und Gefäßendothelzellen [4, 15, 16]. Im Rahmen verschiedener Karzinomerkrankungen liegen Erkenntnisse bezüglich einer Beteiligung von IGF-I und dem IGF-I-Rezeptor vor, wobei bislang noch kein durchschlagender therapeutischer Nutzen daraus erzielt werden konnte [18, 19].

1.2 IGF-I und das kardiovaskuläre System

Die das Gefäßsystem auskleidenden Endothelzellen besitzen nachweislich IGF-I-Rezeptoren auf ihrer Membran, wodurch IGFs als Liganden unter anderem einen aktivierenden Einfluss auf die Zellmigration sowie auf die strukturelle Organisation der Endothelzellen ausüben [16, 20]. Endothelzellen synthetisieren nur in geringem Ausmaß IGF-I selbst, wohingegen sie in Abhängigkeit von der jeweiligen Gefäßgröße mit verschiedener Priorisierung bestimmte IGFBPs sezernieren [16]. IGF-I kann darüber hinaus einen positiven Einfluss auf Störungen in der Funktionsfähigkeit von Endothelvorläuferzellen (engl. endothelial progenitor cells/EPCs) nehmen [21]. Neben der Expressierung des IGF-I-Rezeptors in Endothelzellen befinden sich IGF-I-Rezeptoren in glatten Muskelzellen der Gefäßwände und in Makrophagen, sodass IGF-I-Wirkungen in solchen Zellen entfaltet werden, die eine bedeutsame Rolle bei der Entstehung einer Atherosklerose einnehmen, worauf im Weiteren eingegangen wird [22]. Sowohl Makrophagen als auch die glatten Gefäßmuskulzellen können zusätzlich selber IGF-I synthetisieren und sezernieren [16, 22]. In Bezug auf das Herz fördert die Stimulation des IGF-I-Rezeptors durch IGF-I unter anderem Wachstum und Überleben in den Kardiomyozyten [23, 24].

Aufgrund der nachgewiesenen Einflüsse von IGF-I auf das kardiovaskuläre System erscheint es konsequent, dass in vorangegangenen Studien IGF-I oder IGFBP-3 im Hinblick auf kardiovaskuläre Endpunkte untersucht wurden [25-40]:

Patienten mit einem GH-Mangel (engl. growth hormone deficiency/GHD) und folglich niedrigen Serumkonzentrationen von IGF-I weisen in der Regel kardiovaskuläre Veränderungen wie beispielsweise ein reduziertes Herzgewicht oder eine funktionelle Endothelstörung auf [25]. Das beschriebene Hormondefizit steigert somit das kardiovaskuläre Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko [25]. Umgekehrt sind auch massiv erhöhte IGF-I-Serumspiegel, wie sie bei Akromegalie festzustellen sind, mit Veränderungen wie erhöhter Gefäßsteifigkeit, dysfunktionalem Endothel und mit einem

erhöhten Risiko, an kardiovaskulären Krankheiten zu leiden, assoziiert [26, 27]. Unabhängig dieser wesentlich durch GH beeinflussten, starken Entgleisungen der IGF-I-Serumkonzentrationen wurde eine negative Relation zwischen niedrigeren IGF-I- oder IGF-BP-3-Konzentrationen im Serum und dem ischämischen Schlaganfallrisiko entdeckt [28]. Ebenso wurden niedrigere IGF-I-Serumkonzentrationen oder eine kleinere IGF-I/IGFBP-3-Ratio mit einem höheren Verhältnis von Gesamt- zu HDL-Cholesterin als auch mit einer höheren Intima-Media-Dicke der A. carotis communis assoziiert, was eine Beteiligung des IGF-Systems an der Entstehung und Progression der Atherosklerose nahelegt [29]. Auch Ergebnisse einer vorherigen Querschnittsanalyse aus der SHIP (engl. Study of Health in Pomerania/SHIP) deuten auf einen Zusammenhang zwischen dem IGF-I-System und der Intima-Media-Dicke der A. carotis communis hin, allerdings in anderer Richtung [30]. In SHIP korrelierten höhere Serumkonzentrationen von IGF-I oder höhere Werte in der Ratio aus IGF-I/IGFBP-3 mit einer Zunahme der Intima-Media-Dicke [30]. Eine weitere querschnittliche Analyse innerhalb der SHIP konnte keine Relation von IGF-I-Serumkonzentrationen mit einer Hypertrophie des linken Herzventrikels (engl. left ventricular hypertrophy/LVH) nachweisen [31], obwohl vorangegangene Publikationen über eine Beteiligung von IGF-I diesbezüglich in Experimenten berichteten [32, 33].

Im Rahmen von prospektiven, populationsbasierten Studien wurden Assoziationen zwischen IGF-I und verschiedenen kardiovaskulären Endpunkten detektiert [34-40]: So waren Teilnehmer einer dänischen Studie mit Serumkonzentrationen von IGF-I im niedrigen Bereich vermehrt gefährdet, im zeitlichen Verlauf eine koronare Herzerkrankung zu entwickeln [34]. Diese Assoziation steht im Einklang mit Ergebnissen der Rancho Bernardo Study, in welcher eine richtungsgleiche Korrelation von IGF-I in Bezug auf die zum Tode führende ischämische Herzkrankheit entdeckt wurde [35]. Eine ebenfalls richtungsgleiche Relation von IGF-I in Bezug auf das Herzinsuffizienzrisiko wurde in der Cardiovascular Health Study entdeckt [38]. Diese Beobachtungen stehen allerdings in Widerspruch zu den Ergebnissen von Andreassen et al. [39], die eine positive Korrelation zwischen der Entstehungswahrscheinlichkeit einer chronisch ausgeprägten Herzinsuffizienz und der im Blutplasma befindlichen IGF-I-Konzentration nachwiesen. Darüber hinaus postulierte eine schwedische Studie eine U-förmige Korrelation hinsichtlich der im Blut zirkulierenden IGF-I-Spiegel und dem Risiko für das Auftreten bestimmter kardiovaskulärer Ereignisse [40].

Abgesehen von den zuvor erwähnten Endpunkten wurde IGF-I auch im Hinblick auf eine mögliche Relation mit NT-proBNP (engl. N-terminal pro-brain natriuretic peptide) untersucht [39, 41, 42]. Hierbei handelt es sich um einen in der amerikanischen Leitlinie empfohlenen prognostischen Biomarker, der für die Diagnostik der Herzinsuffizienz und die Überwachung ihrer Behandlung verwendet wird [43, 44]. NT-proBNP wird von den Kardiomyozyten besonders unter Dehnung ihrer Zellwand produziert und entsteht durch Spaltung aus dem gemeinsamen Vorläuferprotein mit BNP (engl. brain natriuretic peptide) [45-47]. Bisherige populationsbasierte Studien konnten eine positive Korrelation zwischen NT-proBNP-Konzentrationen und dem Auftreten kardiovaskulärer Leiden oder der Mortalität aufdecken, was eine prognostische Markerfunktion von NT-proBNP andeutete [48-51]. Im Hinblick auf IGF-I und eine mögliche Relation zu NT-proBNP besteht eine widersprüchliche Datenlage [39, 41, 42]. So konnte eine Studie von Andreassen et al. [41], die Patienten mit Akromegalie oder GHD untersuchte, keine Relation von IGF-I-Serumspiegeln zu NT-proBNP nachweisen. In einer anderen Studie mit Teilnehmern ohne pathologische Störungen der GH/IGF-Achse korrelierten jedoch niedrigere IGF-I-Plasmakonzentrationen mit höheren Konzentrationen von NT-proBNP [39].

1.3 Fragestellung und Zielsetzung

IGF-I bewirkt neben vielfältigen, meist wachstums- und differenzierungsfördernden Effekten im menschlichen Organismus eine langzeitliche Beeinflussung des kardiovaskulären Systems, die auf biochemischer und epidemiologischer Ebene unvollständig verstanden ist. In der Vergangenheit konnten einige populationsbasierte Studien [28, 34-40] Assoziationen zwischen niedrigeren oder höheren IGF-I-Serumkonzentrationen mit kardiovaskulären Endpunkten aufzeigen. Weniger untersucht ist hingegen, ob die Serumkonzentration von IGF-I auch mit subklinischen Veränderungen bestimmter kardiovaskulärer Parameter über die Zeit einhergeht. Der Fokus dieser Arbeit befasst sich daher mit subklinischen Langzeitveränderungen mehrerer kardiovaskulärer Parameter in Abhängigkeit von IGF-I- oder IGF-BP-3-Serumkonzentrationen. Dabei werden die Intima-Media-Dicke (IMD) der A. carotis communis, der linksventrikuläre Massenindex (LVMI) sowie NT-proBNP genauer betrachtet. Entsprechende längsschnittliche Zusammenhänge werden in der großen, populationsbasierten SHIP untersucht (Abbildung 2). Konkret werden dabei jeweils die

5-Jahres-Veränderungen Δ_{t1t0} und Δ_{t2t1} der drei kardiovaskulären Parameter zwischen der Basiserhebung (SHIP-0) und dem ersten Follow-up (SHIP-1) sowie zwischen SHIP-1 und dem zweiten Follow-up (SHIP-2) untersucht. Neu entdeckte Assoziationen könnten IGF-I als Biomarker für frühpathologische kardiovaskuläre Veränderungen interessant machen und frische Impulse für die weitere Erforschung der IGF-Wirkung auf Herz und Gefäßsystem setzen.

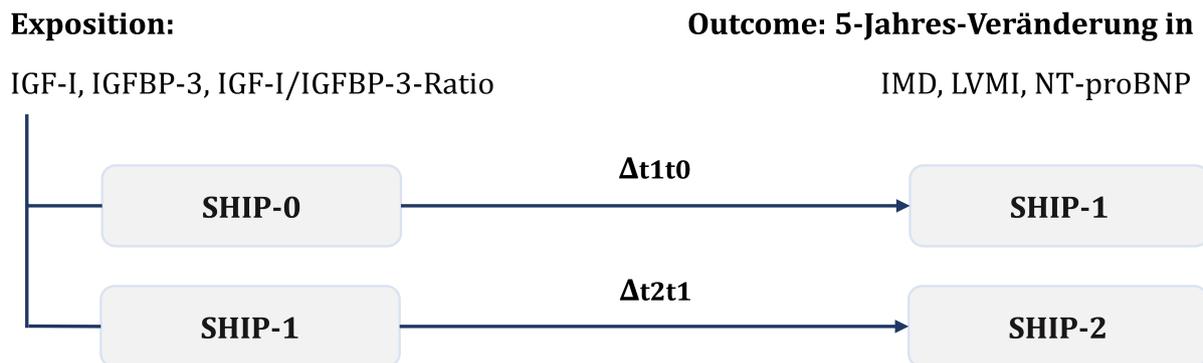


Abbildung 2. Schematische Übersicht zum Studiendesign.

IGF-I = Insulin-like growth factor I; IGFBP-3 = Insulin-like growth factor-binding protein-3; IMD = Intima-Media-Dicke; LVMI = Linksventrikulärer Massenindex; NT-proBNP = N-terminal pro-brain natriuretic peptide; SHIP-0 = Basiserhebung der Study of Health in Pomerania (SHIP); SHIP-1 = Erstes Follow-up; SHIP-2 = Zweites Follow-up; Δ_{t1t0} = Veränderung in den Outcome-Parametern zwischen Zeitpunkt t1 (SHIP-1) und t0 (SHIP-0); Δ_{t2t1} = Veränderung in den Outcome-Parametern zwischen Zeitpunkt t2 (SHIP-2) und t1 (SHIP-1).

2. Material und Methoden

2.1 Study of Health in Pomerania

Ausgangspunkt der vorgelegten Untersuchungen ist die Study of Health in Pomerania (SHIP): Hierbei handelt es sich um eine epidemiologische Kohortenstudie, die in der Region Vorpommern im Nordosten der Bundesrepublik Deutschland durchgeführt wurde [52, 53]. Unter anderem verfolgt die Studie das Ziel, populationsbasierte Gesundheitsdaten zu generieren und zu analysieren, um zahlreiche Parameter wie Prävalenz und Inzidenz von Risikofaktoren sowie Krankheiten zu beurteilen [52, 53]. Mit Hilfe dieser Informationen können relevante Gesundheitsindikatoren entschlüsselt und die prognostische Aussagekraft von subklinischen Markern evaluiert werden [52, 53]. Die Selektion der Studienteilnehmer erfolgte durch ein zweistufiges randomisiertes

Auswahlverfahren auf Basis der Einwohnermelderegister des Bundeslandes Mecklenburg-Vorpommern [52]. Insgesamt wurden 7.008 Männer und Frauen mit deutscher Staatsbürgerschaft im Alter zwischen 20 und 79 Jahren selektiert [52]. Von diesen nahmen letztlich 4.308 Studienteilnehmer erfolgreich an der Basiserhebung der SHIP (SHIP-0) teil [53]. Die Basiserhebung erfolgte zwischen 1997 und 2001 [53]. Nach einer Follow-up-Zeit von durchschnittlich 5 Jahren erfolgte zwischen 2002 und 2006 die erste Folgeuntersuchung (SHIP-1) mit 3.300 Studienteilnehmern [53]. Nach einer Follow-up-Zeit von durchschnittlich 11 Jahren nach der Basiserhebung wurde in den Jahren 2008 bis 2012 eine erneute Folgeuntersuchung (SHIP-2) durchgeführt, bei welcher insgesamt 2.333 Studienteilnehmer untersucht wurden [53]. Tiefere Informationen zur SHIP finden sich in vorangegangenen Publikationen [52, 53] sowie auf der Homepage <https://www2.medizin.uni-greifswald.de/cm/fv/ship/>.

2.2 Studienpopulation und Studiendesign

Für die vorliegende Studie wurden Daten aus SHIP-0, SHIP-1 und SHIP-2 verwendet. Die Selektion der Studienpopulation wurde gemeinsam mit den wesentlichen Angaben zu den Analysen in Abbildung 3 visualisiert. Ausgehend von 4.308 SHIP-0-Teilnehmern wurden diejenigen ausgeschlossen, die einen Herzschrittmacher oder eine Karotisstenose aufwiesen (n=264). Von den verbliebenen 4.044 Teilnehmern wurden weiterhin alle Personen ausgeschlossen, die fehlende Werte in IGF-I, IGFBP-3 oder den Covariaten aufwiesen. Ebenso wurden alle Probanden mit fehlenden Werten oder Extremwerten, definiert als <1. oder >99. Perzentile, in den endpunktspezifischen longitudinalen Veränderungen ausgeschlossen. Somit variierte die Anzahl involvierter Studienteilnehmer je nach betrachtetem Endpunkt.

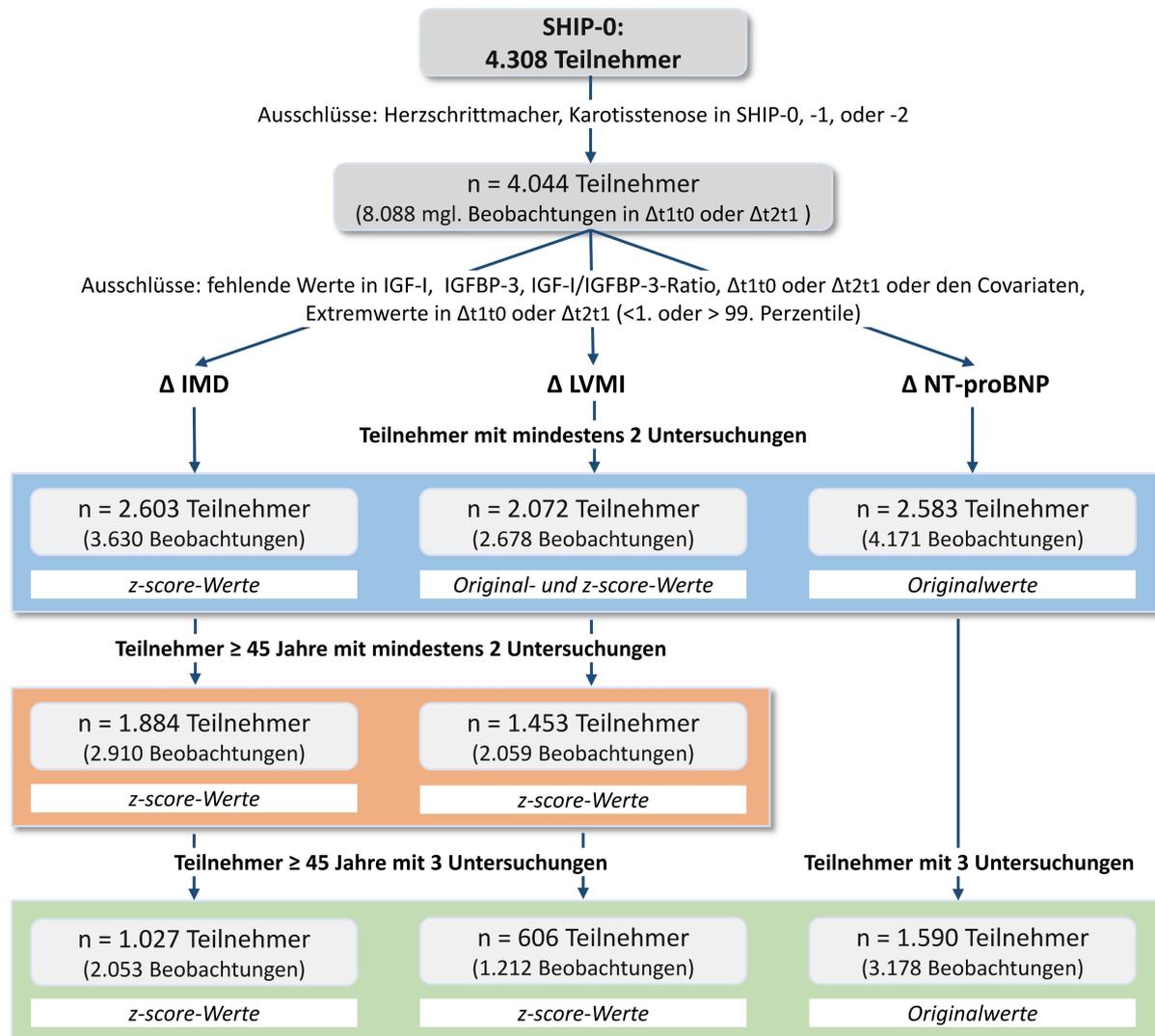


Abbildung 3. Flussdiagramm zur Selektion der Studienpopulationen mit Angaben zu den statistischen Analysen (z-score-Werte vs. Originalwerte).

IGF-I = Insulin-like growth factor I; IGFBP-3 = Insulin-like growth factor-binding protein-3; IMD = Intima-Media-Dicke; LVMI = Linksventrikulärer Massenindex; NT-proBNP = N-terminal pro-brain natriuretic peptide; SHIP-0 = Basiserhebung der Study of Health in Pomerania (SHIP); SHIP-1 = Erstes Follow-up; SHIP-2 = Zweites Follow-up; Δ_{t1t0} = Veränderung in den Outcome-Parametern zwischen Zeitpunkt t1 (SHIP-1) und t0 (SHIP-0); Δ_{t2t1} , Veränderung in den Outcome-Parametern zwischen Zeitpunkt t2 (SHIP-2) und t1 (SHIP-1).

Bezogen auf die IMD wurden 2.603 Teilnehmer mit mindestens zwei von drei möglichen Untersuchungen (SHIP-0, SHIP-1, SHIP-2) eingeschlossen. In dieser Gruppe gab es 3.630 Beobachtungen. Diese Beobachtungen entsprechen der Anzahl der Δ -Werte der IMD ($\Delta_{t1t0} + \Delta_{t2t1}$). In einer anschließenden Subgruppenanalyse wurden nur Teilnehmer mit einem Mindestalter ab 45 Jahren in der Basiserhebung eingeschlossen. Dies resultierte in einer Studienpopulation von 1.884 Teilnehmern mit 2.910 Beobachtungen. Eine weitere

Subgruppenanalyse schloss 1.027 Teilnehmern mit 2.053 Beobachtungen ein, die in der Basiserhebung ein Alter ab 45 Jahren hatten und an allen drei Studienwellen teilnahmen.

Statistische Analysen zum LVMI beinhalteten 2.072 Teilnehmer mit mindestens zwei Untersuchungen. In diesem Fall resultierten 2.678 Beobachtungen. In einer ersten Subgruppenanalyse, die wie bei der IMD nur Teilnehmer ab einem Alter von 45 Jahren oder älter in der Basiserhebung und mindestens zwei Untersuchungen umfasste, konnten 2.059 Beobachtungen aus 1.453 Teilnehmern gewonnen werden. Innerhalb dieser Subgruppe unterzogen sich 606 Teilnehmer insgesamt 3 Untersuchungen, was 1.212 Beobachtungen entsprach, die für die zweite Subgruppenanalyse verwendet wurden.

In Hinblick auf die Serumkonzentration von NT-proBNP standen insgesamt 2.583 Teilnehmer zur Verfügung, die mindestens zweimal untersucht wurden. Daraus resultierten 4.171 Beobachtungen. Eine Subgruppe von 1.590 Teilnehmern konnte insgesamt dreimal hinsichtlich NT-proBNP untersucht werden, d.h. in SHIP-0, SHIP-1 und SHIP-2. Hieraus ergaben sich 3.178 einzelne Beobachtungen.

In Abbildung 3 sind weiterhin Angaben zur Verwendung von Originalwerten bzw. z-score-Werten bei den einzelnen Analysen zu finden. Detaillierte Erklärungen zu diesem Punkt finden sich im Abschnitt 2.7 Statistische Auswertung.

2.3 Interview und körperliche Untersuchung

Unter der Anleitung von dafür qualifizierten Mitarbeitern unterzogen sich alle Studienteilnehmer in allen Studienwellen einem computerbasierten Interview, in welchem diese sowohl Auskunft über soziodemographische Merkmale als auch ihre gesundheitliche Vorgeschichte, über die Einnahme von Medikamenten sowie Fragen zum Lebensstil beantworteten. Durch Selbsteinschätzung bezüglich ihres Zigarettenkonsums wurden die Studienteilnehmer in die Kategorien Raucher, ehemalige Raucher und lebenslange Nichtraucher unterteilt. Mit Hilfe getränkespezifischer (Bier, Wein, Spirituosen) und zeitlicher Angaben über ihren Alkoholkonsum konnte der durchschnittliche, pure Alkoholkonsum (g/Tag) errechnet werden [54]. Ebenfalls wurden die Themen Ernährung und körperliche Aktivität abgefragt, wobei ein Studienteilnehmer als nicht körperlich aktiv kategorisiert wurde, wenn die insgesamt wöchentlich durchgeführte sportliche Aktivität keine 60 Minuten betrug.

Neben dem Interview erhielten alle Studienteilnehmer eine ausführliche körperliche Untersuchung, bei der unter anderem der Taillenumfang und der Blutdruck bestimmt wurden. Der Taillenumfang wurde mit einem nicht elastischen Messband ermittelt, indem dieses an den stehenden Studienteilnehmern mittig zwischen Beckenkamm und unterer Rippengrenze angesetzt und waagrecht um den Körper herum positioniert wurde. Die Messung erfolgte mit einer Genauigkeit von 0,1 cm. Für die Blutdruckmessung wurde das digitale Blutdruckmessgerät Omron HEM-705CP des japanischen Unternehmens Omron Corporation verwendet. Systolische und diastolische Blutdruckwerte wurden insgesamt drei Mal mit einem zeitlichen Abstand von jeweils drei Minuten gemessen. Verwendet wurde anschließend der Mittelwert, der auf Grundlage der 2. und 3. Messung berechnet wurde.

2.4 Labormessverfahren

Die Blutabnahme erfolgte aus der Vena mediana cubiti. Die gewonnenen Blutproben wurden umgehend analysiert oder bei -80 Grad Celsius für nachfolgende Untersuchungen eingelagert.

Die laborchemische Bestimmung der Serumkonzentrationen von IGF-I und IGFBP-3 erfolgte im Rahmen von SHIP-0 und SHIP-1 mit automatisierten, antikörperbasierten und chemilumineszierenden Immunoassays auf dem IDS-iSYS (Immunodiagnostic Systems, Frankfurt am Main, Deutschland) nach der Sandwich-ELISA-Technik [55]. Die Variationskoeffizienten für die IGF-I-Messungen lagen bei 9,8% und 10,2% für niedrige Serumkonzentrationen und bei 6,0% sowie 5,0% für hohe Serumkonzentrationen in SHIP-0 und SHIP-1. Die Variationskoeffizienten für die IGFBP-3-Messungen lagen bei 15,5% und 13,1% für niedrige Serumkonzentrationen und bei 7,9% sowie 9,2% für hohe Serumkonzentrationen in SHIP-0 und SHIP-1 (für Details siehe [55]).

Die Messung der Serumkonzentration von NT-proBNP wurde auf dem Dimension VISTA (Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Germany) durchgeführt. Die Variationskoeffizienten betragen 5,2%, 5,4% und 5,0% für niedrige Serumkonzentrationen sowie 3,9%, 3,8% und 3,9% für hohe Serumkonzentrationen in SHIP-0, SHIP-1 und SHIP-2.

Weiterhin erfolgte die Konzentrationsbestimmung des Gesamtcholesterins in SHIP-0 mittels Photometrie (Hitachi 704 Chemistry Analyzer, Roche AG, Basel, Schweiz),

während in SHIP-1 eine enzymatische Messung erfolgte (Dimension RxD, Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Deutschland). Der HbA1c wurde in SHIP-0 und SHIP-1 mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Diamat Analyzer System, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) bestimmt.

2.5 Echokardiographie des linken Ventrikels

Während in SHIP-0 nur Personen mit einem Alter ab 45 Jahren eine echokardiographische Untersuchung erhielten, wurde diese sowohl in SHIP-1 als auch in SHIP-2 bei allen Studienteilnehmern durchgeführt. Für die Echokardiographie wurde das Ultraschallgerät Vingmed CFM 800A (GE Medical Systems, Waukesha, Wisconsin, USA) verwendet. Das Herz wurde im eindimensionalen M-Mode-Verfahren als auch mit zweidimensionaler Technik untersucht. Aufnahmen des linken Ventrikels im M-Mode-Verfahren wurden auf Höhe der Papillarmuskelebene gemacht. Unter Verwendung der Leading-edge-Methode wurden die interventrikuläre Septumdicke (IVS), die Dicke der linksventrikulären Hinterwand (LVPW), der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVDD) sowie der linksventrikuläre systolische Durchmesser (LVDS) ausgemessen. Der linksventrikuläre Massenindex (LVMI) wurde bestimmt, indem die linke Ventrikelmasse (LVM) mit der Formel $LVM = 0,80 \times (1,04 \times ((LVDD + IVS + LVPW)^3 - LVDD^3)) + 0,60$ berechnet und anschließend durch die Körpergröße^{2,7} geteilt wurde [56, 57]. Ergab sich für den LVMI ein Wert von >44 g/m^{2,7} bei Frauen oder von >48 g/m^{2,7} bei Männern, so lag per Definition eine Hypertrophie der linken Herzkammer vor [57].

2.6 Ultraschalluntersuchung der A. carotis communis

Das allgemeine Vorgehen bezüglich der Ultraschalluntersuchung der Karotisgefäße im Rahmen der SHIP ist bereits an anderer Stelle beschrieben worden [58]. Bei der hier vorliegenden Arbeit richtete sich der Fokus auf die Messung der IMD der linken und rechten A. carotis communis. In SHIP-0 wurden nur Studienteilnehmer mit einem Alter ab 45 Jahren untersucht, in SHIP-1 und SHIP-2 wurde diese Einschränkung aufgehoben. In SHIP-0 und SHIP-1 wurden die Gefäße der Studienteilnehmer mittels B-Mode Ultraschalluntersuchung vermessen. Bei dieser Untersuchung kam ein linearer 5 MHz Schallkopf mit axialer Auflösung kleiner als einen halben Millimeter in Kombination mit

einem hochauflösenden Ultraschallgerätesystem (Diasonics VST Gateway, Santa Clara, California, USA) zur Anwendung. Die IMD wurde definiert als der Abstand zwischen den charakteristischen Ultraschallechos der Grenzflächen von Gefäßlumen/Intima und von Media/Adventitia. Dafür wurden axiale Aufnahmen des distalen, geraden Abschnitts der linken sowie rechten A. carotis communis gemacht, wobei die Länge des untersuchten Abschnitts beidseits 10 mm betrug. Die IMD wurde als arithmetisches Mittel aus 10 Messungen pro Seite bei einem kontinuierlichen Messpunkteabstand von einem Millimeter berechnet. In SHIP-2 wurden ein linearer Schallkopf, der eine Betriebsfrequenz von 13 MHz besaß und ein tragbares, ebenfalls hochauflösendes Ultraschallgerätesystem (vivid-i, GE Medical Systems, Waukesha, Wisconsin, USA) verwendet. Im Unterschied zu den vorangegangenen Studienwellen wurde die IMD halbautomatisch ermittelt. Dabei wurde Software gestützt aus 250 Messpunkten auf 10 mm Gefäßlänge beider Seiten der gewünschte Zielwert berechnet. Die Anwendung unterschiedlicher Methoden zur Bestimmung der IMD wurde bei der statistischen Auswertung der Daten berücksichtigt und wird im Abschnitt 2.7 beschrieben.

2.7 Statistische Auswertung

Wesentliche Charakteristika der Studienteilnehmer wurden, getrennt nach Geschlecht, mittels deskriptiver Statistik zusammengefasst. Da je nach betrachtetem Endpunkt verschiedene Studienpopulationen resultierten, wurden die Charakteristika aus SHIP-0 unabhängig vom Endpunkt ermittelt. Dafür wurden aus SHIP-0 nur diejenigen Probanden ausgeschlossen, die einen Herzschrittmacher oder eine Karotisstenose aufwiesen oder fehlende Angaben in der Exposition oder den Confoundern aufwiesen. Insgesamt konnten so für 3.823 Probanden die allgemeinen Charakteristika ermittelt werden. Die Angaben zu IMD, LVMI und NT-proBNP wurden dann jeweils für Probanden mit entsprechenden vorhandenen Messwerten ermittelt. Kontinuierliche Variablen wurden als Median mit Interquartilsabstand und kategoriale Variablen in Prozent angegeben. Unterschiede zwischen Männern und Frauen wurden mittels Mann-Whitney-U-Test bei kontinuierlichen oder mittels Chi-Quadrat-Test bei kategorialen Variablen auf statistische Signifikanz geprüft. Längsschnittliche Assoziationen zwischen IGF-I, IGFBP-3 oder der Ratio aus IGF-I/IGFBP-3 und Veränderungen der IMD, des LVMI oder des NT-proBNPs wurden mittels gemischter linearer Modelle mit ‚random intercept‘ und Messwiederholungen analysiert. Bei Studienteilnehmern, die zweimal untersucht

wurden, wurde die Veränderung in den interessierenden Variablen in einem einzelnen Zeitraum von 5 Jahren betrachtet. Bei Studienteilnehmern, die dreimal untersucht wurden, sind zwei 5-Jahres-Zeiträume berücksichtigt worden. Die entsprechenden Δ_{t1t0} und Δ_{t2t1} wurden basierend auf den Originalwerten oder z-score-Werten ermittelt (Abbildung 3). Für die IMD wurden aufgrund der veränderten Messmethodik zwischen SHIP-1 und SHIP-2 ausschließlich z-score-Werte verwendet. Für den LVMI wurden sowohl Originalwerte (in der Analyse von Teilnehmern mit mindestens zwei Untersuchungen) als auch z-score-Werte (alle Analysen) und für NT-proBNP ausschließlich Originalwerte verwendet. Die Berechnung der z-score-Werte erfolgte einmal anhand von allen Teilnehmern ($\Delta \text{ z-score}_{\text{all}}$) und einmal basierend auf Teilnehmern mit einem Alter ab 45 Jahren ($\Delta \text{ z-score}_{45\text{y}}$). Vor Durchführung der Analysen wurde geprüft, ob eine Effektmodifikation durch das Geschlecht vorlag. Im Fall von NT-proBNP wurde eine signifikante Interaktion ($p < 0,10$) entdeckt und alle nachfolgenden Analysen nach Geschlecht stratifiziert. Auch für die IMD und den LVMI wurden zusätzlich zu den gemeinsamen Modellen geschlechtsspezifische Analysen gerechnet, obwohl die Interaktionsterme nicht signifikant waren ($p > 0,10$). Diese Analysen begründen sich durch die Beobachtung von Geschlechtsunterschieden in den Assoziationen von IGF-I oder IGFBP-3 zu kardiovaskulären Endpunkten im Rahmen früherer Publikationen aus der SHIP [31, 59]. Alle beschriebenen Regressionsmodelle wurden adjustiert für das Alter, Gesamtcholesterin, glykiertes Hämoglobin (HbA1c), den Taillenumfang, Rauchen und den systolischen Blutdruck. Zusätzlich wurde in den nicht nach Geschlecht stratifizierten Modellen für das Geschlecht adjustiert. In den Modellen wurde jeweils ein Anstieg von IGF-I, IGFBP-3 und der IGF-I/IGFBP-3-Ratio um eine Standardabweichung (engl. standard deviation/SD) modelliert. Aus den Regressionsmodellen werden die Effektschätzer (beta), Standardfehler (engl. standard error/SE) und p-Werte angegeben. Restricted Cubic Splines, die drei Knoten beinhalteten und gemäß der Empfehlung von Stone und Koo [60] an der 5., 50. und 95. Perzentile positioniert wurden, kamen zum Einsatz, um nicht-lineare Assoziationen aufzudecken. Einzig in den Modellen für NT-proBNP zeigten sich bei den Männern Hinweise auf nicht-lineare Zusammenhänge. Die entsprechenden Spline-Komponenten wurden in den Modellen als IGF-I', IGFBP-3' und IGF-I/IGFBP-3-Ratio' bezeichnet.

Die statistische Datenanalyse erfolgte unter Einsatz von SAS in der Version 9.4 (SAS Statistical Software, Version 9.4, SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina, USA).

3. Ergebnisse

3.1 Merkmale der Studienteilnehmer

Allgemeine Merkmale der Studienteilnehmer wurden in 3.823 Probanden der Studienpopulation ermittelt und in Tabelle 1 veranschaulicht.

Tabelle 1: Merkmale der Studienteilnehmer in der Basiserhebung stratifiziert nach Geschlecht

Merkmale	Männer (n=1.841)	Frauen (n=1.982)	p
Alter (Jahre)	49 (27)	48 (26)	0,01
Raucher (%)			<0,01
Nichtraucher	21,4	49,5	
Ehemalige Raucher	43,5	23,0	
Aktuelle Raucher	35,1	27,5	
Alkoholkonsum (g/Tag)	11,4 (22,9)	3,3 (7,2)	<0,01
Taillenumfang (cm)	95 (15)	81 (20)	<0,01
Gesamtcholesterin (mmol/l)	5,7 (1,5)	5,6 (1,6)	0,38
LDL-Cholesterin (mmol/l)	3,6 (1,4)	3,4 (1,5)	<0,01
Systolischer Blutdruck (mmHg)	140(23)	126 (28)	<0,01
Bluthochdruck (%)	60,5	39,7	<0,01
Diabetiker (%)	9,2	7,3	0,02
IGF-I (ng/ml)	122 (60)	121 (65)	0,12
IGFBP-3 (ng/ml)	4064 (1307)	4249 (1126)	<0,01
IGF-I/IGFBP-3-Ratio	0,030 (0,011)	0,028 (0,012)	<0,01
IMD (mm)*	0,80 (0,19)	0,72 (0,18)	<0,01
LVMI (g/m ^{2.7})*	48 (16)	44 (16)	<0,01
NT-proBNP (pg/ml)*	34 (57)	67 (76)	<0,01

Kontinuierliche Daten sind als Median (Interquartilsabstand) abgebildet. Kategoriale Daten sind als Anteil präsentiert. Unterschiede zwischen Männern und Frauen wurden mittels Mann-Whitney-U-Test (kontinuierliche Daten) oder Chi-Quadrat-Test (kategoriale Daten) auf statistische Signifikanz geprüft. LDL = Low density lipoprotein; IGF-I = Insulin-like growth factor I; IGFBP-3 = Insulin-like growth factor-binding protein-3; IMD = Intima-Media-Dicke; LVMI = Linksventrikulärer Massenindex; NT-proBNP = N-terminal pro-brain natriuretic peptide. *Abweichende Zahlen: IMD (1.028 Männer; 1.054 Frauen), LVMI (768 Männer; 929 Frauen), NT-proBNP (1.640 Männer; 1.824 Frauen).

Insgesamt waren die Frauen jünger, seltener dem Rauchen zugewandt und konsumierten deutlich weniger Alkohol als Männer. Sie litten weniger häufig an Bluthochdruck oder Diabetes mellitus. Des Weiteren war der Taillenumfang bei Frauen kleiner und es waren sowohl die LDL-Cholesterin-Werte als auch die systolischen Blutdruck-Werte niedriger als bei den Männern. Beide Geschlechter wiesen ähnliche Gesamtcholesterin-Spiegel auf.

Die Konzentrationen von IGF-I im Blutserum zeigten keine wesentlichen geschlechtsspezifischen Unterschiede. Jedoch hatten Frauen höhere IGFBP-3-Werte als Männer und dementsprechend ein niedrigeres IGF-I/IGFBP-3-Verhältnis. Mit Fokus auf die kardiovaskulären Marker wurde sichtbar, dass höhere Serumkonzentrationen von NT-proBNP bei den Frauen vorlagen, während die IMD der A. carotis communis als auch der LVMI beim weiblichen Geschlecht insgesamt kleiner waren im Vergleich zu den männlichen Studienteilnehmern.

3.2 Intima-Media-Dicke (IMD)

In den vorliegenden Analysen zeigte sich eine inverse Assoziation zwischen der Konzentration von IGF-I im Blutserum und Veränderungen der IMD (Tabelle 2 und Abbildung 4). Bei der gemeinsamen Analyse beider Geschlechter und Einschluss aller Studienteilnehmer mit mindestens zwei Untersuchungen waren niedrigere IGF-I-Konzentrationen mit einer stärkeren Zunahme der IMD über die Zeit assoziiert. In weiterführenden geschlechtsspezifischen Analysen bestätigte sich diese Assoziation bei Frauen, während die statistische Signifikanz bei Männern knapp verpasst wurde ($p=0,07$). Ebenfalls verpasst wurde eine statistische Signifikanz in den gemeinsamen Modellen in der Subgruppe der Teilnehmer ab 45 Jahren mit mindestens zwei Untersuchungen ($p=0,06$) und mit drei Untersuchungen ($p=0,36$).

Die Ergebnisse der Assoziationen zwischen der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und der IMD waren fast identisch zu jenen von IGF-I. Es zeigte sich im gemeinsamen Modell beider Geschlechter sowie geschlechtsspezifisch bei den Frauen eine signifikante inverse Assoziation. Bei den Männern sowie in den Subgruppenanalysen zeigten sich keine weiteren Assoziationen bis auf eine Ausnahme: Die IGF-I/IGFBP-3-Ratio war invers mit der IMD assoziiert bei Frauen mit mindestens zwei Untersuchungen und einem Alter ab 45 Jahren. Darüber hinaus zeigte keines der berechneten Regressionsmodelle eine statistisch signifikante Assoziation zwischen IGFBP-3 und Veränderungen der IMD.

Tabelle 2. Längsschnittliche Assoziationen zwischen IGF-I, IGFBP-3 oder der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und Veränderungen der IMD während eines 5-jährigen Follow-up.

Population Exposition		Outcome								
		$\Delta z\text{-score}_{\text{all}}$			$\Delta z\text{-score}_{45\text{y}}$ bei mind. 2 Beobachtungen			$\Delta z\text{-score}_{45\text{y}}$ bei 3 Beobachtungen		
		beta	SE	p	beta	SE	p	beta	SE	p
Gesamt	<i>Anzahl Beobachtungen</i>		3.630			2.910			2.053	
	IGF-I pro SD	-0,044	0,012	<0,01	-0,028	0,014	0,06	-0,016	0,017	0,36
	IGFBP-3 pro SD	-0,005	0,012	0,68	-0,020	0,013	0,13	-0,015	0,015	0,31
	IGF-I/IGFBP-3-Ratio pro SD	-0,045	0,012	<0,01	-0,012	0,014	0,42	-0,001	0,017	0,94
Männer	<i>Anzahl Beobachtungen</i>		1.762			1.448			1.007	
	IGF-I pro SD	-0,034	0,018	0,07	-0,017	0,021	0,41	0,004	0,024	0,88
	IGFBP-3 pro SD	-0,018	0,019	0,34	-0,033	0,021	0,11	-0,016	0,023	0,49
	IGF-I/IGFBP-3-Ratio pro SD	-0,024	0,018	0,18	0,012	0,021	0,57	0,026	0,024	0,28
Frauen	<i>Anzahl Beobachtungen</i>		1.868			1.462			1.046	
	IGF-I pro SD	-0,054	0,016	<0,01	-0,039	0,020	0,05	-0,041	0,025	0,10
	IGFBP-3 pro SD	0,005	0,015	0,75	-0,008	0,017	0,62	-0,015	0,020	0,45
	IGF-I/IGFBP-3-Ratio pro SD	-0,065	0,016	<0,01	-0,041	0,020	0,04	-0,038	0,024	0,12

Ergebnisse aus gemischten linearen Regressionsmodellen adjustiert für Geschlecht (nicht in geschlechtsspezifischen Modellen), Alter, Taillenumfang, Gesamtcholesterin, HbA1c, systolischen Blutdruck und Raucherstatus. Bei der IMD-Messung gab es einen Methodenwechsel zwischen SHIP-1 und SHIP-2. Aufgrund dessen sind die Messergebnisse zwischen den Studienwellen nicht vergleichbar und die Anwendung von z-score-Werten war notwendig. IGF-I = Insulin-like growth factor I; IGFBP-3 = Insulin-like growth factor-binding protein-3; IMD = Intima-Media-Dicke; SD = Standardabweichung; SE = Standardfehler.

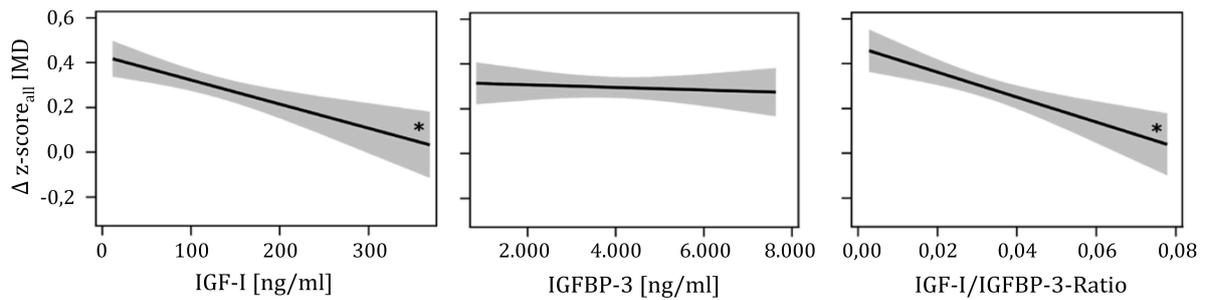


Abbildung 4. Assoziationen zwischen Insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-Bindungsprotein-3 (IGFBP-3) sowie der IGF-I/IGFBP-3-Ratio mit Veränderungen in der Intima-Media-Dicke (IMD).

Ergebnisse aus gemischten linearen Modellen für alle Teilnehmer mit mindestens zwei Untersuchungen, adjustiert für Geschlecht, Alter, Taillenumfang, Gesamtcholesterin, HbA1c, systolischen Blutdruck und Raucherstatus. Graue Bereiche geben das 95% Konfidenzintervall an. *Zeigen signifikante Assoziationen an ($p < 0,05$).

3.3 Linksventrikulärer Massenindex (LVMI)

In der vorliegenden Studie konnten keine Assoziationen zwischen IGF-I, IGFBP-3 oder der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und Veränderungen des LVMI detektiert werden (Tabelle 3, Abbildung 5). Weder im gemeinsamen Modell beider Geschlechter, noch in geschlechtsspezifischen Modellen zeigte sich im Verlauf ein Hinweis auf eine entsprechende Assoziation. Dies galt einschließlich der Berücksichtigung von Originalwerten, z-score-Werten und Subgruppenanalysen.

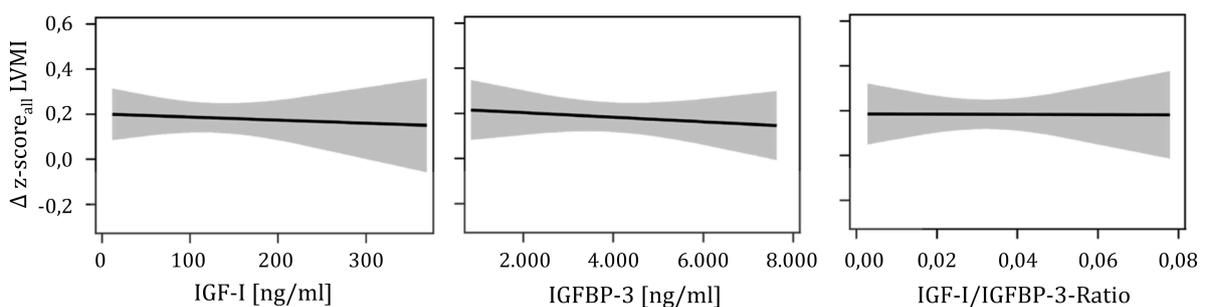


Abbildung 5. Assoziationen zwischen Insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-Bindungsprotein-3 (IGFBP-3) sowie der IGF-I/IGFBP-3-Ratio mit Veränderungen des Linksventrikulären Massenindex (LVMI).

Ergebnisse aus gemischten linearen Modellen für alle Teilnehmer mit mindestens zwei Untersuchungen, adjustiert für Geschlecht, Alter, Taillenumfang, Gesamtcholesterin, HbA1c, systolischen Blutdruck und Raucherstatus. Graue Bereiche geben das 95% Konfidenzintervall an. *Zeigen signifikante Assoziationen an ($p < 0,05$).

Tabelle 3. Längsschnittliche Assoziationen zwischen IGF-I, IGFBP-3 oder der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und Veränderungen des LVMI während eines 5-jährigen Follow-up.

Population	Exposition	Outcome											
		Δ Originalwerte			Δ z-score _{all}			Δ z-score _{45y} bei mind. 2 Beobachtungen			Δ z-score _{45y} bei 3 Beobachtungen		
		beta	SE	p	beta	SE	p	beta	SE	p	beta	SE	p
Gesamt	<i>Anzahl Beobachtungen</i>		2.678			2.678			2.059			1.212	
	IGF-I pro SD	-0,026	0,231	0,91	-0,006	0,017	0,75	-0,001	0,021	0,98	-0,029	0,029	0,32
	IGFBP-3 pro SD	-0,090	0,218	0,68	-0,009	0,016	0,58	-0,007	0,019	0,70	-0,016	0,025	0,52
	IGF-I/IGFBP-3-Ratio pro SD	0,010	0,226	0,97	0,000	0,017	0,99	0,004	0,021	0,86	-0,019	0,027	0,49
Männer	<i>Anzahl Beobachtungen</i>		1.187			1.187			926			532	
	IGF-I pro SD	0,041	0,361	0,91	-0,001	0,028	0,96	-0,012	0,033	0,73	-0,054	0,044	0,22
	IGFBP-3 pro SD	-0,017	0,355	0,96	-0,006	0,028	0,83	-0,004	0,030	0,90	-0,018	0,041	0,67
	IGF-I/IGFBP-3-Ratio pro SD	0,105	0,348	0,76	0,006	0,027	0,83	-0,004	0,031	0,91	-0,039	0,041	0,34
Frauen	<i>Anzahl Beobachtungen</i>		1.491			1.491			1.133			680	
	IGF-I pro SD	-0,119	0,299	0,69	-0,012	0,022	0,58	0,005	0,028	0,86	-0,005	0,038	0,90
	IGFBP-3 pro SD	-0,124	0,275	0,65	-0,010	0,020	0,61	-0,007	0,023	0,76	-0,011	0,031	0,72
	IGF-I/IGFBP-3-Ratio pro SD	-0,133	0,299	0,66	-0,010	0,022	0,65	0,007	0,028	0,81	0,002	0,037	0,97

Ergebnisse aus gemischten linearen Regressionsmodellen adjustiert für Geschlecht (nicht in geschlechtsspezifischen Modellen), Alter, Taillenumfang, Gesamtcholesterin, HbA1c, systolischen Blutdruck und Raucherstatus. IGF-I = Insulin-like growth factor I; IGFBP-3 = Insulin-like growth factor-binding protein-3; LVMI = Linksventrikulärer Massenindex; SD = Standardabweichung; SE = Standardfehler.

3.4 NT-proBNP

Im Unterschied zur IMD und dem LVMI wurden Assoziationen zwischen IGF-I, IGFBP-3 sowie der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und Veränderungen der Serumkonzentration von NT-proBNP ausschließlich in geschlechtsspezifischen Analysen geprüft. Hier zeigten sich bei Teilnehmern mit mindestens zwei Untersuchungen sowohl bei den Frauen als auch bei den Männern statistisch signifikante Assoziationen zwischen IGF-I und NT-proBNP (Tabelle 4 und Abbildung 6). Diese Assoziationen unterschieden sich jedoch zwischen den Geschlechtern. Bei den Frauen waren höhere Konzentrationen von IGF-I im Blutserum mit einem Anstieg der Serumkonzentration von NT-proBNP assoziiert. Bei den Männern hingegen zeigte sich ein U-förmiger Zusammenhang. Beide Resultate blieben auch in der Subgruppenanalyse von Teilnehmern mit drei Untersuchungen stabil.

Eine ebenfalls U-förmige Assoziation zeigte sich bei den Männern zwischen IGFBP-3 und NT-proBNP bei Teilnehmern mit mindestens zwei Untersuchungen. Dieses Ergebnis konnte in der entsprechenden Subgruppe der Teilnehmer mit drei Untersuchungen nicht repliziert werden, wobei die statistische Signifikanz nur knapp verpasst wurde. Bei den Frauen zeigten sich keine Assoziationen hinsichtlich IGFBP-3 und NT-proBNP.

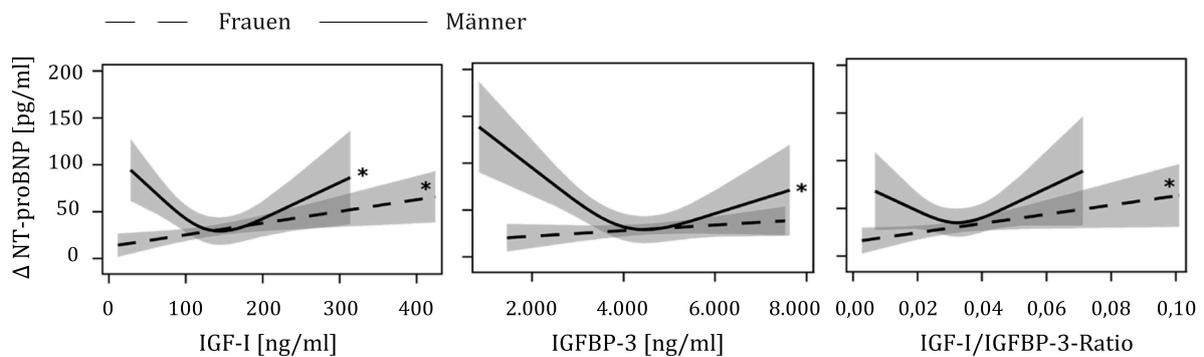


Abbildung 6. Assoziationen zwischen Insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-Bindungsprotein-3 (IGFBP-3) sowie der IGF-I/IGFBP-3-Ratio mit Veränderungen im NT-proBNP.

Ergebnisse aus gemischten geschlechtsspezifischen linearen Modellen für alle Teilnehmer mit mindestens zwei Untersuchungen, adjustiert für Alter, Taillenumfang, Gesamtcholesterin, HbA1c, systolischen Blutdruck und Raucherstatus. Bei den Männern zeigte sich ein nicht-linearer Zusammenhang, der mittels limitierten kubischen Splines modelliert wurde. Graue Bereiche geben das 95% Konfidenzintervall an. *Zeigen signifikante Assoziationen an ($p < 0,05$).

Die Assoziationen zwischen der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und Veränderungen im NT-proBNP ähnelten bei den Frauen jenen von IGF-I: Es wurden positive lineare Assoziationen in den Gruppen von Teilnehmerinnen mit mindestens zwei als auch mit drei Untersuchungen detektiert. Bei den Männern zeigte sich wiederum eine Tendenz zu einem U-förmigen Zusammenhang, jedoch wurde eine statistische Signifikanz in den Modellen verfehlt.

Tabelle 4. Längsschnittliche Assoziationen zwischen IGF-I, IGFBP-3 oder der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und Veränderungen im NT-proBNP während eines 5-jährigen Follow-up.

Popula- tion	Exposition	Outcome					
		Δ Originalwerte bei mind. 2 Beobachtungen			Δ Originalwerte bei 3 Beobachtungen		
		beta	SE	p	beta	SE	p
	<i>Anzahl Beobachtungen</i>		1.942			1.458	
Männer	IGF-I pro SD	-34,11	9,31	<0,01	-21,45	7,96	0,01
	IGF-I'	3,98	1,12	<0,01	2,68	1,01	0,01
	IGFBP-3 pro SD	-35,75	8,73	<0,01	-13,80	7,38	0,06
	IGFBP-3'	3,08	0,89	<0,01	1,53	0,84	0,07
	IGF-I/IGFBP-3-Ratio pro SD	-13,71	8,71	0,12	-14,28	7,49	0,06
	IGF-I/IGFBP-3-Ratio'	2,01	1,05	0,06	1,71	0,92	0,06
	<i>Anzahl Beobachtungen</i>		2.229			1.720	
Frauen	IGF-I pro SD	5,92	2,20	0,01	7,58	2,27	<0,01
	IGFBP-3 pro SD	2,57	2,00	0,20	2,42	2,11	0,25
	IGF-I/IGFBP-3-Ratio pro SD	4,48	2,15	0,04	6,87	2,18	<0,01

Ergebnisse aus gemischten linearen Regressionsmodellen adjustiert für Geschlecht (nicht in geschlechtsspezifischen Modellen), Alter, Taillenumfang, Gesamtcholesterin, HbA1c, systolischen Blutdruck und Raucherstatus. IGF-I', IGFBP-3' und IGF-I/IGFBP-3-Ratio' repräsentieren die Spline Komponenten. IGF-I = Insulin-like growth factor I; IGFBP-3 = Insulin-like growth factor-binding protein-3; NT-proBNP = N-terminal pro-brain natriuretic peptide; SD = Standardabweichung; SE = Standardfehler.

4. Diskussion

Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie waren niedrigere Serumkonzentrationen von IGF-I mit einer größeren Zunahme der IMD im Verlauf assoziiert, wobei sich die Assoziation in geschlechtsspezifischen Analysen lediglich bei Frauen beständig zeigte. Weiterhin zeigten sich positive Assoziationen zwischen der IGF-I-Serumkonzentration als auch der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und Veränderungen in der NT-proBNP-Serumkonzentration bei Frauen, während sich bei Männern U-förmige Assoziationen von IGF-I sowie IGFBP-3 zu NT-proBNP offenbarten. Keine Assoziationen konnten hingegen entdeckt werden zwischen IGF-I, IGFBP-3 oder der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und Veränderungen des LVMI im Verlauf.

4.1 Intima-Media-Dicke (IMD)

Die Studienergebnisse deckten eine signifikante inverse Assoziation zwischen der Serumkonzentration von IGF-I und Veränderungen der IMD über die Zeit auf, wobei tiefergehende geschlechtsspezifische Analysen Unterschiede offenbarten: So blieb die Assoziation nur bei Frauen stabil, während bei den Männern das Signifikanzniveau knapp verpasst wurde.

4.1.1 Querschnittsstudien

Vorausgehende Studien, die sich mit einem möglichen Zusammenhang zwischen IGF-I und der IMD befassten, besaßen häufig ein querschnittliches Design [30, 61-64]: In einer finnischen Analyse wurde eine positive Relation von IGF-I zur IMD der sonografierten Karotisgefäße bei Frauen sowie zumindest in Teilanalysen eine diesbezügliche inverse Relation bei Männern entdeckt [61]. Obwohl jene Studie andere Relationen aufzeigte als die vorliegende, so deuten beide Arbeiten übereinstimmend auf die Existenz geschlechtsspezifischer Unterschiede hin [61]. Zwei weitere querschnittliche Studien entdeckten eine negative Assoziation hinsichtlich ungebundenem IGF-I und der IMD der Karotiden, aber keine vergleichbare Assoziation in Bezug auf die Gesamtheit an IGF-I oder IGFBP-3 [62, 63]. Allerdings wurden in beiden Untersuchungen ausschließlich Männer betrachtet, sodass keine geschlechtsspezifischen Analysen realisiert werden konnten [62, 63]. Weiterhin berichteten Kawachi et al. [64] über positive Zusammenhänge bezüglich IGF-I und IGFBP-3 und der durchschnittlichen IMD der Karotiden. Spilcke-Liss et al. [30],

deren Auswertung ebenfalls auf SHIP-Daten beruhte, fanden im Hinblick auf IGF-I richtungsgleiche Ergebnisse wie Kawachi et al. [64]. In jener Studie war jedoch kein Teilnehmer jünger als 45 Jahre alt, wohingegen Teilnehmer mit diesem Alterskriterium in der vorliegenden Arbeit lediglich einer Subgruppe entsprachen [30]. Unter zusätzlicher Berücksichtigung des in unserer Studie verwendeten längsschnittlichen Aufbaus stellen die hier vorliegenden Ergebnisse gewissermaßen ein umfangreicheres Update der bisherigen Sachlage dar, auch wenn diese weder in der Gesamtbetrachtung noch in der altersgleichen Subgruppenanalyse mit den zuvor ermittelten Erkenntnissen von Spilckeliss et al. [30] übereinstimmen. Generell ist die fehlende Prüfbarkeit eines möglicherweise bestehenden zeitlichen Zusammenhangs bezüglich IGF-I und der IMD ein limitierender Faktor der zuvor erwähnten Querschnittsstudien [30, 61-64].

4.1.2 Längsschnittstudien

Vorbekannte, längsschnittlich konzipierte Studien, die aufgrund ihres Designs auch Rückschlüsse auf zeitliche Zusammenhänge einer Assoziation erlauben, haben überwiegend Assoziationen zwischen IGF-I und manifesten kardiovaskulären Krankheiten untersucht und weniger subklinische Parameter wie die IMD [28, 34, 36-38]. Dabei schienen Teilnehmer mit niedrigeren Serumkonzentrationen von IGF-I insgesamt stärker gefährdet, im zeitlichen Verlauf eine ischämische Herzkrankheit [34], eine Herzinsuffizienz [36, 38] oder einen ischämischen Schlaganfall [28, 37] zu erleiden. Die hier präsentierten Studienergebnisse können als vereinbare Erweiterung zu den vorherigen Studienergebnissen angesehen werden, da niedrigere Serumkonzentrationen von IGF-I mit einer über die Zeit vermehrten Zunahme der IMD assoziiert waren [28, 34, 36-38]. Prominente Geschlechtsunterschiede hinsichtlich der Relationen wurden in den erwähnten Vorstudien nicht beschrieben oder nicht genauer untersucht, während hier ein deutlich ausgeprägter statistischer Zusammenhang ausschließlich bei den Frauen nachgewiesen werden konnte [28, 34, 36-38]. Insgesamt deuten die aktuellen Ergebnisse auf einen protektiven Effekt von IGF-I hinsichtlich der Entwicklung einer erhöhten IMD der Karotiden hin und damit auch hinsichtlich der Entwicklung von Atherosklerose.

An diese Hypothese anknüpfend könnten auf niedrigerem Niveau befindliche Serumkonzentrationen von IGF-I auch in Zusammenhang mit einem gesteigerten kardiovaskulär bedingten Mortalitätsrisiko stehen. Im Rahmen der SHIP gingen dieser Frage bereits Friedrich et al. [59] nach. Demnach könnte es am ehesten bei den Männern einen diesbezüglichen Zusammenhang geben, während in entsprechenden Analysen bei

den Frauen keine Assoziationen ersichtlich wurden [59]. Die beiden auf SHIP-Daten basierenden Untersuchungen unterstützen somit die Existenz von Geschlechtsunterschieden sowie die Richtung der Assoziation von IGF-I im Hinblick auf kardiovaskuläre oder mortalitätsbezogene Endpunkte [59].

Weitere Studien über Zusammenhänge zwischen IGF-I und Mortalität lieferten widersprüchliche Ergebnisse [35, 38, 65]. So wurde in der Rancho Bernardo Study eine inverse Assoziation zwischen IGF-I und dem Risiko für eine zum Tode führende ischämische Herzkrankheit entdeckt [35]. Diese von Laughlin et al. [35] erzielten Erkenntnisse harmonisieren mit den Resultaten der vorliegenden Studie. Demgegenüber steht allerdings das Ergebnis einer niederländischen Studie, die Teilnehmer ab ca. 65 Jahren untersuchte und unabhängig des Geschlechts ein erhöhtes kardiovaskulär bedingtes Mortalitätsrisiko bei Probanden mit vergleichsweise hohen als auch bei solchen mit verhältnismäßig niedrigen IGF-I-Serumspiegeln ermittelte [65]. Dieses Studienergebnis wurde nachfolgend durch eine Metaanalyse von Burgers et al. [66] untermauert, die zusätzlich eine U-förmige Verknüpfung im Hinblick auf die Gesamtmortalität feststellte. Weiterhin wurde im Rahmen der Cardiovascular Health Study lediglich eine positive Relation von IGF-I hinsichtlich kardiovaskulär bedingter Mortalität aufgedeckt [38]. Vor diesem Hintergrund erscheint auch der von Sanders et al. [67] gewählte und bislang weniger durchleuchtete Ansatz interessant, neben Ausgangswerten auch Veränderungen von IGF-I über die Zeit zu betrachten, wenn mögliche Zusammenhänge zwischen IGF-I und dem Mortalitätsrisiko erforscht werden. Sanders et al. lieferten dabei Hinweise, wonach sich vergleichsweise robuste Serumkonzentrationen von IGF-I günstig auf das Mortalitätsrisiko auswirken [67].

Im Kontrast zu der hier präsentierten Studie, aber vereinbar mit zwei zuvor genannten Mortalitätsuntersuchungen [65, 66] berichtete eine schwedische Studie, dass neben niedrigen auch verhältnismäßig hohe im Blut zirkulierende IGF-I-Spiegel bedeutsam mit einer Risikosteigerung für das Auftreten bestimmter kardiovaskulärer Ereignisse korrelierten [40]. Eine Generalisierbarkeit dieser Resultate erscheint allerdings nicht möglich, da weder Frauen noch Studienteilnehmer unter 69 Jahren untersucht wurden [40]. Ebenfalls konträr zu den hier vorgestellten Ergebnissen entdeckten Andreassen et al. [39] eine positive Korrelation zwischen der im Blutplasma befindlichen IGF-I-Konzentration und der Entstehungswahrscheinlichkeit einer chronisch ausgeprägten Herzinsuffizienz. Die Erkenntnisse von Andreassen et al. [39] stehen

allerdings auch im Widerspruch mit Resultaten aus der Framingham Heart Study, in der eine inverse Assoziation hinsichtlich IGF-I und dem im Verlauf resultierenden Herzinsuffizienzrisiko identifiziert wurde [36]. Auffallend in besagter Studie [39] ist die deutlich kleinere Teilnehmerzahl im Vergleich zur vorliegenden Untersuchung sowie das höhere Teilnehmeralter, auch wenn die Vergleichbarkeit beider Studien aufgrund der deutlich verschiedenen Endpunkte nur bedingt möglich erscheint. Des Weiteren diskutierten die Autoren bereits, dass nur wenige Fälle von Herzinsuffizienz erfasst wurden und dass im Vergleich mit der Framingham Heart Study [36] die genaue Begriffsbestimmung von Herzinsuffizienz als Endpunkt nicht exakt einheitlich war [39]. Insgesamt bekräftigen die hier präsentierten Studienergebnisse vorherige Entdeckungen [28, 34, 36-38], wonach eine signifikante inverse Verknüpfung zwischen IGF-I und kardiovaskulär ungünstigeren Endpunkten besteht, da niedrige Serumkonzentrationen von IGF-I mit einer über die Zeit vermehrten Zunahme der IMD assoziiert waren.

4.1.3 Pathomechanismen

Auf zellulärer Ebene sind die von IGF-I ausgehenden Einflüsse hinsichtlich der Atherosklerose nicht in allen Einzelheiten verstanden [22]. Bekannt ist allerdings, dass durch die Expressierung des entsprechenden Rezeptors in Endothelzellen sowie in glatten Muskelzellen der Gefäßwände und in Makrophagen IGF-I-Wirkungen in solchen Zellen entfaltet werden, die eine bedeutsame Rolle bei der Atheroskleroseentstehung einnehmen [16, 20, 22]. Weiterhin scheint IGF-I auf Basis einer kürzlich erfolgten und Grundlagenforschung berücksichtigenden Analyse eher eine gesundheitsdienliche Beeinflussung hinsichtlich der Atherosklerose zu bewirken [22]. Demnach würde IGF-I unter anderem bewirken, dass insgesamt weniger Makrophagen bzw. deren Vorläuferzellen (Monozyten) in die typischen Intima-Plaques wandern und dass deren Entwicklung in Schaumzellen gebremst wird [22]. Weiterhin würden ungünstige Veränderungen der Interzellulärsubstanz durch Makrophagen gebremst und die Synthese von makrophagentypischen Botenstoffen, die das Entzündungsmilieu fördern, herabgesetzt [22]. Neben diesen über Makrophagen vermittelten Einflüssen von IGF-I würde ebenfalls eine stabilisierende Wirkung sowie eine geringere Gesamtausprägung von Plaques erzielt, indem IGF-I positiv auf die Anzahl glatter Muskelzellen in den sich atherosklerotisch veränderten Gefäßwandabschnitten einwirkt sowie auf die Beteiligung dieser Zellen am Aufbau der Interzellulärsubstanz [22]. Diese sich aktuell nach Higashi et

al. [22] abzeichnenden Wirkmechanismen sind mit unseren Ergebnissen hinsichtlich einer verringerten Zunahme der IMD über die Zeit bei initial adäquater Serumkonzentration von IGF-I gut vereinbar. Trotzdem existieren nach wie vor auch nicht übereinstimmende Forschungsergebnisse in Bezug auf die Wirkungsweise von IGF-I auf an Atherosklerose beteiligte Zellen, sodass es weiterer wissenschaftlicher Anstrengung bedarf, um die pathologischen oder physiologischen Prozesse diesbezüglich noch genauer zu identifizieren [22].

Einen weiteren Ansatz, wie IGF-I mit kardiovaskulären Erkrankungen verbunden sein könnte, lieferten Thum et al. [21], die diesbezüglich Endothelvorläuferzellen (engl. endothelial progenitor cells/EPCs) untersuchten. Hinreichend bekannt ist, dass mit fortschreitendem Alter die im Blut zirkulierenden Konzentrationen von IGF-I sinken und Funktionseinschränkungen im Endothel zunehmen [68, 69]. Thum et al. [21] entdeckten, dass eine Konzentrationserhöhung von IGF-I durch mehrtägige Verabreichung von Somatotropin zu einem positiven Effekt auf die Funktionsfähigkeit sowie auf die Anzahl der EPCs im Kreislauf bei Männern im mittleren Lebensabschnitt führte. Dadurch konnte altersbedingten Nachteilen gegengesteuert werden [21]. Die Autoren ordneten ihre Resultate auch unter Berücksichtigung einer vorherigen Entdeckung ein, wonach eine höhere Anzahl an neu aufgetretenen, atherosklerotisch bedingten Ereignissen solchen Studienteilnehmern im Beobachtungszeitraum widerfuhr, die vergleichsweise niedrige Ausgangskonzentrationen an EPCs besaßen [70]. Thum et al. [21] schlussfolgerten, dass die beschriebene Verknüpfung von IGF-I mit EPCs einen vorstellbaren zugrunde liegenden Prozess zwischen kardiovaskulär bedingten Ereignissen und niedrigen Serumkonzentrationen von IGF-I auf zellulärer Ebene darstellen könnte. Demgegenüber konnte eine italienische Studie keine altersbezogene Beeinflussung im Hinblick auf die Anzahl der EPCs bei an Akromegalie erkrankten Individuen feststellen, wobei die Erkrankten im Vergleich zu akromegaliefreien Studienteilnehmern eine insgesamt verminderte Anzahl jener Zellen in der Zirkulation aufwiesen [71]. Dies könnte eine Erklärung für die ungünstige Risikosteigerung hinsichtlich kardiovaskulär bedingter Leiden bei an Akromegalie erkrankten Menschen sein [25, 27, 72]. Weiterhin konnte bei Individuen, die einen aktiven Krankheitsstatus vorwiesen und eine medikamentöse Therapie gegen Akromegalie erhielten, ein adäquater Anstieg bei den noch in der Frühform befindlichen EPCs festgestellt werden [71]. Die Frage, wie IGF-I im Detail Einfluss auf die in der Blutstrombahn enthaltene Anzahl EPCs nimmt, konnte insgesamt

aber noch nicht vollständig beantwortet werden [22]. Ergänzend zu bisherigen Erwägungen diskutierten Isgaard et al. [23] über eine vermittelnde Rolle von Stickstoffmonoxid (NO) in Bezug auf IGF-I-Wirkungen an den Gefäßen, da u.a. experimentell nachgewiesen werden konnte, dass IGF-I die Freisetzung jener Substanz aus Endothelzellen triggert [73].

In der hier präsentierten Studie wurden Geschlechtsunterschiede hinsichtlich IGF-I und der IMD der Karotiden offenbart. Die Datenlage im Hinblick auf detaillierte Erklärungsansätze hierzu ist allerdings nur dünn ausgeprägt. Für die Unterschiede könnten möglicherweise Einflüsse von Sexualhormonen verantwortlich sein, was bereits in ähnlicher Form von Hietaniemi et al. [61] erwogen wurde. Jedoch änderte in ihrer Studie weder eine Unterteilung in noch vorhandene oder nicht mehr einsetzende Regelblutung noch die weitere Differenzierung in ersatzmäßige Einnahme oder Nichteinnahme von Hormonen (Progestin oder Östrogen oder deren Kombination) die entdeckte Relation bei Frauen [61].

4.1.4 Zusammenfassung

Zusammenfassend konnte in der hier präsentierten Arbeit eine Assoziation zwischen niedrigeren Ausgangskonzentrationen von IGF-I mit einer über die Zeit vermehrten Zunahme der Intima-Media-Dicke aufgezeigt werden, was mit vorherigen längsschnittlichen Studien [28, 34, 36-38] gut übereinstimmt. Daher ist eher von einem schützenden Einfluss höherer IGF-I-Werte im physiologischen Bereich im Hinblick auf kardiovaskulär bedingte Endpunkte auszugehen. Nichtsdestotrotz sollte den beobachteten geschlechtsspezifischen Unterschieden in weiteren Studien nachgegangen werden.

4.2 Linksventrikulärer Massenindex (LVMI)

In der vorliegenden Arbeit konnte keine Assoziation zwischen Serumkonzentrationen von IGF-I oder IGF-BP-3 und Veränderungen des LVMI im zeitlichen Verlauf entdeckt werden. Dieses Ergebnis untermauert und erweitert die Resultate einer vorherigen Studie aus derselben Studienpopulation, wonach keine Korrelation von IGF-I mit dem LVMI oder einer LVH bestand [31]. In Bezug auf IGF-BP-3 und den LVMI konnte jene Studie nur in der Gruppe der Frauen eine inverse Korrelation nachweisen [31]. Jedoch war die erwähnte Studie auf querschnittliche Analysen beschränkt, sodass keine Aussage bezüglich längsschnittlicher kardiovaskulärer Zusammenhänge getroffen werden

konnte [31]. Starke Hinweise auf eine hypertrophe Wirkung von IGF-I am Herzen lieferten in der Vergangenheit vor allem Tierexperimente [32, 33]. So zeichneten sich kultivierte Kardiomyozyten, die aus neugeborenen Ratten gewonnen wurden und denen IGF-I im Rahmen einer zweitägigen Inkubation zugeführt wurde, durch eine statistisch erkennbar größere Oberfläche ihrer Zellen aus im Vergleich zu Kardiomyozyten, die nicht zuvor IGF-I ausgesetzt waren [32]. In einer anderen Studie ging ein an Ratten künstlich herbeigeführter Bluthochdruck nur zu Beginn mit einer gesteigerten Konzentration an IGF-I-mRNA in ventrikulären Kardiomyozyten einher, während sich die ebenfalls zeitlich überlappend einsetzende hypertrophe Gegenreaktion des Herzens im Verlauf nicht reversibel zeigte [33]. Gemäß der Autoren könnte dies für eine anfängliche Beteiligung von IGF-I an der reaktiven Herzhypertrophie sprechen [33]. In einer weiteren Studie, in der Versuchstiere einer längeren körperlichen Anstrengung ausgesetzt waren, stellte sich heraus, dass eine reaktive Herzhypertrophie nur dann auftrat, wenn der IGF-I-Rezeptor der entsprechenden Herzmuskelzellen nicht ausgehebelt wurde, was auf eine herzhypertrophe Wirkung von IGF-I als Rezeptorstimulant hindeutete [74]. In der hier vorliegenden Arbeit wurde hingegen der LVMI von Menschen mit adultem, das heißt ausgereiftem Herzen bestimmt, die Ergebnisse wurden für Bluthochdruck adjustiert und es wurden im Serum befindliche Konzentrationen von IGF-I gemessen ohne Berücksichtigung einer lokalen IGF-I-Synthese oder Modulierung von Rezeptoraktivitäten, was die Unterschiede im Vergleich zu den Tierexperimenten erklären könnte [32, 33, 74].

In einer älteren klinischen Studie wurde IGF-I als einer von mehreren Parametern identifiziert, die einen unabhängigen Einfluss auf die Ausprägung der linksventrikulären Masse besaßen [75]. Allerdings beinhaltete diese Untersuchung lediglich 101 Studienteilnehmer ohne Diabetesleiden, aber mit primärem Bluthochdruck ohne diesbezügliche Vortherapie, sodass es sich insgesamt um eine kleine und selektive Analyse handelte, die lediglich begrenzt mit der hier vorliegenden großen und populationsbasierten Studie vergleichbar ist [75].

Insgesamt ist die Empfänglichkeit der Herzmuskelzellen für die Wirkung von IGF-I bekannt [23, 24, 32, 33, 74, 75]. Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten jedoch darauf hin, dass IGF-I keine Veränderungen des LVMI über die Zeit in der Allgemeinbevölkerung bewirkt.

4.3 NT-proBNP

Die vorliegende Studie war zum Zeitpunkt der Publikation die erste große populationsbasierte Studie, die über einen zeitlichen Verlauf von mehreren Jahren eine mögliche Assoziation zwischen IGF-I und Veränderungen der Serumkonzentration von NT-proBNP untersuchte. In einer vorherigen dänischen Studie von Andreassen et al. [39] korrelierten im Rahmen der durchgeführten Labormessungen niedrigere IGF-I-Plasmakonzentrationen mit einer erhöhten Konzentration von NT-proBNP. Dieses Erkenntnis steht in Einklang mit Ergebnissen von Verhelst et al. [76], wonach die NT-proBNP-Serumkonzentration bei an Akromegalie erkrankten Individuen unter aktivem Krankheitszustand erkennbar niedriger war als bei Akromegalie-Patienten mit unter Kontrolle befindlichem Krankheitszustand. Ebenso wurde in der südafrikanischen SABPA Study eine invers ausgeprägte Assoziation zwischen IGF-I-Serumkonzentrationen und NT-proBNP entdeckt, allerdings konnte diese nur bei weißen und nicht bei schwarzen Studienteilnehmern festgestellt werden [42]. Die Resultate dieser drei Studien [39, 42, 76] stehen zum Teil in Widerspruch zu den hier präsentierten Ergebnissen, die eine positive Assoziation zwischen IGF-I-Serumkonzentrationen oder der IGF-I/IGFBP-3-Ratio und NT-proBNP bei Frauen sowie eine U-förmige Assoziation zwischen IGF-I und NT-proBNP bei Männern nahelegen. Mögliche Gründe für die erkennbaren Diskrepanzen könnten in Abweichungen bezüglich Studiendesign, Studienpopulation sowie Anzahl der Studienteilnehmer liegen: So wurden in der SABPA Study, die ein querschnittliches Studiendesign aufweist, insgesamt 355 Studienteilnehmer inkludiert, wobei die Gültigkeit der aufgedeckten Relation nur für die 195 weißen Personen galt, die des Weiteren alle den gleichen Beruf ausübten und dementsprechend einem sehr ähnlichen sozialen Milieu entstammten [42]. Die Verallgemeinerung der Ergebnisse dieser Studie ist somit limitiert [42]. Die vorliegende Studie hingegen wurde als Längsschnittstudie konzipiert und stützt sich im Fall von NT-proBNP auf über 2.000 Studienteilnehmer, die aus der Allgemeinbevölkerung rekrutiert und mindestens zweimal untersucht wurden, wodurch die Allgemeingültigkeit im Vergleich zur SABPA Study deutlich höher erscheint [42].

Im Vergleich der vorliegenden Studie mit der erwähnten Studie aus Dänemark fällt auf, dass diese zwar auch populationsbasiert durchgeführt wurde, allerdings waren die eingeschlossenen Teilnehmer im Durchschnitt älter und die betrachtete Altersspanne insgesamt schmaler [39]. Des Weiteren war die Anzahl der Studienteilnehmer mit 642

deutlich niedriger und die Analyse hinsichtlich IGF-I und NT-proBNP wurde im Querschnitt durchgeführt [39]. Bei einer früher veröffentlichten und ebenfalls von Andreassen et al. [41] durchgeführten Studie, die keine Relation von IGF-I-Serumspiegeln zu NT-proBNP nachweisen konnte, handelte es sich um eine retrospektive Studie, die lediglich jeweils 10 Studienteilnehmer mit Akromegalie sowie GHD untersuchte und für jede Patientengruppe 20 Kontrollprobanden betrachtete. Trotz fehlender signifikanter Assoziation zwischen IGF-I und NT-proBNP besaßen die an Akromegalie erkrankten Studienteilnehmer in einem unbehandelten Krankheitszustand signifikant niedrigere NT-proBNP-Spiegel verglichen mit der Kontrollgruppe und den entsprechenden Vergleichswerten nach mehrmonatiger Behandlung [41]. Allerdings kann dieses Erkenntnis maximal als Hinweis für einen vielleicht doch vorhandenen Zusammenhang verstanden werden, der aus anderen Gründen, zum Beispiel aufgrund der geringen Anzahl der Studienteilnehmer oder der selektiven Rekrutierung, nicht erfasst werden konnte [41].

Interessanterweise ergaben die hier präsentierten Analysen deutliche Unterschiede zwischen Männern und Frauen hinsichtlich der jeweiligen Assoziation von IGF-I zu NT-proBNP. Geschlechtsunterschiede bezüglich der Serumkonzentrationen von NT-proBNP oder BNP wurden bereits vor Jahren festgestellt und mögliche Ursachen erforscht [77-87]. So beschrieben Wang et al. [77] unter anderem das weibliche Geschlecht als einen Prädiktor für höhere im Blut zirkulierende Konzentrationen von BNP. Weitere Studien mit Probanden aus der Allgemeinbevölkerung konnten auch NT-proBNP in signifikant höheren Konzentrationen bei Frauen als bei Männern aufdecken [78, 80, 81]. Als mögliche Ursache für die Konzentrationsunterschiede zwischen den Geschlechtern werden in einer Publikation von Motiwala et al. Sexualhormone diskutiert [82]. Dieser Ansatzpunkt wird auch von einem aktuellen Review als mögliche Erklärung oder zumindest Teilerklärung aufgegriffen [83]: Danach seien zwar die wesentlichen physiologischen Prozesse diesbezüglich noch unklar, allerdings wird auf Basis mehrerer Studien Testosteron eine NT-proBNP-Konzentration senkende Wirkung zugesprochen, wohingegen der Einfluss von Östrogen schwerer hinsichtlich einer bestimmten Richtung zu deuten sei [79, 83-86].

Zusammenfassend zeigte sich in SHIP eine positive längsschnittliche Assoziation zwischen IGF-I und der Veränderung der NT-proBNP-Serumkonzentration bei Frauen sowie eine U-förmige Assoziation bei Männern. Für die exakte wissenschaftliche

Ergründung der detektierten geschlechtsspezifischen Unterschiede sind nach unserer Kenntnis jedoch noch nicht ausreichend viele Studien durchgeführt worden.

4.4 Stärken und Schwächen der Studie

Die vorliegende Studie gehört zu einer der ersten ihrer Art, die auf zahlenmäßig großer Studienpopulation und auf Basis eines longitudinalen Studiendesigns den Einfluss von IGF-I und IGFBP-3 auf subklinische kardiovaskuläre Veränderungen untersuchte. Neben dem Studiendesign und dem Rekrutierungsansatz auf Ebene der Allgemeinbevölkerung zählen die umfangreiche Adjustierung der Regressionsmodelle sowie die Anwendung geschlechtsspezifischer Analysen zu den Stärken dieser Arbeit. Dadurch wird den Resultaten formal eine robuste Allgemeingültigkeit verliehen. Demgegenüber steht die Tatsache, dass die Studie zwar statistisch signifikante Assoziationen aufdeckte, diese aber nicht mit einem kausalen Zusammenhang gleichzusetzen sind. Außerdem war die Vergleichbarkeit der IMD und des LVMI durch Änderung der Messmethodik bzw. Auswahl von Subpopulationen eingeschränkt. Letzteren Limitationen wurde durch Bildung von z-score-Werten entgegengewirkt.

4.5 Schlussfolgerung

In der hier präsentierten Arbeit konnten IGF-I-Ausgangswerte in zwei von drei Fällen mit Veränderungen definierter subklinischer kardiovaskulärer Endpunkte assoziiert werden. Bemerkenswert waren die dabei detektierten Geschlechtsunterschiede. Während die inverse Assoziation hinsichtlich IGF-I und der IMD nur bei Frauen bestand und tendenziell die Ergebnisse vergleichbarer Studien bestätigt und erweitert, so ist die Einordnung der Relationen zu NT-proBNP (Frauen positiv, Männer U-förmig) schwieriger, da es diesbezüglich bisher kaum Vorstudien gibt.

Insgesamt bestätigen die ermittelten Ergebnisse vor allem im Hinblick auf die IMD die in früheren Studien postulierten Assoziationen hinsichtlich IGF-I und kardiovaskulären Parametern. Obwohl nicht alle Assoziationen der vorliegenden Studie in dieselbe Richtung weisen, so deuten die Ergebnisse an, dass IGF-I als laborchemischer Biomarker insbesondere für frühpathologische (subklinische) kardiovaskuläre Veränderungen interessant sein könnte und dass die Interpretation dieses Laborwerts in Abhängigkeit vom Geschlecht des Patienten erfolgen sollte.

5. Zusammenfassung

Aus früheren populationsbasierten Studien ist bekannt, dass IGF-I womöglich einen schützenden Einfluss auf die kardiovaskuläre Gesundheit ausübt, wobei die genauen Wirkmechanismen auf zellulärer Ebene noch nicht identifiziert wurden. Die Endpunkte dieser umfangreichen Studien entsprachen in der Regel definierten kardiovaskulären Erkrankungen. Vor dem Hintergrund der nach wie vor nicht eindeutigen Wissenslage war es das Ziel der hier präsentierten Arbeit, Serumkonzentrationen von IGF-I oder IGF-BP-3 in Zusammenhang mit Veränderungen subklinischer kardiovaskulärer Parameter über die Zeit zu untersuchen. Analysiert wurden dazu Daten der populationsbasierten Study of Health in Pomerania (SHIP). In SHIP wurden initial die Serumkonzentrationen von IGF-I und IGF-BP-3 ermittelt. Weiterhin wurden bis zu drei Mal, mit mehrjährigen Abständen, die Intima-Media-Dicke der A. carotis communis (IMD) mittels Sonografie untersucht, der linksventrikuläre Massenindex (LVMI) durch Sonografie sowie Kalkulation bestimmt und NT-proBNP als bekannter Herzinsuffizienzmarker quantifiziert. Durch die mehrmaligen Untersuchungen konnten Rückschlüsse auf Veränderungen dieser drei kardiovaskulären Parameter über die Jahre festgestellt und statistisch in Bezug zu den ursprünglichen IGF-I- und IGF-BP-3-Spiegeln gesetzt werden. Während keine Relationen zwischen IGF-I und dem LVMI entdeckt wurden, waren niedrigere Ausgangskonzentrationen von IGF-I insbesondere bei Frauen mit einer vermehrten Zunahme der IMD assoziiert. Außerdem konnten eine positive Assoziation zwischen IGF-I und NT-proBNP bei Frauen sowie eine U-förmige Assoziation zwischen IGF-I und NT-proBNP bei Männern detektiert werden. Damit stützt und erweitert die vorliegende Studie zum Teil die überwiegende Annahme ähnlich konzipierter Studien, wonach niedrige IGF-I-Serumkonzentrationen einen eher ungünstigen Einfluss auf das kardiovaskuläre System nehmen. Gleichzeitig legen die hier präsentierten Ergebnisse geschlechtsspezifische sowie endpunktspezifische Unterschiede in Bezug auf Assoziationen zwischen dem IGF-I-System und dem kardiovaskulären System nahe. Da die präsentierte Arbeit nach unserer Kenntnis die erste große populationsbasierte Studie ist, die sich längsschnittlich dem Thema Geschlechterunterschiede widmete, sind diese bisher nicht ausreichend erforscht und erklärt. Insgesamt deuten die Ergebnisse an, dass IGF-I als laborchemischer Biomarker für subklinische kardiovaskuläre Veränderungen interessant sein könnte und dass die Interpretation dieses Laborwerts im Hinblick auf jene Veränderungen in Abhängigkeit vom Geschlecht des Patienten erfolgen sollte.

6. Literaturverzeichnis

1. Paschke R, Voigt K. Endokrines System. In: Klinker R, Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S (Hrsg.): Physiologie. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart 2010. 6. Auflage: p. 526-535.
2. Isaksson OG, Jansson JO, Gause IA. Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. *Science*, 1982. 216(4551): p. 1237-1239.
3. Ohlsson C, Mohan S, Sjogren K, Tivesten A, Isgaard J, Isaksson O, Jansson JO, Svensson J. The role of liver-derived insulin-like growth factor-I. *Endocr Rev*, 2009. 30(5): p. 494-535.
4. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev*, 1995. 16(1): p. 3-34.
5. D'Ercole AJ, Applewhite GT, Underwood LE. Evidence that somatomedin is synthesized by multiple tissues in the fetus. *Dev Biol*, 1980. 75(2): p. 315-328.
6. Rinderknecht E, Humbel RE. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J Biol Chem*, 1978. 253(8): p. 2769-2776.
7. Rinderknecht E, Humbel RE. Primary structure of human insulin-like growth factor II. *FEBS Lett*, 1978. 89(2): p. 283-286.
8. Sjogren K, Liu JL, Blad K, Skrtic S, Vidal O, Wallenius V, LeRoith D, Tornell J, Isaksson OG, Jansson JO, Ohlsson C. Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-I) is the principal source of IGF-I in blood but is not required for postnatal body growth in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(12): p. 7088-7092.
9. Yakar S, Liu JL, Stannard B, Butler A, Accili D, Sauer B, LeRoith D. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(13): p. 7324-7329.
10. Allard JB, Duan C. IGF-Binding Proteins: Why Do They Exist and Why Are There So Many? *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018. 9:117.
11. Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG. The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. *Endocr Rev*, 1999. 20(6): p. 761-787.
12. Leong SR, Baxter RC, Camerato T, Dai J, Wood WI. Structure and functional expression of the acid-labile subunit of the insulin-like growth factor-binding protein complex. *Mol Endocrinol*, 1992. 6(6): p. 870-876.
13. Juul A. Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. *Growth Horm IGF Res*, 2003. 13(4): p. 113-170.
14. Clemmons DR. Role of IGF-binding proteins in regulating IGF responses to changes in metabolism. *J Mol Endocrinol*, 2018. 61(1): p. T139-T169.
15. Hakuno F, Takahashi SI. IGF1 receptor signaling pathways. *J Mol Endocrinol*, 2018. 61(1): p. T69-T86.
16. Delafontaine P, Song YH, Li Y. Expression, regulation, and function of IGF-1, IGF-1R, and IGF-1 binding proteins in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004. 24(3): p. 435-444.
17. Pivonello C, De Martino MC, Negri M, Cuomo G, Cariati F, Izzo F, Colao A, Pivonello R. The GH-IGF-SST system in hepatocellular carcinoma: biological and molecular pathogenetic mechanisms and therapeutic targets. *Infect Agent Cancer*, 2014. 9:27.
18. Boguszewski CL, Boguszewski M. Growth Hormone's Links to Cancer. *Endocr Rev*, 2019. 40(2): p. 558-574.
19. Samani AA, Yakar S, LeRoith D, Brodt P. The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. *Endocr Rev*, 2007. 28(1): p. 20-47.

20. Bach LA. Endothelial cells and the IGF system. *J Mol Endocrinol*, 2015. 54(1): p. R1-13.
21. Thum T, Hoerber S, Froese S, Klink I, Stichtenoth DO, Galuppo P, Jakob M, Tsikas D, Anker SD, Poole-Wilson PA, Borlak J, Ertl G, Bauersachs J. Age-dependent impairment of endothelial progenitor cells is corrected by growth-hormone-mediated increase of insulin-like growth-factor-1. *Circ Res*, 2007. 100(3): p. 434-443.
22. Higashi Y, Gautam S, Delafontaine P, Sukhanov S. IGF-1 and cardiovascular disease. *Growth Horm IGF Res*, 2019. 45: p. 6-16.
23. Isgaard J, Arcopinto M, Karason K, Cittadini A. GH and the cardiovascular system: an update on a topic at heart. *Endocrine*, 2015. 48(1): p. 25-35.
24. Troncoso R, Ibarra C, Vicencio JM, Jaimovich E, Lavandero S. New insights into IGF-1 signaling in the heart. *Trends Endocrinol Metab*, 2014. 25(3): p. 128-137.
25. Lombardi G, Di Somma C, Grasso LF, Savanelli MC, Colao A, Pivonello R. The cardiovascular system in growth hormone excess and growth hormone deficiency. *J Endocrinol Invest*, 2012. 35(11): p. 1021-1029.
26. Paisley AN, Banerjee M, Rezai M, Schofield RE, Balakrishnannair S, Herbert A, Lawrance JA, Trainer PJ, Cruickshank JK. Changes in arterial stiffness but not carotid intimal thickness in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011. 96(5): p. 1486-1492.
27. Colao A, Ferone D, Marzullo P, Lombardi G. Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management. *Endocr Rev*, 2004. 25(1): p. 102-152.
28. Johnsen SP, Hundborg HH, Sorensen HT, Orskov H, Tjonneland A, Overvad K, Jorgensen JO. Insulin-like growth factor (IGF) I, -II, and IGF binding protein-3 and risk of ischemic stroke. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005. 90(11): p. 5937-5941.
29. Colao A, Spiezia S, Di Somma C, Pivonello R, Marzullo P, Rota F, Musella T, Auriemma RS, De Martino MC, Lombardi G. Circulating insulin-like growth factor-I levels are correlated with the atherosclerotic profile in healthy subjects independently of age. *J Endocrinol Invest*, 2005. 28(5): p. 440-448.
30. Spilcke-Liss E, Friedrich N, Dorr M, Schminke U, Volzke H, Brabant G, Nauck M, Wallaschofski H. Serum insulin-like growth factor I and its binding protein 3 in their relation to intima-media thickness: results of the study of health in Pomerania (SHIP). *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2011. 75(1): p. 70-75.
31. Friedrich N, Aumann N, Dorr M, Felix SB, Nauck M, Wallaschofski H, Volzke H. Lack of association between insulin-like growth factor-1 or insulin-like growth factor-binding protein-3 and left ventricular hypertrophy: results of the Study of Health in Pomerania. *J Hypertens*, 2010. 28(4): p. 856-864.
32. Ito H, Hiroe M, Hirata Y, Tsujino M, Adachi S, Shichiri M, Koike A, Nogami A, Marumo F. Insulin-like growth factor-I induces hypertrophy with enhanced expression of muscle specific genes in cultured rat cardiomyocytes. *Circulation*, 1993. 87(5): p. 1715-1721.
33. Donohue TJ, Dworkin LD, Lango MN, Fliegner K, Lango RP, Benstein JA, Slater WR, Catanese VM. Induction of myocardial insulin-like growth factor-I gene expression in left ventricular hypertrophy. *Circulation*, 1994. 89(2): p. 799-809.
34. Juul A, Scheike T, Davidsen M, Gyllenborg J, Jorgensen T. Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease: a population-based case-control study. *Circulation*, 2002. 106(8): p. 939-944.
35. Laughlin GA, Barrett-Connor E, Criqui MH, Kritz-Silverstein D. The prospective association of serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-1

- levels with all cause and cardiovascular disease mortality in older adults: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. 89(1): p. 114-120.
36. Vasan RS, Sullivan LM, D'Agostino RB, Roubenoff R, Harris T, Sawyer DB, Levy D, Wilson PW. Serum insulin-like growth factor I and risk for heart failure in elderly individuals without a previous myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Ann Intern Med*, 2003. 139(8): p. 642-648.
 37. Saber H, Himali JJ, Beiser AS, Shoamanesh A, Pikula A, Roubenoff R, Romero JR, Kase CS, Vasan RS, Seshadri S. Serum Insulin-Like Growth Factor 1 and the Risk of Ischemic Stroke: The Framingham Study. *Stroke*, 2017. 48(7): p. 1760-1765.
 38. Kaplan RC, Strizich G, Aneke-Nash C, Dominguez-Islas C, Buzkova P, Strickler H, Rohan T, Pollak M, Kuller L, Kizer JR, Cappola A, Li CI, Psaty BM, Newman A. Insulinlike Growth Factor Binding Protein-1 and Ghrelin Predict Health Outcomes Among Older Adults: Cardiovascular Health Study Cohort. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017. 102(1): p. 267-278.
 39. Andreassen M, Raymond I, Kistorp C, Hildebrandt P, Faber J, Kristensen LO. IGF1 as predictor of all cause mortality and cardiovascular disease in an elderly population. *Eur J Endocrinol*, 2009. 160(1): p. 25-31.
 40. Carlzon D, Svensson J, Petzold M, Karlsson MK, Ljunggren O, Tivesten A, Mellstrom D, Ohlsson C. Both low and high serum IGF-1 levels associate with increased risk of cardiovascular events in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014. 99(11): p. E2308-2316.
 41. Andreassen M, Faber J, Vestergaard H, Kistorp C, Kristensen LO. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with growth hormone disturbances. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2007. 66(5): p. 619-625.
 42. Koegelenberg AS, Smith W, Schutte R, Schutte AE. IGF-1 and NT-proBNP in a black and white population: The SABPA study. *Eur J Clin Invest*, 2016. 46(9): p. 795-803.
 43. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE Jr, Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL, Johnson MR, Kasper EK, Levy WC, Masoudi FA, McBride PE, McMurray JJ, Mitchell JE, Peterson PN, Riegel B, Sam F, Stevenson LW, Tang WH, Tsai EJ, Wilkoff BL, American College of Cardiology Foundation, American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*, 2013. 62(16): p. e147-239.
 44. Francis GS, Felker GM, Tang WH. A Test in Context: Critical Evaluation of Natriuretic Peptide Testing in Heart Failure. *J Am Coll Cardiol*, 2016. 67(3): p. 330-337.
 45. Hunt PJ, Yandle TG, Nicholls MG, Richards AM, Espiner EA. The amino-terminal portion of pro-brain natriuretic peptide (Pro-BNP) circulates in human plasma. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995. 214(3): p. 1175-1183.
 46. Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *Eur J Heart Fail*, 2004. 6(3): p. 257-260.
 47. Hall C. NT-ProBNP: the mechanism behind the marker. *J Card Fail*, 2005. 11(5 Suppl): p. S81-83.
 48. Kistorp C, Raymond I, Pedersen F, Gustafsson F, Faber J, Hildebrandt P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide, C-reactive protein, and urinary albumin levels as predictors of mortality and cardiovascular events in older adults. *JAMA*, 2005. 293(13): p. 1609-1616.
 49. Olsen MH, Hansen TW, Christensen MK, Gustafsson F, Rasmussen S, Wachtell K, Ibsen H, Torp-Pedersen C, Hildebrandt PR. N-terminal pro-brain natriuretic

- peptide, but not high sensitivity C-reactive protein, improves cardiovascular risk prediction in the general population. *Eur Heart J*, 2007. 28(11): p. 1374-1381.
50. Daniels LB, Laughlin GA, Clopton P, Maisel AS, Barrett-Connor E. Minimally elevated cardiac troponin T and elevated N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predict mortality in older adults: results from the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol*, 2008. 52(6): p. 450-459.
 51. Linssen GC, Bakker SJ, Voors AA, Gansevoort RT, Hillege HL, de Jong PE, van Veldhuisen DJ, Gans RO, de Zeeuw D. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide is an independent predictor of cardiovascular morbidity and mortality in the general population. *Eur Heart J*, 2010. 31(1): p. 120-127.
 52. John U, Greiner B, Hensel E, Ludemann 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 Praventivmed*, 2001. 46(3): p. 186-194.
 53. 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, Gloger O, Teumer A, Homuth G, Volker U, Schwahn C, Holtfreter B, Polzer I, Kohlmann T, Grabe HJ, Roszkopf D, Kroemer HK, Kocher T, Biffar R, John U, Hoffmann W. Cohort profile: the study of health in Pomerania. *Int J Epidemiol*, 2011. 40(2): p. 294-307.
 54. 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). *Alcohol Clin Exp Res*, 2004. 28(6): p. 931-940.
 55. Muller C, Wallaschofski H, Brabant G, Wahnschaffe U, Samietz S, Nauck M, Friedrich N. The association between IGF-I/IGFBP-3 and subclinical end points: epidemiology faces the limits. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014. 99(8): p. 2804-2812.
 56. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, Reichek N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol*, 1986. 57(6): p. 450-458.
 57. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ, Chamber Quantification Writing Group, American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee, European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*, 2005. 18(12): p. 1440-1463.
 58. Luedemann J, Schminke U, Berger K, Piek M, Willich SN, Doring A, John U, Kessler C. Association between behavior-dependent cardiovascular risk factors and asymptomatic carotid atherosclerosis in a general population. *Stroke*, 2002. 33(12): p. 2929-2935.
 59. Friedrich N, Haring R, Nauck M, Ludemann J, Roszkopf D, Spilcke-Liss E, Felix SB, Dorr M, Brabant G, Volzke H, Wallaschofski H. Mortality and serum insulin-like

- growth factor (IGF)-I and IGF binding protein 3 concentrations. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009. 94(5): p. 1732-1739.
60. Stone CJ, Koo CY. Additive Splines in Statistics. In: Proceedings of the Statistical Computing Section. American Statistical Association, Washington, D.C. (USA) 1985. p. 45-48.
 61. Hietaniemi M, Poykko SM, Ukkola O, Paivansalo M, Antero Kesaniemi Y. IGF-I concentrations are positively associated with carotid artery atherosclerosis in women. *Ann Med*, 2005. 37(5): p. 373-382.
 62. Boquist S, Ruotolo G, Skoglund-Andersson C, Tang R, Bjorkegren J, Bond MG, de Faire U, Brismar K, Hamsten A. Correlation of serum IGF-I and IGFBP-1 and -3 to cardiovascular risk indicators and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2008. 68(1): p. 51-58.
 63. van den Beld AW, Bots ML, Janssen JA, Pols HA, Lamberts SW, Grobbee DE. Endogenous hormones and carotid atherosclerosis in elderly men. *Am J Epidemiol*, 2003. 157(1): p. 25-31.
 64. Kawachi S, Takeda N, Sasaki A, Kokubo Y, Takami K, Sarui H, Hayashi M, Yamakita N, Yasuda K. Circulating insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-3 are associated with early carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005. 25(3): p. 617-621.
 65. van Bunderen CC, van Nieuwpoort IC, van Schoor NM, Deeg DJ, Lips P, Drent ML. The association of serum insulin-like growth factor-I with mortality, cardiovascular disease, and cancer in the elderly: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010. 95(10): p. 4616-4624.
 66. Burgers AM, Biermasz NR, Schoones JW, Pereira AM, Renehan AG, Zwahlen M, Egger M, Dekkers OM. Meta-analysis and dose-response metaregression: circulating insulin-like growth factor I (IGF-I) and mortality. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011. 96(9): p. 2912-2920.
 67. Sanders JL, Guo W, O'Meara ES, Kaplan RC, Pollak MN, Bartz TM, Newman AB, Fried LP, Cappola AR. Trajectories of IGF-I Predict Mortality in Older Adults: The Cardiovascular Health Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2018. 73(7): p. 953-959.
 68. Khan AS, Sane DC, Wannenburg T, Sonntag WE. Growth hormone, insulin-like growth factor-1 and the aging cardiovascular system. *Cardiovasc Res*, 2002. 54(1): p. 25-35.
 69. Ungvari Z, Tarantini S, Kiss T, Wren JD, Giles CB, Griffin CT, Murfee WL, Pacher P, Csiszar A. Endothelial dysfunction and angiogenesis impairment in the ageing vasculature. *Nat Rev Cardiol*, 2018. 15(9): p. 555-565.
 70. Schmidt-Lucke C, Rossig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, Kamper U, Dimmeler S, Zeiher AM. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation*, 2005. 111(22): p. 2981-2987.
 71. Fadini GP, Dassie F, Albiero M, Boscaro E, Albano I, Martini C, de Kreutzenberg SV, Agostini C, Avogaro A, Vettor R, Maffei P. Endothelial progenitor cells are reduced in acromegalic patients and can be restored by treatment with somatostatin analogs. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014. 99(12): p. E2549-2556.
 72. Lombardi G, Galdiero M, Auriemma RS, Pivonello R, Colao A. Acromegaly and the cardiovascular system. *Neuroendocrinology*, 2006. 83(3-4): p. 211-217.
 73. Tsukahara H, Gordienko DV, Tonshoff B, Gelato MC, Goligorsky MS. Direct demonstration of insulin-like growth factor-I-induced nitric oxide production by endothelial cells. *Kidney Int*, 1994. 45(2): p. 598-604.

74. Kim J, Wende AR, Sena S, Theobald HA, Soto J, Sloan C, Wayment BE, Litwin SE, Holzenberger M, LeRoith D, Abel ED. Insulin-like growth factor I receptor signaling is required for exercise-induced cardiac hypertrophy. *Mol Endocrinol*, 2008. 22(11): p. 2531-2543.
75. Verdecchia P, Reboldi G, Schillaci G, Borgioni C, Ciucci A, Telera MP, Santeusano F, Porcellati C, Brunetti P. Circulating insulin and insulin growth factor-1 are independent determinants of left ventricular mass and geometry in essential hypertension. *Circulation*, 1999. 100(17): p. 1802-1807.
76. Verhelst J, Velkeniers B, Maiter D, Haentjens P, T'Sjoen G, Rietzschel E, Corvilain B, Abrams P, Nobels F, Abs R, Bex M. Active acromegaly is associated with decreased hs-CRP and NT-proBNP serum levels: insights from the Belgian registry of acromegaly. *Eur J Endocrinol*, 2013. 168(2): p. 177-184.
77. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PW, Sutherland P, Omland T, Vasani RS. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am J Cardiol*, 2002. 90(3): p. 254-258.
78. Lam CS, Cheng S, Choong K, Larson MG, Murabito JM, Newton-Cheh C, Bhasin S, McCabe EL, Miller KK, Redfield MM, Vasani RS, Coviello AD, Wang TJ. Influence of sex and hormone status on circulating natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol*, 2011. 58(6): p. 618-626.
79. Saenger AK, Dalenbergh DA, Bryant SC, Grebe SK, Jaffe AS. Pediatric brain natriuretic peptide concentrations vary with age and sex and appear to be modulated by testosterone. *Clin Chem*, 2009. 55(10): p. 1869-1875.
80. Suthahar N, Meijers WC, Ho JE, Gansevoort RT, Voors AA, van der Meer P, Bakker SJJ, Heymans S, van Empel V, Schroen B, van der Harst P, van Veldhuisen DJ, de Boer RA. Sex-specific associations of obesity and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in the general population. *Eur J Heart Fail*, 2018. 20(8): p. 1205-1214.
81. Fradley MG, Larson MG, Cheng S, McCabe E, Coglianese E, Shah RV, Levy D, Vasani RS, Wang TJ. Reference limits for N-terminal-pro-B-type natriuretic peptide in healthy individuals (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol*, 2011. 108(9): p. 1341-1345.
82. Motiwala SR, Sarma A, Januzzi JL, O'Donoghue ML. Biomarkers in ACS and heart failure: should men and women be interpreted differently? *Clin Chem*, 2014. 60(1): p. 35-43.
83. Suthahar N, Meems LMG, Ho JE, de Boer RA. Sex-related differences in contemporary biomarkers for heart failure: a review. *Eur J Heart Fail*, 2020. 22(5): p. 775-788.
84. Chang AY, Abdullah SM, Jain T, Stanek HG, Das SR, McGuire DK, Auchus RJ, de Lemos JA. Associations among androgens, estrogens, and natriuretic peptides in young women: observations from the Dallas Heart Study. *J Am Coll Cardiol*, 2007. 49(1): p. 109-116.
85. Ying W, Zhao D, Ouyang P, Subramanya V, Vaidya D, Ndumele CE, Sharma K, Shah SJ, Heckbert SR, Lima JA, deFilippi CR, Budoff MJ, Post WS, Michos ED. Sex Hormones and Change in N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Levels: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018. 103(11): p. 4304-4314.
86. Bachmann KN, Huang S, Lee H, Dichtel LE, Gupta DK, Burnett JC Jr, Miller KK, Wang TJ, Finkelstein JS. Effect of Testosterone on Natriuretic Peptide Levels. *J Am Coll Cardiol*, 2019. 73(11): p. 1288-1296.

87. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett JC Jr. Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol*, 2002. 40(5): p. 976-982.

7. Anhang

7.1 Publikation

European Journal of Endocrinology 2020 Jan; 182(1): 79-90.

Relation of IGF-I with subclinical cardiovascular markers including intima-media thickness, left ventricular mass index and NT-proBNP

Maximilian Eichner¹, Henri Wallaschofski^{1,2}, Ulf Schminke³, Henry Völzke^{4,5}, Marcus Dörr^{5,6}, Stephan B Felix^{5,6}, Matthias Nauck^{1,5}, Nele Friedrich^{1,5}

¹Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany

²Schwerpunktpraxis für Diabetes und Hormonerkrankungen, Erfurt, Germany

³Department of Neurology, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany

⁴Institute for Community Medicine, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany

⁵DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), partner site Greifswald, Germany

⁶Department of Internal Medicine B, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany

Reproduced with permission by Bioscientifica Ltd.

Order License ID: 1163043-1

Order Date: 20-Nov-2021

Relation of IGF-I with subclinical cardiovascular markers including intima-media thickness, left ventricular mass index and NT-proBNP

Maximilian Eichner¹, Henri Wallaschofski^{1,2}, Ulf Schminke³, Henry Völzke^{4,5}, Marcus Dörr^{5,6}, Stephan B Felix^{5,6}, Matthias Nauck^{1,5} and Nele Friedrich^{1,5}

¹Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany, ²Schwerpunktpraxis für Diabetes und Hormonerkrankungen, Erfurt, Germany, ³Department of Neurology, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany, ⁴Institute for Community Medicine, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany, ⁵DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), Greifswald, Germany, and ⁶Department of Internal Medicine B, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany

Correspondence should be addressed to N Friedrich
Email
nele.friedrich@med.uni-greifswald.de

Abstract

Objective: Several studies revealed relations between low or high insulin-like growth factor I (IGF-I) levels and risk of cardiovascular diseases or mortality, whereas the mechanisms behind these associations are still unknown.

Design: The study aimed to explore the relations between IGF-I and changes in surrogate markers of cardiovascular disease including carotid intima-media thickness (IMT), left ventricular mass index (LVMI) and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP).

Methods: Longitudinal data of the population-based cohort Study of Health in Pomerania (SHIP) were used. IMT was measured by ultrasonography and LVMI was determined based on echocardiography. IGF-I and IGF-binding protein-3 (IGFBP-3) levels were measured by chemiluminescent immunoassays and the IGF-I/IGFBP-3 ratio was calculated. Mixed linear regression models adjusted for known cardiovascular confounders were performed.

Results: Statistical analyses demonstrated relations between low baseline IGF-I levels (beta for Δ IMT per s.d. increase -0.044 (s.e. 0.012)) or IGF-I/IGFBP-3 ratio (beta -0.045 (0.012)) and a long-term IMT increase. No associations between IGF-I, IGFBP-3 or IGF-I/IGFBP-3 ratio and changes in LVMI were detected. With respect to NT-proBNP sex-specific associations with IGF-I were found. In women, higher baseline IGF-I levels (beta for Δ NT-proBNP per s.d. increase 5.92 (2.2)) or IGF-I/IGFBP-3 ratio (beta 4.48 (2.2)) were related to an increase in NT-proBNP levels. Among men, U-shaped relations of baseline levels of IGF-I, IGFBP-3 and the IGF-I/IGFBP-3 ratio with an increase in NT-proBNP were found.

Conclusions: The study detected significant relations between IGF-I and long-term changes in IMT and NT-proBNP but not LVMI. These findings argue for different effects of the IGF-I axis with respect to various cardiovascular entities.

European Journal of
Endocrinology
(2020) **182**, 79–90

Introduction

Insulin-like growth factor I (IGF-I), synthesized in the liver upon stimulation by growth hormone (GH), is mostly ligated as part of a complex consisting also of an acid-labile subunit (ALS) and mainly IGF-binding protein-3 (IGFBP-3) (1, 2). IGFBP-3 belongs to a group of IGFBPs

that take over different functions including transport of IGF-I, prolonging the half-life time of IGF-I, blocking its biological activity or even functioning independently as another type of growth factor (2, 3, 4). Beside its liver source, production and release of IGF-I takes place in

further tissues including bone and cardiovascular cells (5) so that paracrine and autocrine actions are known (2).

IGF-I stimulates cell proliferation, differentiation and further anabolic effects (3). Moreover, IGF-I and IGFBP-3 affect the cardiovascular system and have been associated with cardiovascular diseases (CVD) and mortality (5, 6, 7, 8, 9, 10) but up to now, the exact mechanisms behind these effects are not completely understood. Nevertheless, heart and arteries are known for their sensitivity to IGF-I as well as for the secretion of IGF-I (5, 9, 11). Indeed, cardiovascular alterations like increased arterial stiffness (12), endothelial dysfunction and an increased risk of CVD have been reported to be associated with an IGF-I excess in patients with acromegaly (9). Also among patients with GH deficiency, characterized by low IGF-I levels, cardiovascular changes including for example a reduction of cardiac mass or an impairment of cardiac function consequently lead to an increased cardiovascular morbidity and mortality risk (13).

However, studies (6, 7, 8, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20) independent of acromegaly and GH deficiency reported controversial findings regarding IGF-I or IGFBP-3-related effects on the cardiovascular system. On one side, lower IGF-I or IGFBP-3 levels were related to a higher ratio of total/HDL cholesterol as well as to an increased risk of ischemic stroke (8) which implies a role of the IGF-I/IGFBP-3 system in genesis and progress of atherosclerosis (7). On the other side, the finding of no association between IGF-I or IGFBP-3 and left ventricular hypertrophy (LVH) in a large population-based study (18) argues in opposite direction. In context of prospective studies investigating different cardiovascular outcomes (6, 16, 17, 19, 20, 21, 22), Juul *et al.* (6) discovered that subjects with low IGF-I levels had an increased risk of incident ischemic heart disease which were confirmed with respect to lethal ischemic heart diseases in The Rancho Bernardo Study (17). Moreover, in the Framingham Heart Study, among elderly subjects lower IGF-I levels were related to an increased risk of developing heart failure (16) as well as ischemic stroke (22) with the latter only seen in subjects with diabetes. Similar results concerning the relation between lower IGF-I levels and the risk of heart failure were detected within the Cardiovascular Health Study (21), while a contrasting study related high levels of IGF-I with an elevated risk of chronic heart failure (20). Interestingly, Carlzon *et al.* (19) reported that low as well as high IGF-I levels were related to an elevated risk of incident cardiovascular events in elderly men.

Beside manifest diseases, IGF-I was investigated in relation to N-terminal pro-brain natriuretic peptide

(NT-proBNP), a guideline recommended prognostic biomarker that is used for diagnosing heart failure and monitoring its treatment (23, 24). NT-proBNP is produced by cardiac cells especially under stretching and created by enzymatic cutting of the pro-brain natriuretic peptide (BNP) (25, 26, 27). Several population-based studies suggested NT-proBNP as predictor of cardiovascular events (28, 29) and mortality (28, 30). With regard to IGF-I and its potential relation to NT-proBNP, studies found conflicting results (20, 31, 32). Andreassen *et al.* (31) did not detect any significant relation between IGF-I and NT-proBNP neither in patients with acromegaly nor GH deficiency. However, this study revealed significant lower NT-proBNP levels in subjects with untreated active acromegaly in comparison to treated inactive subjects or controls. Another study (32) found no essential differences in NT-proBNP levels among individuals who were recently diagnosed with acromegaly and controls. In contrast, a previous Danish cross-sectional study discovered that lower IGF-I levels were associated with higher NT-proBNP levels among subjects free of GH or IGF-I-related diseases (20).

Taken together, there is still a controversy concerning the long-term influence of IGF-I levels on the cardiovascular system in subjects without active acromegaly or GH deficiency. Therefore, the present study will focus on subclinical cardiovascular alteration as early markers of CVD and aims to investigate the relations between baseline IGF-I and IGFBP-3 levels and changes in carotid intima-media thickness (IMT) or left ventricular mass index (LVMI) as well as NT-proBNP during a 5-year follow-up period in a population-based setting.

Subjects and methods

Study population

The Study of Health in Pomerania (SHIP) is a population-based cohort study conducted in West Pomerania, a region in northeast Germany (33, 34). The two-stage stratified cluster sampling was based on official data from population registries in the Federal State of Mecklenburg/West Pomerania. Study subjects received a maximum of three written invitations, followed by repeated telephone calls and in-person contacts at home. The baseline examinations (SHIP-0) in the SHIP cohort were performed between 1997 and 2001 with a total of 4308 men and women aged 20–79 years (response rate 68.8%). The first follow-up (SHIP-1) was performed between 2002 and 2006 with 3300 subjects being re-examined (response rate

83.6%). The second follow-up (SHIP-2) was performed between 2008 and 2012 with 2333 subjects being re-examined (response rate 62.9%). The SHIP cohort study has been extensively studied and contributed data to more than 500 publications investigating various phenotypes, starting from the year 2000 (33). All participants provided written informed consent. The study conformed to the principles of the Declaration of Helsinki as reflected by an *a priori* approval of the Ethics Committee of the University of Greifswald.

In all three examination waves subjects with pacemaker or carotid artery stenosis (see below for methodology) were excluded ($n=264$). Based on original outcome values (IMT, LVMI, NT-proBNP) or z-score values (IMT, LVMI) subjects with extreme values as well as missing values for outcome change, IGF-I, IGFBP-3 or confounder parameters were excluded. Therefore, the used study population varied between outcome and statistical model (Fig. 1 and Supplementary Fig. 1, see section on supplementary materials given at the end of this article).

Interview and physical examination

All participants were offered a large range of standardized medical examinations, blood sampling and an extensive computer-aided personal interview in SHIP-0 and SHIP-1. During the personal interview, information on sociodemographic characteristics, lifestyle and medical histories were collected. Smoking status was assessed by self-report and categorised into current, former and never-smokers. Participants were defined as physically inactive, if they reported less than 1 h of regular physical activity per week. Mean daily alcohol consumption was calculated using beverage-specific pure ethanol volume proportions (35). Waist circumference (WC) was measured to the nearest 0.1 cm using an inelastic tape midway between the lower rib margin and the iliac crest in the horizontal plane, with the subject standing comfortably with weight distributed evenly on both feet. After a resting period of at least 5 min, systolic and diastolic blood pressure were measured three times on the right arm of seated participants with an oscillometric digital blood pressure monitor (HEM-705CP, Omron Corporation, Tokyo, Japan). The interval between the readings was 3 min. The mean of the second and third measurements was calculated.

Laboratory measurements

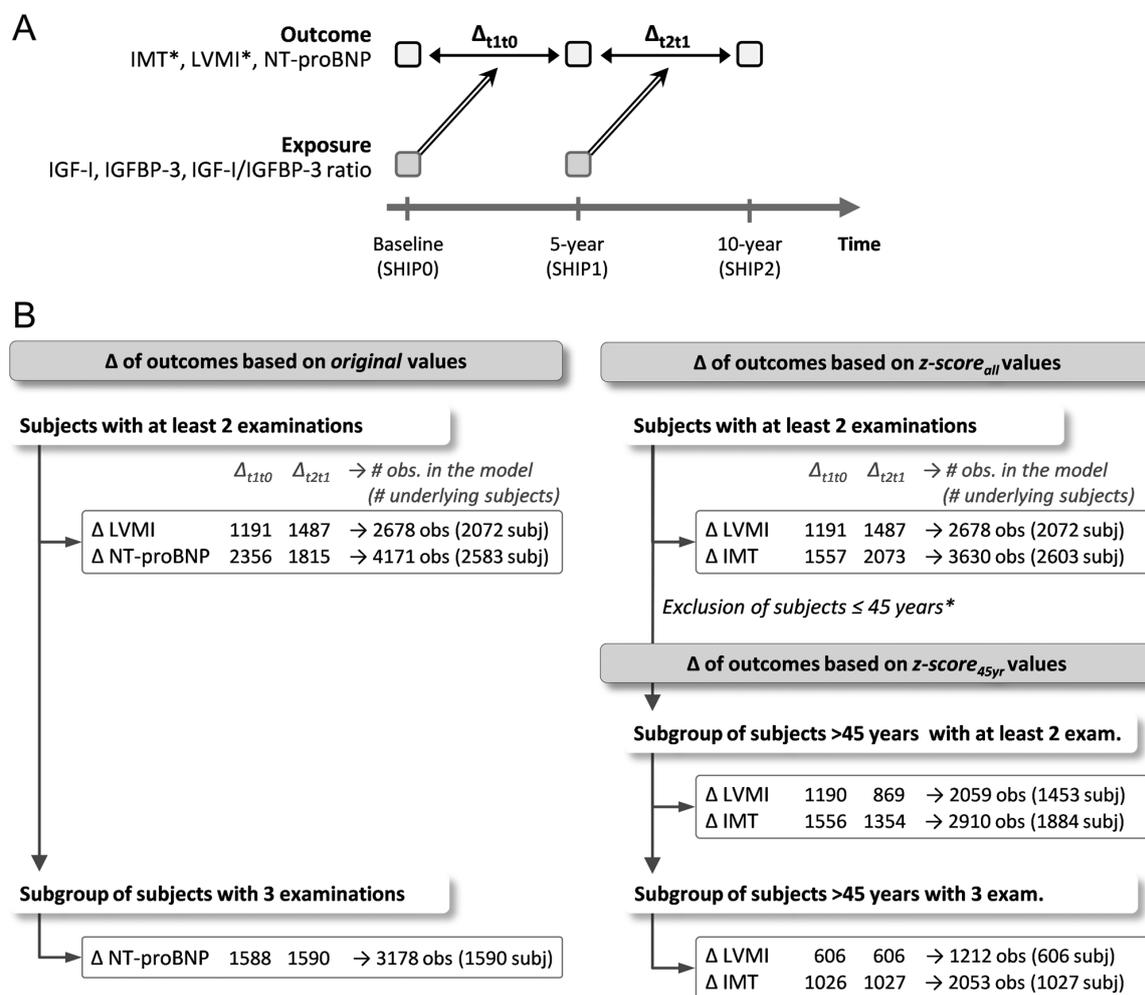
Non-fasting blood samples were drawn from the cubital vein in the supine position. The samples were analyzed

immediately or stored at -80°C . Total cholesterol levels were photometrically measured in SHIP-0 (Hitachi 704, Roche AG) and enzymatically measured on a Dimension RxL automatic analyser (Siemens Healthcare Diagnostics) in SHIP-1. Glycated hemoglobin (HbA1c) concentrations were determined by HPLC (Bio-Rad Diamat) in SHIP-0 and SHIP-1. In both SHIP-0 and SHIP-1, serum IGF-I and IGFBP-3 concentrations were determined by automated two-site chemiluminescent immunoassays on the IDS-iSYS (Immunodiagnostic Systems) as previously described (36). According to the manufacturer, the limit of blank (LoB), limit of detection (LoD) and limit of quantitation (LoQ) were 1.9 ng/mL, 4.4 ng/mL and 8.8 ng/mL for the IGF-I assay as well as 30 ng/mL, 50 ng/mL and 80 ng/mL for the IGFBP-3 assay, respectively. For the IGF-I measurements, the coefficient of variance (CV) was 6.0% and 5.0% (high levels) as well as 9.8% and 10.2% (low levels) in SHIP-0 and SHIP-1, respectively. With respect to IGFBP-3, the CV was 7.9% and 9.2% (high levels) as well as 15.5% and 13.1% (low levels) in SHIP-0 and SHIP-1, respectively. Serum NT-proBNP were measured by standard methods (Dimension VISTA, Siemens Healthcare Diagnostics). The CV was 3.9%, 3.8% and 3.9% (high levels) as well as 5.2%, 5.4% and 5.0% (low levels) in SHIP-0, SHIP-1 and SHIP-2, respectively. All assays were performed according to the manufacturers' recommendations by skilled technical personnel.

Echocardiography and ultrasound of the carotid arteries

In SHIP-0 (only subjects >45 years), SHIP-1 and SHIP-2, two-dimensional and M-mode echocardiography was performed by certified physicians using a Vingmed CFM 800A system (GE Medical Systems). M-mode images of the left ventricle were recorded at papillary level. Left ventricular dimensions (interventricular septum thickness (IVS), posterior wall thickness (LVPW), and left ventricular end diastolic (LVDD) and systolic (LVDS) diameter) were measured using the leading edge convention. LVMI was calculated according to: $\text{LVMI} = 0.80 \times (1.04 \times ((\text{LVDD} + \text{IVS} + \text{LVPW})^3 - \text{LVDD}^3)) + 0.60 / \text{height}^{2.7}$ (37, 38). LVH was defined as a LVMI of $>48 \text{ g/m}^{2.7}$ in men and $>44 \text{ g/m}^{2.7}$ in women (39).

The protocol of carotid ultrasound has been previously described (40). In SHIP-0 and SHIP-1 the examination of the extracranial carotid arteries was performed with B-mode ultrasonography using a 5 MHz linear array transducer with an axial resolution of less than 0.5 mm and a high-resolution instrument (Diasonics VST Gateway,

**Figure 1**

(A) Graphical chart of longitudinal analyses. (B) Flow diagram of analyses strategies. For mixed model analyses up to two observations (obs) per subjects (subj) were included in the models based on the 5-year changes between SHIP-1 and SHIP-0 (Δ_{t1t0}) as well as SHIP-2 and SHIP-1 (Δ_{t2t1}). IGF-I, insulin-like growth factor 1; IGFBP-3, IGF-binding protein; IMT, intima media thickness; LVMI, left ventricular mass index; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; SHIP, Study of Health in Pomerania.

Santa Clara, USA). Doppler spectra and flow velocities were analyzed to determine internal carotid artery stenosis of at least 20% lumen narrowing according to NASCET criteria. The mean far-wall IMT was calculated from ten measurements taken manually in 1-mm steps from off-line scans of the distal straight portion of both common carotid arteries. In SHIP-2 ultrasonography was performed using a linear array transducer with an operating frequency of 13 MHz and a portable high-resolution instrument (vivid-i, GE Medical Systems). The mean far-wall IMT of the distal straight portion of both common carotid arteries

was measured semi-automatically on screen using an edge tracking software, which calculates a mean value by averaging approximately 250 measurements at an arterial segment of 1 cm in length. The mean IMT averages all IMT measurements of the right and left common carotid arteries.

Statistical analysis

Continuous data are expressed as median (Q1, Q3) and categorical data as percentage. χ^2 test (categorical

data) or Mann–Whitney U test (continuous data) were used for comparisons of men and women. Mixed linear models with random intercept were used to examine the longitudinal association between IGF-I, IGFBP-3 or the IGF-I/IGFBP-3 ratio and 5-year changes in IMT, LVMI or NT-proBNP over time using repeated measurements. In case of two examinations per person one 5-year change (Δ_{t1t0} or Δ_{t2t1}) and in case of three examinations two 5-year changes (Δ_{t1t0} and Δ_{t2t1}) were used in the models (Fig. 1). The median follow-up time based on the NT-proBNP dataset (Fig. 1 and Supplementary Fig. 1) was 1962 days (Q1: 1835 days; Q3: 2135 days). Beside the original values to calculate the changes over time, with respect to IMT and LVMI different z-score calculations in the three examinations were used to obtain comparable measurements over all three time points (Fig. 2): (1) based on all subjects participating in the single examination with available data or (2) based only on subjects >45 years in the single examination with available data. The reason for the latter version is that the IMT and LVMI measurements were only performed in subjects >45 years in the baseline (SHIP-0) examination. For the IMT measurement a change in the methods occurred between the 5-year (SHIP-1) and 10-year (SHIP-2) follow-up resulting in non-comparable results as reflected in a decreasing mean IMT between the 5-year and 10-year follow-up (Fig. 2). Therefore, the use of z-score is required. Prior to the analyses, sex was tested as a potential effect modifier with respect to all three outcomes. Only for NT-proBNP significant interaction terms ($P < 0.10$) were found resulting in sex-specific analyses. However, due to the previous reported differences in the relations of IGF-I and cardiovascular outcomes (18, 41) sex-specific analyses regarding IMT and LVMI were also performed and the respective results are reported in the supplement. All models were adjusted for sex (only for IMT and LVMI), age, waist circumference,

total cholesterol, HbA1c, systolic blood pressure and smoking. In the supplement we additionally report the results of two reduced adjustment sets. To account for possible non-linear associations restricted cubic splines with three knots were used. The three knots were pre-specified located at the 5th, 50th, and 95th percentile as recommended by Stone and Koo (42) resulting in one component of the spline function: for example, IGF-I¹. Statistical analyses were performed using SAS, version 9.4 (SAS statistical software, version 9.4, SAS Institute, Inc.).

Results

Baseline characteristics

Baseline characteristics are presented in Table 1. Women were less often smokers and consumed less alcohol compared to men. Moreover, women showed a more healthy profile with respect to waist circumference, lipids and systolic blood pressure as well as hypertension and diabetes than men. While no sex differences in IGF-I levels were observed, IGFBP-3 levels were higher in women resulting in lower IGF-I/IGFBP-3 ratio values. With respect to cardiovascular parameters, women had higher NT-proBNP levels and lower LVMI and IMT values compared to men.

Intima-media thickness and left ventricular mass

With respect to IMT, over a 10-year follow-up period we observed an increase in IMT using z-score values as seen in Fig. 2. Mixed linear models adjusted for sex, age, waist circumference, smoking, total cholesterol, HbA1c as well as systolic blood pressure demonstrated significant associations of baseline IGF-I serum levels with changes

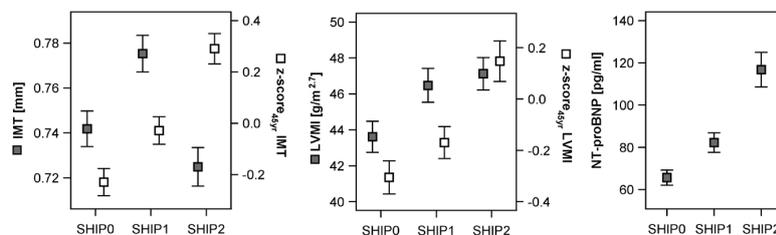


Figure 2

Mean with 95% confidence interval of intima-media-thickness (IMT), left ventricular mass index (LVMI) or N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) at baseline (SHIP-0), 5-year (SHIP-1) and 10-year (SHIP-2) follow-up. Only subjects with examination at all three time points were displayed. Data were shown as original values (grey) and/or z-score values (white). SHIP, Study of Health in Pomerania.

Table 1 Baseline general characteristics of the study population by sex. Continuous data are expressed as median (interquartile range) and mean (S.E.); nominal data are given as percentages.

	Men (n = 1841)			Women (n = 1982)		
	%	Mean (s.e.)	Median (IQR)	%	Mean (s.e.)	Median (IQR)
Smoking						
Never smoker	21.4			49.5		
Former smoker	43.5			23.0		
Current smoker	35.1			27.5		
Hypertension	60.5			39.7		
Diabetes	9.2			7.3		
Age (years)		49 (0.4)	49 (27)		48 (0.4)	48 (26)
Alcohol consumption (g/day)		18.6 (0.6)	11.4 (22.9)		6.1 (0.2)	3.3 (7.2)
Waist circumference (cm)		95 (0.3)	95 (15)		83 (0.3)	81 (20)
Total cholesterol (mmol/L)		5.8 (0.03)	5.7 (1.5)		5.7 (0.03)	5.6 (1.6)
LDL cholesterol (mmol/L)		3.6 (0.03)	3.6 (1.4)		3.5 (0.03)	3.4 (1.5)
Systolic blood pressure (mmHG)		142 (0.4)	140 (23)		129 (0.5)	126 (28)
IGF-I (ng/mL)		130 (1.2)	122 (60)		128 (1.1)	121 (65)
IGFBP-3 (ng/mL)		4103 (23)	4064 (1307)		4298 (20)	4249 (1126)
IGF-I/IGFBP-3 ratio		0.032 (0.0002)	0.030 (0.011)		0.030 (0.0002)	0.028 (0.012)
IMT (mm)*		0.81 (0.005)	0.80 (0.19)		0.74 (0.004)	0.72 (0.18)
LVMI (g/m ^{2.7})*		49 (0.5)	48 (16)		46 (0.4)	44 (16)
NT-proBNP (pg/mL)*		91 (6.0)	34 (57)		104 (3.8)	67 (76)

*Varying numbers: IMT (men 1028; women 1054), LVMI (men 768; women 929), NT-proBNP (men 1640; women 1824).

IGF-I, insulin-like growth factor 1; IGFBP-3, IGF-binding protein-3; IMT, intima-media-thickness; LDL, low-density lipoprotein; LVMI, left ventricular mass index; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide.

in the IMT based on the z-score values (Table 2). These results were confirmed for the IGF-I/IGFBP-3 ratio. Lower baseline IGF-I or IGF-I/IGFBP-3 ratio levels were related to a higher increase in the IMT (Fig. 3). In subgroup analyses restricted to subjects >45 years with at least two examinations or three examinations, the associations were lost which might be mainly due to the reduced number of used observations. No associations between IGFBP-3 alone and changes in IMT became apparent (Table 2). Sex-specific analyses (Supplementary Table 1) confirmed the main finding of a relation between IGF-I and changes in the IMT. While the direction of the effect estimates was similar in men and women, the association itself was clearly stronger in women. In men, the estimate barely missed statistical significance ($P=0.07$). In subgroup analyses, the associations disappeared in men similar to the overall results, whereas among women a trends toward associations of IGF-I ($P=0.10$) or IGF-I/IGFBP-3 ratio ($P=0.12$) with changes in IMT became apparent.

Considering LVMI, the expected increase over time was observed using the original as well as z-score values (Fig. 2). Mixed models did not detect any significant association between IGF-I, IGFBP-3 or IGF-I/IGFBP-3 ratio levels and changes in the LVMI over time in the overall (Fig. 3 and Table 2) or sex-specific analyses (Supplementary Table 1).

The results with respect to IMT and LVMI did not change using a reduced adjustment set (Supplementary Table 2).

N-terminal pro-brain natriuretic peptide

Independent of sex, adjusted mixed models demonstrated significant associations between levels of IGF-I and changes in NT-proBNP levels (Fig. 3 and Table 3). In women, higher baseline IGF-I or IGF-I/IGFBP-3 ratio values were associated with an increase in NT-proBNP levels, whereas no significant association was detected between IGFBP-3 and changes in NT-proBNP. These results were also stable in the subpopulation of women >45 years participating in all three examinations. In men (Fig. 3 and Table 3), IGF-I and IGFBP-3 values showed significant U-shaped associations with changes in NT-proBNP levels. A similar trend was observed for the IGF-I/IGFBP-3 ratio, even though the estimates barely missed statistical significance. Taken together, low and high baseline values in IGF-I, IGFBP-3 or the IGF-I/IGFBP-3 ratio were linked to a higher increase in NT-proBNP levels. These findings were also seen in the subgroup of men with three examinations (Table 3) or using a reduced adjustment set (Supplementary Table 2). Mixed linear regression model adjusted for age, waist circumference, total cholesterol, HbA1c, systolic blood

Table 2 Association between baseline IGF-I, IGFBP-3 or IGF-I/IGFBP-3 ratio and changes in IMT and LVMI during a 5-year follow-up. Mixed linear regression model adjusted for sex, age, waist circumference, total cholesterol, HbA1c, systolic blood pressure and smoking.

	All subjects with at least 2 observations						Subjects >45 year with at least 3 observations					
	Δ LVMI		Δ z-score _{all}		P		Δ z-score _{45yr}		P		Δ z-score _{45yr}	
	beta	s.e.	beta	s.e.		beta	s.e.	beta	s.e.	beta	s.e.	
Overall (observations) [†]		3630					2910				2053	
IGF-I per s.d. increase	-0.044	0.012	-0.028	0.014	<0.01	0.06	0.017	-0.016	0.017	0.36	0.017	
IGFBP-3 per s.d. increase	-0.005	0.012	-0.020	0.013	0.68	0.13	0.015	-0.015	0.015	0.31	0.015	
IGF-I/IGFBP-3 ratio per s.d. increase	-0.045	0.012	-0.012	0.014	<0.01	0.42	0.017	-0.001	0.017	0.94	0.017	
Overall (observations) [†]		2678					2059				1212	
IGF-I per s.d. increase	-0.026	0.231	-0.006	0.017	0.75	0.98	0.021	-0.029	0.029	0.32	0.029	
IGFBP-3 per s.d. increase	-0.090	0.218	-0.009	0.016	0.58	0.70	0.019	-0.016	0.025	0.52	0.025	
IGF-I/IGFBP-3 ratio per s.d. increase	0.010	0.226	0.000	0.017	0.99	0.86	0.021	-0.019	0.027	0.49	0.027	

*For the IMT measurement a change in the methods occurred between the 5-year (SHIP-1) and 10-year (SHIP-2) follow-up resulting in not comparable results as reflected in a decreasing mean IMT between the 5-year and 10-year follow-up (Fig. 2). Therefore no results for the original data are given and the use of z-score is required; [†]The Δ z-score measured LVMI for the following parameters;

[‡]The Δ z-score measured IMT for the following parameters.

[§]IGF-I, insulin-like growth factor 1; IGFBP-3, IGF-binding protein-3; IMT, intima-media-thickness; LVMI, left ventricular mass index.

pressure and smoking. IGF-I', IGFBP-3' and IGF-I/IGFBP-3' represents the component of the spline function (see 'Subjects and methods' section).

Discussion

In the present population-based study, we discovered significant associations between IGF-I serum levels and changes in the IMT over time with lower IGF-I levels related to a higher increase in the IMT. Sex-specific analyses revealed a stronger association in women. Further analyses assessing the associations between the IGF-I/IGFBP-3 system and NT-proBNP changes revealed positive associations in women and U-shaped associations in men. With respect to LVMI, no longitudinal relation to baseline IGF-I, IGFBP-3 or IGF-I/IGFBP-3 ratio levels were found.

Intima-media thickness and left ventricular mass

In a cross-sectional analysis, Hietaniemi *et al.* (43) detected sex-specific differences concerning the associations of IGF-I levels with IMT. While IGF-I levels were positively associated with IMT in women, an inverse and weaker association became apparent in men (43). With respect to free and therefore bioactive IGF-I levels, another cross-sectional study discovered an inverse association to IMT in men aged 50 years (44). This finding is in accordance with a relation between lower free IGF-I levels and elevated thickness of the common carotid arteries in more than 400 senior men (45). However, also positive relations between IGF-I or IGFBP-3 levels and IMT among 300 Japanese men were discovered in a cross-sectional investigation (46).

Unfortunately, no longitudinal analyses were performed in these studies (43, 44, 45, 46). Previous population-based longitudinal studies were only performed with respect to manifest outcomes and detected relations of low IGF-I levels with cardiovascular alterations and incident diseases, namely an increased risk of ischemic heart disease (17), congestive heart failure (16, 21) and ischemic stroke (22). Even though these studies did not investigate cardiovascular markers like IMT, our findings are in concordance with their results (16, 17, 21, 22), as we showed that subjects with lower IGF-I levels had a more pronounced increase in IMT over time. However, our detected associations were more pronounced in women than in men, while the above-mentioned studies reported no notable sex differences in the associations between IGF-I and cardiovascular events (16, 17, 21, 22). Taken together these results suggest a protective effect of

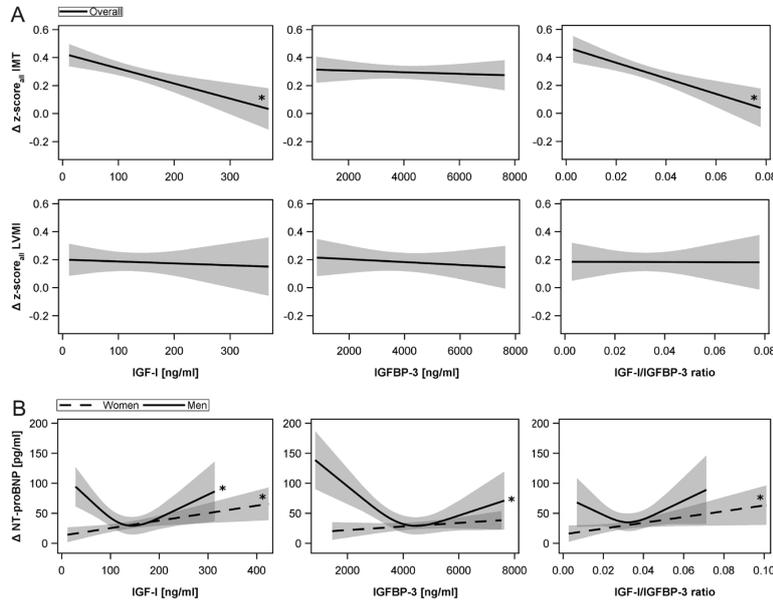


Figure 3

Associations between insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-binding protein-3 (IGFBP-3) ratio as well as IGF-I/IGFBP-3 ratio values and changes in (A) intima-media-thickness (IMT) or left ventricular mass index (LVMI) as well as (B) N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) for men and women. Gray areas indicate the 95% confidence interval. Mixed linear model adjusted for sex (only IMT and LVMI), age, waist circumference, total cholesterol, HbA1c, systolic blood pressure and smoking. In case of non-linear associations restricted cubic splines with three knots were used resulting in the inclusion of one spline term in the model (for more details see 'Subjects and methods' section). The corresponding estimates are given in Tables 2 and 3. *Significant associations ($P < 0.05$ for linear and if used spline term).

IGF-I in the development of an increased carotid IMT and therefore in the development of atherosclerosis. On the other side may lower IGF-I levels be accompanied with an increased risk of cardiovascular mortality. Focusing on that aspect, Friedrich *et al.* (41) discovered sex differences between IGF-I and cardiovascular mortality, namely a negative association in men, whereas in women no relation between IGF-I and mortality became apparent. In contrast, a Dutch study detected that both high and

low IGF-I levels were significantly linked to increased cardiovascular mortality in 800 older subjects (47). The latter findings were confirmed by a meta-analysis regarding overall mortality as well as cardiovascular mortality (10). Despite these data, the link between IGF-I levels and mortality remains inconsistent as demonstrated in a more recent investigation from the Cardiovascular Health Study (21). It only revealed a relation between elevated IGF-I levels and increased cardiovascular mortality (21) but did

Table 3 Association between baseline IGF-I, IGFBP-3 or IGF-I/IGFBP-3 ratio and changes in NT-proBNP during a 5-year follow-up. Mixed linear regression model adjusted for age, waist circumference, total cholesterol, HbA1c, systolic blood pressure and smoking. IGF-I', IGFBP-3' and IGF-I/IGFBP-3' represents the component of the spline function (see 'Subjects and methods' section).

	Δ NT-proBNP					
	Subjects with at least 2 observations			Subjects with 3 examinations		
	beta	S.E.	P	beta	S.E.	P
Men (observations)		1942			1458	
IGF-I per s.d. increase	-34.11	9.31	<0.01	-21.45	7.96	0.01
IGF-I'	3.98	1.12	<0.01	2.68	1.01	0.01
IGFBP-3 per s.d. increase	-35.75	8.73	<0.01	-13.80	7.38	0.06
IGFBP3'	3.08	0.89	<0.01	1.53	0.84	0.07
IGF-I/IGFBP-3 ratio per s.d. increase	-13.71	8.71	0.12	-14.28	7.49	0.06
IGF-I/IGFBP-3'	2.01	1.05	0.06	1.71	0.92	0.06
Women (observations)		2229			1720	
IGF-I per s.d. increase	5.92	2.20	0.01	7.58	2.27	<0.01
IGFBP-3 per s.d. increase	2.57	2.00	0.20	2.42	2.11	0.25
IGF-I/IGFBP-3 ratio per s.d. increase	4.48	2.15	0.04	6.87	2.18	<0.01

IGF-I, insulin-like growth factor 1; IGFBP-3, IGF-binding protein-3; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide.

not confirm the reported U-shaped association (10). These conflicting results bring up the poorly answered question, whether baseline IGF-I values or trajectories of IGF-I levels should be considered, when IGF-I and its assumed link to mortality is researched (48).

Our results with respect to IMT confirm the previous findings of an association between low circulating IGF-I levels and CVD, by showing a stronger increase in IMT over time in subjects with low IGF-I, whereas the adverse effects of high levels on cardiovascular health could not be supported. It is sufficiently known that IGF-I levels decrease with age (49, 50) and that atherosclerosis is more common in older individuals, however, regarding a potential connection only little is known up to now. In 2007, Thum *et al.* (49) discovered that the GH-induced IGF-I increase leads to a positive effect on the number as well as on the function of endothelial progenitor cells that may counteract the age-related decrease in the number of endothelial progenitor cells. The authors concluded, also on the basis of the finding that individuals with reduced endothelial progenitor cells have a higher incidence of atherosclerotic events like unstable angina, cardiovascular death or ischemic stroke (51), that the described link between IGF-I and endothelial progenitor cells may represent a possible link between cardiovascular events and low IGF-I levels (49). Interestingly, acromegaly patients showed no age-related declines in endothelial progenitor cells, but had reduced circulating endothelial progenitor cells numbers with the highest reduction in patients with active acromegaly compared to healthy controls (52). This might be one explanation for the increased cardiovascular risk among acromegaly patients (9, 53). Moreover, treatment of acromegaly leads to an increase in endothelial progenitor cells. In addition, a recent review discussed IGF-I induced NO release from endothelial cells as mediator of vascular IGF-I effects (54). Taken together, our study associated lower IGF-I baseline levels to a higher increase of the IMT in both sexes and is in accordance with prior longitudinal studies (16, 17, 22) that demonstrated a protective effect of IGF-I on the cardiovascular system, although sex differences became obvious which need to be further investigated.

Considering IGF-I levels and their relation to changes in LVMI over time, we found no association in the present study. These findings confirm the previous reported lack of a cross-sectional association in the same study population (18). On the contrary, the heart is well-known as an IGF-I responsive organ (55) and an older study reported insulin as well as IGF-I to possess determining features toward the LVM (56). As this previous study is based on a highly

selective population of 101 never-treated nondiabetic subjects with essential hypertension the comparability between the studies is, however, limited. In conclusion, the present study did not identify associations of IGF-I to LVMI, although the heart responsiveness for IGF-I is well known.

N-terminal pro-brain natriuretic peptide

To our knowledge, this is the first large study investigating the relation between IGF-I and changes in NT-proBNP over time in a population-based setting. A previous Danish cross-sectional study found an inverse association between IGF-I levels and NT-proBNP (20) and is in concordance with findings in acromegaly showing that patients with an active disease had lower levels of NT-proBNP (57). Another study (58) focused on ethnical differences and confirmed an inverse association between IGF-I and NT-proBNP as well, but only in white and not in black individuals. Interestingly, Krim *et al.* (59) detected ethnical differences concerning the levels of natriuretic peptide with the result that black and also Asian individuals had significantly higher levels of BNP compared to Hispanic or white individuals. In the present study, we observed positive associations between baseline IGF-I or IGF-I/IGFBP-3 ratio and an increase of NT-proBNP levels in women as well as a significant U-shaped association between IGF-I and NT-proBNP levels in men. These findings are partly in conflict to the above-mentioned cross-sectional studies. Reasons for the discrepancies might be the investigated populations, the design of the studies (cross-sectional versus longitudinal) and the number of investigated subjects with our study being the largest with over 4000 subjects. Interestingly, in the present study clear sex differences in the association between IGF-I and NT-proBNP became visible. Up to now, only small evidence exists with respect to sex differences in NT-proBNP levels. Regarding natriuretic peptide, a recent review (60) discussed sex hormones as possible explanation for differences in NT-proBNP levels between men and women. Furthermore, a study by Wang *et al.* (61) detected female sex as one leading predictor for higher circulating levels of natriuretic peptide. In fact, it is not surprising that sex differences were detected in our study, as such are well known from previous studies assessing IGF-I and its potential relation to various, especially cardiovascular outcomes (41, 43). In addition, NT-proBNP (60) and more general natriuretic peptide (61) were discussed to be sex-specific. However, these sex differences need to be further explored to understand

the observed interaction and consequently the different association patterns in women and men.

Strength and limitations

The present study is one of the largest or even the first study to investigate the impact of IGF-I and IGFBP-3 on changes in subclinical cardiovascular alterations in a population-based longitudinal setting. The large number of used observations as well as sex-specific analyses and use of a broad range of confounders represent the strength of the study. Limitations arise from the change in methods to determine the IMT or LVMI in the baseline as well as follow-up examinations. To overcome this limitation z-scores were used. External validation in a population-based setting is necessary to determine generalizability of the present findings.

Conclusion

To the best of our knowledge, this study is the first to investigate and detect associations between IGF-I and changes in IMT and NT-proBNP in a population-based setting. Lower baseline IGF-I levels were linked to a higher increase in the IMT and NT-proBNP over 5 years in a population-based setting. Furthermore, in men, high baseline IGF-I levels were related to an increase in NT-proBNP. Therefore, we confirmed and extended the current knowledge on low IGF-I levels and their impact on the cardiovascular system. Moreover, the found U-shaped association between IGF-I and NT-proBNP might be one possible explanation for the detected U-shaped relation of IGF-I with cardiovascular mortality in a recent meta-analysis (10).

Supplementary materials

This is linked to the online version of the paper at <https://doi.org/10.1530/EJE-19-0470>.

Declaration of interest

The authors declare that there is no conflict of interest that could be perceived as prejudicing the impartiality of this study.

Funding

This work was funded by grants from the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF, Grants 01ZZ0403, 01ZZ0103, 01GI0883), the Ministry for Education, Research and Cultural Affairs as well as the Ministry of Social Affairs of the Federal State of Mecklenburg-West Pomerania. This work is also part of the research project Greifswald Approach to Individualized Medicine (GANI_MED). The GANI_MED

consortium is funded by the Federal Ministry of Education and Research and the Ministry of Cultural Affairs of the Federal State of Mecklenburg-West Pomerania (03IS2061A).

References

- 1 Leong SR, Baxter RC, Camerato T, Dai J & Wood WI. Structure and functional expression of the acid-labile subunit of the insulin-like growth factor-binding protein complex. *Molecular Endocrinology* 1992 **6** 870–876. (<https://doi.org/10.1210/mend.6.6.1379671>)
- 2 Juul A. Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. *Growth Hormone and IGF Research* 2003 **13** 113–170. ([https://doi.org/10.1016/s1096-6374\(03\)00038-8](https://doi.org/10.1016/s1096-6374(03)00038-8))
- 3 Jones JI & Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Reviews* 1995 **16** 3–34. (<https://doi.org/10.1210/edrv-16-1-3>)
- 4 Mohan S & Baylink DJ. IGF-binding proteins are multifunctional and act via IGF-dependent and -independent mechanisms. *Journal of Endocrinology* 2002 **175** 19–31. (<https://doi.org/10.1677/joe.0.1750019>)
- 5 Bayes-Genis A, Conover CA & Schwartz RS. The insulin-like growth factor axis: a review of atherosclerosis and restenosis. *Circulation Research* 2000 **86** 125–130. (<https://doi.org/10.1161/01.res.86.2.125>)
- 6 Juul A, Scheike T, Davidsen M, Gyllenberg J & Jorgensen T. Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease: a population-based case-control study. *Circulation* 2002 **106** 939–944. (<https://doi.org/10.1161/01.cir.0000027563.44593.cc>)
- 7 Colao A, Spiezia S, Di Somma C, Pivonello R, Marzullo P, Rota F, Musella T, Auriemma RS, De Martino MC & Lombardi G. Circulating insulin-like growth factor-I levels are correlated with the atherosclerotic profile in healthy subjects independently of age. *Journal of Endocrinological Investigation* 2005 **28** 440–448. (<https://doi.org/10.1007/bf03347225>)
- 8 Johnsen SP, Hundborg HH, Sorensen HT, Orskov H, Tjonneland A, Overvad K & Jorgensen JO. Insulin-like growth factor (IGF) I, -II, and IGF binding protein-3 and risk of ischemic stroke. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005 **90** 5937–5941. (<https://doi.org/10.1210/jc.2004-2088>)
- 9 Colao A, Ferone D, Marzullo P & Lombardi G. Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management. *Endocrine Reviews* 2004 **25** 102–152. (<https://doi.org/10.1210/er.2002-0022>)
- 10 Burgers AM, Biermasz NR, Schoones JW, Pereira AM, Renehan AG, Zwahlen M, Egger M & Dekkers OM. Meta-analysis and dose-response metaregression: circulating insulin-like growth factor I (IGF-I) and mortality. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011 **96** 2912–2920. (<https://doi.org/10.1210/jc.2011-1377>)
- 11 Sowers JR. Insulin and insulin-like growth factor in normal and pathological cardiovascular physiology. *Hypertension* 1997 **29** 691–699. (<https://doi.org/10.1161/01.hyp.29.3.691>)
- 12 Paisley AN, Banerjee M, Rezaei M, Schofield RE, Balakrishnannair S, Herbert A, Lawrance JA, Trainer PJ & Cruickshank JK. Changes in arterial stiffness but not carotid intimal thickness in acromegaly. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011 **96** 1486–1492. (<https://doi.org/10.1210/jc.2010-2225>)
- 13 Lombardi G, Di Somma C, Grasso LF, Savanelli MC, Colao A & Pivonello R. The cardiovascular system in growth hormone excess and growth hormone deficiency. *Journal of Endocrinological Investigation* 2012 **35** 1021–1029. (<https://doi.org/10.3275/8717>)
- 14 Ito H, Hiroe M, Hirata Y, Tsujino M, Adachi S, Shichiri M, Koike A, Nogami A & Marumo F. Insulin-like growth factor-I induces hypertrophy with enhanced expression of muscle specific genes in cultured rat cardiomyocytes. *Circulation* 1993 **87** 1715–1721. (<https://doi.org/10.1161/01.cir.87.5.1715>)

- 15 Donohue TJ, Dworkin LD, Lango MN, Fliegner K, Lango RP, Benstein JA, Slater WR & Catanese VM. Induction of myocardial insulin-like growth factor-I gene expression in left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994 **89** 799–809. (<https://doi.org/10.1161/01.cir.89.2.799>)
- 16 Vasan RS, Sullivan LM, D'Agostino RB, Roubenoff R, Harris T, Sawyer DB, Levy D & Wilson PW. Serum insulin-like growth factor I and risk for heart failure in elderly individuals without a previous myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Annals of Internal Medicine* 2003 **139** 642–648. (<https://doi.org/10.7326/0003-4819-139-8-200310210-00007>)
- 17 Laughlin GA, Barrett-Connor E, Criqui MH & Kritiz-Silverstein D. The prospective association of serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-1 levels with all cause and cardiovascular disease mortality in older adults: the Rancho Bernardo Study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004 **89** 114–120. (<https://doi.org/10.1210/jc.2003-030967>)
- 18 Friedrich N, Aumann N, Dörr M, Felix SB, Nauck M, Wallaschofski H & Völzke H. Lack of association between insulin-like growth factor-1 or insulin-like growth factor-binding protein-3 and left ventricular hypertrophy: results of the Study of Health in Pomerania. *Journal of Hypertension* 2010 **28** 856–864. (<https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e328336274a>)
- 19 Carlzon D, Svensson J, Petzold M, Karlsson MK, Ljunggren Ö, Tivesten Å, Mellstrom D & Ohlsson C. Both low and high serum IGF-1 levels associate with increased risk of cardiovascular events in elderly men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2014 **99** E2308–E2316. (<https://doi.org/10.1210/jc.2014-1575>)
- 20 Andreassen M, Raymond I, Kistorp C, Hildebrandt P, Faber J & Kristensen LØ. IGF1 as predictor of all cause mortality and cardiovascular disease in an elderly population. *European Journal of Endocrinology* 2009 **160** 25–31. (<https://doi.org/10.1530/EJE-08-0452>)
- 21 Kaplan RC, Strizich G, Aneke-Nash C, Dominguez-Islas C, Buzkova P, Strickler H, Rohan T, Pollak M, Kuller L, Kizer JR *et al.* Insulinlike growth factor binding protein-1 and ghrelin predict health outcomes among older adults: cardiovascular health study cohort. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2017 **102** 267–278. (<https://doi.org/10.1210/jc.2016-2779>)
- 22 Saber H, Himali JJ, Beiser AS, Shoamaneh A, Pikula A, Roubenoff R, Romero JR, Kase CS, Vasan RS & Seshadri S. Serum insulin-like growth factor 1 and the risk of ischemic stroke: the Framingham study. *Stroke* 2017 **48** 1760–1765. (<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.016563>)
- 23 Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey Jr DE, Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL *et al.* 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology* 2013 **62** e147–e239. (<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.05.019>)
- 24 Francis GS, Felker GM & Tang WH. A test in context: critical evaluation of natriuretic peptide testing in heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* 2016 **67** 330–337. (<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.10.073>)
- 25 Hunt PJ, Yandle TG, Nicholls MG, Richards AM & Espiner EA. The amino-terminal portion of pro-brain natriuretic peptide (Pro-BNP) circulates in human plasma. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1995 **214** 1175–1183. (<https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2410>)
- 26 Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *European Journal of Heart Failure* 2004 **6** 257–260. (<https://doi.org/10.1016/j.ejheart.2003.12.015>)
- 27 Hall C. NT-ProBNP: the mechanism behind the marker. *Journal of Cardiac Failure* 2005 **11** S81–S83. (<https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2005.04.019>)
- 28 Kistorp C, Raymond I, Pedersen F, Gustafsson F, Faber J & Hildebrandt P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide, C-reactive protein, and urinary albumin levels as predictors of mortality and cardiovascular events in older adults. *JAMA* 2005 **293** 1609–1616. (<https://doi.org/10.1001/jama.293.13.1609>)
- 29 Olsen MH, Hansen TW, Christensen MK, Gustafsson F, Rasmussen S, Wachtell K, Ibsen H, Torp-Pedersen C & Hildebrandt PR. N-terminal pro-brain natriuretic peptide, but not high sensitivity C-reactive protein, improves cardiovascular risk prediction in the general population. *European Heart Journal* 2007 **28** 1374–1381. (<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehl448>)
- 30 Daniels LB, Laughlin GA, Clopton P, Maisel AS & Barrett-Connor E. Minimally elevated cardiac troponin T and elevated N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predict mortality in older adults: results from the Rancho Bernardo Study. *Journal of the American College of Cardiology* 2008 **52** 450–459. (<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.04.033>)
- 31 Andreassen M, Faber J, Vestergaard H, Kistorp C & Kristensen LØ. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with growth hormone disturbances. *Clinical Endocrinology* 2007 **66** 619–625. (<https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02782.x>)
- 32 Arikian S, Bahceci M, Tuzcu A & Gokalp D. N-terminal pro-brain natriuretic peptide in newly diagnosed acromegaly. *Journal of Endocrinological Investigation* 2010 **33** 571–575. (<https://doi.org/10.1007/BF03346650>)
- 33 John U, Greiner B, Hensel E, Ludemann J, Piek M, Sauer S, Adam C, Born G, Alte D, Greiser E *et al.* Study of Health in Pomerania (SHIP): a health examination survey in an east German region: objectives and design. *Soz Präventivmed* 2001 **46** 186–194. (<https://doi.org/10.1007/bf01324255>)
- 34 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. *International Journal of Epidemiology* 2011 **40** 294–307. (<https://doi.org/10.1093/ije/dyp394>)
- 35 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. (<https://doi.org/10.1097/01.alc.0000128383.34605.16>)
- 36 Müller C, Wallaschofski H, Brabant G, Wahnschaffe U, Samietz S, Nauck M & Friedrich N. The association between IGF-I/IGFBP-3 and subclinical end points: epidemiology faces the limits. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2014 **99** 2804–2812. (<https://doi.org/10.1210/jc.2013-3746>)
- 37 Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I & Reichek N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *American Journal of Cardiology* 1986 **57** 450–458. ([https://doi.org/10.1016/0002-9149\(86\)90771-x](https://doi.org/10.1016/0002-9149(86)90771-x))
- 38 Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS *et al.* Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2005 **18** 1440–1463. (<https://doi.org/10.1016/j.echo.2005.10.005>)
- 39 Abs R, Bengtsson BA, Hernberg-Ståhl E, Monson JP, Tauber JP, Wilton P & Wüster C. GH replacement in 1034 growth hormone deficient hypopituitary adults: demographic and clinical characteristics, dosing and safety. *Clinical Endocrinology* 1999 **50** 703–713. (<https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.1999.00695.x>)

- 40 Luedemann J, Schminke U, Berger K, Piek M, Willich SN, Doring A, John U & Kessler C. Association between behavior-dependent cardiovascular risk factors and asymptomatic carotid atherosclerosis in a general population. *Stroke* 2002 **33** 2929–2935. (<https://doi.org/10.1161/01.str.0000038422.57919.7f>)
- 41 Friedrich N, Haring R, Nauck M, Lüdemann J, Roskopf D, Spilcke-Liss E, Felix SB, Dörr M, Brabant G, Völzke H *et al.* Mortality and serum insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF binding protein 3 concentrations. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2009 **94** 1732–1739. (<https://doi.org/10.1210/jc.2008-2138>)
- 42 Hattori N. Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. *Growth Hormone and IGF Research* 2009 **19** 187–197. (<https://doi.org/10.1016/j.ghir.2008.12.001>)
- 43 Hietaniemi M, Poykko SM, Ukkola O, Paivansalo M & Antero Kesaniemi Y. IGF-I concentrations are positively associated with carotid artery atherosclerosis in women. *Annals of Medicine* 2005 **37** 373–382. (<https://doi.org/10.1080/07853890510011967>)
- 44 Boquist S, Ruotolo G, Skoglund-Andersson C, Tang R, Björkregren J, Bond MG, de Faire U, Brismar K & Hamsten A. Correlation of serum IGF-I and IGFBP-1 and -3 to cardiovascular risk indicators and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men. *Clinical Endocrinology* 2008 **68** 51–58. (<https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02998.x>)
- 45 van den Beld AW, Bots ML, Janssen JA, Pols HA, Lamberts SW & Grobbee DE. Endogenous hormones and carotid atherosclerosis in elderly men. *American Journal of Epidemiology* 2003 **157** 25–31. (<https://doi.org/10.1093/aje/kwf160>)
- 46 Kawachi S, Takeda N, Sasaki A, Kokubo Y, Takami K, Sarui H, Hayashi M, Yamakita N & Yasuda K. Circulating insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-3 are associated with early carotid atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2005 **25** 617–621. (<https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000154486.03017.35>)
- 47 van Bunderen CC, van Nieuwpoort IC, van Schoor NM, Deeg DJ, Lips P & Drent ML. The association of serum insulin-like growth factor-1 with mortality, cardiovascular disease, and cancer in the elderly: a population-based study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2010 **95** 4616–4624. (<https://doi.org/10.1210/jc.2010-0940>)
- 48 Sanders JL, Guo W, O'Meara ES, Kaplan RC, Pollak MN, Bartz TM, Newman AB, Fried LP & Cappola AR. Trajectories of IGF-I predict mortality in older adults: the cardiovascular health study. *Journals of Gerontology* 2018 **73** 953–959. (<https://doi.org/10.1093/gerona/glx143>)
- 49 Thum T, Hoerber S, Froese S, Klink I, Stichtenoth DO, Galuppo P, Jakob M, Tsikas D, Anker SD, Poole-Wilson PA *et al.* Age-dependent impairment of endothelial progenitor cells is corrected by growth-hormone-mediated increase of insulin-like growth-factor-1. *Circulation Research* 2007 **100** 434–443. (<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000257912.78915.af>)
- 50 Khan AS, Sane DC, Wannenburg T & Sonntag WE. Growth hormone, insulin-like growth factor-1 and the aging cardiovascular system. *Cardiovascular Research* 2002 **54** 25–35. ([https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(01\)00533-8](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(01)00533-8))
- 51 Schmidt-Lucke C, Rossig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, Kamper U, Dimmeler S & Zeiher AM. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation* 2005 **111** 2981–2987. (<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.504340>)
- 52 Fadini GP, Dassie F, Albiero M, Boscaro E, Albano I, Martini C, de Kreutzenberg SV, Agostini C, Avogaro A, Vettor R *et al.* Endothelial progenitor cells are reduced in acromegalic patients and can be restored by treatment with somatostatin analogs. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2014 **99** E2549–E2556. (<https://doi.org/10.1210/jc.2014-2275>)
- 53 Lombardi G, Galdiero M, Auriemma RS, Pivonello R & Colao A. Acromegaly and the cardiovascular system. *Neuroendocrinology* 2006 **83** 211–217. (<https://doi.org/10.1159/000095530>)
- 54 Isgaard J, Arcopinto M, Karason K & Cittadini A. GH and the cardiovascular system: an update on a topic at heart. *Endocrine* 2015 **48** 25–35. (<https://doi.org/10.1007/s12020-014-0327-6>)
- 55 Troncoso R, Ibarra C, Vicencio JM, Jaimovich E & Lavandero S. New insights into IGF-1 signaling in the heart. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2014 **25** 128–137. (<https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.12.002>)
- 56 Verdecchia P, Reboldi G, Schillaci G, Borgioni C, Ciucci A, Telera MP, Santeusano F, Porcellati C & Brunetti P. Circulating insulin and insulin growth factor-1 are independent determinants of left ventricular mass and geometry in essential hypertension. *Circulation* 1999 **100** 1802–1807. (<https://doi.org/10.1161/01.cir.100.17.1802>)
- 57 Verhelst J, Velkeniers B, Maiter D, Haentjens P, T'Sjoen G, Rietzschel E, Corvilain B, Abrams P, Nobels F, Abs R *et al.* Active acromegaly is associated with decreased hs-CRP and NT-proBNP serum levels: insights from the Belgian registry of acromegaly. *European Journal of Endocrinology* 2013 **168** 177–184. (<https://doi.org/10.1530/EJE-12-0753>)
- 58 Koegelenberg AS, Smith W, Schutte R & Schutte AE. IGF-1 and NT-proBNP in a black and white population: the SABPA study. *European Journal of Clinical Investigation* 2016 **46** 795–803. (<https://doi.org/10.1111/eci.12663>)
- 59 Krim SR, Vivo RP, Krim NR, Qian F, Cox M, Ventura H, Hernandez AF, Bhatt DL & Fonarow GC. Racial/Ethnic differences in B-type natriuretic peptide levels and their association with care and outcomes among patients hospitalized with heart failure: findings from get with the guidelines-heart failure. *JACC: Heart Failure* 2013 **1** 345–352. (<https://doi.org/10.1016/j.jchf.2013.04.008>)
- 60 Motiwala SR, Sarma A, Januzzi JL & O'Donoghue ML. Biomarkers in ACS and heart failure: should men and women be interpreted differently? *Clinical Chemistry* 2014 **60** 35–43. (<https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.202531>)
- 61 Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PW, Sutherland P, Omland T & Vasan RS. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *American Journal of Cardiology* 2002 **90** 254–258. ([https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(02\)02464-5](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(02)02464-5))

Received 2 July 2019

Revised version received 29 October 2019

Accepted 7 November 2019

7.2 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin unter Betreuung von Frau PD Dr. rer. med. Nele Friedrich durchgeführt.

Die in der vorliegenden Studie untersuchten SHIP-Daten wurden federführend von der Abteilung SHIP-KEF (Institut für Community Medicine, Universitätsmedizin Greifswald) erhoben. Die gesammelten Daten werden vom Forschungsverbund Community Medicine (<http://www2.medizin.uni-greifswald.de/cm/fv/forschungsverbund/>) verwaltet und können von internen sowie externen Wissenschaftlern beantragt werden.

Gemeinsam mit meiner Betreuerin habe ich das Thema für die vorliegende Arbeit entwickelt und einen positiv begutachteten Datennutzungsantrag beim Forschungsverbund Community Medicine gestellt. Die statistischen Analysen erfolgten am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin anhand eines von mir ausgearbeiteten Analyseplans. Die Interpretation der Studienergebnisse als auch die Einordnung in den aktuellen Stand der Literatur habe ich selbständig vorgenommen. Die Diskussion der Ergebnisse erfolgte in enger Rücksprache mit der betreuenden Person am Institut. Das publizierte Manuskript habe ich eigenständig verfasst, es wurde durch meine Co-Autoren (Prof. Dr. med. Henri Wallaschofski, Prof. Dr. med. Ulf Schminke, Prof. Dr. med. Henry Völzke, Prof. Dr. med. Marcus Dörr, Prof. Dr. med. Stephan B. Felix, Prof. Dr. med. Matthias Nauck, PD Dr. rer. med. Nele Friedrich) anschließend revidiert. Darauf basierend habe ich selbständig diese Arbeit verfasst.

Greifswald, den _____

Maximilian Eichner

7.3 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig 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 _____

Maximilian Eichner