

Aus der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin B
(Direktor Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. C. Templin)
der Universitätsmedizin der Universität Greifswald

**Assoziation von Sphingosin-1-phosphat mit linksventrikulärer und
linksatrialer Morphologie und Funktion**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin

(Dr. med.)

der

Universitätsmedizin

der

Universität Greifswald

2024

vorgelegt von

Jan Schielke

geboren am 15.01.1989

in Celle

Dekan: Prof. Dr. med. Karlhans Endlich
1. Gutachter: Prof. Dr. med. Marcus Dörr
2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Edzard Schwedhelm
Ort, Raum: Greifswald, Klinik für Innere Medizin B, Raum 6.0.8
Tag der Disputation: 18. Juni 2025

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abkürzungsverzeichnis | IV |
| Abbildungsverzeichnis | V |
| Tabellenverzeichnis | V |
| 1 Einleitung | 1 |
| 2 Material und Methoden | 2 |
| 2.1 Studienpopulation | 2 |
| 2.2 Magnetresonanztomographie | 3 |
| 2.3 Quantifizierung von Sphingosin-1-phosphat | 3 |
| 2.4 Datenerhebung | 4 |
| 2.5 Statistische Methoden | 5 |
| 3 Ergebnisse | 7 |
| 3.1 Morphologische Parameter des linken Ventrikels | 9 |
| 3.2 Funktionelle Parameter des linken Ventrikels | 12 |
| 3.3 Morphologische und funktionelle Parameter des linken Vorhofs | 13 |
| 4 Diskussion | 16 |
| 5 Schlussfolgerung und Aussicht | 19 |
| 6 Literaturverzeichnis | 20 |
| 7 Anhang | 26 |
| 7.1 Abbildung I | 26 |
| 7.2 Publizierter Fachartikel | 26 |
| 7.3 Eidesstattliche Versicherung | 40 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------|---|
| eGFR | Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate |
| HDL | Lipoprotein hoher Dichte |
| KI | Konfidenzintervall |
| LACO | Linksatriales Herzzeitvolumen |
| LAEDV | Linksatriales enddiastolisches Volumen |
| LAEF | Linksatriale Ejektionsfraktion |
| LAESV | Linksatriales endsystolisches Volumen |
| LASV | Linksatriales Schlagvolumen |
| LDL | Lipoprotein niedriger Dichte |
| LVC | Linksventrikuläre Konzentrität |
| LVCO | Linksventrikuläres Herzzeitvolumen |
| LVEDV | Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen |
| LVEF | Linksventrikuläre Ejektionsfraktion |
| LVESV | Linksventrikuläres endsystolisches Volumen |
| LVM | Linksventrikuläre Muskelmasse |
| LVSV | Linksventrikuläres Schlagvolumen |
| LVSW | Linksventrikuläre Schlagarbeit |
| LVWT | Linksventrikuläre Wanddicke |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| <i>m/z</i> | Masse-/Ladungsverhältnis |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| S1P | Sphingosin-1-phosphat |
| S1PR | Sphingosin-1-phosphat-Rezeptor |
| SHIP | Study of Health in Pomerania |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1: Morphologische Parameter des linken Ventrikels | 10 |
| Abbildung 2: Funktionelle Parameter des linken Ventrikels | 12 |
| Abbildung 3: Morphologische und funktionelle Parameter des linken Vorhofs | 14 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1: Charakteristika der Stichprobe | 7 |
| Tabelle 2: β -Koeffizient der Assoziationen von Sphingosin-1-phosphat | 15 |

1 Einleitung

Innerhalb der letzten Jahrzehnte wurden erhebliche Fortschritte in der Behandlung kardiovaskulärer Erkrankungen erzielt, insbesondere im Bereich der Herzinsuffizienztherapie. Dennoch bleiben kardiovaskuläre Erkrankungen eine weltweit führende Ursache für Morbidität und Mortalität [1-4].

Das Herzmuskelgewebe besitzt die Fähigkeit, sich an veränderte physiologische oder pathologische Konditionen anzupassen [5]. Aus pathophysiologischer Sicht ist kardiales Remodeling durch Veränderungen auf molekularer, zellulärer und interstitieller Ebene gekennzeichnet, die sich klinisch in Veränderungen der kardialen Morphologie und Funktion manifestieren [6].

Sphingosin-1-phosphat (S1P) ist an wesentlichen zellulären Prozessen wie Migration, Apoptose, Wachstum und Proliferation beteiligt [7] und könnte daher physiologische Funktionen aufweisen, die das kardiale Remodeling beeinflussen. In früheren Studien zeigte sich bereits eine Assoziation niedrigerer S1P-Konzentrationen mit ungünstigen kardiovaskulären Outcomes wie peripherer arterieller Verschlusskrankheit, Karotisstenose und erniedrigter linksventrikulärer Ejektionsfraktion (LVEF) bei ischämischer Kardiomyopathie [8, 9]. Nach einem Myokardinfarkt wird S1P mit myokardialen Regenerationsprozessen [10-12] und Teilaspekten der günstigen Wirkungen kardioselektiver β -Blocker in Verbindung gebracht [13]. S1P vermittelt darüber hinaus protektive Mechanismen bei Schädigungen von Kardiomyozyten im Rahmen von Ischämie und Reperfusion [14-19]. Diese Befunde unterstützen die Hypothese, dass Veränderungen der Serum-S1P-Konzentration sowie insbesondere niedrigere Konzentrationen mit ungünstigen kardiovaskulären Outcomes assoziiert sein könnten.

Der Zusammenhang zwischen der Serum-S1P-Konzentration und der kardialen Morphologie und Funktion wurde bisher in keiner bevölkerungsbasierten Studie untersucht. Entsprechend bestand das Ziel der vorliegenden Studie darin, die Assoziation der Serum-S1P-Konzentration mit linksventrikulärer und linksatrialer Morphologie und systolischer Funktion anhand von Magnetresonanztomographie (MRT) in einer bevölkerungsbasierten Stichprobe zu analysieren.

2 Material und Methoden

2.1 Studienpopulation

Die Daten der vorliegenden Studie entstammen der „Study of Health in Pomerania“ (SHIP), einer bevölkerungsbasierten Kohortenstudie, die im Raum Vorpommern im Nordosten Deutschlands durchgeführt wurde. Ausführliche Informationen zu Methodik, Datenerhebung und Studiendesign sind bereits zuvor an anderer Stelle veröffentlicht worden [20].

Für diese Analyse wurden die Daten der Basiserhebung einer Teilstichprobe der zweiten SHIP-Kohorte (SHIP-TREND-0) verwendet, die im Zeitraum von 2008 bis 2012 erhoben wurden [21]. Für SHIP-TREND-0 wurde aus der Bevölkerung Vorpommerns eine stratifizierte Zufallsstichprobe von 8826 Erwachsenen im Alter von 20 bis 79 Jahren bestimmt. Hiervon waren 4420 Erwachsene zur Teilnahme an der Studie bereit, was einer Teilnahmequote von 50.1 % entspricht. Insgesamt 957 Teilnehmer (427 Frauen, 44.6 %) im Alter von 21 bis 81 Jahren erfüllten die Voraussetzungen und waren mit der Durchführung einer Ganzkörper-MRT-Untersuchung, einschließlich der kardialen MRT-Teilstudie, einverstanden. Um eine geeignete Stichprobe zu erhalten, wurden Personen ausgeschlossen, die bereits einen Myokardinfarkt oder Schlaganfall erlitten hatten (n = 17), eine mittels Kardio-MRT bestimmte LVEF von unter 40 % aufwiesen (n = 9), einen Linksschenkelblock (n = 1) oder ein implantiertes Schrittmachersystem hatten (n = 1). Weiterhin wurden Teilnehmer mit fehlenden Werten für S1P (n = 61) oder einer der in den Regressionsanalysen verwendeten Kovariablen ausgeschlossen (n = 10). Die abschließende Stichprobe setzte sich aus 858 Teilnehmern (391 Frauen, 45.6 %) im Alter von 22 bis 81 Jahren zusammen. Nach einer Qualitätsanalyse waren 838 MRT-Datensätze für den linken Ventrikel (n = 838) sowie 775 MRT-Datensätze für den linken Vorhof (n = 775) geeignet.

Das SHIP-Studiendesign entspricht den Prinzipien der Deklaration von Helsinki. Die Durchführung wurde durch die Ethik-Kommission der Universitätsmedizin Greifswald genehmigt [21]. Alle Teilnehmer erteilten zudem ihr schriftliches Einverständnis.

2.2 Magnetresonanztomographie

Die kardiale MRT-Untersuchung wurde in Rückenlage auf einem 1.5-Tesla-MRT-Gerät (Magnetom Avanto; Siemens Medical Systems, Erlangen, Deutschland) [22] durchgeführt. Die Auswertungen des linken Ventrikels erfolgten gemäß den Leitlinien der Gesellschaft für kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie (Society for Cardiovascular Magnetic Resonance) [23]. Die linksventrikuläre Konzentrität (LVC) wurde durch das Verhältnis von linksventrikulärer Masse (LVM) zum enddiastolischen Volumen des linken Ventrikels (LVEDV) ermittelt. Zur Berechnung des linksventrikulären Schlagvolumens (LVSV), der linksventrikulären Schlagarbeit (LVSW) [24], des linksventrikulären Herzzeitvolumens (LVCO) und der LVEF wurden folgende Formeln verwendet:

$$\text{LVSV (ml)} = \text{LVEDV} - \text{LVESV (linksventrikuläres endsystolisches Volumen)}$$

$$\text{LVSW (cJ)} = \text{Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)} \times \text{LVSV} \times 0.0133$$

$$\text{LVCO (l/min)} = \text{LVSV} \times \text{Herzfrequenz}$$

$$\text{LVEF (\%)} = (\text{LVEDV} - \text{LVESV}) / \text{LVEDV}$$

Für die Auswertung des linken Vorhofs sowie zur Ermittlung des linksatrialen enddiastolischen Volumens (LAEDV) und des linksatrialen endsystolischen Volumens (LAESV) erfolgte die Bestimmung der Endokard-Grenzen in der Transversalachse in allen Phasen. Die folgenden Berechnungen wurden für das linksatriale Schlagvolumen (LASV), das linksatriale Herzzeitvolumen (LACO) und die linksatriale Ejektionsfraktion (LAEF) vorgenommen:

$$\text{LASV (ml)} = \text{LAEDV} - \text{LAESV}$$

$$\text{LACO (l/min)} = \text{LASV} \times \text{Herzfrequenz}$$

$$\text{LAEF (\%)} = (\text{LAEDV} - \text{LAESV}) / \text{LAEDV}$$

2.3 Quantifizierung von Sphingosin-1-phosphat

Für die Quantifizierung wurden zunächst venöse Blutproben entnommen. Diese Proben wurden entweder direkt analysiert oder bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ in der integrierten Forschungsbiobank der Universitätsmedizin Greifswald aufbewahrt [25]. Die Serum-

S1P-Konzentrationen wurden durch Flüssigkeitschromatographie in Kombination mit Tandem-Massenspektrometrie bestimmt, wobei geringfügige Anpassungen an etablierte Methoden vorgenommen wurden [8].

Die Proben wurden nach Zugabe von 20 µl der Standardlösung (1 µmol/l S1P-*d*₇ [Avanti Polar Lipids; Alabaster, AL, USA]) zu 20 µl Serum deproteinisiert, zentrifugiert und anschließend einer Umkehrphasen-Chromatographie sowie einer positiven Elektrospray-Ionisation unterzogen. Die Bestimmung von S1P erfolgte nach der Elution mittels Tandem-Massenspektrometrie. Dabei wurde die Fragmentierung des Mutterions (Masse-/Ladungsverhältnis [*m/z*] 380) zum spezifischen Tochterion (*m/z* 264) erfasst und zur Quantifizierung herangezogen. Zur Korrektur von Abweichungen in der Gerätesensibilität und in der Aufbereitung der Proben diente die interne Standardlösung (S1P-*d*₇) mit der Fragmentierung des Mutterions (*m/z* 387) zum Tochterion (*m/z* 271). Die absolute S1P-Konzentration wurde anhand von Kalibrationskurven berechnet. Während der Analysen wurden zudem Qualitätskontrollen durchgeführt und Ergebnisse mit einem Variationskoeffizienten unterhalb von 15 % als gültig betrachtet [8, 26].

2.4 Datenerhebung

Zur Erhebung von persönlichen Merkmalen wie Alter, Geschlecht, sozioökonomischem Hintergrund und Rauchverhalten [27] wurden die Studienteilnehmer in einem standardisierten Interview befragt.

Es erfolgte eine umfangreiche medizinische Untersuchung aller Studienteilnehmer, einschließlich anthropometrischer Messungen und einer Analyse der Körperzusammensetzung mittels bioelektrischer Impedanzmessung. Zudem wurden Blutproben sowohl ohne als auch nach mindestens achtstündiger Nahrungskarenz entnommen [28], um Parameter wie Glucosekonzentration, glykiertes Hämoglobin (HbA1c), Serumkreatinin, geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR, berechnet nach der Chronic Kidney Disease-Epidemiology-Collaboration [CKD-EPI]-Gleichung [29]), Gesamt-Cholesterin sowie Lipoprotein niedriger Dichte (LDL)-Cholesterin und Lipoprotein hoher Dichte (HDL)-Cholesterin zu bestimmen.

Blutdruck und Herzfrequenz wurden bei sitzender Körperhaltung dreimal am rechten Arm mit einem oszillometrischen digitalen Blutdruckmessgerät (HEM-705CP; Omron Corporation, Tokio, Japan) gemessen. Zwischen den einzelnen Messungen lag ein Intervall von jeweils drei Minuten. Vor Beginn der Messungen musste zudem eine Ruhezeit von mindestens fünf Minuten eingehalten werden. Der Durchschnittswert der zweiten und dritten Messung wurde für die Analyse verwendet.

Als Definition einer arteriellen Hypertonie wurde ein systolischer Blutdruck ≥ 140 mmHg und/oder ein diastolischer Blutdruck ≥ 90 mmHg und/oder die aktuelle Einnahme einer antihypertensiven Medikation (anatomisch-therapeutisch-chemisches Klassifikationssystem Code C02, C03, C07, C08 und C09) festgelegt.

2.5 Statistische Methoden

Um die Stichprobe zu beschreiben, wurden kategoriale Variablen in Prozent und kontinuierliche Variablen als Median mit den entsprechenden 25. und 75. Perzentilen angegeben. Dabei erfolgte eine Stratifizierung nach Geschlecht und den Terzilen der Serum-S1P-Konzentration.

Die Assoziationen von S1P mit Parametern des linken Ventrikels und des linken Vorhofs wurden mittels multivariabel adjustierter linearer Regressionsanalyse untersucht.

In der Interaktionsanalyse zeigte sich, dass das Alter keinen signifikanten Einfluss auf die Assoziation von S1P-Konzentrationen und LVM hatte (p -Wert für Interaktion = 0.369). Es bestand jedoch eine signifikante geschlechtsspezifische Interaktion (p -Wert für Interaktion = 0.013). Alle folgenden Assoziationen von S1P mit Parametern des linken Ventrikels und des linken Vorhofs wurden daher nach Geschlecht stratifiziert bewertet. Adjustierungen erfolgten hierbei für Alter, Körpergröße^{2,7}, fettfreie Körpermasse, Körperfettmasse, systolischen Blutdruck, Einnahme antihypertensiver und antidiabetischer Medikation, glykiertes Hämoglobin (HbA1c), Raucherstatus und eGFR.

Um die Robustheit der Ergebnisse hinsichtlich der Stichprobenauswahl zu prüfen, wurde eine inverse Wahrscheinlichkeitsgewichtung [30] basierend auf der Annahme eines „Missing at Random“-Mechanismus durchgeführt [31]. Die Berechnung der

inversen Wahrscheinlichkeitsgewichte erfolgte durch logistische Regressionsanalysen mit Teilnahme an der MRT-Untersuchung als Ergebnisvariable und soziodemographischen sowie gesundheitsbezogenen Vorhersagevariablen. Zur Untersuchung möglicher nichtlinearer Zusammenhänge zwischen den S1P-Konzentrationen und den Ergebnisvariablen wurden fraktionale Polynome verwendet [32].

Die Assoziationen zwischen S1P und LVM wurden in einer Sensitivitätsanalyse kategorisiert nach dem Vorliegen einer arteriellen Hypertonie (ja/nein) und dem Raucherstatus (Nichtraucher, ehemaliger Raucher, aktiver Raucher) untersucht.

Ein zweiseitiger p-Wert < 0.05 galt als Kriterium für statistische Signifikanz. Die statistischen Auswertungen wurden mithilfe des Statistikprogramms Stata 17.0 (Stata Corporation; College Station, TX, USA) durchgeführt.

3 Ergebnisse

In der untersuchten Stichprobe bestand bei beiden Geschlechtern kein signifikanter Unterschied des medianen Alters zwischen den Terzilen der Serum-S1P-Konzentration. Bei Männern war der Anteil derjenigen, die blutdrucksenkende Medikamente einnahmen, im ersten Terzil der S1P-Konzentration höher als in den anderen Terzilen. Bei Frauen zeigte sich in dieser Hinsicht kein signifikanter Unterschied. Die Werte für Gesamt-, LDL- und HDL-Cholesterin waren bei Männern im ersten Terzil niedriger als in den übrigen Terzilen. Gleichzeitig war in diesem Terzil jedoch auch der Anteil derjenigen höher, die eine lipidsenkende Medikation einnahmen. Bei Frauen gab es bezüglich der Cholesterinwerte keine signifikanten Unterschiede. Im ersten Terzil war jedoch der Anteil derjenigen, die eine lipidsenkende Medikation einnahmen, ebenfalls erhöht. Männer im ersten Terzil der S1P-Konzentration wiesen zudem eine niedrigere eGFR auf. Bei den übrigen Merkmalen bestanden zwischen den Terzilen weder bei Männern noch bei Frauen signifikante Unterschiede (**Tabelle 1**).

Tabelle 1: Charakteristika der Stichprobe. Stratifiziert nach Terzilen der Serum-Sphingosin-1-phosphat (S1P)-Konzentration und Geschlecht (n = 858).

| Parameter | | 1. Terzil | 2. Terzil | 3. Terzil | Gesamt | <i>p</i> -Wert* |
|--------------------------------|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| <i>N</i> (%) | Männer | 156 (54.4) | 156 (54.6) | 155 (54.4) | 467 (54.4) | |
| | Frauen | 131 (45.6) | 130 (45.5) | 130 (45.6) | 391 (45.6) | |
| Sphingosin-1-phosphat (μmol/l) | Männer | 0.65 (0.60, 0.69) | 0.81 (0.77, 0.84) | 0.97 (0.93, 1.06) | 0.81 (0.69, 0.93) | |
| | Frauen | 0.66 (0.60, 0.70) | 0.82 (0.79, 0.85) | 1.00 (0.93, 1.09) | 0.82 (0.70, 0.93) | |
| Alter (Jahre) | Männer | 52 (39, 65) | 48 (40, 59) | 47 (40, 49) | 49 (40, 60) | 0.145 |
| | Frauen | 52 (52, 61) | 51 (39, 58) | 49 (40, 59) | 50 (40, 59) | 0.412 |
| Körpergewicht (kg) | Männer | 87.7 (80.3, 96.6) | 85.3 (77.8, 95.4) | 85.9 (78.0, 96.6) | 86.4 (78.5, 96.3) | 0.375 |
| | Frauen | 68.4 (61.1, 78.9) | 70.2 (63.9, 79.1) | 72.7 (64.1, 82.0) | 70.1 (63.0, 79.8) | 0.164 |
| Fettfreie Körpermasse (kg) | Männer | 67.0 (62.7, 72.2) | 66.9 (61.7, 71.0) | 66.0 (60.4, 72.8) | 66.7 (61.6, 72.2) | 0.688 |
| | Frauen | 46.0 (43.8, 50.5) | 47.0 (43.9, 50.5) | 47.4 (44.2, 51.2) | 46.9 (43.9, 50.7) | 0.717 |
| Körperfettmasse (kg) | Männer | 21.4 (16.4, 25.3) | 19.4 (16.2, 24.5) | 20.0 (16.4, 25.1) | 20.1 (16.3, 25.1) | 0.234 |

Ergebnisse

| | | | | | | |
|--|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------|
| | Frauen | 21.8 (17.1, 28.6) | 23.4 (17.9, 30.8) | 24.8 (18.5, 32.3) | 23.0 (18.0, 30.5) | 0.063 |
| Größe (cm) | Männer | 177 (173, 182) | 179 (174, 183) | 177 (173, 181) | 178 (173, 182) | 0.361 |
| | Frauen | 164 (159, 169) | 165 (161, 169) | 164 (160, 168) | 164 (159, 169) | 0.326 |
| Body-Mass-Index (kg/m ²) | Männer | 28.2 (25.8, 30.5) | 27.3 (24.9, 30.1) | 27.4 (25.0, 30.0) | 27.7 (25.3, 30.2) | 0.097 |
| | Frauen | 25.7 (22.6, 28.9) | 25.8 (22.8, 30.6) | 26.7 (23.8, 30.5) | 26.0 (23.1, 30.1) | 0.219 |
| Taillenumfang (cm) | Männer | 95.9 (88.5, 104) | 93.4 (86.6, 103) | 93.6 (87.0, 103) | 94.0 (87.4, 103) | 0.192 |
| | Frauen | 80.0 (73.0, 89.7) | 80.0 (73.5, 92.0) | 81.3 (76.0, 90.2) | 81.0 (73.8, 90.5) | 0.550 |
| Taillenumfang / Größe-Verhältnis | Männer | 0.55 (0.49, 0.58) | 0.53 (0.48, 0.58) | 0.53 (0.50, 0.58) | 0.54 (0.49, 0.58) | 0.122 |
| | Frauen | 0.50 (0.44, 0.54) | 0.49 (0.44, 0.56) | 0.50 (0.46, 0.56) | 0.50 (0.45, 0.55) | 0.532 |
| Systolischer Blutdruck (mmHg) | Männer | 132 (125, 142) | 133 (123, 142) | 135 (125, 145) | 133 (124, 143) | 0.583 |
| | Frauen | 116 (106, 127) | 116 (108, 127) | 119 (109, 131) | 117 (108, 128) | 0.333 |
| Diastolischer Blutdruck (mmHg) | Männer | 78 (73, 85) | 80 (75, 86) | 81 (74, 88) | 80 (74, 86) | 0.243 |
| | Frauen | 74 (67, 79) | 74 (68, 81) | 74 (69, 81) | 74 (68, 81) | 0.236 |
| Hypertension (%) | Männer | 53.9 | 44.2 | 50.3 | 50.5 | 0.228 |
| | Frauen | 38.9 | 30.8 | 33.1 | 34.3 | 0.358 |
| Antihypertensive Medikation (%) | Männer | 37.2 | 23.7 | 21.9 | 27.6 | 0.004 |
| | Frauen | 32.1 | 22.3 | 26.2 | 29.9 | 0.201 |
| Glykiertes Hämoglobin (%) | Männer | 5.3 (4.9, 5.5) | 5.3 (5.0, 5.7) | 5.3 (5.1, 5.7) | 5.3 (4.9, 5.6) | 0.159 |
| | Frauen | 5.1 (4.7, 5.4) | 5.2 (4.8, 5.5) | 5.3 (4.9, 5.5) | 5.2 (4.8, 5.5) | 0.107 |
| Diabetes Mellitus Typ 2 (%) | Männer | 10.9 | 6.41 | 7.74 | 8.35 | 0.375 |
| | Frauen | 7.63 | 6.15 | 4.62 | 6.14 | 0.629 |
| Antidiabetische Medikation (%) | Männer | 6.41 | 3.85 | 1.94 | 4.07 | 0.146 |
| | Frauen | 3.05 | 0.00 | 0.00 | 1.02 | 0.036 |
| Gesamtcholesterin (mmol/l) | Männer | 5.20 (4.50, 6.00) | 5.30 (4.70, 6.10) | 5.50 (4.80, 6.20) | 5.30 (4.70, 6.10) | 0.026 |
| | Frauen | 5.50 (5.00, 6.20) | 5.50 (4.60, 6.30) | 5.40 (4.90, 6.20) | 5.50 (4.90, 6.20) | 0.941 |
| LDL-Cholesterin (mmol/l) | Männer | 3.34 (2.73, 3.86) | 3.43 (2.86, 3.96) | 3.59 (2.85, 4.06) | 3.44 (2.83, 3.98) | 0.046 |
| | Frauen | 3.33 (2.84, 3.77) | 3.25 (2.63, 4.14) | 3.42 (2.79, 4.00) | 3.33 (2.76, 3.95) | 0.485 |
| HDL-Cholesterin (mmol/l) | Männer | 1.25 (1.08, 1.45) | 1.30 (1.11, 1.51) | 1.33 (1.13, 1.52) | 1.28 (1.11, 1.49) | 0.053 |
| | Frauen | 1.59 (1.29, 1.87) | 1.60 (1.38, 1.83) | 1.61 (1.36, 1.87) | 1.60 (1.35, 1.86) | 0.802 |
| Gesamtcholesterin / HDL-Cholesterin-Verhältnis | Männer | 4.18 (3.53, 4.83) | 4.17 (3.37, 5.05) | 4.29 (3.37, 4.96) | 4.19 (3.41, 4.93) | 0.957 |
| | Frauen | 3.37 (2.89, 4.29) | 3.32 (2.73, 4.15) | 3.51 (2.86, 4.17) | 3.38 (2.86, 4.17) | 0.569 |
| Hypercholesterinämie (%) | Männer | 43.6 | 45.5 | 44.5 | 44.5 | 0.943 |
| | Frauen | 38.2 | 35.4 | 32.3 | 35.3 | 0.612 |
| Lipidsenkende Medikation (%) | Männer | 14.1 | 6.41 | 5.16 | 8.57 | 0.013 |
| | Frauen | 9.16 | 1.54 | 3.08 | 4.60 | 0.011 |
| eGFR (ml/min/1.73 m ²) | Männer | 90.2 (79.3, 103) | 94.9 (81.9, 105) | 94.6 (86.1, 107) | 93.9 (81.9, 105) | 0.039 |
| | Frauen | 93.5 (82.6, 104) | 92.6 (79.5, 102) | 92.4 (84.8, 105) | 91.7 (82.6, 104) | 0.650 |
| Rauchen (%) | Männer | | | | | |
| Nichtraucher | | 33.3 | 32.7 | 32.9 | 33.0 | |
| Aktive Raucher | | 16.7 | 22.4 | 28.4 | 22.5 | |
| Ehemalige Raucher | | 50.0 | 44.9 | 38.7 | 44.5 | 0.136 |

Ergebnisse

| | Frauen | | | | |
|-------------------|--------|------|------|------|-------|
| Nichtraucher | 51.9 | 51.5 | 40.8 | 48.1 | |
| Aktive Raucher | 21.4 | 20.0 | 26.9 | 22.8 | |
| Ehemalige Raucher | 26.7 | 28.5 | 32.3 | 29.2 | 0.350 |

Kontinuierliche Variablen sind als Median (25.–75. Perzentil) und kategoriale Variablen in Prozent angegeben. Ein p-Wert < 0.05 wurde als statistisch signifikant betrachtet und entsprechend hervorgehoben. Die p-Werte basieren bei kategorialen Variablen auf dem Chi-Quadrat-Test (bei erwarteten Zellfrequenzen < 10 wurde der exakte Fisher-Test angewendet) sowie bei kontinuierlichen Variablen auf dem Kruskal-Wallis-Test.

Umkehrung der x-Achse für die Serum-Sphingosin-1-phosphat-Konzentration

Die Analyse der gesamten Studienpopulation (n = 4194) zeigte, dass ein höheres Alter bei beiden Geschlechtern mit niedrigeren S1P-Konzentrationen assoziiert war (**Abbildung 1** im Anhang). Vor diesem Hintergrund war das Ziel der Analyse, die Assoziationen niedrigerer S1P-Konzentrationen mit Parametern der kardialen Morphologie und systolischen Funktion nach Adjustierung für das Alter und andere Kovariablen zu untersuchen. Um eine verständlichere Interpretation der Zusammenhänge zu ermöglichen, wurden alle Assoziationen von S1P und kardialen Parametern auf einer umgekehrten x-Achse abgebildet.

3.1 Morphologische Parameter des linken Ventrikels

Abbildung 1 zeigt den Zusammenhang der S1P-Konzentration mit den morphologischen Parametern des linken Ventrikels (LVEDV, LVESV, LVWT, LVM und LVC).

Bei Männern ergab die multivariabel adjustierte Regressionsanalyse eine signifikante, inverse Assoziation zwischen der S1P-Konzentration und den Parametern LVEDV, LVWT und LVM. Konkret war eine um 1 $\mu\text{mol/l}$ niedrigere S1P-Konzentration mit einem um 18.1 ml (95 %-Konfidenzintervall [KI]: 3.66 bis 32.6; p = 0.014) höheren LVEDV, einer um 0.46 mm (95 %-KI: 0.04 bis 0.89; p = 0.034) größeren LVWT und einer um 16.3 g (95 %-KI: 6.55 bis 26.1; p = 0.001) größeren LVM assoziiert (**Tabelle 2**). Bei Frauen konnte jeweils kein Zusammenhang nachgewiesen werden. Ebenso konnte für beide Geschlechter kein signifikanter

Zusammenhang zwischen der S1P-Konzentration und den Parametern LVESV und LVC festgestellt werden.

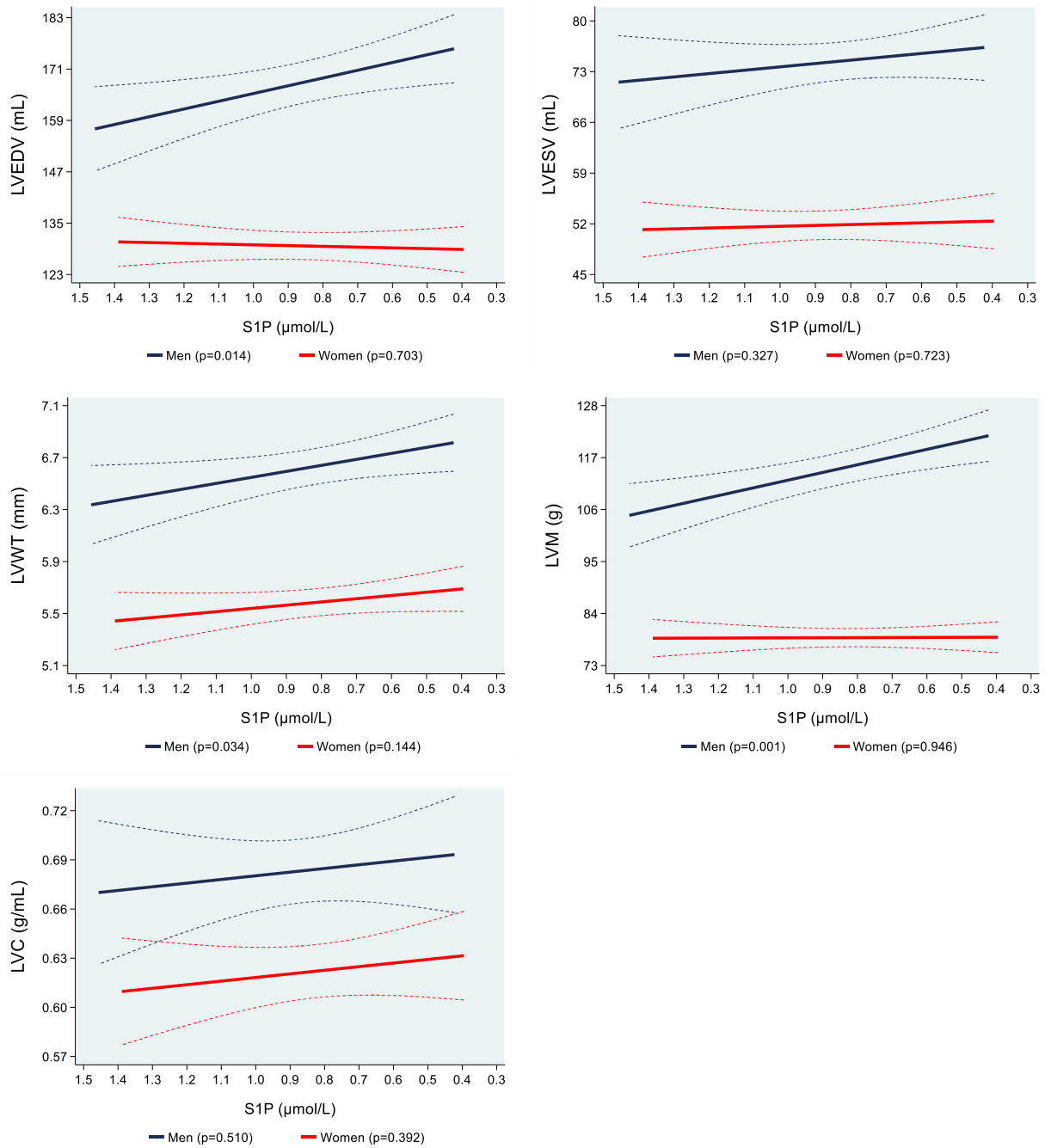
In der Sensitivitätsanalyse zeigte sich bei Männern, dass eine um 1 $\mu\text{mol/l}$ niedrigere S1P-Konzentration bei hypertensiven Probanden mit einer um 21.6 g größeren LVM (95 %-KI: 6.46 bis 36.7; $p = 0.005$) verbunden war. Bei normotensiven Probanden ergab sich hingegen keine Assoziation ($p = 0.306$). Weder bei hypertensiven noch bei normotensiven Frauen konnten Zusammenhänge zwischen der S1P-Konzentration und LVM nachgewiesen werden.

Weiterhin zeigte sich bei rauchenden Männern, dass eine um 1 $\mu\text{mol/l}$ niedrigere S1P-Konzentration mit einer um 27.9 g (95 %-KI: 9.76 bis 46.0; $p = 0.003$) größeren LVM assoziiert war. Diese Assoziation galt ebenfalls für frühere Raucher, bei denen eine um 1 $\mu\text{mol/l}$ niedrigere S1P-Konzentration mit einer um 17.3 g (95 %-KI: 1.73 bis 32.8; $p = 0.030$) größeren LVM verbunden war. Bei Teilnehmern, die nie geraucht hatten, konnten keine Assoziationen nachgewiesen werden ($p = 0.270$). Auch bei Frauen waren keine signifikanten Zusammenhänge feststellbar.

Zusätzliche Sensitivitätsanalysen wurden durchgeführt, um die Assoziationen von S1P und LVM in Abhängigkeit von der Menopause zu untersuchen. Dabei konnten weder bei prä- noch bei postmenopausalen Frauen signifikante Zusammenhänge nachgewiesen werden.

Abbildung 1: Morphologische Parameter des linken Ventrikels. Adjustierte* Kurve (95 %-KI) des Zusammenhangs zwischen der Sphingosin-1-phosphat (S1P)-Konzentration und den Mittelwerten des durch MRT bestimmten linksventrikulären enddiastolischen Volumens (LVEDV), des linksventrikulären endsystolischen Volumens (LVESV), der linksventrikulären Wanddicke (LVWT), der linksventrikulären Masse (LVM) und der linksventrikulären Konzentrität (LVC) stratifiziert nach Geschlecht (Männer = 457; Frauen = 381).

Ergebnisse



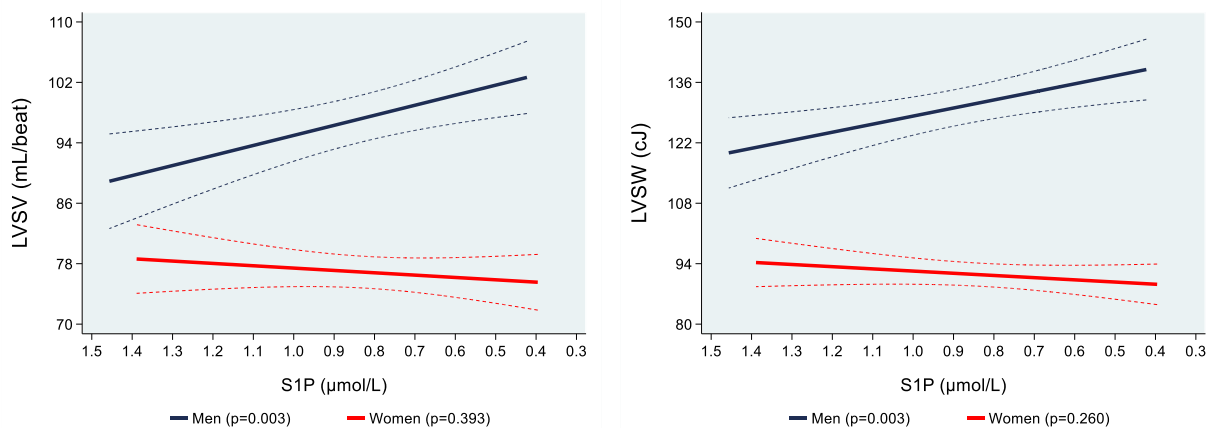
*Lineare Regression adjustiert für Alter, Körperfettanteil, fettfreie Körpermasse, Körpergröße^{2,7}, Blutdruck (systolisch), Einnahme antihypertensiver Medikation, Einnahme antidiabetischer Medikation, glykiertes Hämoglobin (HbA1c), Raucherstatus und geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR). Die Daten wurden nach Probanden gewichtet, die nicht an der Untersuchung teilnahmen.

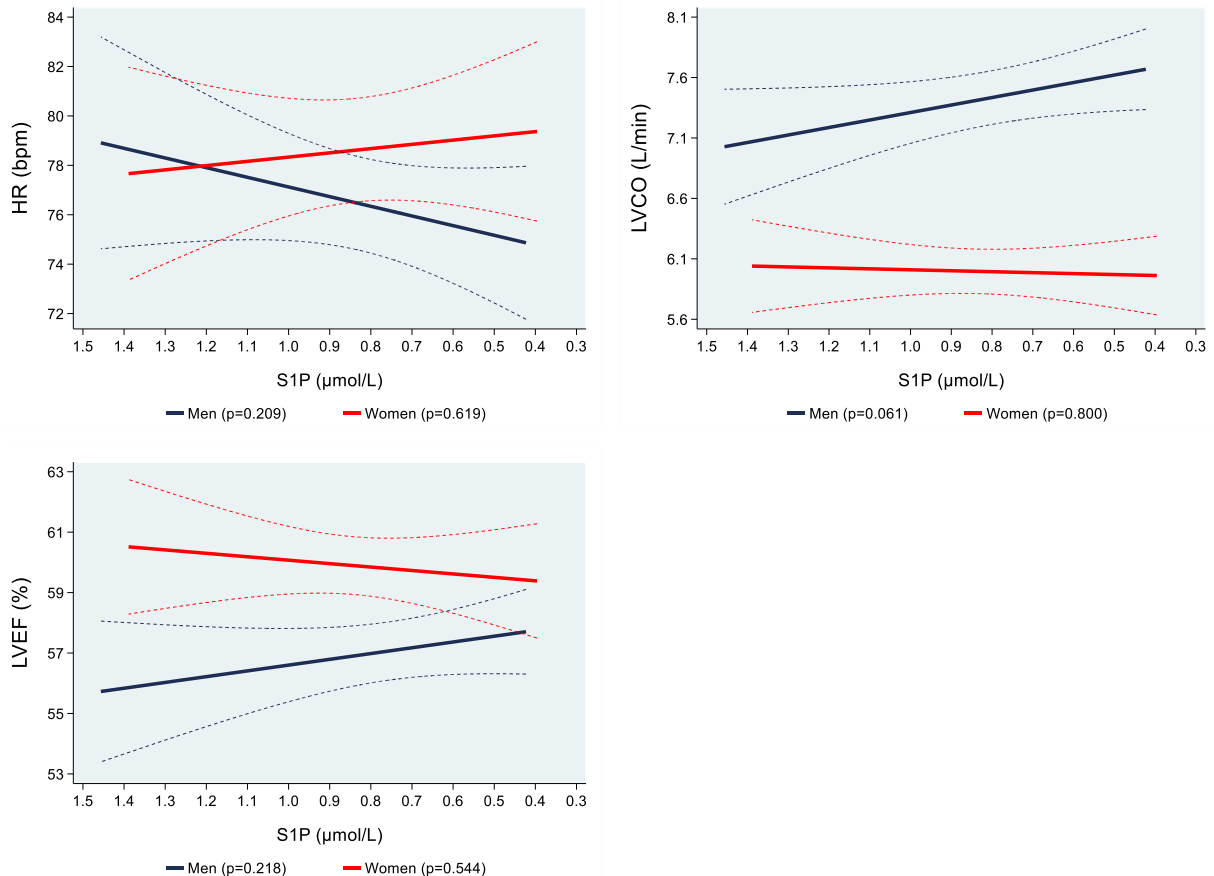
3.2 Funktionelle Parameter des linken Ventrikels

Abbildung 2 zeigt den Zusammenhang der S1P-Konzentration mit den systolischen Funktionsparametern des linken Ventrikels (LVSV, LVSW, Herzfrequenz, LVCO, LVEF).

Für Männer konnte eine inverse Assoziation der S1P-Konzentration mit den systolischen Funktionsparametern LVSV und LVSW nachgewiesen werden. Bei einer um 1 $\mu\text{mol/l}$ niedrigeren S1P-Konzentration zeigte sich ein um 13.3 ml (95 %-KI: 4.49 bis 22.1; $p = 0.003$) höheres LVSV und eine um 18.7 cJ (95 %-KI: 6.43 bis 30.9; $p = 0.003$) größere LVSW (**Tabelle 2**). Bei Frauen konnte keine Assoziation dieser Parameter festgestellt werden. Weiterhin ergab sich für beide Geschlechter keine Assoziation der S1P-Konzentration mit der Herzfrequenz, dem LVCO und der LVEF.

Abbildung 2: Funktionelle Parameter des linken Ventrikels. Adjustierte* Kurve (95 %-KI) des Zusammenhangs zwischen der Sphingosin-1-phosphat-Konzentration und den Mittelwerten des durch MRT bestimmten linksventrikulären Schlagvolumens (LVSV), der linksventrikulären Schlagarbeit (LVSW), der Herzfrequenz (HR), des linksventrikulären Herzzeitvolumens (LVCO) und der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) stratifiziert nach Geschlecht (Männer = 457; Frauen = 381).





*Lineare Regression adjustiert für Alter, Körperfettanteil, fettfreie Körpermasse, Körpergröße^{2,7}, Blutdruck (systolisch), Einnahme antihypertensiver Medikation, Einnahme antidiabetischer Medikation, glykiertes Hämoglobin (HbA1c), Raucherstatus und geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR). Die Daten wurden nach Probanden gewichtet, die nicht an der Untersuchung teilnahmen.

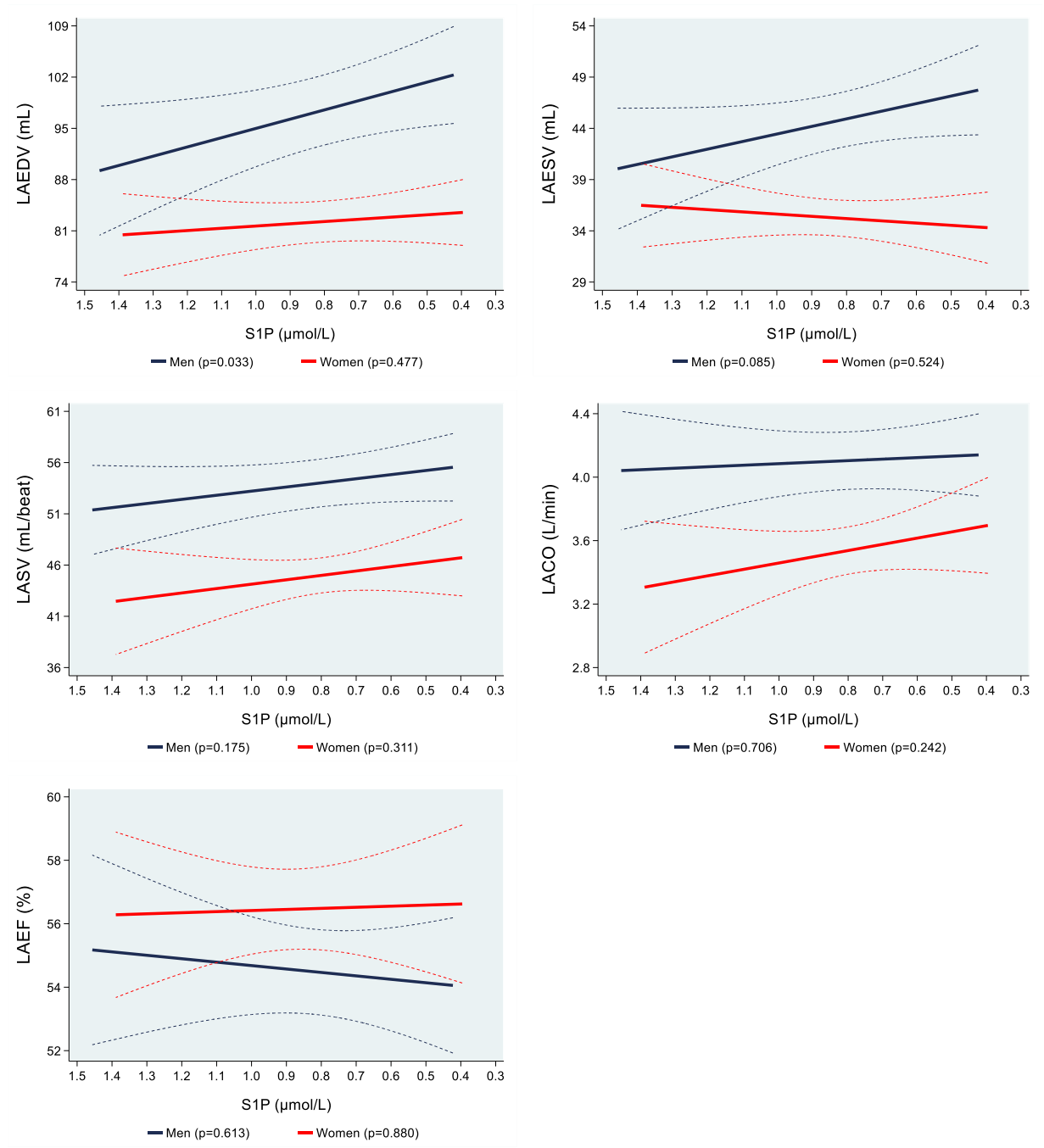
3.3 Morphologische und funktionelle Parameter des linken Vorhofs

Abbildung 3 zeigt den Zusammenhang der S1P-Konzentration mit den morphologischen und funktionellen Parametern des linken Vorhofs (LAEDV, LAESV, LASV, LACO, LAEF).

Bei Männern ergab sich in den Analysen ein signifikanter, inverser Zusammenhang der S1P-Konzentration mit dem LAEDV. Eine um 1 μmol/l niedrigere S1P-Konzentration war mit einem um 12.6 ml (95 %-KI: 1.03 bis 24.3; p = 0.033) höheren LAEDV assoziiert (**Tabelle 2**). Bei Frauen konnte diesbezüglich kein Zusammenhang nachgewiesen werden. Weiterhin ließ sich für beide Geschlechter kein Zusammenhang der S1P-Konzentration mit dem LAESV, dem LASV, dem LACO und der LAEF feststellen.

Abbildung 3: Morphologische und funktionelle Parameter des linken Vorhofs.

Adjustierte* Kurve (95 %-KI) des Zusammenhangs zwischen der Sphingosin-1-phosphat-Konzentration und den Mittelwerten des durch MRT bestimmten linksatrialen enddiastolischen Volumens (LAEDV), des linksatrialen endsystolischen Volumens (LAESV), des linksatrialen Schlagvolumens (LASV), des linksatrialen Herzzeitvolumens (LACO) und der linksatrialen Ejektionsfraktion (LAEF) stratifiziert nach Geschlecht (Männer = 421; Frauen = 354).



Ergebnisse

*Lineare Regression adjustiert für Alter, Körperfettanteil, fettfreie Körpermasse, Körpergröße^{2,7}, Blutdruck (systolisch), Einnahme antihypertensiver Medikation, Einnahme antidiabetischer Medikation, glykiertes Hämoglobin (HbA1c), Raucherstatus und geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR). Die Daten wurden nach Probanden gewichtet, die nicht an der Untersuchung teilnahmen.

Tabelle 2: β -Koeffizient der Assoziation von Sphingosin-1-phosphat. Adjustierter* β -Koeffizient (95 %-KI) der Assoziationen von Sphingosin-1-phosphat und den durch MRT bestimmten linksventrikulären und linksatrialen Parametern der kardialen Morphologie und systolischen Funktion stratifiziert nach Geschlecht (linker Ventrikel: Männer = 457, Frauen = 381; linker Vorhof: Männer = 421, Frauen = 354).

| Parameter | Männer | Frauen |
|--|--|--|
| | β -Koeffizient (95 %-KI), p-Wert | β -Koeffizient (95 %-KI), p-Wert |
| Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen (ml) | - 18.1 (- 32.6 bis - 3.66), p = 0.014 | 1.78 (- 7.34 bis 10.9), p = 0.703 |
| Linksventrikuläres endsystolisches Volumen (ml) | - 4.63 (- 13.9 bis 4.63), p = 0.327 | - 1.19 (- 7.77 bis 5.40), p = 0.723 |
| Linksventrikuläre Wanddicke (mm) | - 0.46 (- 0.89 bis - 0.04), p = 0.034 | - 0.25 (- 0.58 bis 0.09), p = 0.144 |
| Linksventrikuläre Masse (g) | - 16.3 (- 26.1 bis - 6.55), p = 0.001 | - 0.21 (- 6.37 bis 5.94), p = 0.946 |
| Linksventrikuläre Konzentrität (g/ml) | - 0.02 (- 0.09 bis 0.04), p = 0.510 | - 0.02 (- 0.07 bis 0.03), p = 0.392 |
| Linksventrikuläres Schlagvolumen (ml/Schlag) | - 13.3 (- 22.1 bis - 4.49), p = 0.003 | 3.10 (- 4.03 bis 10.2), p = 0.393 |
| Linksventrikuläre Schlagarbeit (cJ) | - 18.7 (- 30.9 bis - 6.43), p = 0.003 | 5.10 (- 3.78 bis 13.9), p = 0.260 |
| Herzfrequenz (Schläge/min) | 3.91 (- 2.20 bis 10.0), p = 0.209 | - 1.72 (- 8.52 bis 5.10), p = 0.619 |
| Linksventrikuläres Herzzeitvolumen (l/min) | - 0.62 (- 1.27 bis 0.03), p = 0.061 | 0.08 (- 0.53 bis 0.70), p = 0.800 |
| Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (%) | - 1.91 (- 5.00 bis 1.13), p = 0.218 | 1.14 (- 2.55 bis 4.82), p = 0.544 |
| Linksatriales enddiastolisches Volumen (ml) | - 12.6 (- 24.3 bis - 1.03), p = 0.033 | - 3.07 (- 11.6 bis 5.41), p = 0.477 |
| Linksatriales endsystolisches Volumen (ml) | - 7.42 (- 15.9 bis 1.03), p = 0.085 | 2.19 (- 4.60 bis 8.95), p = 0.524 |
| Linkatriales Schlagvolumen (ml/Schlag) | - 4.03 (- 9.85 bis 1.80), p = 0.175 | - 4.29 (- 12.6 bis 4.02), p = 0.311 |
| Linksatriales Herzzeitvolumen (l/min) | - 0.10 (0.59 bis 0.40), p = 0.706 | - 0.39 (- 1.05 bis 0.27), p = 0.242 |
| Linksatriale Ejektionsfraktion (%) | 1.08 (- 3.12 bis 5.28), p = 0.613 | - 0.34 (- 4.82 bis 4.13), p = 0.880 |

Ein p-Wert < 0.05 wurde als statistisch signifikant betrachtet und entsprechend hervorgehoben. *Lineare Regression adjustiert für Alter, Körperfettanteil, fettfreie Körpermasse, Körpergröße^{2,7}, Blutdruck (systolisch), Einnahme antihypertensiver Medikation, Einnahme antidiabetischer Medikation, glykiertes Hämoglobin (HbA1c), Raucherstatus und geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR). Die Daten wurden nach Probanden gewichtet, die nicht an der Untersuchung teilnahmen.

4 Diskussion

In der vorliegenden bevölkerungsbasierten Stichprobe zeigte sich eine Assoziation der Serum-S1P-Konzentrationen mit den im kardialen MRT bestimmten morphologischen und funktionellen Parametern des linken Ventrikels und des linken Vorhofs, die auf Veränderungen im Sinne eines kardialen Remodelings hinweisen könnten. Konkret waren niedrigere S1P-Konzentrationen bei Männern mit einer höheren Wanddicke und Masse des linken Ventrikels, größeren Kammervolumina des linken Ventrikels und des linken Vorhofs sowie mit einem höheren Schlagvolumen und einer größeren Schlagarbeit des linken Ventrikels verbunden. Bei Frauen konnten diesbezüglich keine signifikanten Zusammenhänge nachgewiesen werden.

In einigen Studien [33, 34] waren höhere S1P-Konzentrationen mit einem ungünstigen Outcome wie dem vermehrten Auftreten einer Adipositas oder einer koronaren Herzkrankheit assoziiert. Andererseits ergaben andere Studien, vergleichbar mit den vorliegenden Ergebnissen, eine Assoziation von niedrigeren S1P-Konzentrationen mit ungünstigen kardiovaskulären Outcomes wie peripherer arterieller Verschlusskrankheit, Karotisstenose und erniedrigter LVEF bei ischämischer Kardiomyopathie [8, 9].

In der zuvor genannten klinischen Studie [9] mit 74 an ischämischer Kardiomyopathie erkrankten Patienten (68 % Männer, mittleres Alter 73 Jahre) wurden niedrigere S1P-Konzentrationen mit echokardiographisch geringerer LVEF in Verbindung gebracht. Die vorliegenden Ergebnisse konnten weder für Männer noch für Frauen einen Zusammenhang von S1P mit den Parametern LVEF und LVCO nachweisen. Dies könnte jedoch darauf zurückzuführen sein, dass Teilnehmer mit reduzierter LVEF in der verwendeten Stichprobe ausgeschlossen waren, wodurch die Ergebnisse auf ein subklinisches Stadium beschränkt sind. Zudem unterscheidet sich die vorliegende Analyse in methodischer Hinsicht. Sie basierte auf einer kardialen MRT-Bildgebung, die als objektivere Methode im Vergleich zur Echokardiographie betrachtet werden kann [35, 36]. Weiterhin handelte es sich um eine bevölkerungsbasierte Studie mit einer hohen Teilnehmerzahl, einem breiten Altersspektrum und einer geschlechtsspezifischen Auswertung.

Die Ergebnisse waren ausschließlich bei Männern signifikant, was auf einen Einfluss von Sexualhormonen zurückgeführt werden könnte. Besonders hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang Östrogen, dessen kardioprotektive Wirkungen bereits gut belegt sind [37]. Im Tiermodell zeigten Ratten nach Ovariectomie sowohl eine reduzierte Expression der für die S1P-Synthese essentiellen Schlüsselenzyme, als auch eine reduzierte S1P-Konzentration im Aortengewebe [38]. Hingegen konnte in der Sensitivitätsanalyse weder bei prä- noch bei postmenopausalen Frauen ein signifikanter Zusammenhang von S1P-Konzentration und LVM festgestellt werden. Anzumerken ist jedoch, dass die Analysegruppen nach dieser Stratifikation zu klein wurden, wodurch die Ergebnisse beeinflusst sein könnten.

Insgesamt muss die Bedeutung von S1P in der kardialen (Patho-) Physiologie als komplex betrachtet werden. S1P wird nicht nur in unterschiedlichen Zelltypen wie Thrombozyten, Erythrozyten und Endothelzellen synthetisiert, sondern auch durch verschiedene Trägermoleküle wie Albumin, LDL- und HDL-Cholesterin transportiert [39]. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass S1P über eine Aktivierung des Sphingosin-1-phosphat-Rezeptors (S1PR)-1 die Hypertrophie von Kardiomyozyten verhindert [40]. Eine Aktivierung des S1PR-3 stimuliert die Proliferation kardialer Fibroblasten, verringert jedoch gleichzeitig auch deren Kollagen-Sekretion [41, 42]. S1P induziert die Zelldifferenzierung, wie beispielsweise die Differenzierung von humanen mesenchymalen Stammzellen zu Kardiomyozyten und hemmt andererseits die Proliferation verschiedener muskulärer Zelltypen durch Aktivierung des S1PR-2 [43-45]. Die kurzfristige Gabe des S1PR-1,3-5-Agonisten Fingolimod (FTY720) induziert Bradykardie [46]. Eine langfristige Gabe schützt in Tiermodellen nach Herztransplantation oder bei Drucküberlastung vor kardialer Fibrose, was auf eine funktionelle Antagonisierung des S1PR-1 in Immunzellen zurückzuführen sein könnte [47, 48].

Darüber hinaus hat S1P eine wesentliche Bedeutung in der Regulation von Blutdruck und Gefäßtonus [49, 50]. Die Aktivierung des S1PR-1, dem vorherrschenden Rezeptor-Subtyp auf Endothelzellen, führt durch Stimulation der endothelialen Stickstoffmonoxid (NO)-Synthase zu einer erhöhten Freisetzung von NO und nachfolgender Vasodilatation [50, 51]. Niedrigere S1P-Konzentrationen könnten entsprechend eine verminderte Freisetzung von NO zur Folge haben und eine endotheliale Dysfunktion sowie letztlich eine Erhöhung des Gefäßtonus bewirken.

Dies würde einen Anstieg der kardialen Nachlast und der LVSW bedeuten. Hierdurch käme es zu ansteigender myokardialer Wandspannung mit Zunahme der LVWT und des LVEDV. Folglich würden LVSV und LAEDV sowie im letzten Schritt die LVM zunehmen.

Die Ergebnisse der Sensitivitätsanalyse, in der niedrigere S1P-Konzentrationen bei hypertensiven und rauchenden Männern mit einer erhöhten LVM verbunden waren, deuten zudem darauf hin, dass die Assoziationen niedrigerer S1P-Konzentrationen unter klinischen Bedingungen, die mit endothelialer Dysfunktion einhergehen, möglicherweise noch ausgeprägter sein könnten.

Die vorliegende Studie hat einige Limitationen, die die Ergebnisse der Analyse beeinflusst haben könnten und bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden sollten. Da nur eine Subgruppe der SHIP-TREND-0-Teilnehmer an der MRT-Untersuchung teilgenommen hat, können Verzerrungen aufgrund eines Selektionsbias nicht ausgeschlossen werden. Weiterhin bestand die Studienpopulation ausschließlich aus Teilnehmern kaukasischer Abstammung, wodurch die Übertragbarkeit der Studienergebnisse auf andere Ethnien eingeschränkt sein könnte. Trotz umfassender Informationen zu morphologischen Parametern und zu Parametern der systolischen Funktion lagen keine MRT-Daten zur diastolischen Funktion vor. Kausale Schlussfolgerungen können aufgrund des Querschnittsdesigns der Studie sowie der bestehenden Möglichkeit verbliebener Konfundierungseffekte zudem nur eingeschränkt erfolgen.

Andererseits zeichnet sich die vorliegende Studie durch einige wesentliche Stärken aus. Es standen eine standardisierte MRT-Bildgebung mit präziser Bestimmung der kardialen Morphologie und systolischen Funktion sowie eine große, bevölkerungsbasierte Stichprobe zur Verfügung. Weiterhin boten die umfassenden Studiendaten die Möglichkeit, verschiedene metabolische Risikofaktoren in den Analysen zu berücksichtigen.

5 Schlussfolgerung und Aussicht

Dies ist die erste bevölkerungsbasierte Studie, die den Zusammenhang zwischen der Serum-S1P-Konzentration und MRT-basierten morphologischen sowie funktionellen Parametern des Herzens untersucht.

Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass S1P bei Männern mit Parametern assoziiert ist, die auf Veränderungen im Sinne eines kardialen Remodelings hinweisen könnten.

Um die Zusammenhänge zwischen S1P und kardialer Morphologie und Funktion sowie den vorliegenden Geschlechtsdimorphismus weiterführend zu untersuchen, sind longitudinale Studien erforderlich. Experimentelle und klinische Studien mit der Zielsetzung, die Bedeutung von S1P in der kardiovaskulären Pathologie zu untersuchen, sollten insbesondere Geschlechtsunterschiede und die Auswirkungen von Sexualhormonen berücksichtigen. Es ist notwendig, dass zukünftige Studien sowohl männliche als auch weibliche Individuen einschließen, insbesondere da die meisten experimentellen Studien derzeit ausschließlich an männlichen Tieren durchgeführt werden [7]. Diese Studien sollten unter Bedingungen erfolgen, die wiederum Veränderungen der kardialen Morphologie und Funktion bewirken. Die Verwendung von S1PR-Agonisten/Antagonisten könnte dazu beitragen, potentielle pharmakologische Interventionen präziser zu bestimmen. Durch den Einsatz genetischer Rezeptor-Knockouts könnten zudem kausale Mechanismen aufgedeckt werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Savarese, G. and L.H. Lund, *Global Public Health Burden of Heart Failure*. *Card Fail Rev*, 2017. **3**(1): p. 7-11.
2. Roth, G.A., et al., *Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study*. *J Am Coll Cardiol*, 2020. **76**(25): p. 2982-3021.
3. *Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019*. *Lancet*, 2020. **396**(10258): p. 1204-1222.
4. *Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017*. *Lancet*, 2018. **392**(10159): p. 1736-1788.
5. Hill, J.A. and E.N. Olson, *Cardiac plasticity*. *N Engl J Med*, 2008. **358**(13): p. 1370-80.
6. Kemp, C.D. and J.V. Conte, *The pathophysiology of heart failure*. *Cardiovasc Pathol*, 2012. **21**(5): p. 365-71.
7. Jozefczuk, E., T.J. Guzik, and M. Siedlinski, *Significance of sphingosine-1-phosphate in cardiovascular physiology and pathology*. *Pharmacol Res*, 2020. **156**: p. 104793.
8. Soltau, I., et al., *Serum-Sphingosine-1-Phosphate Concentrations Are Inversely Associated with Atherosclerotic Diseases in Humans*. *PLoS One*, 2016. **11**(12): p. e0168302.
9. Polzin, A., et al., *Plasma sphingosine-1-phosphate concentrations are associated with systolic heart failure in patients with ischemic heart disease*. *J Mol Cell Cardiol*, 2017. **110**: p. 35-37.

10. Klyachkin, Y.M., et al., *Pharmacological Elevation of Circulating Bioactive Phosphosphingolipids Enhances Myocardial Recovery After Acute Infarction*. Stem Cells Transl Med, 2015. **4**(11): p. 1333-43.
11. Kuang, Y., et al., *Vascular endothelial S1pr1 ameliorates adverse cardiac remodelling via stimulating reparative macrophage proliferation after myocardial infarction*. Cardiovasc Res, 2021. **117**(2): p. 585-599.
12. Ouyang, J., et al., *The role of sphingosine 1-phosphate and its receptors in cardiovascular diseases*. J Cell Mol Med, 2020. **24**(18): p. 10290-10301.
13. Cannavo, A., et al., *$\beta(1)$ -Blockade Prevents Post-Ischemic Myocardial Decompensation Via $\beta(3)$ AR-Dependent Protective Sphingosine-1 Phosphate Signaling*. J Am Coll Cardiol, 2017. **70**(2): p. 182-192.
14. Karliner, J.S., et al., *The lysophospholipids sphingosine-1-phosphate and lysophosphatidic acid enhance survival during hypoxia in neonatal rat cardiac myocytes*. J Mol Cell Cardiol, 2001. **33**(9): p. 1713-7.
15. Egom, E.E., et al., *Activation of Pak1/Akt/eNOS signaling following sphingosine-1-phosphate release as part of a mechanism protecting cardiomyocytes against ischemic cell injury*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011. **301**(4): p. H1487-95.
16. Karliner, J.S., *Sphingosine kinase and sphingosine 1-phosphate in the heart: a decade of progress*. Biochim Biophys Acta, 2013. **1831**(1): p. 203-12.
17. Yung, B.S., et al., *Selective coupling of the S1P(3) receptor subtype to S1P-mediated RhoA activation and cardioprotection*. J Mol Cell Cardiol, 2017. **103**: p. 1-10.
18. Karliner, J.S., *Sphingosine kinase and sphingosine 1-phosphate in cardioprotection*. J Cardiovasc Pharmacol, 2009. **53**(3): p. 189-97.
19. Theilmeyer, G., et al., *High-density lipoproteins and their constituent, sphingosine-1-phosphate, directly protect the heart against*

- ischemia/reperfusion injury in vivo via the S1P3 lysophospholipid receptor.* Circulation, 2006. **114**(13): p. 1403-9.
20. Völzke, H., et al., *Cohort Profile Update: The Study of Health in Pomerania (SHIP).* Int J Epidemiol, 2022.
21. Volzke, H., et al., *Cohort profile: the study of health in Pomerania.* Int J Epidemiol, 2011. **40**(2): p. 294-307.
22. Bulow, R., et al., *Reference ranges of left ventricular structure and function assessed by contrast-enhanced cardiac MR and changes related to ageing and hypertension in a population-based study.* Eur Radiol, 2018. **28**(9): p. 3996-4005.
23. Schulz-Menger, J., et al., *Standardized image interpretation and post processing in cardiovascular magnetic resonance: Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR) board of trustees task force on standardized post processing.* J Cardiovasc Magn Reson, 2013. **15**: p. 35.
24. Schramm, W., *The units of measurement of the ventricular stroke work: a review study.* J Clin Monit Comput, 2010. **24**(3): p. 213-7.
25. Winter, T., et al., *The Integrated Research Biobank of the University Medicine Greifswald.* Open Journal of Bioresources, 2020. **7**.
26. Moritz, E., et al., *Reference intervals for serum sphingosine-1-phosphate in the population-based Study of Health in Pomerania.* Clin Chim Acta, 2017. **468**: p. 25-31.
27. Maziak, W., et al., *Ten-year trends in smoking behaviour among adults in southern Germany.* Int J Tuberc Lung Dis, 2002. **6**(9): p. 824-30.
28. Baumeister, S.E., et al., *Impact of fatty liver disease on health care utilization and costs in a general population: a 5-year observation.* Gastroenterology, 2008. **134**(1): p. 85-94.
29. Levey, A.S., et al., *A new equation to estimate glomerular filtration rate.* Ann Intern Med, 2009. **150**(9): p. 604-12.

30. Hogan, J.W., J. Roy, and C. Korkontzelou, *Handling drop-out in longitudinal studies*. Stat Med, 2004. **23**(9): p. 1455-97.
31. Seaman, S.R. and I.R. White, *Review of inverse probability weighting for dealing with missing data*. Stat Methods Med Res, 2013. **22**(3): p. 278-95.
32. Sauerbrei, W., et al., *Multivariable regression model building by using fractional polynomials: Description of SAS, STATA and R programs*. Computational Statistics & Data Analysis, 2006. **50**(12): p. 3464-3485.
33. Kowalski, G.M., et al., *Plasma sphingosine-1-phosphate is elevated in obesity*. PLoS One, 2013. **8**(9): p. e72449.
34. Deutschman, D.H., et al., *Predicting obstructive coronary artery disease with serum sphingosine-1-phosphate*. Am Heart J, 2003. **146**(1): p. 62-8.
35. Bellenger, N.G., et al., *Reduction in sample size for studies of remodeling in heart failure by the use of cardiovascular magnetic resonance*. J Cardiovasc Magn Reson, 2000. **2**(4): p. 271-8.
36. Bellenger, N.G., et al., *Comparison of left ventricular ejection fraction and volumes in heart failure by echocardiography, radionuclide ventriculography and cardiovascular magnetic resonance; are they interchangeable?* Eur Heart J, 2000. **21**(16): p. 1387-96.
37. Luo, T. and J.K. Kim, *The Role of Estrogen and Estrogen Receptors on Cardiomyocytes: An Overview*. Can J Cardiol, 2016. **32**(8): p. 1017-25.
38. Li, Y., et al., *The imbalance in the aortic ceramide/sphingosine-1-phosphate rheostat in ovariectomized rats and the preventive effect of estrogen*. Lipids Health Dis, 2020. **19**(1): p. 95.
39. Daum, G., et al., *Determinants of Serum- and Plasma Sphingosine-1-Phosphate Concentrations in a Healthy Study Group*. TH Open, 2020. **4**(1): p. e12-e19.

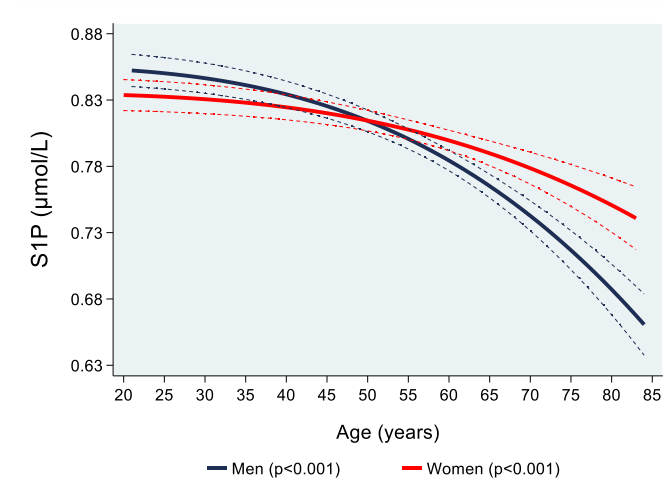
40. Chen, Y.Z., et al., *Sphingosine 1 phosphate receptor-1 (S1PR1) signaling protects cardiac function by inhibiting cardiomyocyte autophagy*. J Geriatr Cardiol, 2018. **15**(5): p. 334-345.
41. Takuwa, N., et al., *S1P3-mediated cardiac fibrosis in sphingosine kinase 1 transgenic mice involves reactive oxygen species*. Cardiovasc Res, 2010. **85**(3): p. 484-93.
42. Benamer, N., et al., *Electrophysiological and functional effects of sphingosine-1-phosphate in mouse ventricular fibroblasts*. Biochem Biophys Res Commun, 2011. **408**(1): p. 6-11.
43. Grabski, A.D., et al., *Sphingosine-1-phosphate receptor-2 regulates expression of smooth muscle alpha-actin after arterial injury*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009. **29**(10): p. 1644-50.
44. Medlin, M.D., et al., *Sphingosine 1-phosphate receptor 2 signals through leukemia-associated RhoGEF (LARG), to promote smooth muscle cell differentiation*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010. **30**(9): p. 1779-86.
45. Jiang, L., et al., *Synergistic effect of bioactive lipid and condition medium on cardiac differentiation of human mesenchymal stem cells from different tissues*. Cell Biochem Funct, 2016. **34**(3): p. 163-72.
46. Schmourer, R., et al., *FTY720: placebo-controlled study of the effect on cardiac rate and rhythm in healthy subjects*. J Clin Pharmacol, 2006. **46**(8): p. 895-904.
47. Ahmed, N., et al., *Sphingosine 1-Phosphate Receptor Modulator Fingolimod (FTY720) Attenuates Myocardial Fibrosis in Post-heterotopic Heart Transplantation*. Front Pharmacol, 2017. **8**: p. 645.
48. Liu, W., et al., *A novel immunomodulator, FTY-720 reverses existing cardiac hypertrophy and fibrosis from pressure overload by targeting NFAT (nuclear factor of activated T-cells) signaling and periostin*. Circ Heart Fail, 2013. **6**(4): p. 833-44.

49. Cantalupo, A., et al., *Nogo-B regulates endothelial sphingolipid homeostasis to control vascular function and blood pressure*. Nat Med, 2015. **21**(9): p. 1028-1037.
50. Cantalupo, A., et al., *S1PR1 (Sphingosine-1-Phosphate Receptor 1) Signaling Regulates Blood Flow and Pressure*. Hypertension, 2017. **70**(2): p. 426-434.
51. Liu, X., et al., *Endothelial S1pr1 regulates pressure overload-induced cardiac remodelling through AKT-eNOS pathway*. J Cell Mol Med, 2020. **24**(2): p. 2013-2026.

7 Anhang

7.1 Abbildung I

Univariable Kurve (95 %-KI) der Assoziation von Alter und Sphingosin-1-phosphat (S1P) stratifiziert nach Geschlecht (Männer = 2024; Frauen = 2170) in der SHIP-Trend-0-Kohorte (n = 4194).



7.2 Publizierter Fachartikel



Sphingosine-1-phosphate levels are inversely associated with left ventricular and atrial chamber volume and cardiac mass in men

The Study of Health in Pomerania (SHIP)

Jan Schielke¹ · Till Ittermann^{2,3} · Stefan Groß^{1,2} · Eileen Moritz^{2,4} · Matthias Nauck^{2,5} · Nele Friedrich^{2,5} · Edzard Schwedhelm^{6,7} · Bernhard H. Rauch⁸ · Henry Völzke^{2,3} · Robin Bülow^{2,9} · Bishwas Chamling^{1,10} · Stephan Burkhard Felix^{1,2} · Martin Bahls^{1,2} · Marcus Dörr^{1,2} · Marcello Ricardo Paulista Markus^{1,2,11}

Received: 25 August 2022 / Accepted: 3 April 2023 / Published online: 25 April 2023
© The Author(s) 2023

Abstract

Aims Sphingosine-1-phosphate (S1P) is a signaling lipid, which is involved in several cellular processes including cell growth, proliferation, migration and apoptosis. The associations of serum S1P levels with cardiac geometry and function are still not clear. We investigated the associations of S1P with cardiac structure and systolic function in a population-based sample.

Methods and results We performed cross-sectional analyses of 858 subjects (467 men; 54.4%), aged 22 to 81 years, from a sub-sample of the population-based Study of Health in Pomerania (SHIP-TREND-0). We analyzed the associations of serum S1P with structural and systolic function left ventricular (LV) and left atrial (LA) parameters as determined by magnetic resonance imaging (MRI) using sex-stratified multivariable-adjusted linear regression models. In men, MRI data showed that a 1 $\mu\text{mol/L}$ lower S1P concentration was associated with an 18.1 mL (95% confidence interval [CI] 3.66–32.6; $p=0.014$) larger LV end-diastolic volume (LVEDV), a 0.46 mm (95% CI 0.04–0.89; $p=0.034$) greater LV wall thickness (LVWT) and a 16.3 g (95% CI 6.55–26.1; $p=0.001$) higher LV mass (LVM). S1P was also associated with a 13.3 mL/beat (95% CI 4.49–22.1; $p=0.003$) greater LV stroke volume (LVSV), an 18.7 cJ (95% CI 6.43–30.9; $p=0.003$) greater LV stroke work (LVSW) and a 12.6 mL (95% CI 1.03–24.3; $p=0.033$) larger LA end-diastolic volume (LAEDV). We did not find any significant associations in women.

Conclusions In this population-based sample, lower levels of S1P were associated with higher LV wall thickness and mass, larger LV and LA chamber sizes and greater stroke volume and work of the LV in men, but not in women. Our results indicate

✉ Marcello Ricardo Paulista Markus
marcello.markus@uni-greifswald.de

¹ Department of Internal Medicine B, Cardiology, Angiology, Pneumology and Internal Intensive Care Medicine, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Straße, 17475 Greifswald, Germany

² German Centre for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site Greifswald, Greifswald, Germany

³ Department of Study of Health in Pomerania/Clinical-Epidemiological Research, Institute for Community Medicine, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany

⁴ Department of General Pharmacology, Institute of Pharmacology, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany

⁵ Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany

⁶ Institute of Clinical Pharmacology and Toxicology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

⁷ German Centre for Cardiovascular Research (DZHK), Partnerpartner Site Hamburg/Kiel/Lübeck, Hamburg, Germany

⁸ Department of Human Medicine, Section of Pharmacology and Toxicology, Carl Von Ossietzky University of Oldenburg, Oldenburg, Germany

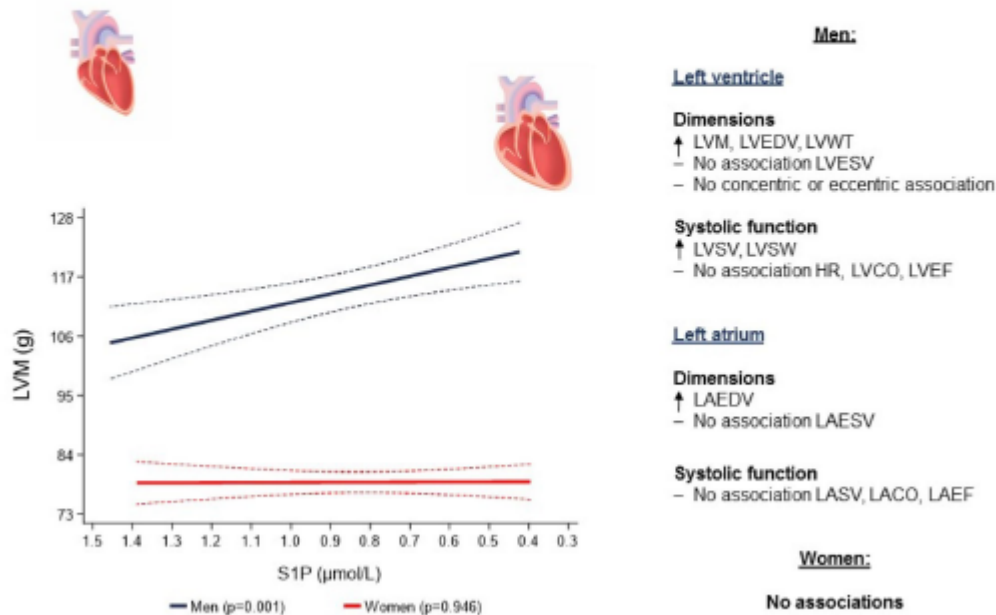
⁹ Institute of Diagnostic Radiology and Neuroradiology, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany

¹⁰ Division of Cardiovascular Imaging, Department of Cardiology I, University Hospital Münster, Münster, Germany

¹¹ German Center for Diabetes Research (DZD) Partner Site Greifswald, Greifswald, Germany

that lower levels of SIP were associated with parameters related with cardiac geometry and systolic function in men, but not in women.

Graphical abstract



Keywords Left ventricular geometry and function · Left ventricular mass · Left ventricular hypertrophy · Sphingosine-1-phosphate

Abbreviations

| | |
|---------|---|
| CKD-EPI | Chronic kidney disease epidemiology collaboration |
| CV | Cardiovascular |
| CVDs | Cardiovascular diseases |
| eGFR | Estimated glomerular filtration rate |
| HR | Heart rate |
| LA | Left atrial |
| LACO | Left atrial cardiac output |
| LAEDV | Left atrial end-diastolic volume |
| LAEF | Left atrial ejection fraction |
| LAESV | Left atrial end-systolic volume |
| LASV | Left atrial stroke volume |
| LV | Left ventricular |
| LVC | Left ventricular concentricity |
| LVCO | Left ventricular cardiac output |
| LVEDV | Left ventricular end-diastolic volume |
| LVEF | Left ventricular ejection fraction |
| LVESV | Left ventricular end-systolic volume |
| LVM | Left ventricular mass |
| LVSV | Left ventricular stroke volume |

| | |
|------|----------------------------------|
| LVSW | Left ventricular stroke work |
| LVWT | Left ventricular wall thickness |
| MRI | Magnetic resonance imaging |
| SHIP | Study of Health in Pomerania |
| SIP | Sphingosine-1-phosphate |
| SIPR | Sphingosine-1-phosphate-receptor |

Introduction

The last decades brought significant advances in the therapy of cardiovascular diseases (CVDs) and in particular in the field of heart failure. On the other hand, the prevalence of cardiovascular (CV) morbidity and its consequent health loss burden is still increasing, which is attributable in particular to an aging population [1, 2]. CVDs remain the most common reason of morbidity and mortality in Europe, USA and Asia with a significant economic impact on health and social security systems [1, 2].

The ability of the heart muscle to adapt to either pathological or physiological conditions is known as cardiac

plasticity [3]. In a pathophysiological perspective, adverse remodeling of the heart is characterized by modification of cardiac shape, size, structure and function [4]. Sphingosine-1-phosphate (S1P) seems to possess physiologic functions that might influence cardiac remodeling.

S1P is a bioactive sphingolipid, transducing its endocrine effects through a group of G-protein coupled cell surface sphingosine-1-phosphate receptors (S1PR 1–5) [5, 6] and is involved in essential cellular processes including cell growth, proliferation, migration and apoptosis [7]. The role of S1P in the field of CVDs is becoming increasingly investigated [8–16]. Previous studies showed, that lower S1P concentrations were associated with deleterious cardiovascular outcomes [12, 14]. Furthermore, S1P mediates protective mechanisms against ischemic and reperfusion injury in cardiomyocytes [8–10, 13, 17, 18], enhances myocardial regeneration after myocardial infarction [11, 19] and is even attributed to be partially responsible for the advantageous effects of β -blockers in patients with heart failure and cardiac remodeling after myocardial infarction [16, 20]. Altogether, these previous findings support the hypothesis that alterations of serum S1P levels, mainly lower levels, might be related to deleterious cardiovascular outcomes.

To the best of our knowledge, no previous population-based study has investigated the association of S1P concentrations with heart geometry and function. Therefore, the aim of the present study was to investigate the relation between lower S1P and LV and LA parameters of structure and systolic function as assessed by magnetic resonance imaging (MRI) in a large population-based sample.

Materials and methods

Study population

The present cross-sectional analysis is based on data from the population-based Study of Health in Pomerania (SHIP). The study design and recruitment strategy have been described elsewhere in detail [21]. Our analyses were based on data obtained from a sub-sample of the second SHIP cohort (SHIP-TREND-0) established between 2008 and 2012 [22]. In brief, a stratified random sample of 8,826 adults, aged 20–79 years, was selected from the population of West Pomerania, the north-eastern region of Germany. Participation in the first SHIP-START cohort was an exclusion criterion. In total 4,420 subjects participated in SHIP-TREND-0 (response 50.1%). Among them, 957 subjects (427 women, 44.6%), aged 21 to 81 years, who were eligible and willing to undergo whole-body MRI participated in the cardiac MRI substudy (Supplementary Figure I).

We excluded participants with previous self-reported myocardial infarction or stroke ($n = 17$), pacemaker ($n = 1$),

left bundle block ($n = 1$) and a LVEF lower than 40% as determined by MRI ($n = 9$). We also excluded participants with missing values for S1P ($n = 61$) or any of the covariables used in the regression models ($n = 10$) (Supplementary Figure I). The final analytical sample comprised 858 subjects (391 women; 45.6%), aged 22–81 years (individuals with good quality images for the LV, $n = 838$ and for the LA, $n = 775$) (Supplementary Figure I).

All study participants gave written informed consent. The study was approved by the ethics committee of the University of Greifswald [22] and complies with the Declaration of Helsinki.

Cardiac MRI

Cardiac MRI was performed on a 1.5-T MR system (Magnetom Avanto; Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany) [23] with subjects in a supine position.

LV analysis was performed according to the post-processing guidelines of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance [24]. LV concentricity (LVC) was calculated as left ventricular mass (LVM)/left ventricular end-diastolic volume (LVEDV). Left ventricular stroke volume (LVSV), left ventricular stroke work (LVSWS) [25], left ventricular cardiac output (LVCO) and left ventricular ejection fraction (LVEF) were calculated following the formulas described in the supplemental material.

For LA analysis, contours of end-diastolic and end-systolic endocardial borders were marked in transversal-axis in all phases. LA stroke volume (LASV), LA cardiac output (LACO) and LA ejection fraction (LAEF) were calculated following the formulas described in the supplemental material.

Serum sphingosine-1-phosphate

Blood samples were taken from the cubital vein and analyzed directly or stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ in the Integrated Research Biobank of the University Medicine Greifswald [26]. Serum S1P was quantified by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with minor modifications as previously described [12]. After addition of 20 μL of the internal standard (1 $\mu\text{mol/L}$ S1P- d_7 [Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, USA]) to 20 μL serum, proteins were precipitated and passed to centrifugation. The sample isolates were subjected to reverse-phase chromatography and positive electrospray ionization. After elution with a binary gradient S1P was quantified by MS/MS in the multiple reaction mode, monitoring the (M+H) S1P parent ion ($m/z = 380$) fragmentation to the daughter ion ($m/z = 264$). The internal standard S1P- d_7 with the m/z 387 to 271 transition was used to correct for variations in sample preparation and instrument response. Calibration curves were generated to

calculate absolute SIP concentrations in the serum sample and quality controls were included and accepted with a coefficient of variation below 15% [12, 27].

Interview, medical and laboratory examination

Information on age, sex, socio-economic variables and smoking status [28] was collected by trained and certified medical staff during a standardized computer-assisted interview.

All participants underwent an extensive standardized medical examination, including anthropometric measurements and bioelectrical impedance analysis. Blood pressure was measured after a resting period of at least five minutes. Systolic and diastolic blood pressures as well as heart rate were measured three times on the right arm of seated subjects using an oscillometric digital blood pressure monitor (HEM-705CP, Omron Corporation, Tokyo, Japan) with an interval of three minutes between readings. The mean of the second and third measurements for the systolic and diastolic blood pressures and for the heart rate was calculated and used for the present analyses. Hypertension was defined as systolic blood pressure ≥ 140 mm Hg and/or diastolic blood pressure ≥ 90 mm Hg and/or current self-reported use of any anti-hypertensive medication.

Additionally, fasting and non-fasting blood samples were obtained from all study participants [29], to determine glycated hemoglobin, glucose concentrations, total serum cholesterol, low and high density lipoprotein-cholesterol (LDL-C, HDL-C), serum creatinine and estimated glomerular filtration rate (eGFR).

Statistical analysis

To characterize the study sample, data was reported as the median (25th and 75th percentile) for continuous variables and as percentages for categorical variables stratified by tertiles of SIP and sex.

While the association of SIP concentrations with MRI determined LVM was not modified by age (p -value for interaction = 0.369), it was modified by sex (p -value for interaction = 0.013). Consequently, we decided to evaluate all the associations of SIP with LV and LA parameters stratified by sex and adjusted for age, body fat mass, body fat-free mass, height^{2.7}, systolic blood pressure, use of antihypertensive medication, glycated hemoglobin, use of hypoglycemic medication, smoking status and estimated glomerular filtration rate (eGFR, calculated by the Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration [CKD-EPI] equation[30]). In order to evaluate the robustness of our findings in light of individuals that did not take part in the MRI examination, we performed inverse probability weighting[31], assuming a missing at random mechanism [32]. The inverse probability

weights were calculated in logistic regression models with participation in the MRI examination as outcome and socio-demographic and health-related variables as predictors. We used fractional polynomials to test potential non-linear relationships between SIP levels and the outcome variables [33].

In sensitivity analyses, we explored the associations of SIP with LVM stratified by hypertension (yes/no) and by smoking status (never, former or current smoker). Hypertension was defined as systolic blood pressure ≥ 140 mmHg and/or diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg and/or current self-reported use of any anti-hypertensive medication (Anatomical Therapeutic Chemical code C02, C03, C07, C08 and C09).

A two-sided p -value $p < 0.05$ was considered as statistically significant. Statistical analyses were performed using Stata 17.0 (Stata Corporation, College Station, TX, USA).

Results

Table 1 shows descriptive data of the study participants stratified by sex-specific tertiles of serum SIP concentrations. The median age was similar between the tertiles for men and women. While the use of hypertensive medication was higher in the first tertile than in the other groups for men, it was similar in all groups in women. The levels of total cholesterol, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol were lower in the first tertile than in the other groups for men, but the use of lipid-lowering medication was also higher in this group, when compared to the others. In women the use of lipid-lowering medication was higher in the first tertile group than the others, but there was no significant difference regarding the cholesterol levels. Men also showed a lower eGFR in the first tertile than the others groups. All other characteristics did not differ relevantly between the groups for men and women.

Reversion of the x-axis scale for serum SIP levels

While a previous study[27] of our research group, designed to define reference values with a sub-sample of 1339 healthy participants from the SHIP-TREND-0 cohort, showed that SIP concentrations were not associated with aging for men and women, the analyses of the whole population sample with all subjects with SIP measurements ($n = 4194$) showed that older age was related to lower values of SIP in both men and women (Supplementary Figure II), probably as a result of the presence of unhealthy participants. In line with that, the core objective of our study were the associations of lower values of SIP concentrations with parameters of cardiac geometry and systolic function, after adjustment for age and other covariates. Accordingly, all relations between

Table 1 Characteristics of the study sample stratified by tertiles of serum sphingosine-1-phosphate (SIP) levels and sex ($n=858$)

| Parameter | | First tertile | Second tertile | Third tertile | Total | <i>p</i> -value* |
|--|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| <i>N</i> (%) | Men | 156 (54.4) | 156 (54.6) | 155 (54.4) | 467 (54.4) | |
| | Women | 131 (45.6) | 130 (45.5) | 130 (45.6) | 391 (45.6) | |
| Sphingosine-1-phosphate (μM) | Men | 0.65 (0.60, 0.69) | 0.81 (0.77, 0.84) | 0.97 (0.93, 1.06) | 0.81 (0.69, 0.93) | |
| | Women | 0.66 (0.60, 0.70) | 0.82 (0.79, 0.85) | 1.00 (0.93, 1.09) | 0.82 (0.70, 0.93) | |
| Age (years) | Men | 52 (39, 65) | 48 (40, 59) | 47 (40, 49) | 49 (40, 60) | 0.145 |
| | Women | 52 (52, 61) | 51 (39, 58) | 49 (40, 59) | 50 (40, 59) | 0.412 |
| Total body weight (kg) | Men | 87.7 (80.3, 96.6) | 85.3 (77.8, 95.4) | 85.9 (78.0, 96.6) | 86.4 (78.5, 96.3) | 0.375 |
| | Women | 68.4 (61.1, 78.9) | 70.2 (63.9, 79.1) | 72.7 (64.1, 82.0) | 70.1 (63.0, 79.8) | 0.164 |
| Body fat-free mass (kg) | Men | 67.0 (62.7, 72.2) | 66.9 (61.7, 71.0) | 66.0 (60.4, 72.8) | 66.7 (61.6, 72.2) | 0.688 |
| | Women | 46.0 (43.8, 50.5) | 47.0 (43.9, 50.5) | 47.4 (44.2, 51.2) | 46.9 (43.9, 50.7) | 0.717 |
| Body fat mass (kg) | Men | 21.4 (16.4, 25.3) | 19.4 (16.2, 24.5) | 20.0 (16.4, 25.1) | 20.1 (16.3, 25.1) | 0.234 |
| | Women | 21.8 (17.1, 28.6) | 23.4 (17.9, 30.8) | 24.8 (18.5, 32.3) | 23.0 (18.0, 30.5) | 0.063 |
| Height (cm) | Men | 177 (173, 182) | 179 (174, 183) | 177 (173, 181) | 178 (173, 182) | 0.361 |
| | Women | 164 (159, 169) | 165 (161, 169) | 164 (160, 168) | 164 (159, 169) | 0.326 |
| Body mass index (kg/m^2) | Men | 28.2 (25.8, 30.5) | 27.3 (24.9, 30.1) | 27.4 (25.0, 30.0) | 27.7 (25.3, 30.2) | 0.097 |
| | Women | 25.7 (22.6, 28.9) | 25.8 (22.8, 30.6) | 26.7 (23.8, 30.5) | 26.0 (23.1, 30.1) | 0.219 |
| Waist circumference (cm) | Men | 95.9 (88.5, 104) | 93.4 (86.6, 103) | 93.6 (87.0, 103) | 94.0 (87.4, 103) | 0.192 |
| | Women | 80.0 (73.0, 89.7) | 80.0 (73.5, 92.0) | 81.3 (76.0, 90.2) | 81.0 (73.8, 90.5) | 0.550 |
| Waist-to-height ratio | Men | 0.55 (0.49, 0.58) | 0.53 (0.48, 0.58) | 0.53 (0.50, 0.58) | 0.54 (0.49, 0.58) | 0.122 |
| | Women | 0.50 (0.44, 0.54) | 0.49 (0.44, 0.56) | 0.50 (0.46, 0.56) | 0.50 (0.45, 0.55) | 0.532 |
| Systolic blood pressure (mmHg) | Men | 132 (125, 142) | 133 (123, 142) | 135 (125, 145) | 133 (124, 143) | 0.583 |
| | Women | 116 (106, 127) | 116 (108, 127) | 119 (109, 131) | 117 (108, 128) | 0.333 |
| Diastolic blood pressure (mmHg) | Men | 78 (73, 85) | 80 (75, 86) | 81 (74, 88) | 80 (74, 86) | 0.243 |
| | Women | 74 (67, 79) | 74 (68, 81) | 74 (69, 81) | 74 (68, 81) | 0.236 |
| Hypertension (%) | Men | 53.9 | 44.2 | 50.3 | 50.5 | 0.228 |
| | Women | 38.9 | 30.8 | 33.1 | 34.3 | 0.358 |
| Antihypertensive medication (%) | Men | 37.2 | 23.7 | 21.9 | 27.6 | 0.004 |
| | Women | 32.1 | 22.3 | 26.2 | 29.9 | 0.201 |
| Glycated hemoglobin (%) | Men | 5.3 (4.9, 5.5) | 5.3 (5.0, 5.7) | 5.3 (5.1, 5.7) | 5.3 (4.9, 5.6) | 0.159 |
| | Women | 5.1 (4.7, 5.4) | 5.2 (4.8, 5.5) | 5.3 (4.9, 5.5) | 5.2 (4.8, 5.5) | 0.107 |
| Type 2 diabetes mellitus (%) | Men | 10.9 | 6.41 | 7.74 | 8.35 | 0.375 |
| | Women | 7.63 | 6.15 | 4.62 | 6.14 | 0.629 |
| Hypoglycemic medication (%) | Men | 6.41 | 3.85 | 1.94 | 4.07 | 0.146 |
| | Women | 3.05 | 0.00 | 0.00 | 1.02 | 0.036 |
| Total cholesterol (mmol/l) | Men | 5.20 (4.50, 6.00) | 5.30 (4.70, 6.10) | 5.50 (4.80, 6.20) | 5.30 (4.70, 6.10) | 0.026 |
| | Women | 5.50 (5.00, 6.20) | 5.50 (4.60, 6.30) | 5.40 (4.90, 6.20) | 5.50 (4.90, 6.20) | 0.941 |
| LDL-cholesterol (mmol/l) | Men | 3.34 (2.73, 3.86) | 3.43 (2.86, 3.96) | 3.59 (2.85, 4.06) | 3.44 (2.83, 3.98) | 0.046 |
| | Women | 3.33 (2.84, 3.77) | 3.25 (2.63, 4.14) | 3.42 (2.79, 4.00) | 3.33 (2.76, 3.95) | 0.485 |
| HDL-cholesterol (mmol/l) | Men | 1.25 (1.08, 1.45) | 1.30 (1.11, 1.51) | 1.33 (1.13, 1.52) | 1.28 (1.11, 1.49) | 0.053 |
| | Women | 1.59 (1.29, 1.87) | 1.60 (1.38, 1.83) | 1.61 (1.36, 1.87) | 1.60 (1.35, 1.86) | 0.802 |
| Total cholesterol/HDL-C ratio | Men | 4.18 (3.53, 4.83) | 4.17 (3.37, 5.05) | 4.29 (3.37, 4.96) | 4.19 (3.41, 4.93) | 0.957 |
| | Women | 3.37 (2.89, 4.29) | 3.32 (2.73, 4.15) | 3.51 (2.86, 4.17) | 3.38 (2.86, 4.17) | 0.569 |
| Hypercholesterolemic (%) | Men | 43.6 | 45.5 | 44.5 | 44.5 | 0.943 |
| | Women | 38.2 | 35.4 | 32.3 | 35.3 | 0.612 |
| Lipid-lowering medication (%) | Men | 14.1 | 6.41 | 5.16 | 8.57 | 0.013 |
| | Women | 9.16 | 1.54 | 3.08 | 4.60 | 0.011 |
| Estimated glomerular filtration rate ($\text{mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$) | Men | 90.2 (79.3, 103) | 94.9 (81.9, 105) | 94.6 (86.1, 107) | 93.9 (81.9, 105) | 0.039 |
| | Women | 93.5 (82.6, 104) | 92.6 (79.5, 102) | 92.4 (84.8, 105) | 91.7 (82.6, 104) | 0.650 |
| Smoking (%) | Men | | | | | |
| | Never | 33.3 | 32.7 | 32.9 | 33.0 | |

Table 1 (continued)

| Parameter | First tertile | Second tertile | Third tertile | Total | <i>p</i> -value* |
|-----------|---------------|----------------|---------------|-------|------------------|
| Current | 16.7 | 22.4 | 28.4 | 22.5 | |
| Former | 50.0 | 44.9 | 38.7 | 44.5 | 0.136 |
| | Women | | | | |
| Never | 51.9 | 51.5 | 40.8 | 48.1 | |
| Current | 21.4 | 20.0 | 26.9 | 22.8 | |
| Former | 26.7 | 28.5 | 32.3 | 29.2 | 0.350 |

Data are expressed as median 25th and 75th percentile (continuous data) or percentage (categorical data)

A *p*-value $p < 0.05$ was considered as statistically significant and therefore highlighted in bold

**p*-values are based on the chi-squared test (for cells with less than 10 individuals the *p*-values are based on the Fisher's exact test) for categorical variables and the Kruskal–Wallis tests for continuous variables

SIP and heart variables were plotted with a reverse x-axis to permit a more intuitive analysis of the results.

Associations of SIP values with structural parameters of LV

Figure 1 shows the associations of SIP concentrations with MRI determined LVEDV, LVWT, LVM and LVC. In multivariable adjusted regression analyses we observed statistically significant inverse associations of SIP concentrations with LVEDV, LVWT and LVM for men, while none of these associations was found for women. In detail, in men, a 1 $\mu\text{mol/L}$ lower SIP concentration was associated with an 18.1 mL (95% confidence interval [CI] 3.66–32.6; $p=0.014$) bigger LVEDV, a 0.46 mm (95% CI 0.04–0.89; $p=0.034$) higher LVWT and a 16.3 g (95% CI 6.55–26.1; $p=0.001$) greater LVM (Table 2, Supplemental Figure III). We could not show significant associations of SIP concentrations with LVESV and LVC for both sexes.

In sensitivity analyses, in men, we found that a 1 $\mu\text{mol/L}$ lower SIP concentration was associated with a 21.6 g (95% CI 6.46–36.7; $p=0.005$) higher LVM in hypertensive individuals, but there was no association in normotensive subjects ($p=0.306$). There were no associations of SIP levels with LVM for both hypertensive and normotensive women. Likewise, in men, we observed that a 1 $\mu\text{mol/L}$ lower SIP concentration was associated with a 27.9 g (95% CI 9.76–46.0; $p=0.003$) and a 17.3 g (95% CI 1.73–32.8; $p=0.030$) greater LVM in current smokers and former smokers, respectively, but there was no association in never smokers ($p=0.270$). There were no associations of SIP levels with LVM regarding smoking status in women. We also performed sensitive analyses to evaluate the associations of SIP with LVM stratified by menopausal status. Both premenopausal and postmenopausal women had no significant associations. Noteworthy, the analyses groups became too

small after stratification, which might have influenced the results.

Associations of SIP values with systolic parameters of LV

While we found inverse associations of SIP concentrations with LVSV and LVSW in men, we did not observe associations of these parameters in women. Specifically, in men, a 1 $\mu\text{mol/L}$ lower SIP concentration was associated with a 13.3 mL/beat (95% CI 4.49–22.1; $p=0.003$) higher LVSV and an 18.7 cm^2 (95% CI 6.43–30.9; $p=0.003$) higher LVSW (Table 2, Supplemental Figure IV). There were no associations of SIP concentrations with HR, LVCO and LVEF for both sexes (Fig. 2).

Associations of SIP values with structural and systolic parameters of LA

After multivariable regression analyses we found a statistically significant inverse association of SIP concentrations with LAEDV in men, but not in women. In detail, in men, a 1 $\mu\text{mol/L}$ lower SIP concentration was associated with a 12.6 mL (1.03–24.3; $p=0.033$) bigger LAEDV (Table 2, Supplemental Figure V). There were no associations of SIP concentrations with LAESV, LASV, LACO and LAEF for both men and women (Fig. 3).

Discussion

In our community-based sample, we found inverse associations of SIP concentrations with structural and systolic function LV and LA parameters. Importantly, these associations were sex-specific and detectable only in men, but not in women. Specifically, we found that, lower SIP

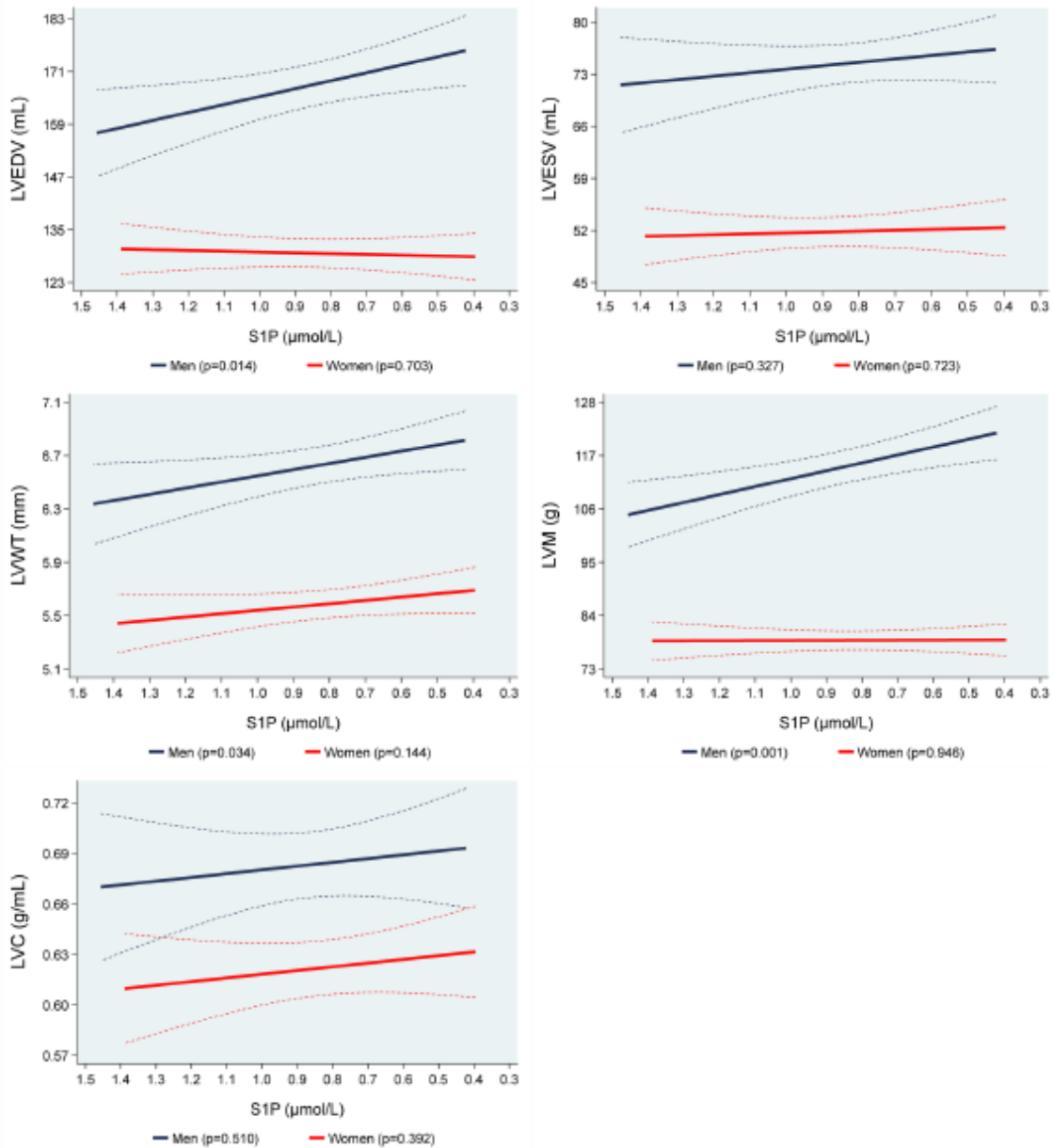


Fig. 1 Adjusted* line (95% CI) showing the associations between sphingosine-1-phosphate (S1P) with mean magnetic resonance imaging determined left ventricular end-diastolic volume (LVEDV), left ventricular end-systolic volume (LVESV), left ventricular wall-thickness (LVWT), left ventricular mass (LVM) and left ventricular concentricity (LVC) stratified by sex (men=457; women=381). *Lin-

ear regression adjusted for age, body fat mass, body fat-free mass, height^{2.7}, systolic blood pressure, use of antihypertensive medication, glycated hemoglobin, use of hypoglycemic medication, smoking status and eGFR. Data was weighted according to subjects that did not take part in the MRI examination

Table 2 Adjusted* β -coefficient (95%-CI) of the associations of SIP with magnetic resonance imaging determined leftventricular and leftatrial cardiac geometry and function parameters stratified by sex (LV: men=457; women=381, LA: men=421; women=354)

| Parameter | Men β -coefficient (95% CI), <i>p</i> -value | Women β -coefficient (95% CI), <i>p</i> -value |
|--|---|---|
| Left ventricular end-diastolic volume (mL) | - 18.1 (- 32.6 to - 3.66), <i>p</i> = 0.014 | 1.78 (- 7.34 to 10.9), <i>p</i> = 0.703 |
| Left ventricular end-systolic volume (mL) | - 4.63 (- 13.9 to 4.63), <i>p</i> = 0.327 | - 1.19 (- 7.77 to 5.40), <i>p</i> = 0.723 |
| Left ventricular wall-thickness (mm) | - 0.46 (- 0.89 to - 0.04), <i>p</i> = 0.034 | - 0.25 (- 0.58 to 0.09), <i>p</i> = 0.144 |
| Left ventricular mass (g) | - 16.3 (- 26.1 to - 6.55), <i>p</i> = 0.001 | - 0.21 (- 6.37 to 5.94), <i>p</i> = 0.946 |
| Left ventricular concentricity (g/mL) | - 0.02 (- 0.09 to 0.04), <i>p</i> = 0.510 | - 0.02 (- 0.07 to 0.03), <i>p</i> = 0.392 |
| Left ventricular stroke volume (mL/beat) | - 13.3 (- 22.1 to - 4.49), <i>p</i> = 0.003 | 3.10 (- 4.03 to 10.2), <i>p</i> = 0.393 |
| Left ventricular stroke work (cJ) | - 18.7 (- 30.9 to - 6.43), <i>p</i> = 0.003 | 5.10 (- 3.78 to 13.9), <i>p</i> = 0.260 |
| Heart rate (bpm) | 3.91 (- 2.20 to 10.0), <i>p</i> = 0.209 | - 1.72 (- 8.52 to 5.10), <i>p</i> = 0.619 |
| Left ventricular cardiac output (L/min) | - 0.62 (- 1.27 to 0.03), <i>p</i> = 0.061 | 0.08 (- 0.53 to 0.70), <i>p</i> = 0.800 |
| Left ventricular ejection fraction (%) | - 1.91 (- 5.00 to 1.13), <i>p</i> = 0.218 | 1.14 (- 2.55 to 4.82), <i>p</i> = 0.544 |
| Left atrial end-diastolic volume (mL) | - 12.6 (- 24.3 to - 1.03), <i>p</i> = 0.033 | - 3.07 (- 11.6 to 5.41), <i>p</i> = 0.477 |
| Left atrial end-systolic volume (mL) | - 7.42 (- 15.9 to 1.03), <i>p</i> = 0.085 | 2.19 (- 4.60 to 8.95), <i>p</i> = 0.524 |
| Left atrial stroke volume (mL/beat) | - 4.03 (- 9.85 to 1.80), <i>p</i> = 0.175 | - 4.29 (- 12.6 to 4.02), <i>p</i> = 0.311 |
| Left atrial cardiac output (L/min) | - 0.10 (0.59 to 0.40), <i>p</i> = 0.706 | - 0.39 (- 1.05 to 0.27), <i>p</i> = 0.242 |
| Left atrial ejection fraction (%) | 1.08 (- 3.12 to 5.28), <i>p</i> = 0.613 | - 0.34 (- 4.82 to 4.13), <i>p</i> = 0.880 |

A *p*-value *p* < 0.05 was considered as statistically significant and therefore highlighted in bold

*Linear regression adjusted for age, body fat mass, body fat-free mass, height^{2.7}, systolic blood pressure, use of antihypertensive medication, glycated hemoglobin, use of hypoglycemic medication, smoking status and eGFR. Data was weighted according to subjects that did not take part in the MRI examination

concentrations were associated with larger LV and LA volumes, thicker LVWT and higher LVM, LVSV and LVSW (Fig. 4).

In the context of the published literature

While there were some studies [34, 35] that described that higher SIP levels were related with hazardous outcomes, several other analyses [11, 12, 14, 15, 36], in agreement with our findings, showed the opposite, i.e. that lower SIP concentrations were associated with pathophysiologic clinical conditions.

A previous animal study [36], with pressure-overloaded cardiomyocytes, showed that the use of SIP could inhibit cardiomyocyte autophagy, thus preventing cardiomyocyte hypertrophy and consequently, protecting the cardiac function, mainly through the activation of the SIPRI.

A clinical study [14] among 74 patients (68% men, mean age of 73 years) with ischemic heart disease showed that lower SIP levels were related to a lower LVEF, as assessed by echocardiography, and a higher severity of heart failure determined by NYHA class. Our findings did not confirm the associations of SIP levels with LVEF or LVCO in both men and women. In this context, however, it must be considered that our sample excluded participants with compromised LV function, which indicate that our results reflect a subclinical stage. Moreover, we used

a population-based study with a higher number of participants, a broad age range, sex-specific analysis and the use of MRI to determine the cardiac parameters which is considered to be a more accurate method as compared to echocardiography [37, 38].

Potential mechanisms for the observed associations

The associations of lower SIP levels with cardiac geometry and systolic function parameters might be the result of shared multiple risk factors and comorbidities, such as older age, obesity, hypertension, type 2 diabetes and smoking which can explain these associations as parallel relations rather than direct ones. On the other hand, we have adjusted for many risk factors in our multivariable regression models with no significant modification of our results, which might advocate an independent association of lower SIP levels with these cardiac parameters. Our findings were only significant in men, which suggest that sex hormones might have an important influence, particularly estrogen, which is known for cardioprotective effects. Interestingly, ovariectomized rats experience a decrease of expression of sphingosine kinases 1 and 2, the key enzymes involved in SIP synthesis, alongside with decrease SIP concentrations in aortic tissue [39]. This phenotype was rescued by estradiol valerate treatment. On the other hand, in our sensitive

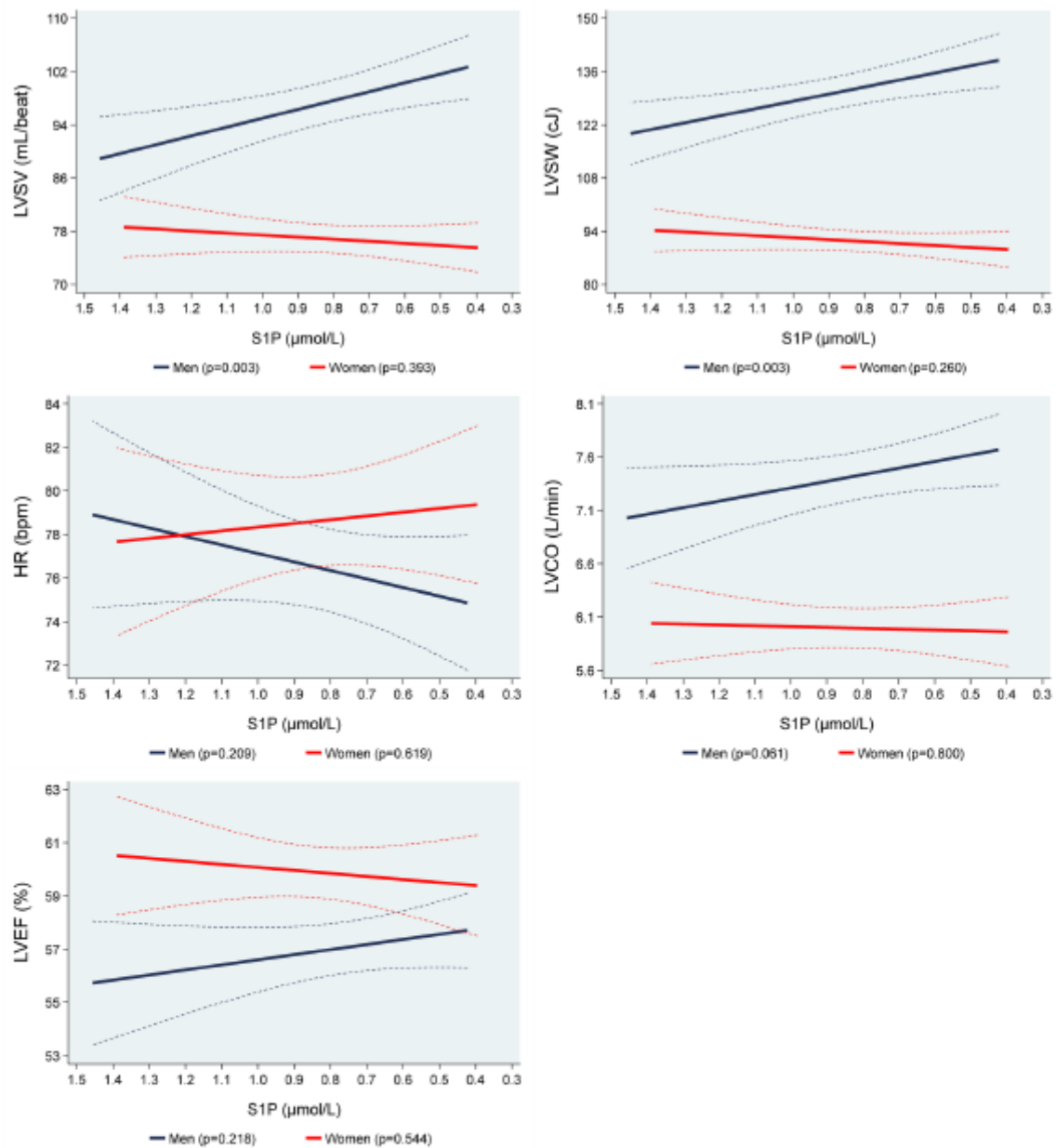


Fig. 2 Adjusted* line (95% CI) showing the associations between sphingosine-1-phosphate (S1P) with mean magnetic resonance imaging determined left ventricular stroke volume (LVSV), left ventricular stroke work (LVSW), heart rate (HR), left ventricular cardiac output (LVCO) and left ventricular ejection fraction (LVEF) stratified by sex

(men=457; women=381). *Linear regression adjusted for age, body fat mass, body fat-free mass, height^{2.7}, systolic blood pressure, use of antihypertensive medication, glycated hemoglobin, use of hypoglycemic medication, smoking status and eGFR. Data was weighted according to subjects that did not take part in the MRI examination

analyses, both premenopausal and postmenopausal women had no significant associations of S1P with LVM.

The role of S1P in heart (patho) physiology is complex. Synthesis of S1P involves endothelial cells, thrombocytes, erythrocytes and other cells, being transported by various

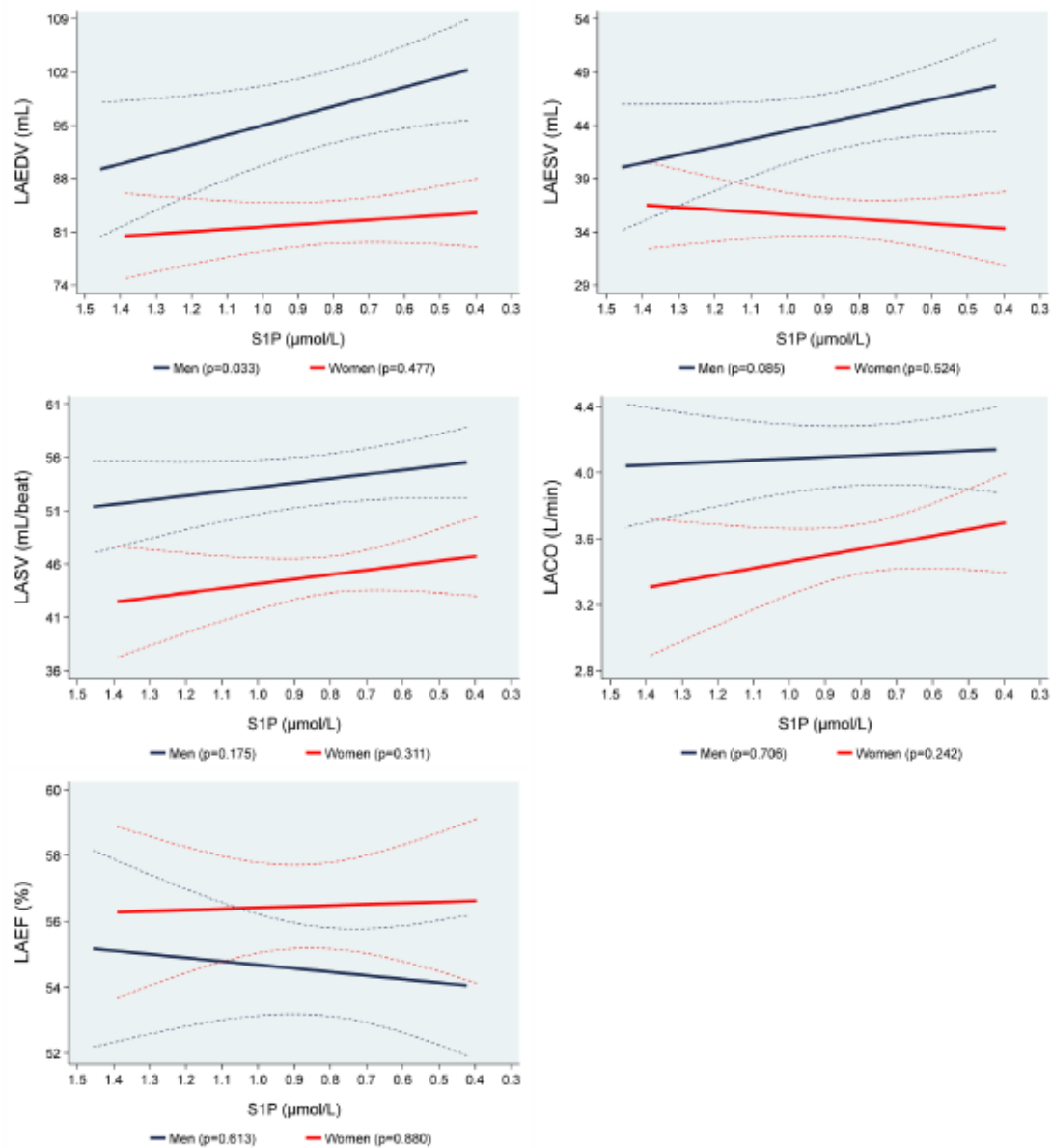


Fig. 3 Adjusted* line (95% CI) showing the associations between sphingosine-1-phosphate (S1P) with mean magnetic resonance imaging left atrial end-diastolic volume (LAEDV), left atrial end-systolic volume (LAESV), left atrial stroke volume (LASV), left atrial cardiac output (LACO) and left atrial ejection fraction (LAEF) stratified by sex (men=421; women=354). *Linear regression adjusted

for age, body fat mass, body fat-free mass, height^{2.7}, systolic blood pressure, use of antihypertensive medication, glycated hemoglobin, use of hypoglycemic medication, smoking status and eGFR. Data was weighted according to subjects that did not take part in the MRI examination

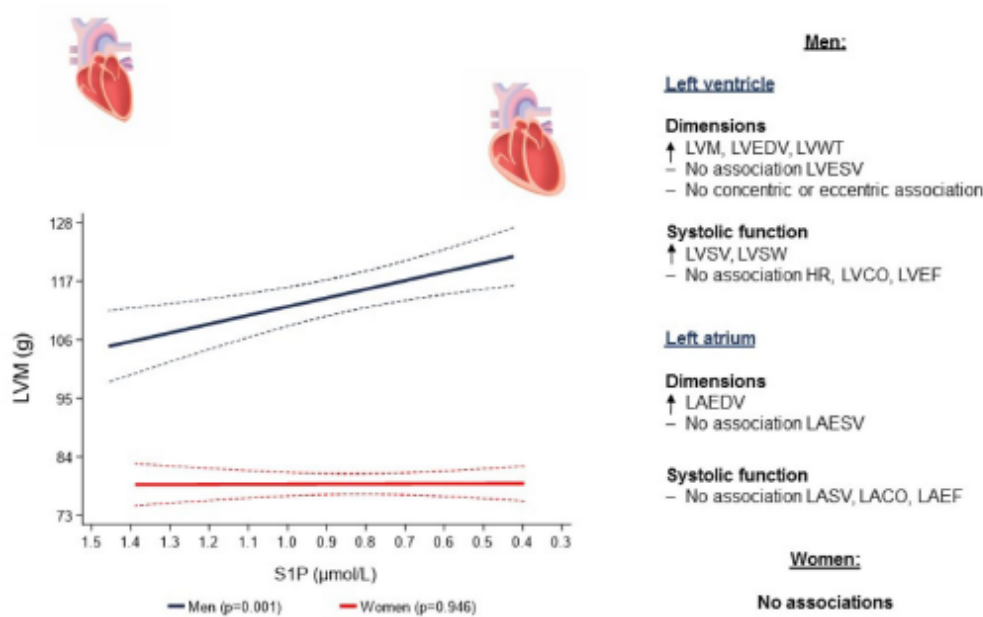


Fig. 4 Associations of sphingosine-1-phosphate levels with left atrial and left ventricular geometry and systolic function parameters

carriers including albumin, LDL- and HDL-cholesterol [40]. Activation of the S1P receptor 3 promotes cardiac fibroblast proliferation, but decreases collagen secretion [41, 42]. S1P inhibits proliferation of several muscular cell types via S1P receptor 2 activation and induces cell differentiation, e.g. to cardiomyocytes from of human mesenchymal stem cells [43–45]. Acute administration of the S1PR1, 3–5 agonist fingolimod (FTY720) induces bradycardia [46], but chronic administration in mouse models of heart transplantation or pressure overload protects against cardiac fibrosis, possibly by functional antagonism of S1PR1 in immune cells [47, 48]. Moreover, S1P plays a substantial role in regulation of blood pressure and vascular tone [49, 50]. S1P leads to a strong production of the endothelial nitric oxide (NO) synthase (eNOS)-derived NO in a similar extent like the vascular endothelial growth factor and bradykinin [50]. Mechanistically, S1P-dependent activation of S1PR1, the predominant receptor-subtype in endothelial cells, leads through stimulation of the PI3K/Akt/eNOS pathway to endothelial release of NO [51] and a subsequent vasodilatation. Accordingly, lower S1P concentrations might result in decreased NO-liberation and facilitated endothelial dysfunction with a consequent increase in vascular tone. This would result in a raise of the cardiac afterload and

subsequent boost of the LVSW. The concomitant increase in the myocardial wall tension would lead to an expand in the LVWT and LVEDV, with an accompanying enlargement of the LVSV and LAEDV, resulting in an enhanced LVM. Interestingly, our findings in sensitivity analyses, that S1P levels were associated with LVM in hypertensive and smoker men might suggest that the associations of low S1P levels could be accentuated in clinical conditions related with endothelial dysfunction.

Study limitations

Our study has some limitations that are needed to be mentioned. Our study only consisted of Caucasians, therefore, extrapolation to other ethnicities is not appropriate. Since we have a non-random subsample, we cannot exclude a selection bias. Although our cardiac MRI dataset provided detailed information on structural parameters and on parameters of systolic function, we have no data regarding diastolic function. Additionally, while we have adjusted as best as possible for confounding factors, causal assumptions have still to be done with caution due to the cross-sectional study design and the possibility of residual

confounding. Future longitudinal studies and replication might help to elucidate these associations.

Notwithstanding, our study has also some important strengths including the large sample size, the standardized assessment of MRI with detailed measurement of cardiac geometry and function and the possibility to adjust for multiple metabolic risk factors like body fat mass, body fat-free mass, glycated hemoglobin, that were available in our study.

Conclusions

Our results indicate that lower levels of SIP were associated with parameters reflecting cardiac geometry and systolic function in men. Specifically, in this population-based sample, lower levels of SIP were associated with higher LV wall thickness and mass, larger LV and LA chamber sizes and greater stroke volume and work of the LV in men, but not in women. Further experimental and clinical studies investigating the SIP signaling pathway in cardiovascular pathology should in particular be vigilant on sex differences and impact of sex hormones.

Perspectives

Clinical competencies

In our study we demonstrated that lower SIP concentrations were associated with larger chamber sizes and higher wall-thickness, stroke volume, stroke work and mass of the left heart in men. We believe these results indicate that SIP might be associated with cardiac geometry and systolic function parameters in men.

Translational outlook

Future longitudinal studies are necessary to substantiate the associations of SIP and heart geometry, as well as its sexual dimorphism that we found. Since most experimental studies investigating SIP are only performed with male animals [7], future studies should include male and female individuals, that would be exposed to conditions leading to modifications of cardiac shape, size, structure and function. A more mechanistic design, such as genetic receptor knockout or use of SIPR- agonist/antagonist substances might clarify causal pathways and possible pharmacological interventions.

Acknowledgements The authors wish to thank Francisco Couto, who drew the hearts' graphic figures used in Fig. 4 and in the Graphical abstract.

Funding Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. The Study of Health in Pomerania (SHIP) is part of the Community Medicine Research net (CMR) (<http://www.mediz.uni-greifswald.de/icm>) of the University Medicine Greifswald, which is supported by the German Federal State of Mecklenburg-West Pomerania. MRI scans in SHIP-2 and SHIP-TREND-0 have been supported by a joint grant from Siemens Healthineers, Erlangen, Germany and the Federal State of Mecklenburg-West Pomerania. This study was carried out in collaboration with the German Centre for Cardiovascular Research (DZHK) and the German Center for Diabetes Research (DZD), which are supported by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF).

Data availability The datasets generated during and/or analyzed during the current study are not publicly available due to data protection aspects but are available in an anonymized form from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Conflict of interest None declared.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

1. Savarese G, Lund LH (2017) Global public health burden of heart failure. *Card Fail Rev* 3(1):7–11
2. Roth GA et al (2020) Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990–2019: update from the GBD 2019 study. *J Am Coll Cardiol* 76(25):2982–3021
3. Hill JA, Olson EN (2008) Cardiac plasticity. *N Engl J Med* 358(13):1370–1380
4. Kemp CD, Conte JV (2012) The pathophysiology of heart failure. *Cardiovasc Pathol* 21(5):365–371
5. Hodun K, Chabowski A, Baranowski M (2021) Sphingosine-1-phosphate in acute exercise and training. *Scand J Med Sci Sports* 31(5):945–955
6. Means CK, Brown JH (2009) Sphingosine-1-phosphate receptor signalling in the heart. *Cardiovasc Res* 82(2):193–200
7. Jozefczuk E, Guzik TJ, Siedlinski M (2020) Significance of sphingosine-1-phosphate in cardiovascular physiology and pathology. *Pharmacol Res* 156:104793
8. Karliner JS et al (2001) The lysophospholipids sphingosine-1-phosphate and lysophosphatidic acid enhance survival during hypoxia in neonatal rat cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 33(9):1713–1717
9. Egom EE et al (2011) Activation of Pak1/Akt/eNOS signaling following sphingosine-1-phosphate release as part of a mechanism protecting cardiomyocytes against ischemic cell injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 301(4):H1487–H1495

10. Karlner JS (2013) Sphingosine kinase and sphingosine 1-phosphate in the heart: a decade of progress. *Biochim Biophys Acta* 1831(1):203–212
11. Klyachkin YM et al (2015) Pharmacological elevation of circulating bioactive phosphosphingolipids enhances myocardial recovery after acute infarction. *Stem Cells Transl Med* 4(11):1333–1343
12. Soltau I et al (2016) Serum-sphingosine-1-phosphate concentrations are inversely associated with atherosclerotic diseases in humans. *PLoS One* 11(12):e0168302
13. Yung BS et al (2017) Selective coupling of the S1P(3) receptor subtype to S1P-mediated RhoA activation and cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol* 103:1–10
14. Polzin A et al (2017) Plasma sphingosine-1-phosphate concentrations are associated with systolic heart failure in patients with ischemic heart disease. *J Mol Cell Cardiol* 110:35–37
15. Feuerborn R et al (2018) Elevating endogenous sphingosine-1-phosphate (s1p) levels improves endothelial function and ameliorates atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient (LDL-R^{-/-}) mice. *Thromb Haemostasis* 118(8):1470–1480
16. Ouyang J et al (2020) The role of sphingosine 1-phosphate and its receptors in cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med* 24(18):10290–10301
17. Karlner JS (2009) Sphingosine kinase and sphingosine 1-phosphate in cardioprotection. *J Cardiovasc Pharmacol* 53(3):189–197
18. Theilmeyer G et al (2006) High-density lipoproteins and their constituent, sphingosine-1-phosphate, directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury in vivo via the S1P3 lysophospholipid receptor. *Circulation* 114(13):1403–1409
19. Kuang Y et al (2021) Vascular endothelial S1pr1 ameliorates adverse cardiac remodeling via stimulating reparative macrophage proliferation after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 117(2):585–599
20. Cannavo A et al (2017) $\beta(1)$ -blockade prevents post-ischemic myocardial decompensation via $\beta(3)$ AR-dependent protective sphingosine-1 phosphate signaling. *J Am Coll Cardiol* 70(2):182–192
21. Volzke H, et al. (2022) Cohort profile update: the study of health in pomerania (SHIP). *Int J Epidemiol*.
22. Volzke H et al (2011) Cohort profile: the study of health in Pomerania. *Int J Epidemiol* 40(2):294–307
23. Bulow R et al (2018) Reference ranges of left ventricular structure and function assessed by contrast-enhanced cardiac MR and changes related to ageing and hypertension in a population-based study. *Eur Radiol* 28(9):3996–4005
24. Schulz-Menger J et al (2013) Standardized image interpretation and post processing in cardiovascular magnetic resonance: society for cardiovascular magnetic resonance (SCMR) board of trustees task force on standardized post processing. *J Cardiovasc Magn Reson* 15:35
25. Schramm W (2010) The units of measurement of the ventricular stroke work: a review study. *J Clin Monit Comput* 24(3):213–217
26. Winter T, et al. (2020) The integrated research biobank of the university medicine greifswald. *Open J Bioresour* 7
27. Moritz E et al (2017) Reference intervals for serum sphingosine-1-phosphate in the population-based Study of Health in Pomerania. *Clin Chim Acta* 468:25–31
28. Maziak W et al (2002) Ten-year trends in smoking behaviour among adults in southern Germany. *Int J Tuberc Lung Dis* 6(9):824–830
29. Baumeister SE et al (2008) Impact of fatty liver disease on health care utilization and costs in a general population: a 5-year observation. *Gastroenterology* 134(1):85–94
30. Levey AS et al (2009) A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 150(9):604–612
31. Hogan JW, Roy J, Korkontzelou C (2004) Handling drop-out in longitudinal studies. *Stat Med* 23(9):1455–1497
32. Seaman SR, White IR (2013) Review of inverse probability weighting for dealing with missing data. *Stat Methods Med Res* 22(3):278–295
33. Sauerbrei W et al (2006) Multivariable regression model building by using fractional polynomials: description of SAS, STATA and R programs. *Comput Stat Data Anal* 50(12):3464–3485
34. Kowalski GM et al (2013) Plasma sphingosine-1-phosphate is elevated in obesity. *PLoS One* 8(9):e72449
35. Deutschman DH et al (2003) Predicting obstructive coronary artery disease with serum sphingosine-1-phosphate. *Am Heart J* 146(1):62–68
36. Chen YZ et al (2018) Sphingosine 1 phosphate receptor-1 (S1PR1) signaling protects cardiac function by inhibiting cardiomyocyte autophagy. *J Geriatr Cardiol* 15(5):334–345
37. Bellenger NG et al (2000) Reduction in sample size for studies of remodeling in heart failure by the use of cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson* 2(4):271–278
38. Bellenger NG et al (2000) Comparison of left ventricular ejection fraction and volumes in heart failure by echocardiography, radionuclide ventriculography and cardiovascular magnetic resonance; are they interchangeable? *Eur Heart J* 21(16):1387–1396
39. Li Y et al (2020) The imbalance in the aortic ceramide/sphingosine-1-phosphate rheostat in ovariectomized rats and the preventive effect of estrogen. *Lipids Health Dis* 19(1):95
40. Daum G et al (2020) Determinants of serum- and plasma sphingosine-1-phosphate concentrations in a healthy study group. *TH Open* 4(1):e12–e19
41. Takuwa N et al (2010) S1P3-mediated cardiac fibrosis in sphingosine kinase 1 transgenic mice involves reactive oxygen species. *Cardiovasc Res* 85(3):484–493
42. Benamer N et al (2011) Electrophysiological and functional effects of sphingosine-1-phosphate in mouse ventricular fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 408(1):6–11
43. Grabski AD et al (2009) Sphingosine-1-phosphate receptor-2 regulates expression of smooth muscle alpha-actin after arterial injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29(10):1644–1650
44. Medlin MD et al (2010) Sphingosine 1-phosphate receptor 2 signals through leukemia-associated RhoGEF (LARG), to promote smooth muscle cell differentiation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30(9):1779–1786
45. Jiang L et al (2016) Synergistic effect of bioactive lipid and condition medium on cardiac differentiation of human mesenchymal stem cells from different tissues. *Cell Biochem Funct* 34(3):163–172
46. Schmourer R et al (2006) FTY720: placebo-controlled study of the effect on cardiac rate and rhythm in healthy subjects. *J Clin Pharmacol* 46(8):895–904
47. Ahmed N et al (2017) Sphingosine 1-phosphate receptor modulator fingolimod (FTY720) attenuates myocardial fibrosis in post-heterotopic heart transplantation. *Front Pharmacol* 8:645
48. Liu W et al (2013) A novel immunomodulator, FTY-720 reverses existing cardiac hypertrophy and fibrosis from pressure overload by targeting NFAT (nuclear factor of activated T-cells) signaling and periostin. *Circ Heart Fail* 6(4):833–844
49. Cantalupo A et al (2015) Nogo-B regulates endothelial sphingolipid homeostasis to control vascular function and blood pressure. *Nat Med* 21(9):1028–1037
50. Cantalupo A et al (2017) S1PR1 (sphingosine-1-phosphate receptor 1) signaling regulates blood flow and pressure. *Hypertension* 70(2):426–434
51. Liu X et al (2020) Endothelial S1pr1 regulates pressure overload-induced cardiac remodeling through AKT-eNOS pathway. *J Cell Mol Med* 24(2):2013–2026

7.3 Eidesstattliche Versicherung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel (einschließlich Werkzeuge der Künstlichen Intelligenz) 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

Jan Schielke