

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

DISSERTATION

Der Zusammenhang zwischen den Blutplasmakonzentrationen des
zirkulierenden Insulin-like-Growth-Factor-1 sowie des Insulin-like-
Growth-Factor-Binding-Protein-3 und dem funktionell-neurologischen
Outcome nach ischämischem Schlaganfall

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Moritz Armbrust

aus Kiel

Datum der Promotion: 05.06.2016

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Kurzzusammenfassung	V
Abstract	VII
Abbildungsverzeichnis	IX
Abbildungsverzeichnis Appendix	X
Tabellenverzeichnis	XI
Abkürzungsverzeichnis	XII

1	Einleitung	1
1.1	Wissenschaftliche Fragestellungen und Hypothesen	2
1.2	Der ischämische Schlaganfall	3
1.2.1	Die globale Bürde	5
1.2.2	Therapie	6
1.2.3	Ätiologie und prädisponierende Risikofaktoren	7
1.3	Arterielle Vaskularisation des Gehirns	8
1.4	Das Hormonsystem	9
1.4.1	Die somatotrope Achse	12
1.4.2	Die Somatomedine	13
1.4.3	Das IGFBP-3	14
2	Material und Methodik.....	18
2.1	Die EARLY-Studie	18
2.1.1	Ethik	18
2.1.2	Studienpatienten	19
2.1.3	Durchführung der EARLY-Studie	19
2.2	Erfassung und Aufbereitung der Studiendaten.....	20
2.2.1	Das klinische Outcome anhand von Skalen und Indices.....	21
2.2.1.1	National Institutes of Health Stroke Scale	21
2.2.1.2	Modified Rankin Scale	22
2.3	Labordiagnostik.....	24
2.3.1	Chemilumineszenz-Immunoassay	24
2.4	Statistische Analysen	26
2.4.1	Vorbereitung der Daten und univariate Statistik.....	26
2.4.2	Dependenzanalysen	27
2.4.2.1	IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel	28
2.4.2.2	Patientenparameter bei dichotomisierten IGFBP-3-Spiegeln	29
2.4.2.3	Patientenparameter bei dichotomisiertem Outcome von Tag 90	31
2.4.2.4	Kreuztabellen und Assoziationsmaße	31
2.4.2.5	Multiple lineare Regression.....	32
2.4.2.6	Multiple binäre logistische Regression	34

3	Ergebnisse	37
3.1	Deskriptive Statistiken	37
3.1.1	Die Studienpopulation	37
3.2	Dependenzanalysen	44
3.2.1	IGFBP-3	44
3.2.2	IGF-1	50
3.2.3	Patientenparameter bei dichotomisierten IGFBP-3-Spiegeln	55
3.2.4	Patientenparameter bei dichotomisiertem Outcome.....	60
3.2.5	Kreuztabellen und Assoziationsmaße	64
3.2.6	Regressionsanalysen.....	70
3.2.6.1	Multiple lineare Regression.....	70
3.2.6.2	Multiple binäre logistische Regression	73
4	Diskussion.....	75
4.1	Hauptergebnisse: IGFBP-3	75
4.1.1	Confounder-Analyse	75
4.1.2	Bewertung der Statistik zum IGFBP-3.....	77
4.2	Nebenergebnisse: IGF-1.....	81
4.2.1	Bewertung der Statistik zum IGF-1.....	82
4.3	Einordnung in die gegenwärtige Literatur	83
4.3.1	Limitationen	86
4.3.2	Stärken.....	88
4.4	Zusammenfassendes Fazit	89
4.5	Ausblick.....	90
	Literaturverzeichnis	91
	Eidesstattliche Versicherung	103
	Curriculum Vitae	104
	Danksagung	106
	Appendix	107

Kurzzusammenfassung

Einleitung: Die Datenlage zu neuroprotektiven Auswirkungen des Insulin-like-Growth-Factor-1 (IGF-1) und dem Insulin-like-Growth-Factor-Binding-Protein-3 (IGFBP-3) auf hypoxisch-ischämisch verletztes Hirngewebe ist bisher nicht eindeutig gewesen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Zusammenhänge zwischen den in der Akutphase gemessenen Humanplasmaspiegeln der beiden Proteine und dem funktionell-neurologischen *Outcome* von Schlaganfallpatienten nach drei Monaten untersucht.

Methodik: In Heparinplasmaproben von Schlaganfallpatienten, die der EARLY-Studie (NCT00562588) entstammen, wurden mittels Chemilumineszenz-Immunoassay die IGF-1- und die IGFBP-3-Plasmawerte am Tag des Studieneinschlusses (Tag 0) und an Tag 8 nach dem ischämischen Ereignis bestimmt. Das *Outcome* wurde drei Monate nach dem Schlaganfall anhand der modified Rankin Scale (mRS) festgestellt; ein schlechtes *Outcome* war definiert als mRS = 3-6 Punkte. Nach Dichotomie der Studienpopulation in zwei *Outcome*- und zwei IGFBP-3-Gruppen wurden bivariate Dependenzanalysen durchgeführt. Zur Überprüfung von Einflussfaktoren auf die IGFBP-3-Plasmaspiegel wurde ein multiples lineares Regressionsmodell mit den IGFBP-3-Werten von Tag 0 als Kriterium erstellt. Abschließend wurde eine multiple binäre logistische Regression mit dem *Outcome* als Kriterium sowie sämtlichen Proteinwerten und vorher detektierten potentiellen Störfaktoren als Prädiktoren durchgeführt, um die prädiktive Eignung der Proteine zu testen.

Ergebnisse: Die Kohorte bestand aus 404 Patienten. Der mittlere Wert auf der mRS bei Studienaufnahme betrug 2 (+/- 1) Punkte. 89 Patienten hatten ein schlechtes *Outcome*. 120 Patienten hatten niedrige IGFBP-3-Spiegel (unterhalb -2 Standardabweichungen vom alters-adjustierten Mittelwert) und 284 Patienten hatten normale IGFBP-3-Spiegel. Die Plasmaspiegel des IGF-1 und des IGFBP-3 waren positiv miteinander korreliert (Tag 0: $r = 0.621$, $p < 0.001$; Tag 8: $r = 0.685$, $p < 0.001$). In der multiplen linearen Regression zeigten die IGFBP-3-Spiegel einen Zusammenhang mit dem Patientenalter, dem Geschlecht sowie den IGF-1-Spiegeln. Nach *Confounder*-Adjustierung in der abschließend durchgeführten multiplen binären logistischen Regression zeigten sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den IGF-1- sowie IGFBP-3-Spiegeln an Tag 0 zum *Outcome* (IGF-1: OR 1.4; 95%-KI 0.9-2.4; $p = 0.172$; IGFBP-3: OR 0.7; 95%-KI 0.4-1.2; $p = 0.167$). Niedrige IGF-1-Spiegel an Tag 8 zeigten einen signifikanten und unabhängigen protektiven Einfluss auf das *Outcome* (OR 0.6; 95%-KI 0.37-0.99; $p = 0.044$). Niedrige IGFBP-3-Spiegel an Tag 8 zeigten einen signifikanten und unabhängigen Einfluss auf ein schlechtes *Outcome* nach 90 Tagen (OR 2.8; 95%-KI 1.6-4.8; $p < 0.001$).

Schlussfolgerung: Die IGF-1- und IGFBP-3-Plasmaspiegel von Tag 8 zeigten einen signifikanten und unabhängigen Zusammenhang zum Schlaganfall-*Outcome* nach 90 Tagen. Dies ist vermutlich die bisher erste Studie, in der die unabhängige Assoziation zwischen niedrigen IGFBP-3-Spiegeln in der Akutphase und einem schlechten funktionellen Zustand nach 90 Tagen anhand einer ausreichend großen Studienkohorte demonstriert werden konnte. Die Resultate lassen postulieren, dass der prädiktive Wert der IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel in einer Abhängigkeit zu dem Messzeitpunkt in der Akutphase nach ischämischen Schlaganfall steht.

Abstract

Background: Potential neuroprotective effects of both Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3) on hypoxically-ischemically injured brain tissue have been contradictorily described elsewhere. The aim of this study was to determine if plasma levels of IGF-1 and IGFBP-3 assessed in stroke patients within the acute phase are indicative of three months functional outcome.

Methods: IGF-1 and IGFBP-3 plasma levels were measured using a chemiluminescence immunoassay in heparin blood samples originally taken from the EARLY-Study (NCT00562588). Assessment was implemented on admission and eight days post-stroke. Neurological deficits were assessed via modified Rankin Scale (mRS) three months after stroke occurrence, resulting in either favourable functional outcome (mRS = 0-2) or unfavourable outcome (mRS = 3-6). Bivariate dependency analyses following dichotomization of all patient parameters into two outcome groups and two IGFBP-3-level-groups were performed. In order to detect factors possibly influencing IGFBP-3 levels, a multiple linear regression model was established using the IGFBP-3-levels (day 0) as the criterion variable. A multiple binary logistic regression including the outcome as a criterion and all assessed protein levels as well as possible confounders as predictors was conducted to test for the proteins' independent predictive value.

Results: Overall, 404 Patients were included. Average mRS on admission as well as three months post-stroke were 2 (+/- 1). Out of those, 89 patients had an unfavourable outcome. IGFBP-3-levels were low in 120 patients (below -2 standard deviations from the age-adjusted mean) and normal in 284 patients. IGF-1 and IGFBP-3 plasma levels correlated with each other (day 0: $r = 0.621$, $p < 0.001$; day 8: $r = 0.685$, $p < 0.001$). In a multiple linear regression IGFBP-3-levels were associated with age, gender and IGF-1-levels. After adjusting for confounders, IGF-1 and IGFBP-3-levels measured on admission showed no significant association with the outcome in a multiple binary logistic regression (IGF-1: OR 1.4; 95%CI 0.9-2.4; $p = 0.172$; IGFBP-3: OR 0.7; 95%CI 0.4-1.2; $p = 0.167$). Low IGF-1-levels from day 8 were significantly and independently associated with a decreased risk of a poor outcome (OR 0.6; 95%CI 0.37-0.99; $p = 0.044$). Low IGFBP-3-levels (day 8) were significantly associated with an unfavourable outcome (OR 2.8; 95%CI 1.6–4.8; $p < 0.001$).

Conclusion: IGF-1- and IGFBP-3-levels assessed 8 days after ischemic stroke were independently associated with functional outcome after three months. To the best of my knowledge, this is the first study to demonstrate an independent linkage between low IGFBP-3-levels in the acute phase

and poor outcome in a sufficiently large cohort. The predictive value of both IGF-1- and IGFBP-3-levels might be dependent on the time of blood-sampling after a stroke.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Chemilumineszenz-Reaktion im Immulite® 2000 XPi	26
Abbildung 2: <i>Flow-Chart</i> der Studienpatienten	38
Abbildung 3: Die IGFBP-3-Verteilung nach Geschlecht und Messtag	47
Abbildung 4: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 0) nach mRS-Dichotomie (Tag 0)	48
Abbildung 5: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 8) nach mRS-Dichotomie (Tag 8)	48
Abbildung 6: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 0) nach mRS-Dichotomie (Tag 90)	48
Abbildung 7: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 8) nach mRS-Dichotomie (Tag 90)	48
Abbildung 8: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 0) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 0)	49
Abbildung 9: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 8) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 8)	49
Abbildung 10: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 0) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 90)	49
Abbildung 11: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 8) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 90)	49
Abbildung 12: IGF-1-Verteilung nach Geschlecht und Messtag	52
Abbildung 13: Die IGF-1-Verteilung (Tag 0) nach mRS-Dichotomie (Tag 0)	53
Abbildung 14: Die IGF-1-Verteilung (Tag 8) nach mRS-Dichotomie (Tag 8)	53
Abbildung 15: Die IGF-1-Verteilung (Tag 0) nach mRS-Dichotomie (Tag 90)	53
Abbildung 16: Die IGF-1-Verteilung (Tag 8) nach mRS-Dichotomie (Tag 90)	53
Abbildung 17: Die IGF-1-Verteilung (Tag 0) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 0)	54
Abbildung 18: Die IGF-1-Verteilung (Tag 8) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 8)	54
Abbildung 19: Die IGF-1-Verteilung (Tag 0) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 90)	54
Abbildung 20: Die IGF-1-Verteilung (Tag 8) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 90)	54
Abbildung 21: Streudiagramm der IGF-1- und IGFBP-3-Werte von Tag 0	59
Abbildung 22: Streudiagramm der IGF-1 und IGFBP-3-Werte von Tag 8	59
Abbildung 23: Visualisierung der Kreuztabelle 10	67
Abbildung 24: Visualisierung der Kreuztabelle 11	67
Abbildung 25: Visualisierung der Kreuztabelle 12	68
Abbildung 26: Visualisierung der Kreuztabelle 13	68

Abbildungsverzeichnis Appendix

Abbildung 1: Normalverteilungsplot der Variable Patientenalter.....	130
Abbildung 2: Normalverteilungsplot der Variable Body-Mass-Index.....	130
Abbildung 3: Normalverteilungsplot des IGFBP-3 von Tag 0	131
Abbildung 4: Normalverteilungsplot des IGFBP-3 von Tag 8	131
Abbildung 5: Normalverteilungsplot des IGF-1 von Tag 0	132
Abbildung 6: Normalverteilungsplot des IGF-1 von Tag 8	132
Abbildung 7: Die Verteilung des IGFBP-3 von Tag 0 über der mRS von Tag 90	133
Abbildung 8: Die Verteilung des IGFBP-3 von Tag 8 über der mRS von Tag 90	133
Abbildung 9: Die Verteilung des IGFBP-3 von Tag 0 über die NIHSS von Tag 90.....	134
Abbildung 10: Die Verteilung des IGFBP-3 von Tag 8 über der NIHSS von Tag 90.....	134
Abbildung 11: Die Verteilung des IGF-1 von Tag 0 über der mRS von Tag 90.....	135
Abbildung 12: Die Verteilung des IGF-1 von Tag 8 über der mRS von Tag 90.....	135
Abbildung 13: Die Verteilung des IGF-1 von Tag 0 über der NIHSS von Tag 90	136
Abbildung 14: Die Verteilung des IGF-1 von Tag 8 über der NIHSS von Tag 90	136
Abbildung 15: Test auf Heteroskedastizität der Residuen in der linearen Regression	137

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Definition der mRS-Werte	23
Tabelle 2: Beschreibung der Studienpopulation	41
Tabelle 3: Begleiterkrankungen innerhalb der Studienpopulation.....	41
Tabelle 4: Unerwünschte Ereignisse innerhalb der Studienpopulation	42
Tabelle 5: Schlaganfall- <i>Scores</i> bei Studieneinschluss	42
Tabelle 6: Schlaganfall- <i>Scores</i> von Tag 8.....	43
Tabelle 7: Schlaganfall- <i>Scores</i> von Tag 90.....	43
Tabelle 8: Patientenparameter bei dichotomisierten IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0.....	57
Tabelle 9: Patientenparameter bei dichotomisiertem Outcome	62
Tabelle 10: Kreuztabelle IGFBP-3-Werte von Tag 0 und dichotome mRS von Tag 90	66
Tabelle 11: Kreuztabelle IGFBP-3-Werte von Tag 8 und dichotome mRS von Tag 90	66
Tabelle 12: Kreuztabelle IGF-1-Werte von Tag 0 und dichotome mRS von Tag 90	66
Tabelle 13: Kreuztabelle IGF-1-Werte von Tag 8 und dichotome mRS von Tag 90	66
Tabelle 14: Assoziationsmaße aus den Kreuztabellen	69
Tabelle 15: Resultate der multiplen linearen Regression.....	72
Tabelle 16: Resultate der multiplen binären logistischen Regressionsanalyse	74
Tabelle 17: National Institutes of Health Stroke Scale	107

Abkürzungsverzeichnis

µg/ml	Mikrogramm pro Milliliter
95%-KI	95%-Konfidenzintervall
AE	Adverse Event
BMI	Body-Mass-Index
CRF	Case Report Form, Prüfbogen in EARLY
CT	Computertomographie
DALY	Disability Adjusted Life Years
EARLY	Early treatment with aspirin plus extended-release dipyridamole for transient ischaemic attack or ischaemic stroke within 24 h of symptom onset trial
EGF	Epidermal Growth Factor
GH	Growth Hormone, Somatotropin
GHRH	Growth Hormone Releasing Hormone
HHL	Hypophysenhinterlappen, Neurohypophyse
HVL	Hypophysenvorderlappen, Adenohypophyse
ICV	intrazerebroventrikulär(e) (Applikation)
IGF-1	Insulin-like-Growth-Factor-1, Somatomedin-C
IGF-2	Insulin-like-Growth-Factor-2, Somatomedin-A
IGFALS	IGF-Acid-labile Subunit
IGFBP-2	Insulin-like-Growth-Factor-Binding-Protein-2
IGFBP-3	Insulin-like-Growth-Factor-Binding-Protein-3
IQR	Interquartilsabstand
kg/m ²	Kilogramm pro Quadratmeter
MCA	Arteria cerebri media
MD	Median
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
MHH	Medizinische Hochschule Hannover
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
mRS	modified Rankin Scale
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Fallzahl
N	Gesamtfallzahl
ng/ml	Nanogramm pro Milliliter

NIHSS	National Institutes of Health Stroke Scale
OR	Odds Ratio, Quotenverhältnis
p	p-Wert, Überschreitungswahrscheinlichkeit, Signifikanzwert
RR	Relatives Risiko
RS	Rankin Scale
rtPA	Recombinant Tissue Plasminogen Activator
SD	Standardabweichung
TIA	Transitorische ischämische Attacke
TOAST	Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment
VIF	Varianzinflationsfaktor
vWF	Von-Willebrand-Faktor
WHO	World Health Organisation, Weltgesundheitsorganisation

1 Einleitung

Zerebrovaskuläre Erkrankungen zeigen eine hohe Prävalenz in der Allgemeinbevölkerung und führen nicht selten zu einer permanenten Invalidität und damit reduzierten Lebensqualität des betroffenen Individuums.^{1,2} Auch bei jungen Betroffenen kann das klinische Bild eines Schlaganfalls desaströse Ausmaße annehmen und zu physischen, psychischen sowie sozialen Beeinträchtigungen führen.^{3,4} Deutschlandweit stellt der Schlaganfall mit etwa 8% die dritthäufigste Todesursache dar, gefolgt von Herz- und Krebserkrankungen; gleichzeitig ist der Schlaganfall die häufigste Ursache erworbener Behinderung im Erwachsenenalter.⁵

Zunehmend wurden in der Vergangenheit biochemische Serum-Marker hinsichtlich ihrer klinischen Relevanz beim Schlaganfall evaluiert. Neben der Optimierung der Diagnose in der Akutphase liegt der Fokus oftmals auch auf einer individuellen Prognoseabschätzung bezüglich des funktionellen *Outcomes*.⁶ Eine Vielzahl derartiger Biomarker wurden als potentielle Prädiktoren deklariert, darunter beispielsweise das C-reaktive Protein oder das B-natriuretische Peptid; in vielen Studien wurde jedoch nicht deutlich, ob ein Biomarker eine prädiktive Zusatzinformation gegenüber klinisch etablierten Einflussgrößen auf das Schlaganfall-*Outcome*, wie etwa das Patientenalter oder die initiale Schwere eines Infarkts, liefern konnte, sodass der klinische Nutzen zumeist unsicher war.⁷ Der weiteren Identifizierung von Parametern, die einen möglichst unabhängigen prognostischen Wert beim Schlaganfall besitzen, kommt daher eine große Bedeutung zu.

Wiederholt konnte die Assoziation der somatotropen Achse zu sowohl physiologischen als auch pathologischen Prozessen im Nervensystem und an den Blutgefäßen demonstriert werden. Als Bestandteil dieser Hormonachse spielen insbesondere das Somatotrope Hormon (Wachstumshormon, nachfolgend: GH) sowie der Insulin-like-Growth-Factor-1 (nachfolgend: IGF-1) eine Rolle bei kardio- und zerebrovaskulären Erkrankungen.⁸ Beide Hormone sind bei der Entwicklung und Myelinisierung des Nervensystems, bei Prozessen des Gehirn-Wachstums sowie in Bezug auf die Neuroplastizität des Gehirns involviert.⁹ Weiterhin wurden potentielle Korrelationen zwischen sowohl dem IGF-1 als auch seinem Bindungsprotein, dem Insulin-like-Growth-Factor-Binding-Protein-3 (nachfolgend: IGFBP-3), und dem Auftreten von Arteriosklerose beobachtet. Während einige Studien einen möglichen Zusammenhang zwischen niedrigen IGFBP-3-Serumspiegeln und der Entwicklung einer Koronar-Arteriosklerose zeigten,

konnte zudem in anderen Studiengruppen eine Beziehung zwischen der Intima-Media-Dicke der Karotiden und dem zirkulierenden IGF-1- sowie IGFBP-3 demonstriert werden.^{10,11}

Die beschriebenen Auswirkungen des IGF-1 und des IGFBP-3 machen diese Hormone für die Biomarker-Forschung beim Schlaganfall interessant. Åberg und Bondanelli konnten neuroprotektive Effekte hoher IGF-1-Serumspiegel in der Rehabilitationsphase nach ischämischem Schlaganfall beobachten; dies suggeriert einen prädiktiven Wert des IGF-1 für den späteren funktionellen Zustand von Schlaganfallpatienten.^{12,13} Die Datenlage ist derzeit noch konträr: in einem Tierversuch mit Mäusen zeigte sich eine Assoziation zwischen hohen Prä-Infarkt-IGF-1-Serumwerten und einer größeren postischämischen Läsionsausdehnung nach provoziertem Arteria-Media-Infarkt mit anschließender Reperfusion. In demselben Tierversuch zeigte sich eine vermehrte Expression von IGFBP-3-Messenger-Ribonukleinsäure (nachfolgend: mRNA) in einer durch Ischämie geschädigten murinen Großhirnhemisphäre.¹⁴ Insgesamt verdichten sich die Hinweise über neurotrophe IGFBP-3-Effekte. Als Bindungsprotein übt das IGFBP-3 einen modulierenden Einfluss auf das IGF-1 aus und kann somit möglicherweise zytoprotektive IGF-1-Effekte potenzieren; zudem zeigt das IGFBP-3 proangiogene Effekte, durch welche eine Revaskularisation und Reparaturmechanismen nach hypoxisch-ischämischer Verletzung begünstigt werden können.¹⁵

Die Datenlage bezüglich potentieller Einflüsse des IGFBP-3 auf das funktionelle *Outcome* nach ischämischem Schlaganfall ist bis dato gering. In einer Arbeit von Denti und Kollegen konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen niedrigen IGF-1-Spiegeln und einem schlechten Schlaganfall-*Outcome*, jedoch kein Zusammenhang zwischen dem IGFBP-3 und dem *Outcome* festgestellt werden.¹⁶ Allerdings konnten Ebinger et al. in einer Substudie der Berliner *Cream&Sugar*-Studie anhand einer Fallzahl von 100 Schlaganfallpatienten einen potentiellen unabhängigen Zusammenhang zwischen niedrigen IGFBP-3-Spiegeln und dem Schlaganfall-*Outcome* nach einem Jahr demonstrieren – die Aussagekraft war jedoch aufgrund der geringen Fallzahl limitiert.^{17,18} Diese Studie gab den Anstoß für die vorliegende Arbeit.

1.1 Wissenschaftliche Fragestellungen und Hypothesen

Ziel dieser Arbeit war die Beantwortung der Frage, inwieweit das IGF-1 und das IGFBP-3 als Biomarker zur prognostischen Abschätzung des neuronalen *Outcome* von Schlaganfallpatienten

Verwendung finden könnten. Der Schwerpunkt dieser Dissertation wurde dabei auf das IGFBP-3 gelegt. Zu diesem Zweck wurden die folgenden Forschungsfragen sowie Hypothesen untersucht.

Wissenschaftliche Fragestellungen und Hypothesen:

Fragestellung 1: Lassen sich insbesondere durch die Bestimmung der Blutplasmaspiegel des bisher wenig untersuchten Bindungsproteins IGFBP-3, gemessen in der Akutphase des Schlaganfalls, Aussagen über das neurologische *Outcome* nach ischämischem Schlaganfall treffen?

Fragestellung 2: Lassen sich weiterhin durch die Bestimmung der IGF-1-Plasmapiegel, gemessen in der Akutphase des Schlaganfalls, Aussagen über das neurologische *Outcome* nach ischämischem Schlaganfall treffen?

Hypothese 1: Niedrige IGFBP-3-Plasmaspiegel sind mit einem schlechten funktionellen neurologischen *Outcome*, festgestellt mit Hilfe der modified Rankin Scale (nachfolgend: mRS) und definiert als mRS = 3-6 Punkte 90 Tage nach dem Schlaganfall-Ereignis, assoziiert.

Hypothese 2: Niedrige IGF-1-Plasmaspiegel sind mit einem schlechten funktionellen neurologischen *Outcome*, festgestellt mit Hilfe der mRS und definiert als mRS = 3-6 Punkte 90 Tage nach dem Schlaganfall, assoziiert.

Nebenhypothese: Die Blutplasmakonzentrationen von IGF-1 und IGFBP-3 sind positiv miteinander korreliert.

Unabhängige Zusammenhänge zwischen sowohl dem IGF-1, als auch dem IGFBP-3 und dem klinischen Zustand der Patienten nach drei Monaten könnten in Zukunft die Selektion derjenigen Patienten, die in der Rehabilitationsphase besondere Fürsorge und Behandlung benötigen, erleichtern und zudem Wege freimachen für neuartige Therapieoptionen.

1.2 Der ischämische Schlaganfall

Der Terminus Schlaganfall wird in der medizinischen Fachwelt nicht einheitlich benutzt. Grundsätzlich stellt die Bezeichnung einen Überbegriff für akut auftretende neurologische Ausfallsymptome aufgrund einer plötzlichen regionalen Minderperfusion des

Zentralnervensystems und einem damit einhergehenden Sauerstoff- und Nährstoffmangel umschriebener Neuronenverbände dar. Die World Health Organisation (auch: Weltgesundheitsorganisation, nachfolgend: WHO) definiert den Schlaganfall wie folgt: "Definite stroke is defined as rapidly developed clinical signs of focal or global disturbance of cerebral function, lasting more than 24 hours or until death, with no apparent non-vascular cause."¹⁹ Es handelt sich laut WHO also um eine sich rasch entwickelnde klinische Symptomatik einer fokalen oder globalen Störung der Hirnfunktion, welche länger als 24 Stunden anhält oder zum Tode führt und für deren Genese keine andere als eine vaskuläre Ursache erkennbar ist (Übersetzung d.A.). In der Begriffsdefinition der Deutschen Gesellschaft für Neurologie wird der ischämische Schlaganfall als ein „akutes fokales neurologisches Defizit aufgrund einer umschriebenen Durchblutungsstörung des Gehirns“ bezeichnet.²⁰

Generell ursächlich für einen Schlaganfall können verschiedene vaskuläre Ereignisse, wie zum Beispiel eine akute intrazerebrale Hämorrhagie, ein ischämischer Hirninfarkt oder auch eine Sinus- oder Hirnvenenthrombose sein. Die einzelnen Ätiologien stellen jeweils eigene Krankheitsentitäten mit spezifischen Behandlungsmethoden dar und sollen an dieser Stelle nicht alle einzeln diskutiert werden. Der Fokus dieser Arbeit liegt auf dem ischämischen Hirninfarkt. Wie nachfolgend noch detailliert erläutert, stellen mikroangiopathische, thromboembolische oder auch hämodynamische Veränderungen die pathomechanische Grundlage des ischämischen Schlaganfalls dar.²⁰

Patienten mit Schlaganfall können einen sehr variablen zeitlichen Verlauf präsentieren. Bildet sich die neurologische Symptomatik innerhalb von 24 Stunden vollständig zurück und hinterlässt die zerebrale Durchblutungsstörung in der Bildgebung kein morphologisches Korrelat, so spricht man von einer flüchtigen ischämischen Attacke oder auch transitorisch-ischämischer Attacke (nachfolgend: TIA).²¹ Meist hält die Symptomatik einer TIA nicht länger als 30 Minuten an. Aufgrund der heute präzisen bildgebenden Möglichkeiten befindet sich die Begriffsdefinition der TIA im Wandel und soll einerseits limitiert werden auf eine Symptombdauer von maximal einer Stunde und andererseits auf diejenigen Patienten, bei denen sich keine strukturellen Veränderungen in der Bildgebung mittels Magnetresonanztomographie (nachfolgend: MRT) mit diffusionsgewichteten Sequenzen demaskieren lassen.^{20,22}

Die neurologischen Ausfallerscheinungen bei Patienten mit einem akuten ischämischen Hirninfarkt können sehr vielfältig sein und hängen unmittelbar von der Lokalisation der

Durchblutungsstörung im Zentralnervensystem ab. Dabei reichen die Beschwerden von unmittelbar auftretenden Paresen und Sensibilitätsstörungen über motorische und sensorische Aphasien, Nausea und Vomitus, Visusstörungen, Diplopie und homonyme Hemianopsie, zerebelläre Symptome wie Ataxie, Dysmetrie und Vertigo bis hin zu Bewusstseinsintrübung und Exitus letalis.

1.2.1 Die globale Bürde

Allein in Deutschland ereignen sich jährlich rund 196 000 erstmalige und 66 000 wiederholte Schlaganfälle (Stand: 2008).⁵ Für das „Erlangen Stroke Project“ wurde im Zeitraum von 1994 bis 1996 in Erlangen ein Schlaganfall-Register zur Ermittlung der Schlaganfall-Inzidenz eingeführt. Die Daten ergaben eine jährliche Gesamtinzidenz erstmaliger Infarktereignisse von 1.74 / 1000 Einwohner, davon 1.47 / 1000 für Männer sowie 2.01 / 1000 für Frauen. Die Neuerkrankungsrate für rein zerebrale Infarzierungen lag bei 1.37 / 1000 Einwohner; die Differenz zur Gesamtinzidenz wurde aus den anderen Schlaganfall-Subtypen, also intrazerebraler Hämorrhagie, Subarachnoidalblutung und dem undefinierten Schlaganfall gebildet.²³

Schätzungen aus der Global Burden of Disease Study von 2010 zufolge führt der Schlaganfall die Todesursachenstatistik weltweit auf Platz zwei an und ist gleichzeitig die dritthäufigste Ursache der sogenannten Disability Adjusted Life Years (nachfolgend: DALY). Zehn Prozent der rund 53 Millionen Todesfälle weltweit ließen sich im Jahr 2010 auf den Hirnschlag zurückführen; außerdem vier Prozent der etwa 2.5 Milliarden DALY. Insgesamt steigt die durch Schlaganfall bedingte internationale Krankheitslast, bezogen auf die absolute Zahl der von Schlaganfall Beeinträchtigten, der Überlebenden sowie der Verstorbenen und auch die Anzahl der DALY stetig an. Sollte sich dieser Trend fortsetzen, so wird es Hochrechnungen zufolge im Jahr 2030 etwa 12 Millionen Todesfälle, 70 Millionen Schlaganfall-Überlebende und rund 200 Millionen auf den Hirninfarkt zurückführbare DALY geben.²

In den westlichen Industrienationen vereinnahmt das Krankheitsbild Hirninfarkt etwa zwei bis fünf Prozent der gesamten Gesundheitskosten.⁵ Die direkten Kosten für die flächendeckende Versorgung von Schlaganfallpatienten in Deutschland wurden für den Zeitraum zwischen den Jahren 2006 und 2025 auf 108.6 Milliarden Euro geschätzt; angesichts potentiell höherer Überlebensraten in der Zukunft könnten diese Kosten noch unterschätzt werden.²⁴ Weltweit stellt der ischämische Schlaganfall die Gesundheitssysteme folglich vor enorme organisatorische und

wirtschaftliche Herausforderungen, insbesondere auch unter Berücksichtigung der Tatsache des steten demographischen Wandels. Eine angemessene Begegnung der globalen Bürde des Schlaganfalls durch optimierte Therapiekonzepte und frühzeitige rehabilitative Maßnahmen wird deshalb immer dringlicher.

1.2.2 Therapie

Der akute Schlaganfall wird einheitlich als medizinischer Notfall betrachtet und sollte entsprechend unverzüglich und effektiv behandelt werden.²⁰ Erwiesenermaßen ließ sich durch die Einführung von *Stroke Units* langfristig die Sterblichkeit, das Risiko einer Abhängigkeit sowie die Notwendigkeit einer längerdauernden Rehabilitation verringern, unabhängig von dem Schlaganfall-Subtyp sowie Alter und Geschlecht des Patienten.^{20,25}

Nach dem Konzept des „*Time is brain*“ sollte die Behandlung so bald wie möglich begonnen werden, um den resultierenden Hirnschaden möglichst gering zu halten. Diagnostisches Mittel der Wahl ist die Durchführung einer kranialen Computertomographie (nachfolgend: CT), mit Hilfe derer eine rasche Differenzierung zwischen intrazerebraler Ischämie und Blutung getroffen werden kann, wobei sich eine parenchymatöse Blutung sofort und ein Infarkt im Nativ-CT erst im Verlauf demaskiert.^{20,26}

Neben einer allgemeinen Basistherapie, welche die Überwachung des neurologischen Status und der Vitalfunktionen, eine Oxygenierung sowie eine Blutdruck-, Serumglukosespiegel-, Körpertemperatur- und Elektrolytstatuskontrolle beinhaltet, stellt sich in der Akutsituation stets die Frage nach der geeigneten spezifischen Therapie. Im Sinne einer systemischen Fibrinolyse empfiehlt die Deutsche Gesellschaft für Neurologie eine intravenöse Infusion mit *Recombinant Tissue Plasminogen Activator* (auch: Alteplase, nachfolgend: rtPA), welche innerhalb eines Zeitfensters von maximal 4,5 Stunden nach Symptombeginn realisierbar, in diesem Zeitraum unter Ausschluss von Gegenanzeigen aber auch relativ sicher ist.^{20,27} Voraussetzung jeder Lyse-Therapie ist der Blutungsausschluss mittels CT oder MRT; sollten sich Hinweise auf ein ausgedehntes Ischämieareal ergeben, so besteht ein erhöhtes Blutungsrisiko.²⁸ Die rechtzeitige thrombolytische Behandlung kann zu einer Optimierung des klinischen *Outcomes* der Patienten führen.²⁹

Bei großen Gefäßverschlüssen kann eine intraarterielle Behandlung mittels Kathetertechnik mit

der Freisetzung eines Thrombolytikums oder einer mechanischen Thrombektomie indiziert sein. Verschiedene randomisierte kontrollierte Studien aus der jüngsten Vergangenheit zeigen positive Effekte zumindest bei Patienten, die mit diesen Techniken binnen der ersten sechs Stunden nach Symptombeginn behandelt wurden.³⁰⁻³³

Einen wesentlichen klinischen sekundärprophylaktischen Effekt erzielt man durch die Applikation von Thrombozytenaggregationshemmern, Antihypertonika, oralen Antikoagulantien (bei paroxysmale, permanentem oder persistierendem Vorhofflimmern) sowie die Verabreichung von Statinen.³⁴ Ein Schlaganfall prädisponiert für zahlreiche medizinische Komplikationen wie Dysphagie und Aspirationspneumonie, Dekubitalgeschwür, tiefe Beinvenenthrombose und konsekutive Lungenembolie, aber auch epileptische Anfälle, die entsprechend behandelt werden müssen; zudem sind frühe rehabilitative Maßnahmen wesentlicher Bestandteil jeder Schlaganfall-Behandlung.²⁰

1.2.3 Ätiologie und prädisponierende Risikofaktoren

Der zerebralen Ischämie im Allgemeinen konnten verschiedene ätiopathogenetische Grundlagen zugeordnet werden. Eine grobe Einteilung lässt sich durch die Differenzierung in mikro- und makroangiopathische Ursachen der Ischämie erzielen. Unter makroangiopathisch bedingten Schlaganfällen versteht man allgemein thromboembolische und hämodynamische Infarkte, wohingegen mikroangiopathische Veränderungen mit Hyalinisierung und arteriosklerotischen Veränderungen der kleinen Gefäße zu lakunären Infarkten im Bereich von Hirnstamm und Stammganglien sowie auch zu spongiöser Demyelinisierung des Marklagers, der sogenannten Binswanger-Krankheit, führen können.³⁵ Eine Kategorisierung der Schlaganfall-Subtypen auf Grundlage ihrer Ätiologie kann anhand der sogenannten TOAST-Klassifikation, nach der klinischen Studie „*Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment*“, vorgenommen werden. Die TOAST-Klassifikation stellt ein simpel anzuwendendes System mit einer hohen Interrater-Reliabilität dar.³⁶

Zahlreiche prädisponierende Risikofaktoren, die gleichzeitig die Risikofaktoren für die Genese der genannten begünstigenden pathogenetischen Veränderungen darstellen, konnten identifiziert werden. Nach der Deutschen Gesellschaft für Allgemeinmedizin und Familienmedizin lassen sich die Anfälligkeits-Kriterien einteilen in metabolische (beispielsweise Diabetes mellitus und Hypercholesterinämie), kardiovaskuläre (beispielsweise Hypertonie, Koronare Herzkrankheit,

Vorhofflimmern), auf den Lebensstil bezogene Risikofaktoren (wie Adipositas und Nikotinkonsum) und allgemeine Arteriosklerose-Risikofaktoren, ergo Alter, Geschlecht sowie hereditäre Faktoren.³⁷ Nach einer weiteren möglichen Differenzierung unterscheidet man in modifizierbare und nicht-modifizierbare Disposition unter Berücksichtigung der Adaptierbarkeit des persönlichen Lebensstils und der Möglichkeit des medikamentösen Eingreifens in Stoffwechsel- und kardiovaskuläre Pathologien.³⁸

Weniger bekannte modifizierbare Risikofaktoren stellen unter anderem Gerinnungs- sowie Fettstoffwechselstörungen dar. So ließ sich eine erhöhte Prädisposition von Trägern des A-Polymorphismus (-455G>A) des für das β -Fibrinogen kodierende Gen feststellen.^{39,40} In verschiedenen prospektiven Studien konnte weiterhin auf dem Boden einer verstärkten prothrombotischen Tendenz eine Assoziation zwischen erhöhten Aktivitätsleveln des Gerinnungsfaktors VIII und der Inzidenz von Schlaganfällen beschrieben werden.³⁸

In puncto Pathologien des Lipidstoffwechsels konnten hohe Serumspiegel des Lipoprotein(a) als relevanter Prädiktor für den Hirninfarkt identifiziert werden.⁴¹ Ebenso wurde die Hypercholesterinämie, von welcher man ab einem Gesamtcholesteringehalt von 200 Milligramm pro Deziliter (nachfolgend: mg/dl) und mehr in der Blutbahn spricht, in Studien als prognostischer Marker registriert. In einer Studie von 1989 beispielsweise gingen Gesamtcholesterinwerte ab 280 mg/dl mit einem mehr als verdoppelten Infarktisiko einher.⁴²

Als einflussreicher Risikofaktor wird im allgemeinen Konsens die arterielle Hypertonie angesehen. Im Rahmen der primären und sekundären Prävention lässt sich das Schlaganfallrisiko unter antihypertensiver Therapie erheblich verringern: das relative Hirninfarktisiko wird unter einer konsequenten Behandlung im Verlauf mehr als halbiert.⁴³

1.3 Arterielle Vaskularisation des Gehirns

Die Blutversorgung des Gehirns erfolgt im Wesentlichen durch vier großlumige, im Normalfall paarig angelegte Arterien. Die Arteriae carotides internae ziehen durch den Canalis caroticus in das Schädelinnere und verzweigen sich nach Durchbruch der Dura mater in der Cisterna carotica in die Arteria ophthalmica (Blutversorgung des Auges), die Arteria hypophysialis superior (diese tritt neben dem Hypophysenstiel von oben in die Hypophyse ein) sowie die für das Großhirn relevanten Arteriae encephali, im Wesentlichen die Arteria cerebri anterior und die Arteria cerebri media (nachfolgend: MCA). Über die Arteria cerebri anterior und media erfolgt die arterielle

Versorgung des Telencephalons (Endhirn), nämlich des Frontal-, Parietal- und außerdem des Hauptteils des Temporallappens. Die ebenfalls doppelt angelegte Arteria vertebralis steigt durch die Foramina transversaria der Querfortsätze der Halswirbelsäule nach kranial und vereinigt sich ventral der Medulla oblongata zur Arteria basilaris. Über die aus ihr entspringenden Arteriae cerebri posteriores perfundiert sie die hinteren Abschnitte des Telencephalons, nämlich den Okzipitallappen und basale Abschnitte des Temporallappens; über weitere Äste versorgen die Vertebralarterien sowie die Arteria basilaris auch den Hirnstamm und das Cerebellum (Kleinhirn).⁴⁴

Zwischen dem Carotis-Interna-System und dem Vertebralis-System existiert, gelegen an der Hirnbasis in der Cisterna basalis, ein zirkuläres Anastomosengebiet, der sogenannte Circulus arteriosus cerebri (Willisi). Erstmals beschrieben wurde dieser Arterienring im Jahre 1664 durch den englischen Arzt Thomas Willis in seinem Werk „Cerebri Anatome“. Die Verbindung zwischen vorderem und hinterem Hirnkreislauf wird durch die Arteria communicans posterior, entspringend aus der Arteria carotis interna, gebildet. Eine wichtige Verbindung zwischen den Versorgungsgebieten der beiden Arteriae carotides internae stellt die Arteria communicans anterior dar; über beide Communicans-Arterien kann eine kompensatorische Perfusion bei Verschluss beispielsweise einer Arteria carotis interna über die restlichen Arterien erfolgen, sofern die Okklusion nicht apoplektiform geschieht.⁴⁴

Die erörterte Anatomie zeigt sich lediglich in etwa 60% aller durchgeführten Sektionen; beinahe jeder zweite weist also anatomische Normvarianten auf: die höchste Variabilität in Form von Aplasie und Hypoplasie konnte jüngst für die vordere und hintere Arteria communicans demonstriert werden.⁴⁵

1.4 Das Hormonsystem

Der Begriff des Hormons beschreibt einen Botenstoff, der im Wesentlichen der Signaltransduktion und damit der Kommunikation der Zellen untereinander dient. Die biologische Wirkung reicht dabei von der Sicherstellung eines normalen Wachstums des Organismus über die Steuerung des Sexualverhaltens bis zur Regulation von Stoffwechselprozessen und Anpassungsreaktionen des Organismus auf äußere Umwelteinflüsse. Hormone werden von hormonbildenden Zellen in das Körperinnere sezerniert und entfalten ihre biologische Wirkung an spezialisierten Zielzellen der Erfolgsorgane. Erreicht das Hormon seine Zielzelle auf hämatogenem Wege, so ist von endokriner Sekretion die Rede - die klassische Vorstellung der Hormonphysiologie, wie bereits 1905 von

Starling und Bayliss eingeführt.⁴⁶ Diffundiert der Botenstoff zu seinem Zielgewebe, so handelt es sich im weiteren Sinne um eine parakrine Wirkung; beeinflusst die sezernierende Zelle sich durch das Hormon auch selbst, so liegt ein autokriner Effekt vor. Ein weiterer Mechanismus ist der intra- oder zytokrine Effekt, wenn die sezernierende Komponente fehlt, das Hormon also direkt in der synthetisierenden Zelle selbst wirkt.⁴⁷ Hormone wirken systemisch, sofern sie über die Blutbahn im Organismus verteilt werden; bei einer lokalen Wirkung im Umfeld der Hormonabgabe handelt es sich um Gewebehormone.⁴⁸

Die systemischen Hormone gehören unterschiedlichen Molekülklassen an. Abhängig von den Moleküleigenschaften der jeweiligen Gruppe wirken Hormone auf unterschiedliche Weise in der Peripherie. Für diese Arbeit von besonderem Interesse ist die Stoffklasse der Protein- und Peptidhormone. Ebenso wie die Amino- und Fettsäureabkömmlinge überqueren die Moleküle dieser Stoffgruppe nicht die Plasmamembran, sondern wirken durch direkte Bindung an Oberflächenrezeptoren in der Zellmembran, durch welche intrazelluläre Signalkaskaden in Gang gesetzt werden können. Das Insulin und das IGF-1 sowie weitere Wachstumsfaktoren entfalten ihren biologischen Effekt über Rezeptortyrosinkinasen;⁴⁹ diese speziellen Rezeptoren führen über eine Autophosphorylierung mit anschließender Phosphorylierungskaskade zu einer Signalweiterleitung innerhalb der Zielzelle. Anders dagegen ist der biochemische Funktionsablauf der lipophilen Hormone (insbesondere Steroidhormone) und auch beispielsweise der Schilddrüsenhormone, welche die Plasmamembran per Diffusion oder über bestimmte Transportmechanismen überwinden und mit zytoplasmatischen oder nukleären Rezeptorproteinen interagieren.⁴⁸

Hormone unterstehen unterschiedlichen Regulationsmechanismen, welche den Organismus sowohl vor überschießender als auch unzureichender Hormonwirkung schützen. Über spezielle Rückkopplungsmechanismen wird die Hormonsynthese und –Sekretion jeweils an einen entweder intrinsisch vordefinierten Soll- oder Istwert angepasst oder die Adaption erfolgt entsprechend der aktuellen Bedürfnisse und Umweltbedingungen des Organismus, wie es zum Beispiel beim Schilddrüsenhormon Thyroxin der Fall ist.⁴⁸ Bei diesen Feedback-Mechanismen unterscheidet man in der Regel zwischen den direkten und den indirekten Regulationsabläufen. Bei der direkten Rückkopplung kann die endokrine Zelle selbst die Regelgröße messen und die Hormonproduktion entsprechend adaptieren. Bei dem indirekten Mechanismus liegen die Messfühler außerhalb der sezernierenden Zelle; diese wird dann beispielsweise durch übergeordnete Zentren mittels Steuerhormonen in ihrer Aktivität beeinflusst und kann ihrerseits periphere endokrine Drüsen

regulieren -⁵⁰ die Abläufe innerhalb solcher Hormonachsen sind bedeutsam für die vorliegende Monographie.

Ein wichtiger hormoneller Regelkreis im menschlichen Organismus besteht aus der Hypothalamus-Hypophysen-Achse. Über Steuerhormone kontrolliert der Hypothalamus - eine Region des Zwischenhirns (Diencephalon) - die endokrine Aktivität seiner nachgeschalteten Drüse, der Hypophyse (Hirnanhangsdrüse). Selbige setzt sich aus der Neurohypophyse (Hypophysenhinterlappen, nachfolgend: HHL) und der Adenohypophyse (Hypophysenvorderlappen, nachfolgend: HVL) zusammen. Der HHL besteht überwiegend aus nicht-myelinisierten Axonen, deren Perikarya, hypothalamisch gelegen, den Nucleus supraopticus sowie den Nucleus paraventricularis bilden.⁵¹ In den Neuronen der Nuclei werden die Hormone Oxytocin sowie das antidiuretische Hormon gebildet und per axonalem Transport bis in den HHL befördert, wo die Hormone in die Zirkulation freigesetzt werden. Die Hauptmasse der Hypophyse wird jedoch durch den HVL gebildet; hier existieren fünf verschiedene endokrine Zellen für die Synthese von insgesamt sechs Botenstoffen; diese umfassen vier glandotrope Hormone, also der Aktivitätssteigerung von nachgeschalteten endokrinen Drüsen dienende Zellen, sowie zwei nicht-glandotrope Hormone.⁵⁰ Die Vorderlappenzellen der Hypophyse unterliegen einer speziellen Regulation. Für jeden endokrinen Zelltyp sind stimulatorisch wirkende hypothalamische Steuerhormone nachgewiesen, die sogenannten Releasing-Hormone, unter deren Einfluss die Sekretion der Hypophysenhormone gesteigert wird. Die Steuerhormone werden auf hypothalamischer Ebene synthetisiert und in den hypophysären Pfortaderkreislauf abgegeben, über den sie die Zielzellen in dem HVL erreichen und diesen in seinem Aktivitätszustand modulieren.⁵² Das Hypophysen-Pfortader-System besteht aus einem ersten Kapillarnetz im Bereich der Eminentia mediana, einer stark vaskularisierten Region im Bereich des Hypophysenstiels an der Hypothalamus-Basis, sowie einem zweiten Kapillarnetz auf Ebene des HVL. Über mehrere Venen sind beide Kapillarnetze miteinander verbunden und ermöglichen so den verzögerungsfreien Transport von hypothalamischen Steuerhormonen - die über das fenestrierte Epithel der Eminentia mediana leicht aus den hypothalamischen Axonen in die Blutbahn sezerniert werden können - zu ihren Zielzellen, nämlich den Effektorzellen des HVL.⁵² Die Steuerhormon-Ausschüttung wird gemeinhin als pulsatil bezeichnet; diese unterliegt einer gewissen zirkadianen Rhythmik.

Nach dem Prinzip der negativen Rückkopplung wird die Aktivität der glandotropen Zelltypen des HVL durch die jeweiligen Hormone der nachgeordneten Drüsen sowohl auf hypophysärer, als auch auf hypothalamischer Ebene gehemmt.⁵¹

In summa lässt sich die Hormonsekretion im Hypothalamus-Hypophysen-System in verschiedene Hormonachsen mit jeweils eigenen Regelkreisen unterteilen. Im Rahmen des vorliegenden Forschungsvorhabens liegt der Fokus insbesondere auf der im folgenden Kapitel beschriebenen somatotropen Achse.

1.4.1 Die somatotrope Achse

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Hormone IGF-1 und IGFBP-3 sind Bestandteil der somatotropen GH-IGF-Achse und unterliegen im Organismus dem nicht-glandotropen GH. Die Sekretion des GH selbst unterliegt dem Somatoliberin (auch Growth Hormone Releasing Hormone, nachfolgend: GHRH); außerdem existiert ein hemmendes Steuerhormon (Release-Inhibiting Hormone, Somatostatin).⁵² Im Sinne eines negativen Feedbacks wird die Freisetzung von GHRH auf Hypothalamus-Ebene durch hohe GH-Serumspiegel unterdrückt.⁵³ Die Sekretion von GHRH wird durch hohe Spiegel an Glucagon, Vasopressin, Katecholaminen und bestimmten Aminosäuren sowie durch eine Hypoglycämie gefördert.⁵³

Das GH wird von den azidophilen somatotropen Zellen des HVL synthetisiert und zu dessen Effektorhormonen gezählt. Es besitzt sowohl direkte als auch indirekte periphere Wirkungen im Organismus. Zu den direkten Wirkungen werden seine anabolen, lipolytischen und diabetogenen Eigenschaften gezählt, durch welche das Hormon in diverse Stoffwechselprozesse eingreifen kann. So ist GH für ein normales Längenwachstum während der Pubertät unentbehrlich; die Anti-Insulin-Wirkung ist für die Adaption des Organismus an Hungerzustände bedeutsam.⁵³ In der Leber, im Muskelgewebe und renal bewirkt GH die Synthese der Somatomedine IGF-1 und Insulin-like-Growth-Factor-2 (nachfolgend: IGF-2).⁵³ Viele der eigentlichen peripheren Wirkungen des GH werden über die Somatomedine realisiert.⁵⁴ Dabei läuft nicht nur die Synthese der Somatomedine abhängig vom GH ab, sondern auch die Produktion ihrer Bindungsproteine und der zugehörigen IGF-Acid-Labile Subunit (nachfolgend: IGFALS). Das GH reguliert so beispielsweise die Synthese von IGFBP-3 in den hepatischen Endothelzellen und den Kupfferzellen sowie die Produktion des IGF-1 und der IGFALS in den Hepatozyten - Zustände, die mit einem GH-Mangel einhergehen, können einen reduzierten Serumspiegel der genannten Komponenten zur Folge haben.^{54,55} Die Somatomedine sowie das IGFBP-3 mitsamt der IGFALS werden in den nachfolgenden Abschnitten detailliert behandelt.

1.4.2 Die Somatomedine

Neben den beschriebenen direkt durch GH vermittelten Effekten im Organismus gibt es zahlreiche weitere Wirkmechanismen, die über die Liberation von Somatomedinen in der Peripherie realisiert werden. Zu den Somatomedinen zählen die insulinähnlichen Wachstumsfaktoren IGF-1 (Somatomedin-C) und IGF-2 (Somatomedin-A), der Sulfation-Factor und außerdem der Nervenwachstumsfaktor. Die Faktoren gehören zu den Polypeptid-Verbindungen; das IGF-1 weist eine über 60%ige Homologie zum IGF-2 auf und besitzt außerdem eine 50%ige Homologie zum Pro-Insulin.⁵⁶ Die Somatomedine sind aber nicht nur strukturell dem Insulin sehr ähnlich, sondern weisen auch eine insulinähnliche Wirkung auf die peripheren Zielgewebe auf; so steigern sie die Glucosepermeabilität und –Aufnahme in die Muskulatur und weiterhin auch die Proteinbiosynthese innerhalb der Muskulatur und weiterer Gewebe.⁵³

Die Liste der weiteren möglichen biologischen Auswirkungen der Somatomedine auf den Organismus wird durch Forschungsbemühungen stetig länger. An dieser Stelle soll hauptsächlich auf die schon eingangs erwähnten Effekte auf neuronales Gewebe eingegangen werden, wodurch die Somatomedin-Peptide für den Bereich der Neuronenforschung sehr interessant werden.

Über einen rezeptor-vermittelten Transzytose-Mechanismus können die Wachstumsfaktoren die Blut-Hirn-Schranke überwinden und so direkt im Zentralnervensystem wirken; weiterhin ist auch eine Neurosekretion und in der Folge parakrine neuronale Wirkung denkbar.⁵⁷ Die IGF-Auswirkungen auf neuronales Gewebe sind mittlerweile recht gut untersucht. In Tierversuchen mit Mäusen konnte der Stellenwert der Interaktion von IGF-1 mit dem IGF-1-Rezeptor für eine normale Hirnentwicklung gezeigt werden; nach Null-Mutation zeigten die Tiere eine Entwicklungsverzögerung.⁵⁸ Im Rahmen der embryonalen Entwicklung stimuliert IGF-1 die Proliferation, Differenzierung und auch das Überleben der Neuronen, Oligodendrozyten und Astrozyten; vermutlich wirkt es auch fördernd auf neuronale Stammzellen.⁵⁸ IGF-1 hat einen inhibitorischen Effekt auf apoptotische Prozesse und fördert die Neuro- und Synaptogenese im Kontext der Neuroplastizität.^{9,58}

Neben der Relevanz der Somatomedine für die Hirnentwicklung wurden generell neuroprotektive Auswirkungen beschrieben. Tatsächlich konnte in alternden Ratten ein protektiver Effekt des IGF-2 über eine Optimierung der mitochondrialen Funktion sowie eine Erhöhung der Aktivität antioxidativer Enzyme gezeigt werden; darüber hinaus scheint die Verabreichung von IGF-2 an

Ratten deren Cholesterin- und Triglyceridspiegel zu senken;⁵⁹ beide Parameter können Schlaganfall-Risikofaktoren darstellen.^{37,42,60,61} In Experimenten mit Meerschweinchen konnte man unter einer IGF-1-Behandlung die Permeabilität der Blut-Rückenmarks-Barriere reduzieren. Die verminderte Durchlässigkeit könnte zu einer erschwerten Migration von Lymphozyten und weiterer Immunmodulatoren führen, was inflammatorische Prozesse im Rahmen von demyelinisierenden Autoimmunkrankheiten im ZNS ausbremsen und so zur Neuroprotektion beitragen könnte - denkbar sind ähnliche Effekte natürlich auch für postischämische Hirnschädigungen.⁶² In Versuchen mit Hühnerembryonen zeigten sich neurotrophe und anti-apoptotische Effekte des IGF-1 auf das Überleben von spinalen Motoneuronen nach Deafferentation.⁶³

Insgesamt am relevantesten für die vorliegende Arbeit sind die beschriebenen protektiven IGF-1-Wirkungen auf ischämisch verletztes Gewebe. Es gibt Hinweise darauf, dass sowohl das endogene IGF-1 als auch eine exogene Verabreichung im Sinne einer post-ischämischen Behandlung das Ausmaß von durchblutungsbedingten Gewebeschädigungen zu reduzieren scheinen.⁶⁴ Wie auch schon eingangs erwähnt, konnte man in Hinblick auf das neurologische *Outcome* von Schlaganfall-Patienten demonstrieren, dass hohe IGF-1-Serumspiegel während der post-ischämischen Rehabilitationsphase mit einem besseren klinischen Endergebnis assoziiert waren.¹²

1.4.3 Das IGFBP-3

Bei dem IGFBP-3 handelt es sich um eines von insgesamt sechs IGF-Bindungsproteinen, welche eine hohe Affinität zu den Somatomedinen IGF-1 und IGF-2 aufweisen. Die Bindungsaffinität zwischen dem IGF-1 und dem IGFBP-3 ist dabei noch größer als die Affinität des IGF-1 zu seinem eigenen Rezeptor, nämlich dem IGF-1-Rezeptor.⁵⁴ Zu der Familie der IGF-Bindungsproteine zählen manche Autoren auch Proteine mit niedrigerer Bindungsaffinität zu den insulinähnlichen Wachstumsfaktoren, so zum Beispiel das IGFBP-7 und IGFBP-8; diese werden auch einer IGFBP-Überfamilie zugeordnet.⁶⁵

1986 wurde das IGFBP-3 erstmalig aus Humanplasma isoliert.⁶⁶ Synthetisiert wird das zirkulierende Hormon größtenteils in der Leber;⁵⁴ Hinweise deuten darauf hin, dass die Expression GH-abhängig anhand eines „GH-response Element“ in dem IGFBP-3-Gen reguliert wird.¹⁵ Neben dem GH können vermutlich auch das IGF-1, der Epidermal Growth Factor (nachfolgend: EGF), das Thyroidea-stimulierende Hormon sowie das Follikel-stimulierende Hormon als Regulatoren für die IGFBP-3-Transkription dienen.⁶⁷ Die Synthese und Sekretion des IGFBP-3 findet

außerdem auch in extrahepatischen Zellen, wie Fibroblasten, Muskelzellen, Osteoblasten, Gliazellen und Neuronen statt.^{68,69}

Heute ist ein Großteil der vielfältigen biologischen Aufgaben und Funktionen des Bindungsproteins erforscht. In der Blutbahn zirkuliert das Protein als stabiler, ternärer Komplex in Verbund mit dem IGF-1 und zusätzlich einem Glykoprotein, der schon zuvor genannten IGFBP-3. Dabei kommt dem IGFBP-3 eine IGF-1-modulierende Funktion zu. 80-85% des zirkulierenden IGF-1 ist nachweislich an IGFBP-3 und die IGFBP-3 gebunden; in diesem Komplex steigt die Halbwertszeit des IGF-1 auf etwa zwölf Stunden an; diese liegt beim freien IGF-1 bei lediglich circa zwölf Minuten.⁷⁰ Auch die Halbwertszeit des IGFBP-3 verlängert sich innerhalb des ternären Komplexes von 30-90 Minuten auf zwölf Stunden.⁵⁴ Indem es die Verfügbarkeit des freien IGF-1 und IGF-2 limitiert, kann das IGFBP-3 die Interaktion der insulinähnlichen Faktoren mit deren IGF-Rezeptoren einschränken; dadurch werden IGF-vermittelte Mitosen verhindert und das IGFBP-3 wirkt somit indirekt anti-proliferativ.^{54,71,72}

Insgesamt vermag das IGFBP-3 die Effekte der Somatomedine zu inhibieren und zu verstärken: neben der Einschränkung der Bioverfügbarkeit bewirkt direkt an Zellmembranen phosphoryliertes und damit in seiner Bindungsaffinität zu den Somatomedinen nochmals verstärktes IGFBP-3 so auch eine erhöhte Assoziation von IGF-1 mit Zelloberflächen, zumindest bei Brustkrebszellen.¹⁵

Forschungsbemühungen haben neben der IGF-regulierenden Funktion auch eine intrinsische biologische Eigenaktivität des IGFBP-3 ergeben. Diese von den Somatomedinen entkoppelte Eigenaktivität hat auf der einen Seite pro-apoptische und anti-proliferative Effekte, auf der anderen Seite werden durch das Bindungsprotein jedoch auch Mechanismen der Zellteilung und des Zellwachstums begünstigt.

So konnten Martin et al. eine unter IGFBP-3-Einfluss potenzierte EGF-Wirkung auf mamilläre Epithelzellen mit einhergehender maximierter Desoxyribonukleinsäure-Synthese und Zellproliferation demonstrieren.⁷¹ Daneben verdeutlichen zahlreiche weitere Studien die vielfältigen IGFBP-3-Effekte, welche jeweils unter speziellen Bedingungen zu greifen scheinen. Interessanterweise weist das IGFBP-3 pro-angiogene Effekte auf. In vitro fördert es die Migration und Differenzierung endothelialer Vorläuferzellen;⁷³ im Kontext der sauerstoffinduzierten Retinopathie scheint es in vivo zudem IGF-1-unabhängig als gefäßprotektiver Faktor sowie fördernd auf die Vaskulogenese zu wirken.⁷⁴ Über derartige Mechanismen könnten eine Revaskularisation und notwendige Reparaturprozesse in ischämisch geschädigtem Gewebe induziert werden.¹⁵

Die direkt durch das IGFBP-3 ausgelösten Effekte basieren auf Interaktionen mit Zelloberflächen und einigen dort befindlichen Rezeptoren sowie auf Wirkmechanismen innerhalb des Zellkerns.¹⁵ Unter anderen Transmembranproteinen wurde beispielsweise der Typ-V-TGF- β -Rezeptor als ein möglicher Bindungspartner des IGFBP-3 identifiziert; über diesen kann das Bindungsprotein eine IGF-unabhängige Zellwachstumshemmung entfalten.⁷⁵ Überdies konnte die Wechselwirkung zwischen IGFBP-3 und dem Tumornekrosefaktor- α und einer damit einhergehenden Induktion der Apoptose demonstriert werden.⁷⁶ Neben den Prozessen an der Zellmembran gibt es auch Hinweise auf Translokationen des IGFBP-3 in den Nukleus. Ein Bindungspartner des IGFBP-3 ist der nukleäre Retinoid-X-Rezeptor- α , über welchen ebenfalls die Apoptose eingeleitet werden kann.⁷⁷

Die beschriebenen antiproliferativen und apoptoseinduzierenden Mechanismen machen das IGFBP-3 insgesamt zu einem interessanten Eiweiß in der Krebsforschung.¹⁵ Die zusätzlichen weiteren Eigenschaften machen es ebenso für die Neurologie und dieses Forschungsvorhaben sehr bedeutsam. Verschiedene Studien deuten auf mögliche schützende Effekte des Bindungsproteins in hypoxisch-ischämisch geschädigtem Nervenzellgewebe hin. Wie auch schon eingangs aufgegriffen, zeigten Tierversuche mit provozierter zerebraler Ischämie eine vermehrte Expression der mRNA, die sowohl für das IGF-1 als auch für das Insulin-like-Growth-Factor-Binding-Protein-2 (nachfolgend: IGFBP-2) und das IGFBP-3 kodieren, in den ischämischen Hirnarealen.^{14,78} In einer Studie zu den IGFBP-3-Wirkungen auf die ischämisch geschädigte Mäuseretina konnte man verschiedene zytoprotektive Effekte des IGFBP-3 demonstrieren. So zeigte sich unter anderem eine anti-inflammatorische Wirkung des Bindungsproteins in der hypoxischen Umgebung, die in einer Reduktion aktivierter Mikrogliazellen resultierte –⁷⁹ eine überschießende Aktivität der Mikrogliazellen wiederum ist mit einem vermehrten neuronalen Verlust im Zentralnervensystem in Verbindung gebracht worden; so zum Beispiel auch im Rahmen von neurodegenerativen Erkrankungen.⁸⁰ Zudem wurde eine unter Ischämie-Bedingungen direkte Apoptose-Reduktion neuronaler Retinazellen bei IGFBP-3-Einwirkung beobachtet;⁷⁹ diese Resultate lassen sich möglicherweise auch auf ischämisches Hirngewebe übertragen.

Das Bindungsprotein scheint also eine fördernde Auswirkung auf neuronale Heilungsprozesse zu haben – auch über ischämisch bedingte Schäden hinaus. So konnte das Humanin, ein aus 24 Aminosäuren bestehendes Peptid, als weiterer Bindungspartner des IGFBP-3 identifiziert werden; die Interaktionen können sowohl synergistischer als auch antagonistischer Natur sein.^{15,81} Das

Humanin gilt als bedeutender Inhibitor des Neuronenverlustes zum Beispiel im Rahmen des Morbus Alzheimer.

Im Rahmen der anfangs erwähnten Substudie der Berliner *Cream&Sugar*-Studie konnte eine Assoziation zwischen dem IGFBP-3 und dem Schlaganfall-*Outcome* nach einem Jahr demonstriert werden. Diese Assoziation erwies sich als erstaunlich robust und übertraf auch bekannte Prädiktoren wie das Patientenalter, den initialen National Institutes of Health Stroke Scale (nachfolgend: NIHSS, siehe Kapitel 2.2.1.1) und die anhand diffusionsgewichteter MRT-Bilder ermittelten Läsionsvolumina. Der prädiktive Wert des IGFBP-3 zeigte in dieser Substudie weiterhin eine IGF-1-Unabhängigkeit. Aufgrund der relativ geringen Fallzahl von 100 Patienten war die Aussagekraft jedoch beschränkt und verlangte nach einer Verifizierung in einer größeren Kohorte.¹⁷

Eine derartige Kohorte stellt das Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit dar; mit Hilfe der nachfolgenden Methodik lassen sich die bisherigen Erkenntnisse zum IGFBP-3 und dem *Outcome* von Schlaganfallpatienten überprüfen.

2 Material und Methodik

Die für diese Arbeit erhobenen Daten entstammen der Studie mit dem Titel „Early treatment with aspirin plus extended-release dipyridamole for transient ischaemic attack or ischaemic stroke within 24 h of symptom onset (EARLY trial): a randomised, open-label, blinded-endpoint trial“ (nachfolgend: EARLY).⁸² Im Folgenden werden der Hintergrund und die Durchführung der Studie beschrieben. Es wird weiterhin auf die Labordiagnostik für diese Arbeit sowie die Datenanalyse eingegangen.

2.1 Die EARLY-Studie

Für Schlaganfallpatienten mit nicht-kardioembolischem Hirninfarkt oder TIA sind nach internationalen Leitlinien verschiedene Thrombozytenaggregationshemmer für die Sekundärprophylaxe zugelassen; die Behandlungsoptionen umfassen die Gabe von Aspirin in einer Dosierung von 50-325 mg/dies, die Gabe von Aspirin in einer Kombination mit Extended-Release-Dipyridamol oder Clopidogrel sowie die Monotherapie mit Clopidogrel.^{34,82,83} Kern der EARLY-Studie war der Vergleich zwischen der Monogabe von Aspirin über die ersten sieben Tage der Akutphase und anschließender Kombinationstherapie, bestehend aus Aspirin und Dipyridamol als Retardkapsel, mit einer sofortigen Kombinationstherapie. Es handelt sich um eine randomisierte, prospektive, offene, multizentrische Studie mit verblindetem klinischen Endpunkt, die in dem Zeitraum zwischen Juli 2007 und Februar 2009 in insgesamt 46 zertifizierten *Stroke Units* in Deutschland durchgeführt wurde.

2.1.1 Ethik

Die EARLY-Studie wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Hochschule Hannover (nachfolgend: MHH) unter dem Ethikvotum 4554M geprüft sowie genehmigt und ist unter der EudraCT-Nummer 2006-004870-28 im EudraCT-Register für klinische Studien registriert. Unter clinicaltrials.gov ist die Studie unter der Nummer NCT00562588 eingetragen. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt.⁸⁴ Die Patienten wurden erst nach Vorlage und unter Zeugenaufsicht geleisteter Unterschrift einer informierten Einwilligung in die Studie aufgenommen. Bei Schreibunfähigkeit wurde eine verbale Einwilligung eingeholt; dies geschah ebenfalls unter Zeugen, vorzugsweise realisiert durch die Anwesenheit von Angehörigen der Patienten.

Für die Messungen der IGF-1- und IGFBP-3-Plasmaspiegel aus den Blutproben der EARLY-

Teilnehmer im Rahmen dieses Vorhabens wurde ein Amendment als Ergänzung zum Antrag 4554M an die zuständige Ethikkommission der MHH gestellt; dieses wurde geprüft und akzeptiert.

2.1.2 Studienpatienten

Die Einschlusskriterien für die EARLY-Studie umfassten ein Mindest-Patientenalter von 18 Jahren sowie eine (ursprünglich über mindestens 30 Minuten anhaltende; diese Vorgabe wurde später aufgrund zu langsamer Rekrutierung fallengelassen) klinische Symptomatik eines akuten Schlaganfallgeschehens, einhergehend mit einem messbaren neurologischen Defizit. Die Symptome mussten dabei unterscheidbar von generalisierten Ischämien (z.B. Synkope), epileptischen Anfällen oder Migräne sein. Der Zeitpunkt des Symptombeginns musste bekannt sein, um einen Start der Studienmedikation innerhalb der ersten 24 Stunden zu ermöglichen; trat der Schlaganfall im Schlaf auf, so wurde die Bettzeit als Symptombeginn gewertet.

Inkludiert wurden Patienten mit einer NIHSS zwischen 5 und 20. Der NIHSS-Punktwert wurde vier Monate nach Studienbeginn aufgrund zu langsamer Rekrutierung modifiziert; in der Folge wurden auch Patienten mit leichtem Hirninfarkt (NIHSS < 5) inkludiert. Damit wurden ab diesem Zeitpunkt alle Patienten mit einer NIHSS \leq 20 eingeschlossen. Ursprünglich sollte weiterhin die erhobene mRS bei Studieneinschluss schlechter sein als eine ggf. vorliegende retrospektive mRS; auch dieses Einschlusskriterium wurde fallengelassen.

Ausschlusskriterien waren eine intrakranielle Hämorrhagie sowie die Patienteneignung zur Thrombolyse; weiterhin Gegenanzeigen für plättchenhemmende Therapien, eine zu dem Einschlusszeitpunkt bereits laufende Thrombozytenhemmung mit Aspirin oder weiteren Aggregationshemmern, die medizinische Indikation zur oralen Antikoagulation, eine laufende oder geplante Behandlung mit Clopidogrel, die Unfähigkeit zu schlucken sowie eine Dritttrimester-Schwangerschaft.

2.1.3 Durchführung der EARLY-Studie

Insgesamt wurden zwischen Juli 2007 und Februar 2009 548 Schlaganfall-Patienten nach Randomisierung im Verhältnis 1:1 in zwei Studiengruppen aufgeteilt. Eine Gruppe erhielt, mit Therapiebeginn innerhalb der ersten 24 Stunden nach Symptombeginn, 25 mg Aspirin in Kombination mit 200 mg retardiertem Dipyridamol zweimal täglich oral über einen Zeitraum von 90 Tagen. Die Patienten der zweiten Gruppe erhielten eine Monotherapie, bestehend aus 100 mg Aspirin per os einmal täglich; anschließend erfolgte dieselbe Therapie wie die der ersten Gruppe

in dem Zeitraum von Tag 8 bis 90.

Durch einen unabhängigen, gegenüber der Therapie verblindeten Experten wurden jeweils die Tele-mRS (Kontaktierung per Telefon) am Tag 8 und 90 erhoben. Die Tele-mRS von Tag 90 stellte den primären Endpunkt der Studie dar.

Zusätzlich wurden die NIHSS sowie die mRS direkt nach Patienteneinschluss in die Studie, am Tag 8 sowie am Tag 90 durch einen Untersucher vor Ort erhoben und festgehalten.

Bei Patienten, bei denen die Tele-mRS-Erhebung am Tag 90 nicht durchgeführt werden konnte, wurde die *Last-Observation-Carried-Forward*-Methode angewandt und der vom Studientag 8 vorliegende Wert für die Endauswertung benutzt.

Unerwünschte vaskuläre Zwischenfälle (englisch: *Adverse Events*, nachfolgend: AE), zu denen der erneute Schlaganfall, eine TIA, ein Myokardinfarkt, Blutungskomplikationen und die Mortalität gezählt wurden, ergaben einen kombinierten Endpunkt bezogen auf die Sicherheit und Effizienz der einzelnen Behandlungsoptionen.

Die statistische Auswertung der Studiendaten zeigte, dass die frühe Kombinationsbehandlung bezüglich der Patientensicherheit und Behandlungseffizienz im Rahmen der Sekundärprophylaxe mit der erst nach sieben Tagen initiierten Kombinationsbehandlung vergleichbar war.⁸²

2.2 Erfassung und Aufbereitung der Studiendaten

Die für dieses Forschungsvorhaben benötigten anonymisierten Patientendaten wurden freundlicherweise von den EARLY-Investigatoren zur Verfügung gestellt. Übermittelt wurden demographische Daten (Geschlecht, Alter, Body-Mass-Index [nachfolgend: BMI], Ethnizität, der Raucherstatus [Raucher, Ex-Raucher, Nichtraucher; in EARLY nicht näher spezifiziert], die Art der EARLY-Behandlung und eventuelle Studienabbrüche) sowie die mRS- und NIHSS-Punktwerte der Studientage 0, 8 und 90. Weiterhin wurden Angaben, aus einer Kombination aus Anamnese, Medikation, körperlicher Untersuchung, Elektrokardiogramm, Standardlabor und ggf. vorliegender Vordokumentation (z.B. Arztbriefe), zu vorliegenden Begleiterkrankungen übersendet (Hypertonie, Vorhofflimmern, Herzinsuffizienz, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie, vorherige Schlaganfälle). Auch wurden die Daten des kombinierten Endpunktes (vgl. Kapitel 2.1.3), also Angaben zu unerwünschten Ereignissen wie einem vaskulär bedingten Tod, eingetretenem Tod ohne vaskulären Hintergrund, nicht-tödlichem Schlaganfall, nicht-tödlichem

Myokardinfarkt, Blutung, TIA oder auch Fehlen eines unerwünschten Zwischenfalls gemacht. Die verwendete Software zur elektronischen Sammlung und Aufbereitung der Daten war das Programm Excel von Microsoft in der Version 12.1.7.

2.2.1 Das klinische Outcome anhand von Skalen und Indices

Im Kontext der neurologischen Befunderhebung bei Verdacht auf Schlaganfall wurden zur Früherkennung, Verlaufsbeobachtung und aus Dokumentationsgründen verschiedene *Score*-Systeme eingeführt.

Die jeweiligen Angaben der in EARLY verwendeten *Scores* mRS sowie NIHSS flossen mit in die statistische Analyse für diese Arbeit ein. Beide Parameter haben einen erheblichen Einfluss auf das Schlaganfall-*Outcome*. Die initiale NIHSS zeigt eine Assoziation zu dem funktionellen *Outcome* nach 90-Tagen (vgl. Kapitel 2.2.1.1);⁸⁵⁻⁸⁷ weiterhin konnte für die innerhalb der ersten drei Monate nach dem Infarkt erhobene mRS ein prädiktiver Wert auf die 10-Jahres-Letalität festgestellt werden.^{88,89}

Wie allgemein üblich wurde auch für die vorliegende Arbeit die mRS vom Tag 90 als der primäre Endpunkt verwendet, um das funktionelle neurologische *Outcome* der Patienten drei Monate nach dem Infarktereignis zu beschreiben.

Im Folgenden wird detailliert auf die Hintergründe der NIHSS und der mRS eingegangen.

2.2.1.1 National Institutes of Health Stroke Scale

Bei der NIHSS handelt es sich um einen standardisierten, reproduzierbaren Schlaganfall-*Score*. Entwickelt wurde die NIHSS durch Neurologen der University of Cincinnati, der University of Iowa und dem National Institute of Neurological Disorders and Stroke.⁹⁰ Mit Hilfe dieser klinischen Testung lässt sich der Grad einer neurologischen Beeinträchtigung nach Schlaganfall objektivieren und quantifizieren. Ursprünglich wurde die NIHSS als ein 15-*Item-Score* eingeführt; aufgrund von Kritikäußerung bezüglich der Komplexität und Variabilität der NIHSS führte man außerdem eine modifizierte Version des *Scores* mit lediglich 11 *Test-Items* ein und konnte dadurch eine höhere Test-Reliabilität erreichen.⁹¹ Die vom Patienten erreichte Punktzahl lässt Rückschlüsse auf das Ausmaß der zerebralen Ischämie zu; der mögliche Punktwert umfasst in der ursprünglichen NIHSS den Bereich von 0 bis 42 Punkten. Anhand der einzelnen Items werden

der Bewusstseinsgrad, die horizontalen Augenbewegungen, das Gesichtsfeld und die Motorik von Gesicht sowie oberer und unterer Extremität überprüft. Weiterhin wird auf Extremitätenataxie, Sensibilitätseinschränkungen, Aphasie, Dysarthrie und Neglect getestet.

Die NIHSS ist nicht nur nützlich für die Erfassung von Schlaganfallpatienten in der Akutphase der Ischämie, sondern eignet sich auch als Prädiktor in Bezug auf das funktionelle *Outcome* nach Schlaganfall. In einer Studie mit rund 1300 Patienten konnte so demonstriert werden, dass ein initialer Punktwert von 16 oder mehr mit einer hohen Wahrscheinlichkeit eines Exitus letalis oder zumindest schwerwiegender bleibender Behinderung nach drei Monaten einherging, wohingegen eine Punktzahl von sechs oder weniger mit einer meist guten Genesung des Patienten im Krankheitsverlauf vergesellschaftet war. Jeder zusätzliche Punkt auf der Skala am Tag des Infarkt ereignisses verringerte die Wahrscheinlichkeit eines guten 90-Tage-*Outcomes* um 17%.⁸⁵

Die ursprüngliche Version der NIHSS, so wie in EARLY verwendet, ist dieser Arbeit im Appendix beigelegt (vgl. Tabelle 17).

2.2.1.2 Modified Rankin Scale

Die mRS beschreibt eine standardisierte Maßzahl, mit Hilfe derer sich der Grad einer Behinderung nach Schlaganfall quantifizieren lässt. Die Skala umfasst eine Spannweite von null bis sechs Punkten; null Punkte zeigen eine völlige Symptombefreiheit und sechs Punkte den Tod des Patienten an. Die Punkteskala beschreibt im Allgemeinen das Ausmaß der alltagsrelevanten Beeinträchtigung des Patienten (vgl. Tabelle 1).

Ursprünglich wurde die Skala 1957 von Rankin in Glasgow, Schottland, beschrieben;⁹² eine Modifikation erfuhr die Skala im Rahmen einer Studie über die präventiven Effekte einer Aspirintherapie auf vaskuläre Ereignisse, die durch eine Gruppe um Warlow 1991 veröffentlicht wurde.⁹³ Kritiker stellen die Qualität sowohl der eigentlichen Rankin Scale (nachfolgend: RS) als auch der mRS und der Oxford Handicap Scale - einer weiteren Modifikation der RS - in Frage; Grund sei eine eingeschränkte Reliabilität, Validität sowie Realisierbarkeit der Skalen.⁹⁴ In einer Arbeit über die klinische Bedeutung der Rankin-Einteilung im Rahmen von Schlaganfällen wird die mRS als Index der globalen Gesundheit bezeichnet; der Index wird aufgrund seiner einfachen und zügigen Umsetzbarkeit als nützlich zur Bewertung des neurologischen *Outcomes* eingeschätzt.⁹⁵ In einer Studie von van Swieten et al. über die *Interobserver*-Reliabilität der mRS

wurde diese als befriedigend, aber steigerungsfähig eingestuft.⁹⁶

Ungeachtet der Uneinigkeit über den eigentlichen Wert der mRS hat die modifizierte Skala seit der Beschreibung durch van Swieten große Verbreitung und allgemeine Anwendung gefunden und gilt generell als etabliertes Maß zur Messung eines beim Patienten vorliegenden neurologischen Funktionsdefizits – dabei wird die mRS zum einen in der klinischen Praxis zur Evaluation des neurologischen *Outcomes* eines Patienten nach Schlaganfall benutzt, zum anderen aber auch im Sinne eines primären Endpunktes für klinische Studien angewandt.⁹⁷

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Tele-mRS, ergo die mRS-Erhebung mittels telefonischem *Interview*, in Bezug auf die Reliabilität und Validität mit der mRS-Bestimmung im persönlichen Kontakt vergleichbar ist.^{98,99} Weil die Tele-mRS eine zeit- und kosteneffiziente Methode zur *Outcome*-Erfassung darstellt, bietet sie sich für Studienzwecke an.⁹⁸

In Tabelle 1 ist die mRS, wie sie auch 1988 durch van Swieten et al. veröffentlicht wurde, gezeigt.⁹⁶ Bei eingetrenem Tod durch den Apoplex wurde den Patienten in EARLY eine mRS von 6 zugeordnet.

Tabelle 1: Definition der mRS-Werte

Wert	Definition
0	Keine Symptome.
1	Keine relevante Beeinträchtigung. Patient kann trotz gewisser Symptome Alltagsaktivitäten verrichten.
2	Leichte Beeinträchtigung. Patient kann sich ohne Hilfe versorgen, ist aber im Alltag eingeschränkt.
3	Mittelschwere Beeinträchtigung. Patient benötigt Hilfe im Alltag, kann aber ohne Hilfe gehen.
4	Höhergradige Beeinträchtigung. Patient benötigt Hilfe bei der Körperpflege, kann nicht ohne Hilfe gehen.
5	Schwere Behinderung. Patient ist bettlägerig, inkontinent und benötigt ständige pflegerische Hilfe.
6	Tod infolge des Apoplex.

2.3 Labordiagnostik

Für eine EARLY-Substudie wurden am Studientag 0 und 8 in den teilnehmenden Kliniken bei 425 Patienten mittels *One-Way*-Standard-Monovetten jeweils etwa 5 ml Blut pro Patient abgenommen, sodass insgesamt 10 ml Blut pro Patient zur Verfügung standen. Die mit einem Proteinstabilisator versehenen frostsicheren Proben wurden zentrifugiert und das Blutplasma in Heparinröhrchen eingefroren (-18° Celsius). Das gefrorene Heparinplasma wurde dann zur zentralen Proteinbestimmung an die Medizinische Hochschule in Hannover versandt. Aus den Proben wurden nach Abschluss der EARLY-Studie die Inflammations-Parameter C-reaktives Protein, Matrix-Metalloproteinase-9 und Monocyte Chemoattractant Protein-1 bestimmt, um anti-inflammatorische Effekte der Kombinationsbehandlung aus Aspirin und Extended-Release Dipyridamol zu untersuchen.¹⁰⁰ Anschließend erfolgte wiederum die Zugabe eines Proteaseinhibitors sowie das Einfrieren und Aufbewahren der Proben bei -80° Celsius.

Für diese Arbeit wurden die Proben erneut aufgetaut und die Plasmaspiegel von IGF-1 und dem Bindungsprotein IGFBP-3 aus dem Heparinplasma bestimmt. Nach Aliquotierung und damit Bereitstellung der erforderlichen Volumina wurden jeweils die Spiegel aus insgesamt 404 Patientenproben jeweils vom Tag 0 (*Baseline*-Wert) und vom Tag 8 (*Follow-Up*-Wert) mittels Chemilumineszenz-Immunoassay gemessen (vgl. Kapitel 3.1.1, 2.3.1, Abbildung 2).

2.3.1 Chemilumineszenz-Immunoassay

Die Proteinmessungen wurden an dem Immulite® 2000 XPi Immunoassay System von der Firma Siemens durchgeführt. Vor der eigentlichen Messung wurde das Gerät mit IGF-1-, beziehungsweise IGFBP-3-Kalibratorenlösungen für niedrige und hohe Werte kalibriert. Im Folgenden wird das zur Probenmessung verwendete Arbeitsprinzip erläutert.

Bei den Immulite-2000-Systemen handelt es sich um Geräte mit kontinuierlichem Direktzugriff zur Ausführung von Chemilumineszenz-Immunoassays. Als Festphase kommen in dem System testspezifische antigen- oder antikörperbeschichtete Polystyrolkugeln zum Einsatz. Speziell für die IGF-1- und IGFBP-3-Messungen lagen die Polystyrolkugeln entweder mit Anti-IGF-1-Antikörpern (monoklonal, von der Maus) oder Anti-IGFBP-3-Antikörpern (monoklonal, ebenfalls von der Maus) beschichtet vor. Im ersten Schritt wird eine assayspezifische Kugel in ein speziell konstruiertes Reaktionsgefäß gegeben. Anschließend pipettiert das Gerät die Patientenprobe, das assayspezifische Reagenz sowie Wasser auf die Probe. Das IGF-1 bzw. IGFBP-3 (zu messender

Analyt) bindet an die Festphase. Das Reagenz besteht aus einer alkalischen Phosphatase (aus Rinderkalbsdarm), welche ihrerseits mit polyklonalen Anti-IGF-1-Antikörpern vom Kaninchen beziehungsweise monoklonalen Anti-IGFBP-3-Antikörpern von der Maus konjugiert ist. Während der Inkubation bei 37° Celsius wird das alkalische Phosphatasekonjugat durch eine immunologische Reaktion an den Analyten (entweder IGF-1 oder IGFBP-3) und damit auch an die Festphase (Kugel) gebunden. Die Menge des gebundenen Phosphatasekonjugats ist in diesem Sandwich-Assay direkt proportional zur Konzentration der zu bestimmenden Analysesubstanz. Um ungebundene Reaktionsmischung von der Kugel und aus dem Gefäß zu entfernen, folgt die Zentrifugation des Reaktionsgefäßes um die vertikale Achse und Ableitung der Flüssigkeit in eine Abfallkammer. Die Kugel verbleibt ohne ungebundene Substanz im Reaktionsgefäß. In einem letzten Schritt wird ein Chemilumineszenzsubstrat (Dioxetanphosphat) zugegeben. Durch das an die Kugel gebundene alkalische Phosphatasekonjugat wird das Chemilumineszenzsubstrat in ein instabiles Anionenzwischenprodukt dephosphoryliert; beim Zerfall des Zwischenprodukts werden Photonen emittiert (siehe Abbildung 1; vgl. DPS Immulite® 2000 Bedienerhandbuch, Abbildung 12-6). Die ausgesandte Lichtmenge ist direkt proportional zur gebundenen alkalischen Phosphatase und damit zur Konzentration der Analysesubstanz in der Probe (vergleiche: DPS Immulite® 2000 Bedienerhandbuch).¹⁰¹

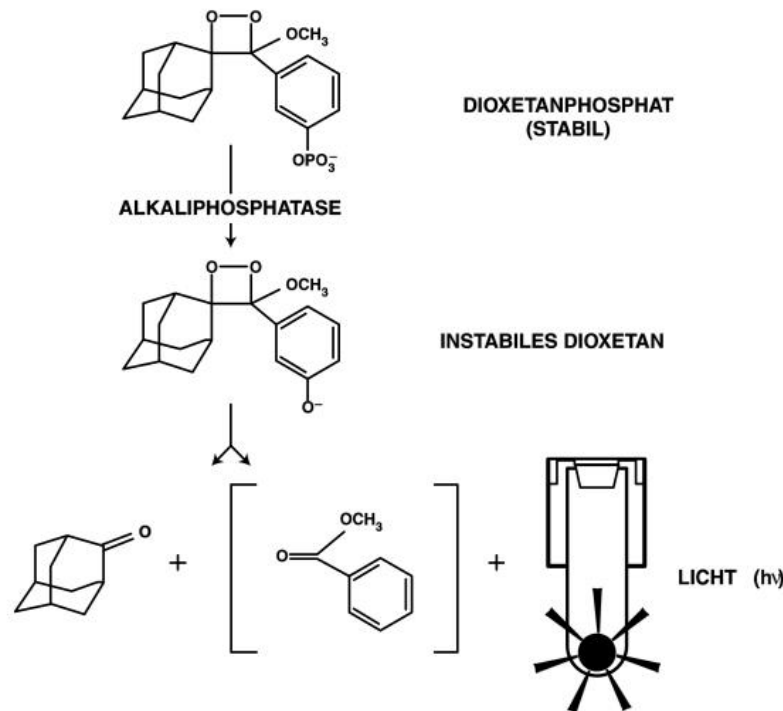


Abbildung 1: Chemilumineszenz-Reaktion im Immulite® 2000 XPi
 Siehe DPS Immulite® 2000 Bedienerhandbuch, Abbildung 12-6. Copyright © by Siemens Healthcare Diagnostics. IMMULITE ist ein eingetragenes Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics. Die mit Anti-IGF-1- bzw. Anti-IGFBP-3-Antikörpern konjugierte Alkaliphosphatase bindet über den Analyten an die antikörperbeschichtete Festphase (Polystyrolkugel); die Menge der gebundenen Alkaliphosphatase steht damit in einem proportionalen Verhältnis zur IGF-1 bzw. IGFBP-3-Konzentration in der Probe. Die Alkaliphosphatase überführt das zugegebene Dioxetanphosphat (Chemilumineszenzsubstrat) in einer enzymatischen Reaktion in instabiles Dioxetan, welches bei seinem Zerfall Licht (in zur ursprünglichen Analyt-Konzentration proportionaler Menge) emittiert.

2.4 Statistische Analysen

Mit Hilfe der Statistik-Software SPSS der Firma IBM in der Version 22.0.0.0 wurde die statistische Analyse der Daten vorgenommen. Nachfolgend wird das Vorgehen der statistischen Auswertung der vorliegenden Patientenparameter und gemessenen Hormonplasmaspiegel detailliert und chronologisch besprochen. Der im Vorfeld erstellte Analyseplan ist dieser Arbeit im Appendix beigelegt (siehe Appendix, Seite 129).

2.4.1 Vorbereitung der Daten und univariate Statistik

Den einzelnen Variablen wurde zu Beginn das jeweils korrekte Skalenniveau, also die Nominal- und Ordinalskala sowie das metrische Messniveau innerhalb der Software zugeordnet. Variablen, die ein metrisches Skalenniveau aufwiesen, wurden mit Hilfe von Normalverteilungsplots auf Normalverteilung überprüft. Der optischen Kontrolle wurde anderen Testungen auf Normalverteilung wie beispielsweise dem Shapiro-Wilk-Test oder dem Kolmogorov-Smirnoff-

Test gegenüber der Vorzug gegeben, da die statistischen Testungen von manchen Autoren als zu konservativ angesehen werden.¹⁰² Sofern die Daten nicht annähernd normalverteilt vorlagen, wurden diese mittels Logarithmieren transformiert und die transformierten Daten dann nach erneut durchgeführtem Normalverteilungsplot auf Lognormalverteilung überprüft. Dies war insbesondere für die nachfolgend detaillierter beschriebenen Dependenzanalysen, in deren Kontext auch eine Dichotomie der Daten durchgeführt wurde, von Bedeutung: Falls die Daten (nach Dichotomie) innerhalb der jeweiligen Patientengruppen annähernd normalverteilt oder lognormalverteilt vorlagen, wurden für die Dependenzanalysen parametrische Verfahren angewandt. Anderenfalls wurde auf die nicht-parametrischen statistischen Testverfahren zurückgegriffen.¹⁰³ Die Visualisierungen der Normalverteilungsplots der kontinuierlichen Variablen (ungruppiert, also vor einer Dichotomie) finden sich im Anhang dieser Dissertation (Appendix, Abbildungen 1-6). Auf die Darstellung der Normalverteilungen einzelner Variablen nach Dichotomie wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet.

Mit den durch die EARLY-Investigatoren bereitgestellten *Baseline-Characteristics* und *Demographics* sowie der übermittelten Schlaganfall-Scores wurde im Rahmen von univariaten Analysen zunächst eine deskriptive Statistik der Studienkohorte durchgeführt. Zur ersten Einschätzung der Häufigkeitsverteilungen und zur genauen Beschreibung der Distribution der Daten wurden statistische Maßzahlen wie das arithmetische Mittel, der Median und der Interquartilsabstand ermittelt und in Text- und Tabellenform dargestellt (siehe Tabellen 2-7). Der Übergang von den ursprünglich 550 in EARLY eingeschlossenen Studienpatienten zu den in dieser Dissertation 404 verwendeten Blutproben wurde in einem *Flow-Chart* der Studienpatienten dargestellt (siehe Abbildung 2).

2.4.2 Dependenzanalysen

Den eigentlichen Kern der vorliegenden Arbeit bildeten verschiedene bivariate sowie multivariate Dependenzanalysen, anhand derer auf Zusammenhänge zwischen den Hormonplasmaspiegeln und den übrigen vorhandenen Variablen, insbesondere den Schlaganfall-Scores, getestet wurde. Weiterhin wurde im Kontext der Dependenzanalysen eine *Confounder*-Analyse durchgeführt, um abschließend die Unabhängigkeit etwaiger Zusammenhänge zwischen den IGF-1- und IGFBP-3-Spiegeln und dem *Outcome* von *Confounder*-Einflüssen überprüfen zu können (vgl. Kapitel 4.1.1).

2.4.2.1 IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel

Um zunächst einen Eindruck über mögliche Tendenzen der Verteilung der ermittelten IGF-1- sowie IGFBP-3-Werte zu erhalten, wurden im Sinne einer hormonellen Evaluation, wie zuvor für die restlichen vorliegenden Patientenparameter auch (s.o.), mittels univariater Analysen die üblichen Lage- und Streuungsmaße ermittelt und in Textform präsentiert. Überdies wurde statistisch auf Mittelwertsunterschiede der gemessenen IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel zwischen Tag 0 und Tag 8 getestet. In diesem Zusammenhang wurde auf Mittelwertsunterschiede bezogen auf die gesamte Studienkohorte, bezogen isoliert auf die Männer und bezogen isoliert auf die Frauen untersucht. Da die Gruppierung der Kohorte anhand der Messtage 0 und 8 zwei Gruppen mit identischen Patienten ergab und es sich in der Folge um Messwiederholungen und damit auch um verbundene Stichproben handelte, kam an dieser Stelle der gepaarte t-Test zur Anwendung.¹⁰³

Weiterhin wurde auf Mittelwertsunterschiede zwischen den Männern und den Frauen, jeweils bezogen auf den Studientag 0 und Studientag 8, geprüft. Hierbei handelte es sich um unverbundene Patientengruppen mit unterschiedlichen Patienten, sodass hier der t-Test beziehungsweise der Welch-Test (in Abhängigkeit der Varianzgleichheit) verwendet wurde.¹⁰³

Die IGF-1- und IGFBP-3-Werte von Tag 0 und 8 wurden bezüglich ihrer Häufigkeitsverteilung nach dem Patientengeschlecht in *Boxplot*-Graphiken visualisiert; die *Boxplots* erlaubten einen schnellen Überblick über die Lage des Medians sowie das 25. und 75. Quartil (siehe Abbildungen 3, 12).

Um auf Unterschiede der Höhe der ermittelten Hormonspiegel innerhalb der verschiedenen Schlaganfall-*Scores* zu testen, wurde die Verteilung der IGF-1- und der IGFBP-3-Werte (jeweils von Tag 0 und von Tag 8) über die einzelnen Kategorien der mRS (mRS = 0-6 Punkte; vgl. Kapitel 2.2.1.2) von den Tagen 0, 8 und 90 und über eine Kategorisierung der vorliegenden NIHSS von den Tagen 0, 8 und 90 gemäß Bradley et al. mittels *Boxplots* graphisch dargestellt.¹⁰⁴ Die Unterteilungen der NIHSS-Werte entsprachen damit den Kategorien „Keine Symptomatik“ (0 Punkte), „leichter Schlaganfall“ (1-4 Punkte), „mittelgradiger Schlaganfall“ (5-15 Punkte), „mittelgradiger bis schwerer Schlaganfall“ (16-20 Punkte) oder „schwerer Schlaganfall“ (> 20 Punkte). Die entsprechenden *Boxplot*-Graphiken wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit im Appendix dargestellt (siehe Appendix, Abbildungen 7-14).

In einem nächsten Schritt wurde eine Dichotomie des *Outcomes* einerseits anhand der mRS der Tage 0, 8 und 90 und andererseits anhand der NIHSS von Tag 0, 8 und 90 durchgeführt und die Verteilungen der IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel (jeweils von Tag 0 und von Tag 8) innerhalb der beiden *Outcome*-Gruppen analysiert. Um eine Unterteilung der Patienten in solche mit einer maximal leichten Ausprägung der Schlaganfallsymptomatik und solche mit einer darüber hinausgehenden, schwerwiegenderen Symptomatik zu erreichen, wurden bezüglich der mRS 0-2 Punkte auf der Skala als „gutes“ *Outcome*, 3-6 Punkte hingegen als „schlechtes“ *Outcome* definiert. Diese Definition war außerdem nach der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie zum Zusammenhang zwischen IGF-1 und IGFBP-3 und dem Schlaganfall-*Outcome* ausgerichtet.¹⁷ Analog wurde die NIHSS in 0-4 Punkte („gut“) und 5-42 Punkte („schlecht“) dichotomisiert. Die IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel-Verteilungen innerhalb der beiden Patientengruppen mit jeweils gutem oder schlechtem *Outcome* wurden ebenfalls in *Boxplot*-Graphiken dargestellt (siehe Abbildungen 4-11, 13-20).

Im Sinne einer statistischen Absicherung der optischen Analyse wurden die Hormonspiegelverteilungen innerhalb der *Outcome*-Gruppen ebenfalls auf Mittelwertsunterschiede getestet. Dazu kam, weil unverbundene Stichproben vorlagen, der ungepaarte t-Test zur Anwendung.¹⁰³

2.4.2.2 Patientenparameter bei dichotomisierten IGFBP-3-Spiegeln

Ferner wurden die IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 in niedrige und normale bis hohe Spiegel dichotomisiert. Anhand dieser Dichotomie wurden zur Testung auf Unterschiede und Zusammenhänge zwischen den einzelnen Patientenparametern und der Höhe der IGFBP-3-Spiegel von Tag 0, also in der unmittelbaren Akutphase des Schlaganfalls, Dependenzanalysen durchgeführt (siehe Tabelle 8). Im Rahmen dieser Dependenzanalysen wurden sämtliche vorliegenden Patientenparameter inkludiert. Der Sinn dieser Analysen lag in der Aufdeckung von statistischen Zusammenhängen zwischen einzelnen Patientenparametern und der Höhe der IGFBP-3-Spiegel; damit sollte die Detektion potentieller Störfaktoren, sogenannter *Confounder*, ermöglicht werden. Dies war insbesondere in Zusammenhang mit der formulierten Hypothese 1 sowie der Nebenhypothese (vgl. Kapitel 1.1) dieser Dissertation von Interesse. Bei sämtlichen metrisch oder ordinal skalierten Variablen wurde auf statistisch signifikante Lageunterschiede (also Mittelwerts- oder Medianunterschiede der entsprechenden Variablen zwischen den beiden IGFBP-3-Spiegel-Gruppen) geprüft. Wie schon in Kapitel 2.4.1 beschrieben, kamen dabei,

abhängig von der Skalierung der jeweiligen Variable und davon, ob in den Untergruppen eine Normalverteilung (oder zumindest eine Log-Normalverteilung) annähernd angenommen werden konnte oder nicht, parametrische oder nicht-parametrische Testverfahren zum Einsatz. Verwendet wurden auf Seite der parametrischen Verfahren jeweils der t-Test (oder im Falle ungleicher Varianzen in den beiden Patientengruppen der Welch-Test), auf Seite der nicht-parametrischen Verfahren der Mann-Whitney-U-Test.¹⁰³

Die Original-Einteilung der nominalen Parameter auf dem CRF-Prüfbogen (Case Report Form, nachfolgend: CRF, siehe Appendix Seite 110) der EARLY-Studie wurde modifiziert und die jeweiligen Variablen in SPSS in neue Variablen rekodiert: die Kategorie „unbekannt“ des Fragebogens wurde für diese Dissertation als „nicht vorliegend“ gewertet um die Daten für eine statistische Dependenzanalyse zu optimieren. Übrig blieben schließlich die Kategorien „ja“ und „nein“. Folglich lagen dann nominal skalierte Variablen mit zwei Ausprägungen vor, deren potentieller statistischer Zusammenhang zu der Höhe der IGFBP-3-Spiegel mittels Exaktem Test nach Fisher überprüft wurde; im Falle der Variablen „Raucherstatus“ wurden die drei Kategorien beibehalten und mittels Chi-Quadrat-Testung auf Zusammenhänge zwischen dem Nikotinkonsum und der Höhe der IGFBP-3-Spiegel getestet.¹⁰³

Die den beschriebenen Dependenzanalysen zugrunde liegende Dichotomie der IGFBP-3-Hormonplasmaspiegel von Tag 0 wurde anhand alters- und geschlechtsadjustierter Referenzwerte durchgeführt. Dabei ist zu beachten, dass in der Regel jedes Labor eigene Referenzlisten zur Verfügung stellt; diese sind aber durchaus vergleichbar. Für diese Dissertation kamen die Referenzwerte von Elmlinger et al. zur Anwendung, die mit Hilfe von Immulite® Chemilumineszenz-Assays ermittelt wurden.¹⁰⁵ Für insgesamt 13 Patienten, die bei Studieneinschluss älter als 85 Jahre alt waren, wurden die Referenzwerte für die 81-85-Jährigen als Orientierung genutzt, da über dieses Alter hinaus keine Referenzwerte vorlagen. Mit Hilfe der Referenzwerte wurde zunächst eine Trichotomie der Hormonspiegel in niedrig, normal und hoch durchgeführt. Lagen die gemessenen Hormonspiegel unterhalb der zweifachen Standardabweichung des altersadjustierten Mittelwertes der Referenztablelle, wurden sie als niedrig klassifiziert; als hoch galten Werte, die mehr als zwei Standardabweichungen oberhalb des altersadjustierten Mittelwertes lagen. Werte, die innerhalb des Bereiches mit +/- zwei Standardabweichungen lagen, wurden als normalwertig deklariert. Diese Definition der Hormonspiegelhöhen war angelehnt an die Methodik der Substudie der Berliner *Cream&Sugar*-Studie zum Zusammenhang zwischen IGF-1- und IGFBP-3-Spiegeln und dem Schlaganfall-*Outcome*.¹⁷ Da in der Kategorie der hohen Hormonspiegel die Fallzahl (nachfolgend: n) lediglich bei zehn lag, wurden in einem nächsten Schritt die beiden Kategorien „normal“ und „hoch“ zur

Gruppe „normal“ zusammengefasst, sodass am Ende eine dichotome Verteilung der Daten vorlag. Eine Zusammenfassung der Teststatistiken der Dependenzanalysen mit Angabe der jeweiligen p-Werte (nachfolgend: p) findet sich in Tabelle 8. Das Signifikanzniveau α wurde auf $\alpha = 0.05$ festgelegt.

Hinsichtlich der formulierten Nebenhypothese (vgl. Kapitel 1.1) wurde eine Korrelationsanalyse im Sinne einer Pearson-Korrelation zwischen den IGF-1- und IGFBP-3-Plasmaspiegeln jeweils von Tag 0 und Tag 8 vorgenommen. Die Ergebnisse dieser Analysen wurden zusätzlich zur Präsentation in Textform auch in Streudiagrammen veranschaulicht (siehe Abbildungen 21, 22).

2.4.2.3 Patientenparameter bei dichotomisiertem Outcome von Tag 90

Weiterhin wurden anhand der schon oben beschriebenen Dichotomie der mRS-Werte von Tag 90 (vgl. Kapitel 2.4.2.1) dieselben Dependenzanalysen wie im Falle der IGFBP-3-Spiegel-Dichotomie durchgeführt; auch hier wurden die Daten also auf Lageunterschiede oder Zusammenhänge untersucht (vgl. Tabelle 9). Als „gut“ galten mRS-Werte von 0-2 Punkten; 3-6 Punkte wurden als „schlecht“ definiert. Das Ziel dieser Dichotomie bestand in der Detektion potentieller Einflüsse von bekannten Schlaganfall-Prädiktoren auf das *Outcome* nach 90 Tagen. Das Identifizieren von möglichen Zusammenhängen zwischen einzelnen Patientenvariablen und den mRS-Werten vom Tag 90 diente also auch hier wieder der *Confounder*-Analyse; dies war auch besonders für die noch nachfolgend beschriebenen Regressionsanalysen von Bedeutung.

Zur Einteilung des *Outcomes* wurde der mRS von Tag 90 (hierbei handelte es sich um eine Tele-mRS, vgl. Kapitel 2.2.1.2) gegenüber der NIHSS von Tag 90 der Vorzug gegeben, da diese sich in der wissenschaftlichen Literatur etabliert hat.^{97,98} Zudem lagen lediglich bei 349 Patienten Angaben zum NIHSS von Tag 90 vor; die Tele-mRS wurde am Studientag 90 dahingegen für die gesamte Kohorte (nachfolgend: N) durchgeführt. Weiterhin führten die Tele-mRS-Experten die telefonische Befragung verblindet durch.

Auch für die Dependenzanalysen bezüglich der mRS von Tag 90 wurde das Signifikanzniveau α auf $\alpha = 0.05$ festgelegt. Eine Zusammenfassung der Teststatistiken der Dependenzanalysen mit Angabe der jeweiligen p-Werte findet sich in Tabelle 9.

2.4.2.4 Kreuztabellen und Assoziationsmaße

Um im Rahmen der eingangs formulierten Hypothesen (vgl. Kapitel 1.1) einen potentiellen Zusammenhang zwischen den definitionsgemäß niedrigen IGF-1- und IGFBP-3-Hormonspiegeln (jeweils von Tag 0 und Tag 8) und dem neurologischen *Outcome* der Patienten nach 90 Tagen zu

erfassen, wurden die dichotomisierten Hormonspiegel und die dichotomisierte Tele-mRS von Tag 90 mittels Kreuztabellen überprüft. Im Prinzip wurde hierbei der Frage nachgegangen, ob die beiden Merkmale „Hormonspiegel“ sowie mRS von Tag 90 innerhalb der Kohorte voneinander abhängig oder unabhängig waren. Zu diesem Zweck wurden die beobachteten Häufigkeiten mit denjenigen Häufigkeiten, die im Falle statistischer Unabhängigkeit auftreten würden, in den jeweiligen Kreuztabellen verglichen und in Balkendiagrammen graphisch dargestellt (siehe Tabellen 10-13, Abbildungen 23-26). Mit Hilfe des Exakten Test nach Fisher wurde auf eine etwaige statistisch signifikante Abweichung von den im Falle statistischer Unabhängigkeit erwarteten Häufigkeiten innerhalb der Zellen der Vierfeldertafel (Kreuztabelle) und damit im Umkehrschluss auf einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Hormonspiegel-Höhe und dem 90-Tages-*Outcome* getestet. Der exakte Test nach Fisher sollte allgemein bei Variablen mit maximal zwei Ausprägungen Verwendung finden; weiterhin stellt dieser Test keine Voraussetzungen an den Stichprobenumfang und folglich die Häufigkeiten innerhalb der einzelnen Zellen und liefert entsprechend auch bei einer geringen Beobachtungs-Anzahl verlässliche Resultate (vgl. die relativ niedrigen Beobachtungszahlen in den Tabellen 12-13).¹⁰³

Zusätzlich wurden im Kontext der Kreuztabellen-Analysen das relative Risiko (nachfolgend: RR) sowie die *Odds Ratio* (nachfolgend: OR) berechnet (vgl. Tabelle 14). Beide Berechnungen waren jeweils bezogen auf das Risiko beziehungsweise die „*Odds*“ eines Patienten mit einem an Tag 0 gemessenen niedrigen IGF-1- oder IGFBP-3-Spiegel ein definitionsgemäß schlechtes *Outcome* nach 90 Tagen aufzuweisen, verglichen mit denjenigen Patienten, bei denen an Tag 0 ein normaler bis hoher IGF1- oder IGFBP-3-Spiegel gemessen worden war. Die im Rahmen der Kreuztabellen-Analysen erhaltenen OR stellen die rohen, nicht-adjustierten OR dar.

2.4.2.5 Multiple lineare Regression

Neben der angesprochenen multiplen binären logistischen Regressionsanalyse, welche als letztes besprochen wird, wurde zunächst eine multiple lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Da der Schwerpunkt der vorliegenden Dissertation auf der Untersuchung des IGFBP-3 in der Akutphase des Schlaganfalls lag, wurde in dem aufgestellten Modell der multiplen linearen Regression der Einfluss einzelner Prädiktoren auf die IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 untersucht; die Einflussfaktoren auf die IGFBP-3-Spiegel galten als potentielle *Confounder* des IGFBP-3-Einflusses auf den klinischen Endpunkt der vorliegenden Arbeit (mRS Tag 90 = 3-6).

Vor und nach der Durchführung der linearen Regression wurden die grundsätzlichen

Modellvoraussetzungen überprüft. Die abhängige Variable lag als intervallskalierte Variable vor; die erklärenden Variablen lagen ebenfalls intervallskaliert oder dichotom vor. Damit waren die Anforderungen an die Skalenniveaus erfüllt. Zur Testung auf Multikollinearität unter den Einflussvariablen wurde eine Kollinearitätsstatistik durchgeführt. Berechnet und tabellarisch angegeben (vgl. Tabelle 15) wurden jeweils die Toleranz sowie der Varianzinflationsfaktor (nachfolgend: VIF). Zusätzlich wurden nach der Durchführung der Regression die Residuen - also die durch das formulierte Regressionsmodell nicht erklärbaren Abweichungen von der Regressionsgeraden - auf Heteroskedastizität und Autokorrelation untersucht. Bezüglich der Heteroskedastizität wurden die unstandardisierten Vorhersagewerte sowie die unstandardisierten Residuen bei der Durchführung der Regressionsanalyse in SPSS zwischengespeichert, die unstandardisierten Residuen dann quadriert und anschließend in eine neue Variable verrechnet. Mit Hilfe eines Streudiagramms, in welchem die quadrierten Residualwerte über den unstandardisierten Vorhersagewerten dargestellt wurden, wurde optisch auf Heteroskedastizität geprüft (vgl. Appendix, Abbildung 15). Mittels Breusch-Pagan-Test wurde schließlich der optische Eindruck statistisch abgesichert. Dazu wurde eine lineare Regression mit den identischen Prädiktoren, aber den quadrierten Residualwerten als Kriteriumsvariable Y durchgeführt und das Resultat des Breusch-Pagan-Tests anhand der F-Statistik abgelesen. Zur Testung auf Autokorrelation wurde eine Durban-Watson-Statistik vorgenommen. Bei der für diese Dissertation vorliegenden Fallzahl konnte eine näherungsweise Normalverteilung für die standardisierten Residuen vorausgesetzt werden; dieses wurde nicht gesondert geprüft.

Für das Modell der multiplen linearen Regression wurde die Einschluss-Methode benutzt. Bezüglich der einzelnen Prädiktoren wurden jeweils die von der Statistik-Software ausgegebenen b - als auch die β -Regressionsgewichte sowie das 95%-Konfidenzintervall (nachfolgend: 95%-KI) des b -Koeffizienten ausgewertet und tabellarisch angegeben (vgl. Tabelle 15).

Weiterhin wurden Statistiken bezüglich der Anpassungsgüte des Regressionsmodells ausgewertet und angegeben. Um zu überprüfen, ob das formulierte Regressionsmodell auch über die Größe der Stichprobe hinaus Gültigkeit besitzt, wurde das Regressionsmodell mit Hilfe eines F-Tests varianzanalytisch untersucht. In Zusammenhang mit der durch das Modell geleisteten Varianzaufklärung fand das korrigierte Bestimmtheitsmaß R^2 Verwendung.

Zur Selektion der Prädiktoren für das Modell: Diejenigen Parameter, welche im Rahmen der Dependenzanalysen im Sinne des festgelegten Signifikanzniveaus α eine statistische Signifikanz

aufgewiesen hatten (betrifft die Variablen „IGF-1-Spiegel von Tag 0“ und Geschlecht), wurden in die lineare Regression inkludiert; außerdem wurde aus sachlogischen Überlegungen heraus das Patientenalter (trotz fehlender vorheriger Signifikanz) als Variable eingeschlossen und die Variablen „mRS von Tag 8“, „mRS von Tag 90“ und „IGF-1-Spiegel von Tag 8“ nicht inkludiert. Bezüglich des Regressors „Geschlecht“ diente das weibliche Geschlecht als Referenzkategorie 0.

2.4.2.6 Multiple binäre logistische Regression

In einem abschließenden Schritt wurde eine multiple binäre logistische Regression durchgeführt. Mit Hilfe dieser logistischen Regression wurden die Richtung und Stärke potentieller Einflüsse der inkludierten Prädiktoren auf die abhängige Variable, die dichotome Ausprägung der mRS von Tag 90 in „gut“ (mRS Tag 90 = 0-2) und „schlecht“ (mRS Tag 90 = 3-6), ermittelt; dazu wurden jeweils die Regressionskoeffizienten und die OR inklusive der jeweiligen Konfidenzintervalle berechnet und tabellarisch angegeben (vgl. Tabelle 16). Hinsichtlich der abhängigen Variablen wurde die Ausprägung „mRS = 0-2“ mit 0 und die Ausprägung „mRS = 3-6“ mit 1 kodiert; somit waren die ermittelten OR jeweils als Eintrittswahrscheinlichkeit eines schlechten *Outcomes* zu interpretieren.

Ziel der Durchführung der logistischen Regression war der Vergleich der OR aller für das 90-Tages-*Outcome* potentiell relevanten Prädiktoren untereinander, da die einzelnen OR in einem multiplen logistischen Regressionsmodell jeweils als adjustiert für alle übrigen in dem Modell vorhandenen Variablen gelten.¹⁰⁶ Inkludiert wurden dafür sämtliche Variablen, die im Rahmen der vorangegangenen Dependenzanalysen der Patientenparameter bei dichotomisiertem *Outcome* von Tag 90 eine statistische Signifikanz mit einem p-Wert von maximal 0.01 aufgewiesen hatten (vgl. dazu Tabelle 9). Zusätzlich wurde auch das Geschlecht als Variable in das Modell eingeschlossen, da es in den vorherigen Analysen einen Zusammenhang zu den IGFBP-3-Spiegeln aufgezeigt hatte und damit als möglicher *Confounder* des IGFBP-3-Einflusses auf das *Outcome* galt (vgl. Tabellen 8, 15). Um ein *Overfitting*, also eine Überanpassung, des Regressionsmodells zu vermeiden, wurde trotz intuitiv plausibler und hochsignifikanter Zusammenhänge zum 90-Tages-*Outcome* auf den Einschluss der einzelnen Schlaganfall-*Scores* verzichtet; lediglich die mRS von Tag 0 wurde als Prädiktor inkludiert. Durch den Einschluss des Geschlechts und der mRS von Tag 0 wurde auch der Tatsache Rechnung getragen, dass die initiale Schwere eines Schlaganfalls sowie das männliche Geschlecht in der Literatur als Prädiktoren für das Schlaganfall-*Outcome* identifiziert wurden.⁸⁶ Trotz vorher ermitteltem p-Wert von 0.02 (vgl. Tabelle 9) wurde auch die Variable „IGF-1-Spiegel von Tag 0“ in die logistische Regression

inkludiert, da diese in der multiplen linearen Regression eine hochsignifikante Assoziation zu den IGFBP-3-Spiegeln aufgewiesen hatte und somit, wie auch die Variable Geschlecht, als potentieller *Confounder* galt. Zudem waren die Einflüsse sämtlicher Hormonspiegel auf das 90-Tages-*Outcome*, insbesondere auch im Vergleich untereinander, im Kontext der formulierten Hypothesen dieser Arbeit von besonderem Interesse.

Die IGF-1- und IGFBP-3-Werte (von den Tagen 0 und 8) sowie das Patientenalter wurden als kontinuierliche Variablen in das Modell eingebracht. Üblicherweise werden die aus einer logistischen Regression ermittelten OR für alle eingebrachten metrischen Variablen im Sinne einer Erhöhung der erklärenden metrischen Variablen um eine Einheit interpretiert.¹⁰⁶ Um die entsprechenden OR bezüglich eines schlechten *Outcomes* bei Erniedrigung der IGFBP-3-Spiegel (vgl. Hypothesen in Kapitel 1.1) um eine Einheit (ergo 1 $\mu\text{g/ml}$) zu erhalten, wurden die ursprünglich gemessenen IGFBP-3-Werte daher mit dem Faktor (-1) multipliziert: dies führte zu einer Vorzeichenumkehr des Regressionskoeffizienten und bei Potenzieren desselben zur gewünschten OR. Der Standardfehler und die Wald-Statistik wurden durch diese Rechenoperationen nicht beeinflusst. Die ursprüngliche Skalenbreite der IGFBP-Werte konnte beibehalten werden, da eine Veränderung des IGFBP-3-Spiegels um 1 $\mu\text{g/ml}$ als klinisch relevant gelten konnte (vgl. Kapitel 3.2.1).

Die IGF-1-Werte wurden in ng/ml gemessen, sodass das unveränderte Einbringen der IGF-1-Messungen in die multiple binäre logistische Regression jeweils die OR bei einer Erhöhung der IGF-1-Spiegel um 1 ng/ml ergeben hätte – bei der großen Skalenbreite der IGF-1-Spiegel in der Kohorte konnte eine Veränderung um 1 ng/ml jedoch nicht als klinisch relevant gelten (vgl. Kapitel 3.2.2). Um die OR für ein schlechtes *Outcome* bei einer Erniedrigung der IGF-1-Spiegel zu erhalten, wurden die ursprünglichen IGF-1-Werte zunächst mit dem Faktor (-1) multipliziert. Die neu verrechneten IGF-1-Werte wurden anschließend durch 50 dividiert, um die OR bei einer Verschiebung der Werte um -50 ng/ml zu erhalten. Dadurch wurde eine zu den IGFBP-3-Werten vergleichbare Skalenbreite geschaffen; eine Veränderung des IGF-1-Spiegels um 50 ng/ml konnte außerdem als klinisch relevant gelten. 50 ng/ml entsprachen in etwa der Standardabweichung der IGF-1-Werte innerhalb der Studienkohorte; die Standardabweichung der IGFBP-3-Werte innerhalb der Kohorte lag ungefähr bei 1 $\mu\text{g/ml}$ (vgl. Kapitel 3.2.1 und 3.2.2).

Analog zu dem erläuterten Vorgehen wurde auch die Skalenbreite des Patientenalters angepasst und die Differenz für die entsprechende OR in dem Regressionsmodell auf eine Zunahme der Variablen um 10 Lebensjahre festgelegt, da der klinische Effekt einer Veränderung um 1

Lebensjahr als zu gering angesehen wurde. Die definierten Differenzen wurden als Interpretationsgrundlage der OR in Tabelle 16 angegeben.

Die Patientenparameter Diabetes mellitus, vorangegangene Schlaganfälle und Herzinsuffizienz wurden als kategoriale Variablen in das Modell eingebracht. Die Ausprägung „nein“ (ergo: nicht vorhanden) wurde als Referenzkategorie 0 kodiert, die Ausprägung „ja“ (also vorhanden) als Kategorie 1. Damit galten die in der Tabelle angegebenen Resultate für die kategorialen Parameter jeweils für diejenigen Patienten, bei denen diese Ausprägung auch vorlag. Hinsichtlich des Patientengeschlechts wurden die Männer mit der Referenzkategorie Frauen verglichen. Ebenso wurde die mRS von Tag 0 als dichotome Variable inkludiert; ein mRS von 0-2 Punkten galt als Referenzkategorie.

Zur Ermittlung der Modellgüte wurde der Hosmer-Lemeshow-Test verwendet. Weiterhin wurde die durch das Regressionsmodell geleistete Varianzaufklärung, analog zum korrigierten R^2 in der linearen Regression, durch das Nagelkerke- R^2 evaluiert und angegeben. Bei der Durchführung der binären logistischen Regression wurde die Einschluss-Methode benutzt.

3 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung dargestellt. Die Darstellung folgt dabei einer strukturierten Vorgehensweise von einer rein beschreibenden Statistik über Abhängigkeitsanalysen bis hin zu den Regressionsmodellen. Stetige Variablen wurden außerdem auf Normalverteilung überprüft; die entsprechenden Verteilungsplots finden sich im Appendix dieser Dissertation (Abbildungen 1-6).

3.1 Deskriptive Statistiken

Ziel der deskriptiven Statistik war zunächst die Präsentation der Verteilung der vorliegenden Patientenparameter innerhalb der Studienpopulation. Die statistischen Maßzahlen wurden dazu in Text- und Tabellenform dargestellt.

3.1.1 Die Studienpopulation

Von den 550 eingeschlossenen EARLY-Patienten konnte für die statistische Analyse eine Fallzahl von insgesamt 404 Patienten in die statistische Analyse eingeschlossen werden, von denen komplette (Tag 0 und Tag 8, ergo 808 Einzelproben) sowie verwertbare Messungen vorlagen (Einzelheiten siehe *Flow-Chart*, Abbildung 2).

Die Studienpopulation für diese Arbeit umfasste 261 Probanden männlichen Geschlechts (64.4 %); 143 Studienteilnehmer waren Frauen (35.4 %). Bei 403 Patienten lag eine weiße Hautfarbe vor; es gab einen afro-amerikanischen Patienten. Das arithmetische Mittel des Patientenalters lag bei 66.8 Jahren, wobei das Minimum bei 27 Jahren und das Maximum bei 95 Jahren lag (Standardabweichung [nachfolgend: SD] = 11.2; Median [nachfolgend: MD] = 68.0; Interquartilsabstand [nachfolgend: IQR] = 15.0). Der ermittelte BMI zeigte einen Durchschnittswert von 27.31 Kilogramm pro Quadratmeter (nachfolgend: kg/m^2) bei einer Standardabweichung von 4.03 kg/m^2 (MD = 26.61; IQR = 5.58) und streute damit gemäß der Adipositas-Klassifikation der WHO um den Bereich der Präadipositas; 170 Patienten (42.1 %) fielen in den Bereich der Präadipositas und 101 Patienten (25.0 %) waren *per definitionem* adipös.¹⁰⁷ Bei sechs Patienten wurde der BMI nicht erhoben. Sowohl das Patientenalter, als auch der BMI wurden mit Hilfe eines Normalverteilungsplots auf Normalverteilung überprüft; eine Normalverteilung konnte in beiden Fällen näherungsweise angenommen werden (siehe Appendix, Abbildungen 1,2).

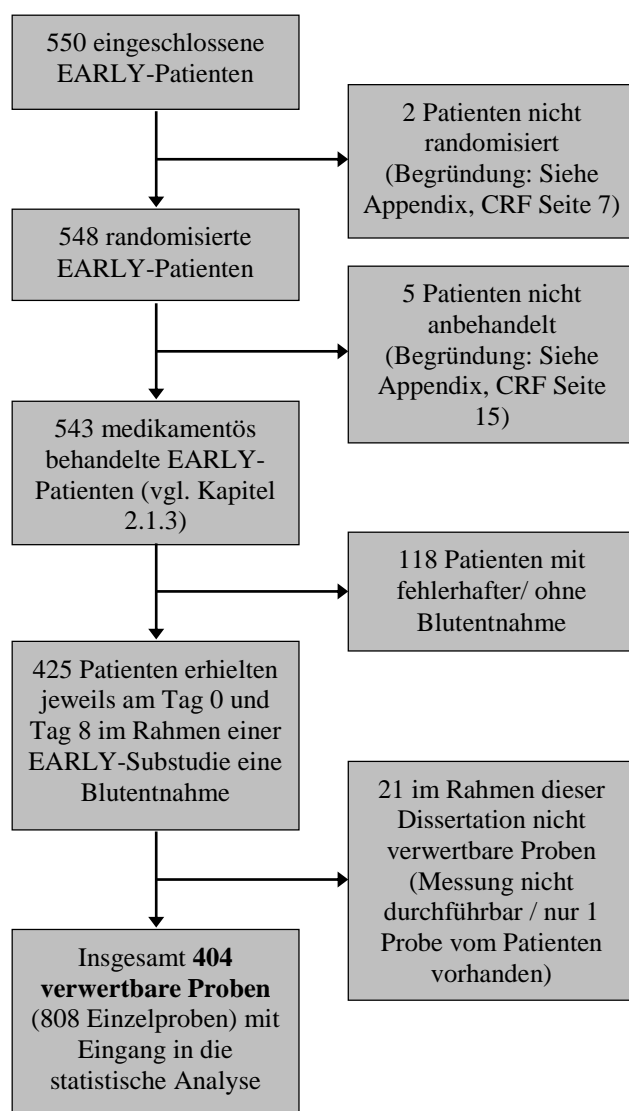


Abbildung 2: Flow-Chart der Studienpatienten

Bei 425 Patienten wurden im Rahmen einer EARLY-Substudie die Inflammations-Parameter C-reaktives Protein, Matrix-Metalloproteinase-9 und Monocyte Chemoattractant Protein-1 bestimmt, um anti-inflammatorische Effekte der Kombinationsbehandlung aus Aspirin und Extended-Release Dipyridamol zu untersuchen (vgl. Kapitel 2.3). Im Kontext dieser Dissertation konnte nach dem Auftauen noch 404 Patientenproben (808 Einzelproben) statistisch analysiert werden.

Bezüglich des Nikotinkonsums gaben 97 Personen (24.1 %) an zu rauchen, 120 Patienten (29.9 %) waren nach eigener Angabe Ex-Raucher. Im Rahmen der Schlaganfall-Behandlung durch die EARLY-Investigatoren wurden 194 Patienten (48.0 %) der vorliegenden Studienpopulation mit Aspirin als Monotherapie innerhalb der ersten Woche anbehandelt; 210 Patienten (52.0 %) erhielten von Beginn an das Aggrenox-Kombinationspräparat (Zusammenfassung der Ergebnisse in Tabelle 2).

Die beiden am meisten in der Studienkohorte vertretenen Vorerkrankungen waren die Hypertonie sowie der Diabetes mellitus. Bei 392 Patienten lagen Informationen bezüglich des Blutdrucks vor;

301 Personen (76.8 %) litten unter einer Hypertonie. Der Diabetes mellitus lag bei 96 (24.5 %) von 392 Patienten mit diesbezüglichen Informationen vor. Bei vier Probanden lag ein Vorhofflimmern vor (n = 388). Eine Herzinsuffizienz zeigte sich bei 16 Personen (4.1%) von 387 Patienten, die diesbezüglich Angaben machen konnten. Bezüglich einer Hyperlipidämie lagen bei 356 Patienten Informationen vor; 137 (38.5 %) davon gaben erhöhte Blutfettwerte an. Zu allen Patienten lagen Daten über stattgehabte Schlaganfälle vor dem aktuellen Ereignis vor. 56 Personen (13.8 %) hatten in der Vergangenheit schon einmal einen Schlaganfall erlitten (vgl. Kapitel 2.2; Zusammenfassung der Ergebnisse in Tabelle 3).

Im Rahmen des EARLY-Protokolls wurden Daten bezüglich AE gesammelt. Bei 353 Personen der vorliegenden Kohorte konnten keine solcher *Events* aufgezeichnet werden. In summa ereigneten sich sechs Todesfälle; davon ließen sich fünf auf eine vaskuläre Genese und einer auf einen anderweitigen Grund zurückführen. Zusätzlich traten Rezidiv-Hirninfarkte bei 34 Patienten auf, welche diesen Infarkt erneut überlebten. In zwei Fällen wurde ein überlebter Myokardinfarkt registriert. Sieben Patienten erlitten eine TIA, zwei Patienten eine Blutung (Zusammenfassung der Ergebnisse in Tabelle 4).

Zusätzlich wurden Daten in Bezug auf die durchgeführte Behandlung in EARLY gesammelt. Insgesamt wurde die Medikation in 108 Fällen abgesetzt. Dem Abbruch lag in sechs Fällen eine unerwartete Verschlechterung des Allgemeinzustandes während der Studienlaufzeit zugrunde; in ebenfalls sechs Fällen zeigte sich ein eskalierender Verlauf von vorliegenden Begleiterkrankungen. In 41 Fällen wurden anderweitige, durch die EARLY-Investigatoren nicht näher klassifizierte AE registriert. Neun Patienten zogen ihre Einwilligungserklärung für die Studienteilnahme zurück, zwölf Patienten konnten im Rahmen des *Follow-Up* nicht mehr kontaktiert werden und weitere 32 Patienten zeigten einen *Non-Compliance* in Hinsicht auf das Studienprotokoll. In zwei Fällen lag dem Abbruch eine anderweitige Motivation zugrunde (Zusammenfassung der Ergebnisse in Tabelle 4).

Weiterhin wurden die mRS sowie die NIHSS am Tag der Aufnahme in die Studie und auch am Tag 8 sowie am Tag 90 erhoben. Am Einschlusstag wurden beide Schlaganfall-Scores bei allen 404 Patienten der vorliegenden Kohorte durchgeführt. Für die initiale mRS ergab sich ein Mittelwert von 2.14 Punkten (SD = 1.477). Die initiale NIHSS streute um einen Mittelwert von 3.70 Punkten (SD = 3.354). In der NIHSS zeigten am Einschlusstag 66 Personen (16.3 %) bei einem *Score* von 0 Punkten keine Schlaganfallsymptomatik mehr; in 189 Fällen (46.8 %) ließ sich

ein „leichter Hirninfarkt“ feststellen. Die übrigen Patienten konnten in die Kategorie „mittelgradiger Schlaganfall“ (146 Personen, 36.1 %) oder „mittelgradiger bis schwerer Schlaganfall“ (3 Personen, 0.7 %) eingeteilt werden (Zusammenfassung der Ergebnisse in Tabelle 5). Die ins Deutsche übersetzte Einteilung richtet sich nach Bradley et al.¹⁰⁴ Hinsichtlich der mRS konnte bei 68 Probanden (16.8 %) keine Schlaganfallsymptomatik mehr konstatiert werden. 88 Personen (21.8 %) zeigten keine relevante Beeinträchtigung (1 Punkt), 73 Personen (18.1 %) eine leichte Beeinträchtigung (2 Punkte), 86 Personen (21.3 %) eine mittelschwere Beeinträchtigung (3 Punkte) und 72 Personen (17.8 %) eine höhergradige Beeinträchtigung (4 Punkte). In 17 Fällen (4.2 %) wurde bei 5 erreichten Punkten auf der Scala eine schwere Behinderung festgestellt (vgl. Kapitel 2.2.1.2; Zusammenfassung der Ergebnisse in Tabelle 5).

Im Vergleich zu der *Score*-Erhebung am ersten Tag konnte am Tag 8 eine ähnliche mRS-Verteilung bei 403 erhobenen Fällen dargestellt werden ($M = 1.99$; $SD = 1.491$). In Hinblick auf die NIHSS ($n = 402$; $M = 2.42$; $SD = 3.434$) hatte sich die Häufigkeitsverteilung in Richtung einer mildereren Symptomatik verschoben; in 136 Fällen (33.7 %) konnte keine klinische Ausprägung des Infarkts mehr nachgewiesen werden (NIHSS = 0). 0 Punkte in der mRS am Tag 8 konnten dahingegen nur bei 74 Patienten vergeben werden. Zwei Patienten (0.5 %) erreichten in der Untersuchung einen NIHSS von über 20 Punkten; diese fielen damit in die Kategorie „schwerer Schlaganfall“ (Zusammenfassung der Ergebnisse in Tabelle 6).

Drei Monate nach Studieneinschluss ließ sich in der mRS ein Trend in Richtung niedriger Punktzahlen und damit besserem neurologischen Status erkennen ($M = 1.60$, $SD = 1.448$; Vorwert von Tag 0: $M = 2.14$, $SD = 1.477$). 100 Patienten (24.8 %) hatten keine Symptomatik (mRS = 0); in 131 Fällen (32.4 %) erhielten die Probanden einen Punkt auf der Skala. 6 Patienten (1.5 %) waren dahingegen mittlerweile verstorben (6 Punkte). In der NIHSS ($n = 349$, $M = 1.39$, $SD = 2.646$; Vorwert von Tag 0: $M = 3.70$, $SD = 3.354$) spiegelte sich dieser Trend ebenfalls wider: Der Großteil der Patienten zeigte entweder keine klinischen Residuen (NIHSS = 0; 179 Personen, 44.3 %) oder fiel in die Kategorie „leichter Schlaganfall“ (143 Personen, 35.4 %). Es ließ sich kein Median ermitteln, da die überwiegende Anzahl Patienten 0 Punkte auf der Skala erreichte. In einem Fall erreichte ein Patient 22 Punkte in der NIHSS (Zusammenfassung der Ergebnisse in Tabelle 7).

Tabelle 2: Beschreibung der Studienpopulation

Parameter	Distribution
Alter in Jahren, arithmetisches Mittel (SD; MD; IQR), (N = 404)	66.79 (+/- 11.244; 68.0; 15.0)
Body-Mass-Index, arithmetisches Mittel (SD; MD; IQR), (n = 398)	27.31 (+/- 4.034; 26.61; 5.58)
Geschlecht, männlich / weiblich, absolut, (Prozent), (N = 404)	261 (64.6) / 143 (35.4)
Hautfarbe, weiß/schwarz, absolut (Prozent), (N = 404)	403 (99.8) / 1 (0.2)
Raucherstatus, absolut (Prozent), (n = 402)	
Raucher	97 (24.1)
Ex-Raucher	120 (29.9)
Niemals geraucht	185 (46.0)
Behandlung in EARLY, absolut (Prozent), (N = 404)	
Aspirin	194 (48.0)
Aggrenox	210 (52.0)

Legende für die Tabellen 2 - 7:

AE	<i>Adverse Event, unerwünschter Zwischenfall</i>
EARLY	<i>Early treatment with aspirin plus extended-release dipyridamole for transient ischaemic attack or ischaemic stroke within 24 h of symptom onset trial</i>
IQR	Interquartilsabstand
MD	Median
N	Fallzahl (komplett, 404 Patienten)
n	Fallzahl (inkomplett)
SD	Standardabweichung
TIA	Transitorisch-ischämische Attacke

Hinweis: Bei einer abweichenden Fallzahl ($N \neq 404$) wurden jeweils die gültigen Prozente unter Vernachlässigung der fehlenden Werte angegeben.

Tabelle 3: Begleiterkrankungen innerhalb der Studienpopulation

Begleiterkrankung	Distribution
Hypertonie, absolut (Prozent), (n = 392)	301 (76.8)
Vorhofflimmern, absolut (Prozent), (n = 388)	4 (1.0)
Herzinsuffizienz, absolut (Prozent), (n = 387)	16 (4.1)
Diabetes mellitus, absolut (Prozent), (n = 392)	96 (24.5)
Hyperlipidämie, absolut (Prozent), (n = 356)	137 (38.5)
Schlaganfälle [vor dem zum Studieneinschluss führenden ischämischen Ereignis], absolut (Prozent), (N = 404)	56 (13.9)

Hinweis: Bei einer abweichenden Fallzahl ($N \neq 404$) wurden jeweils die gültigen Prozente unter Vernachlässigung der fehlenden Werte angegeben.

Tabelle 4: Unerwünschte Ereignisse innerhalb der Studienpopulation

Ereignis	Distribution
Unerwünschte Zwischenfälle, absolut (Prozent), (N = 404)	
Vaskulärer Tod	5 (1.2)
Nicht-vaskulärer Tod	1 (0.2)
Nicht-tödlicher Schlaganfall	34 (8.4)
Nicht-tödlicher Myokardinfarkt	2 (0.5)
Blutung	2 (0.5)
TIA	7 (1.7)
Kein Ereignis	353 (87.4)
Unterbrechung der Studien-Medikation, absolut (Prozent), (N = 404)	
Nicht näher spezifizierter unerwünschter Zwischenfall	41 (10.1)
Unerwartete Verschlechterung der Erkrankung/ des Allgemeinzustandes während der Studie	6 (1.5)
Unerwartete Verschlechterung anderer Vorerkrankungen	6 (1.5)
Zurückgezogene Einwilligungserklärung	9 (2.2)
Im Rahmen des <i>Follow-Up</i> nicht mehr kontaktierbar	12 (3.0)
Nicht-Einhaltung des Studienprotokolls	32 (7.9)
Andere Gründe	2 (0.5)
Keine Unterbrechung der Studienmedikation	296 (73.3)

Tabelle 5: Schlaganfall-Scores bei Studieneinschluss

Punkte	Distribution
mRS Tag 0, Mittelwert (SD; MD), (N = 404)	2.14 (+/- 1.477; 2.00)
mRS Tag 0, absolut (Prozent), (N = 404)	
0	68 (16.8)
1	88 (21.8)
2	73 (18.1)
3	86 (21.3)
4	72 (17.8)
5	17 (4.2)
NIHSS Tag 0, Mittelwert (SD; MD), (N = 404)	3.70 (+/- 3.354; 3.00)
NIHSS Tag 0, absolut (Prozent), (N = 404)	
Keine Symptomatik (0)	66 (16.3)
Leichter Schlaganfall (1-4)	189 (46.8)
Mittelgradiger Schlaganfall (5-15)	146 (36.1)
Mittelgradiger bis schwerer Schlaganfall (16-20)	3 (0.7)

Tabelle 6: Schlaganfall-Scores von Tag 8

Punkte	Distribution
mRS Tag 8, Mittelwert (SD; MD), (n = 403)	1.99 (+/- 1.491; 2.00)
mRS Tag 8, absolut (Prozent), (n = 403)	
0	74 (18.4)
1	108 (26.8)
2	76 (18.9)
3	55 (13.6)
4	75 (18.6)
5	15 (3.7)
NIHSS Tag 8, Mittelwert (SD; MD), (n = 402)	2.42 (+/- 3.434; 1.00)
NIHSS Tag 8, absolut (Prozent), (n = 402)	
Keine Symptomatik (0)	136 (33.7)
Leichter Schlaganfall (1-4)	200 (49.5)
Mittelgradiger Schlaganfall (5-15)	60 (14.9)
Mittelgradiger bis schwerer Schlaganfall (16-20)	4 (1.0)
Schwerer Schlaganfall (>20)	2 (0.5)
Hinweis: Bei einer abweichenden Fallzahl (n ≠ 404) wurden jeweils die gültigen Prozente unter Vernachlässigung der fehlenden Werte angegeben.	

Tabelle 7: Schlaganfall-Scores von Tag 90

Punkte	Distribution
mRS Tag 90, Mittelwert (SD; MD), (N = 404)	1.60 (+/- 1.448; 1.00)
mRS Tag 90, absolut (Prozent), (N = 404)	
0	100 (24.8)
1	131 (32.4)
2	84 (20.8)
3	28 (6.9)
4	48 (11.9)
5	7 (1.7)
6	6 (1.5)
NIHSS Tag 90, Mittelwert (SD; MD), (n = 349)	1.39 (+/- 2.646; .00)
NIHSS Tag 90, absolut (Prozent), (n = 349)	
Keine Symptomatik (0)	179 (44.3)
Leichter Schlaganfall (1-4)	143 (35.4)
Mittelgradiger Schlaganfall (5-15)	25 (6.2)
Mittelgradiger bis schwerer Schlaganfall (16-20)	1 (0.2)
Schwerer Schlaganfall (>20)	1 (0.2)
Hinweis: Bei einer abweichenden Fallzahl (N ≠ 404) wurden jeweils die gültigen Prozente unter Vernachlässigung der fehlenden Werte angegeben.	

3.2 Dependenzanalysen

Nachfolgend werden die Resultate der bivariaten sowie multivariaten Dependenzanalysen in Text- sowie Tabellenform dargestellt. Zusätzlich wurden *Boxplot*-Graphiken und Streudiagramme zur Visualisierung von Unterschieden und Zusammenhängen angefertigt.

Sowohl die IGF-1- als auch die IGFBP-3-Werte vom Tag 0 und vom Tag 8 lagen annähernd normalverteilt vor (siehe Appendix, Abbildungen 3-6). Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf die Darstellung der Normalverteilungsplots der einzelnen Parameter nach einer erfolgten Dichotomie verzichtet.

3.2.1 IGFBP-3

Die Auswertung der Plasmaspiegelmessungen des IGFBP-3 aus den Blutproben von Tag 0 ergaben einen Median von 3.260 Mikrogramm pro Milliliter (nachfolgend: $\mu\text{g/ml}$; $N = 404$; $M = 3.302 \mu\text{g/ml}$; $SD = 1.055 \mu\text{g/ml}$; $IQR = 1.38 \mu\text{g/ml}$). Das 25te Perzentil lag bei $2.550 \mu\text{g/ml}$ und das 75te Perzentil lag bei $3.93 \mu\text{g/ml}$.

Bezüglich der Plasmamessungen des IGFBP-3 von Tag 8 konnte ein Median von $3.345 \mu\text{g/ml}$ ermittelt werden ($N = 404$; $M = 3.351 \mu\text{g/ml}$; $SD = 1.128 \mu\text{g/ml}$; $IQR = 1.57 \mu\text{g/ml}$).

Da es sich bei den IGFBP-3-Hormonmessungen von Tag 0 und Tag 8 um verbundene Stichproben handelte (es lagen Messwiederholungen vor und in beiden Gruppen waren die Patienten identisch), wurde zum Test auf Mittelwertsunterschiede, bezogen auf die IGFBP-3-Spiegel des gesamten Patientenkollektivs, der gepaarte t-Test eingesetzt. Es konnte kein signifikanter Mittelwertsunterschied der IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 und von Tag 8 festgestellt werden ($M \text{ Tag } 0 = 3.302 \mu\text{g/ml}$; $M \text{ Tag } 8 = 3.351 \mu\text{g/ml}$; gepaarter t-Test: $t(403) = -1.367$; $p = 0.172$; $N = 404$).

Bei der isolierten Betrachtung der Männer ließ sich ebenfalls kein signifikanter Lageunterschied zwischen den IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0 und denen von Tag 8 feststellen ($M \text{ Tag } 0 = 3.201 \mu\text{g/ml}$; $M \text{ Tag } 8 = 3.274 \mu\text{g/ml}$; gepaarter t-Test: $t(260) = -1.710$; $p = 0.088$; $n = 261$). Die alleinige Analyse der Frauen ergab ebenso keinen signifikanten Mittelwertsunterschied ($M \text{ Tag } 0 = 3.486 \mu\text{g/ml}$; $M \text{ Tag } 8 = 3.490 \mu\text{g/ml}$; gepaarter t-Test: $t(142) = -0.067$; $p = 0.946$; $n = 143$).

Bezüglich der IGFBP-3-Messungen von Tag 0 wiesen die Frauen einen signifikant höheren IGFBP-3-Mittelwert (3.486 µg/ml) als die Männer (3.201 µg/ml) auf (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.840$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = 2.612$; $p = 0.009$). Die IGFBP-3-Messung vom Tag 8 ergab keinen signifikanten Mittelwertsunterschied zwischen Mann und Frau (M Männer: 3.274 µg/ml; M Frauen: 3.490 µg/ml; Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.923$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = 1.846$; $p = 0.066$).

Die Visualisierung der Häufigkeitsverteilungen für das IGFBP-3, aufgeteilt nach Geschlecht und Tag der Messung, findet sich zusammengefasst in einer gruppierten *Boxplot*-Analyse (Abbildung 3).

In multiplen *Boxplot*-Analysen mit den IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0 und Tag 8 sowie der mRS (0-6) und der NIHSS (kategorisiert nach Bradley)¹⁰⁴ von Tag 90 zeigte sich, dass mit steigendem Punktwert auf der mRS und der NIHSS die Mediane der Hormonspiegel tendenziell sanken (aus Gründen der Übersichtlichkeit im Appendix, Abbildungen 7-10).

In einem nächsten Schritt wurde anhand einer Dichotomie der mRS-Werte von Tag 0, 8 und 90 jeweils in „gut“ (0-2 Punkte) und „schlecht“ (3-6 Punkte) mittels t-Test auf Lageunterschiede der IGFBP-3-Hormonspiegel zwischen den beiden Patientengruppen getestet. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind an dieser Stelle lediglich die p-Werte der t-Tests aufgeführt. Nähere Informationen zu den Testungen finden sich als Erläuterungen unter den dazugehörigen *Boxplot*-Abbildungen (Abbildungen 4-7).

Zwischen den beiden mRS-Gruppen von Tag 0 ergab sich kein signifikanter Mittelwertsunterschied bezüglich der IGFBP-3-Werte von Tag 0 ($p = 0.089$; Abbildung 4); allerdings ließen sich hochsignifikant niedrigere IGFBP-3-Spiegel von Tag 8 in der Patientengruppe mit dem schlechteren mRS von Tag 8 demonstrieren ($p < 0.001$; Abbildung 5). Auch zeigten die Testungen auf Lageunterschiede zwischen den mRS-Gruppen von Tag 90 sowohl bezogen auf die IGFBP-3-Werte von Tag 0 als auch von Tag 8 hochsignifikant niedrigere IGFBP-3-Spiegel in der Patientengruppe mit dem jeweils schlechten *Outcome* ($p < 0.001$ in beiden Fällen; Abbildungen 6 und 7).

Auch anhand der NIHSS von den Tagen 0, 8 und 90 wurde eine Dichotomie in eine Gruppe mit jeweils 0-4 NIHSS-Punkten und eine Gruppe mit 5-42 NIHSS-Punkten durchgeführt und anhand dieser mit t-Tests auf Mittelwertsunterschiede der Hormonspiegelverteilung getestet. Auch an

dieser Stelle finden sich aus Gründen der Übersichtlichkeit lediglich die p-Werte, nähere Informationen finden sich in den Erläuterungen der *Boxplot*-Abbildungen, mit Hilfe derer die Häufigkeitsverteilungen der IGFBP-3-Spiegel (von Tag 0 und Tag 8) in beiden Gruppen visualisiert wurden (Abbildungen 8-11). Der festgelegte NIHSS-Grenzwert lag bei 4 Punkten; somit wurden die Patienten, gemäß Bradley und analog zu der durchgeführten mRS-Dichotomie, in eine Gruppe mit fehlender Symptomatik oder lediglich leichter Beeinträchtigung und eine Gruppe mit höhergradiger Beeinträchtigung unterteilt (vgl. Kapitel 3.1.1).¹⁰⁴

Die Ergebnisse waren mit denen der mRS-Dichotomie vergleichbar: Zwar zeigten sich keine signifikanten Lageunterschiede der IGFBP-3-Werte von Tag 0 in den NIHSS-Gruppen von Tag 0 ($p = 0.115$; Abbildung 8), allerdings ergaben sich nach Dichotomie der NIHSS-Werte von Tag 8 hochsignifikant niedrigere IGFBP-3-Spiegel von Tag 8 innerhalb der Patientengruppe mit dem schlechteren *Outcome* ($p < 0.001$; Abbildung 9). Außerdem ergaben sich nach Dichotomie anhand der NIHSS von Tag 90 signifikant niedrigere IGFBP-3-Spiegel - sowohl der Spiegel von Tag 0 als auch von Tag 8 - in der Patientengruppe mit dem schlechteren *Outcome* ($p = 0.005$; $p = 0.002$; Abbildungen 10 und 11).

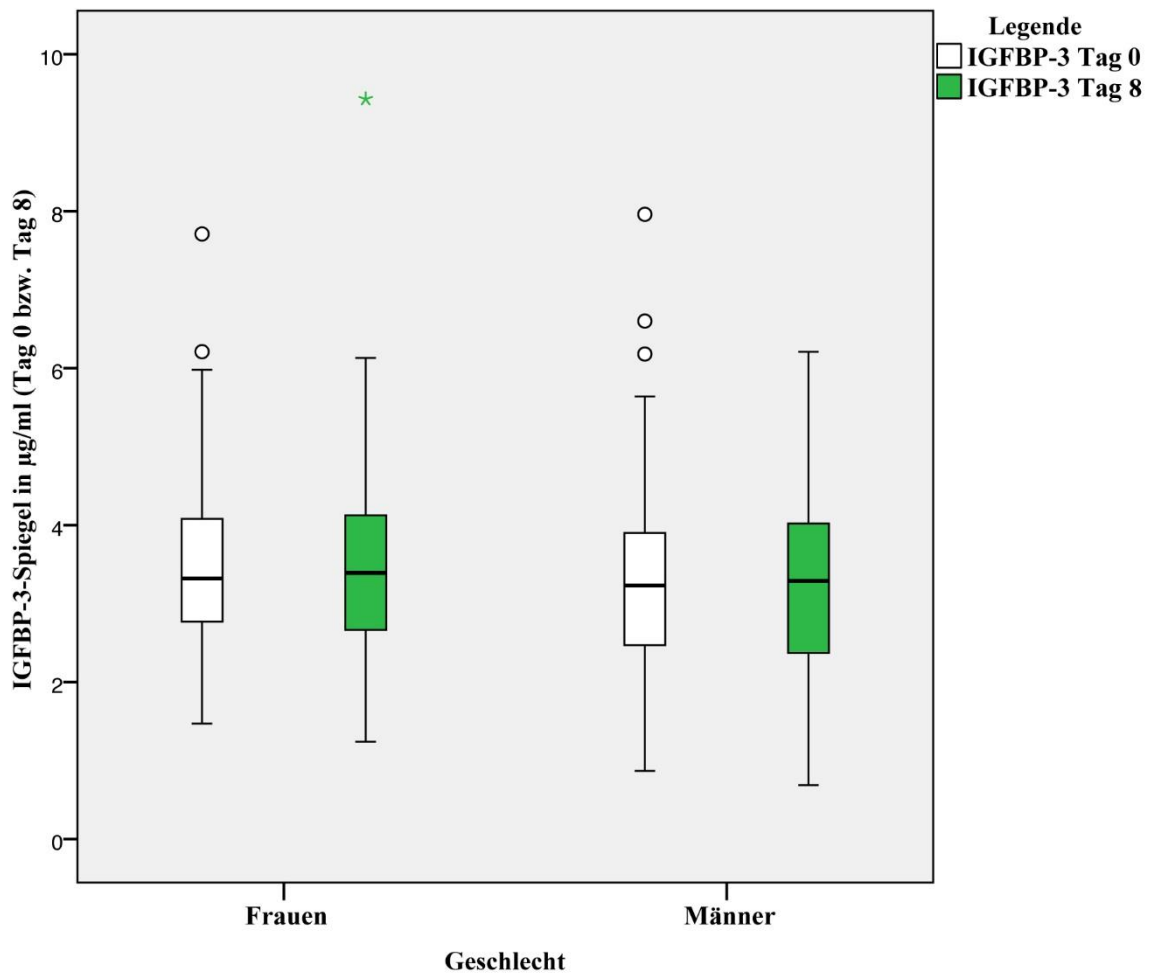


Abbildung 3: Die IGFBP-3-Verteilung nach Geschlecht und Messtag

Weder bei den Frauen noch bei den Männern konnte ein signifikanter Mittelwertsunterschied zwischen den Messungen der Tage 0 und 8 festgestellt werden (Männer: M Tag 0 = 3.201 µg/ml; M Tag 8 = 3.274 µg/ml; gepaarter t-Test: $t(260) = -1.710$; $p = 0.088$; $n = 261$; Frauen: M Tag 0 = 3.486 µg/ml; M Tag 8 = 3.490 µg/ml; gepaarter t-Test: $t(142) = -0.067$; $p = 0.946$; $n = 143$).

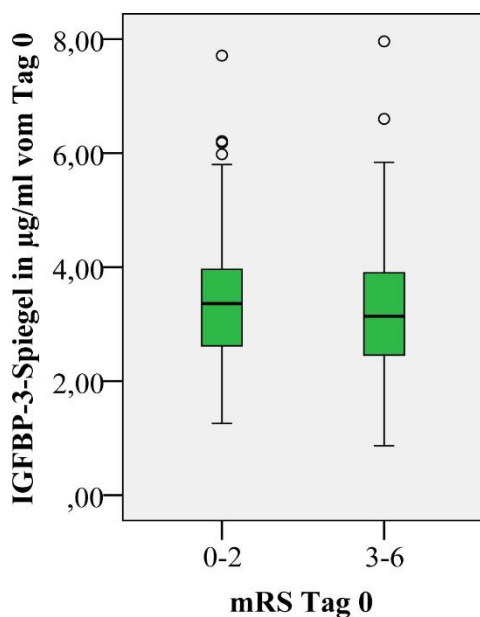


Abbildung 4: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 0) nach mRS-Dichotomie (Tag 0)

Der Mittelwert der Gruppe „0-2“ lag bei 3.380 µg/ml (n = 229), der Mittelwert der Gruppe „3-6“ bei 3.200 µg/ml (n = 175). Es gab keinen signifikanten Lageunterschied bzgl. der Mittelwerte (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.160$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = 1.703$; $p = 0.089$).

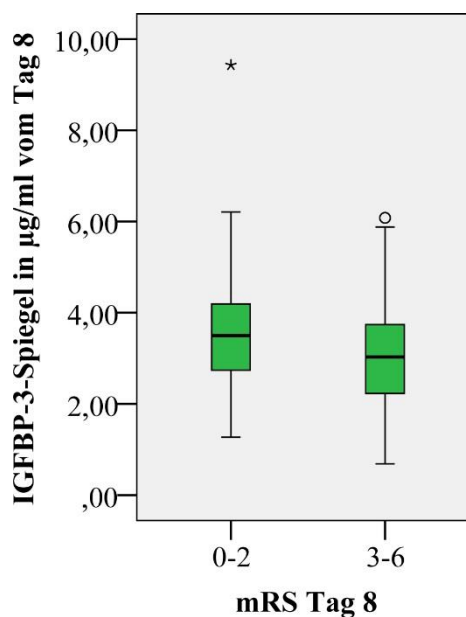


Abbildung 5: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 8) nach mRS-Dichotomie (Tag 8)

Der Mittelwert der Gruppe „0-2“ lag bei 3.534 µg/ml (n = 229), der Mittelwert der Gruppe „3-6“ bei 3.025 µg/ml (n = 145). Die IGFBP-3-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.905$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(401) = 4.446$; $p < 0.001$).

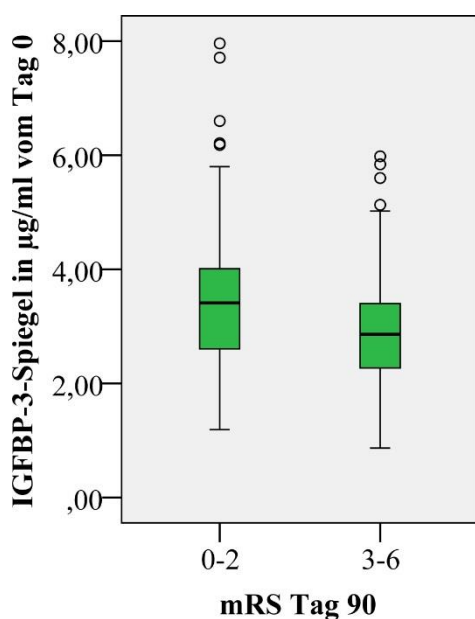


Abbildung 6: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 0) nach mRS-Dichotomie (Tag 90)

Der Mittelwert der Gruppe „0-2“ lag bei 3.403 µg/ml (n = 315), der Mittelwert der Gruppe „3-6“ bei 2.943 µg/ml (n = 89). Die IGFBP-3-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.685$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = 3.691$; $p < 0.001$).

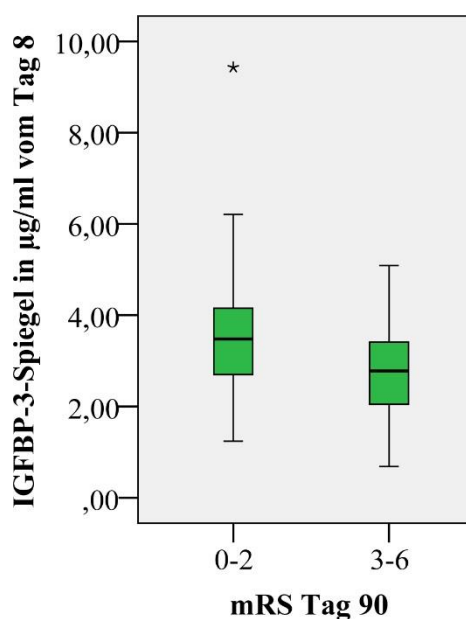


Abbildung 7: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 8) nach mRS-Dichotomie (Tag 90)

Der Mittelwert der Gruppe „0-2“ lag bei 3.514 µg/ml (n = 315), der Mittelwert der Gruppe „3-6“ bei 2.772 µg/ml (n = 89). Die IGFBP-3-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.291$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = 5.691$; $p < 0.001$).

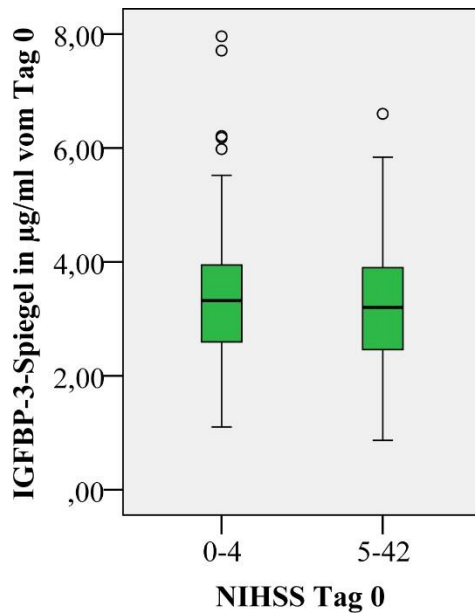


Abbildung 8: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 0) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 0)

Der Mittelwert der Gruppe „0-4“ lag bei 3.3650 µg/ml (n = 255), der Mittelwert der Gruppe „5-42“ bei 3.194 µg/ml (n = 149). Es gibt keinen signifikanten Lageunterschied bzgl. der Mittelwerte (Levene-Test der Varianzgleichheit: p = 0.456; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: t(402) = 1.578; p = 0.115).

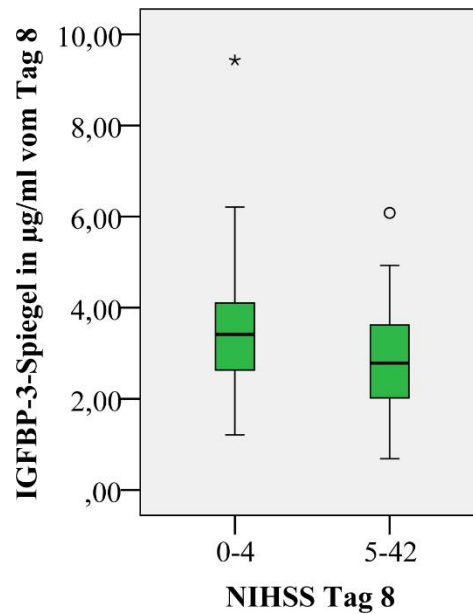


Abbildung 9: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 8) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 8)

Der Mittelwert der Gruppe „0-4“ lag bei 3.441 µg/ml (n = 336), der Mittelwert der Gruppe „5-42“ bei 2.886 µg/ml (n = 66). Die IGFBP-3-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: p = 0.695; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: t(400) = 3.707; p < 0.001).

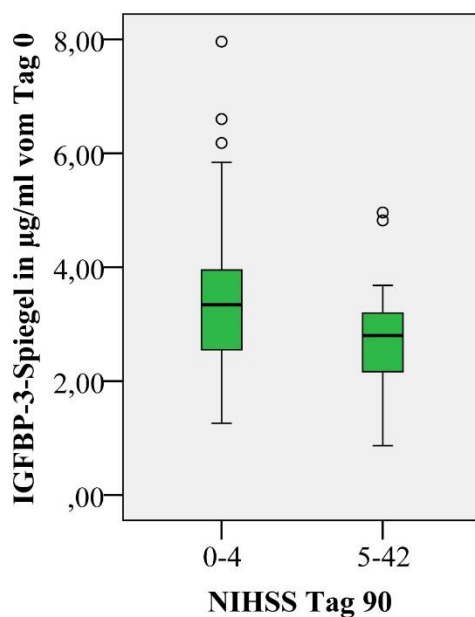


Abbildung 10: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 0) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 90)

Der Mittelwert der Gruppe „0-4“ lag bei 3.310 µg/ml (n = 322), der Mittelwert der Gruppe „5-42“ bei 2.740 µg/ml (n = 27). Die IGFBP-3-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: p = 0.166; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: t(347) = 2.842; p = 0.005).

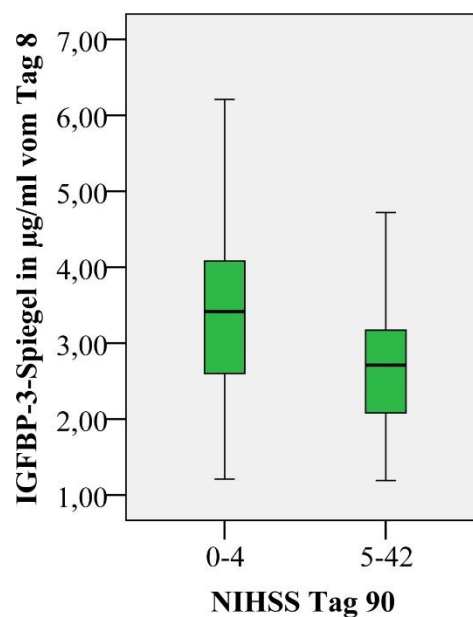


Abbildung 11: Die IGFBP-3-Verteilung (Tag 8) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 90)

Der Mittelwert der Gruppe „0-4“ lag bei 3.403 µg/ml (n = 322), der Mittelwert der Gruppe „5-42“ bei 2.743 µg/ml (n = 27). Die IGFBP-3-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: p = 0.398; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: t(347) = 3.133; p = 0.002).

3.2.2 IGF-1

Die Auswertung des IGF-1 von Tag 0 ergab einen Median von 112.000 Nanogramm pro Milliliter (nachfolgend: ng/ml) (N = 404; M = 116.747 ng/ml; SD = 48.589 ng/ml; IQR = 66.925 ng/ml).

Bei den IGF-1-Spiegeln von Tag 8 zeigte sich ein Median von 119.000 ng/ml (N = 404; M = 127.811 ng/ml; SD = 56.059 ng/ml; IQR = 78.425 ng/ml).

Identisch zu den IGFBP-3-Hormonmessungen handelte es sich auch bei den IGF-1-Hormonmessungen von Tag 0 und Tag 8 um verbundene Stichproben (es lagen Messwiederholungen vor und in beiden Gruppen waren die Patienten identisch). Zum Test auf Mittelwertsunterschiede wurde daher der gepaarte t-Test eingesetzt. Es zeigte sich, dass, bezogen auf die gesamte Studienpopulation, der IGF-1-Mittelwert von Tag 8 hochsignifikant höher war als der IGF-1-Mittelwert von Tag 0 (M Tag 0 = 116.747 ng/ml; M Tag 8 = 127.811 ng/ml; gepaarter t-Test: $t(403) = -5.969$; $p < 0.001$; N = 404).

Auch bei der isolierten Betrachtung der Männer ließ sich ein hochsignifikanter IGF-1-Mittelwertsanstieg (von 122.618 ng/ml auf 132.969 ng/ml) zwischen den Messungen von Tag 0 und den Messungen von Tag 8 zeigen (gepaarter t-Test: $t(260) = -4.639$; $p < 0.001$; n = 261). Die isolierte Analyse der Frauen zeigte ebenfalls einen hochsignifikanten IGF-1-Mittelwertsanstieg (von 106.032 ng/ml auf 118.398 ng/ml) zwischen den Messungen von Tag 0 und den Messungen von Tag 8 (gepaarter t-Test: $t(142) = -3.746$; $p < 0.001$; n = 143).

Die Männer wiesen bei der IGF-1-Messung von Tag 0 einen signifikant höheren IGF-1-Mittelwert (122.618 ng/ml, n = 261) als die Frauen (106.032 ng/ml, n = 143) auf (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.398$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = -3.322$; $p = 0.001$). Bezüglich der IGF-1-Messung von Tag 8 ließ sich bei den Männern ebenfalls ein signifikant höherer IGF-1-Mittelwert nachweisen (Männer: 132.967 ng/ml; Frauen: 118.398 ng/ml; Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.577$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = -2.515$; $p = 0.012$).

Die IGF-1-Häufigkeitsverteilung bezüglich des Geschlechts wurde in einer *Boxplot*-Graphik veranschaulicht (Abbildung 12).

In Analogie zu den durchgeführten *Boxplot*-Analysen des IGFBP-3 wurden auch die Häufigkeitsverteilungen der ermittelten IGF-1-Hormonspiegel (jeweils Tag 0 und Tag 8) in Form von *Boxplot*-Diagrammen über die gesamte mRS vom Tag 90 beziehungsweise die NIHSS vom Tag 90, kategorisiert nach Bradley, veranschaulicht. Auch hier war zu erkennen: Je schlechter das Schlaganfall-*Outcome* nach drei Monaten, desto geringer die Median-Werte der Hormonspiegelverteilung (siehe Appendix, Abbildungen 11-14).

Analog zum Vorgehen bei der Evaluation der IGFBP-3-Spiegel wurden auch die IGF-1-Werte anhand der mRS-Werte von Tag 0, 8 und 90 in „gut“ (mRS = 0-2 Punkte) und „schlecht“ (mRS = 3-6 Punkte) dichotomisiert und die erhobenen IGF-1-Werte anhand der Dichotomie auf Lageunterschiede innerhalb der beiden Patientengruppen geprüft. Die Datenverteilung wurde in *Boxplot*-Graphiken visualisiert (Abbildungen 13-16). An dieser Stelle werden lediglich die entsprechenden p-Werte aufgeführt, nähere Informationen finden sich in den jeweiligen Bildunterschriften. Es ergaben sich weder signifikante Mittelwertsunterschiede der IGF-1-Spiegel von Tag 0 nach Dichotomie anhand der mRS von Tag 0 noch signifikante Mittelwertsunterschiede der IGF-1-Spiegel von Tag 8 nach Dichotomie anhand der mRS von Tag 8 (Abbildungen 13,14; $p = 0.715$; $p = 0.575$) Allerdings ließen sich signifikant niedrigere IGF-1-Spiegel in der Patientengruppe mit dem jeweils schlechteren mRS-*Outcome* an Tag 90 sowohl für die IGF-1-Spiegel von Tag 0 als auch der IGF-1-Spiegel von Tag 8 demonstrieren (Abbildungen 15,16; $p = 0.020$; $p = 0.009$).

Die Dichotomie der IGF-1-Spiegel anhand der NIHSS von Tag 0, 8 und 90 in die Gruppen „0-4 Punkte“ und „5-42 Punkte“ ergab keine signifikanten Lageunterschiede bezüglich der IGF-1-Spiegel von Tag 0 und 8 und den entsprechenden NIHSS-Werten von Tag 0 und 8 (Abbildungen 17,18; weitergehende Informationen siehe Bildunterschriften; $p = 0.655$; $p = 0.175$). In den Patientengruppen mit dem jeweils schlechten *Outcome* (NIHSS = 5-42 Punkte) ließen sich nach Dichotomie anhand der NIHSS von Tag 90 sowohl für die IGF-1-Spiegel von Tag 0 als auch für die IGF-1-Spiegel von Tag 8 signifikant niedrigere IGF-1-Werte nachweisen als in der Vergleichsgruppe mit dem besseren *Outcome* (Abbildungen 19,20; $p = 0.012$; $p = 0.027$).

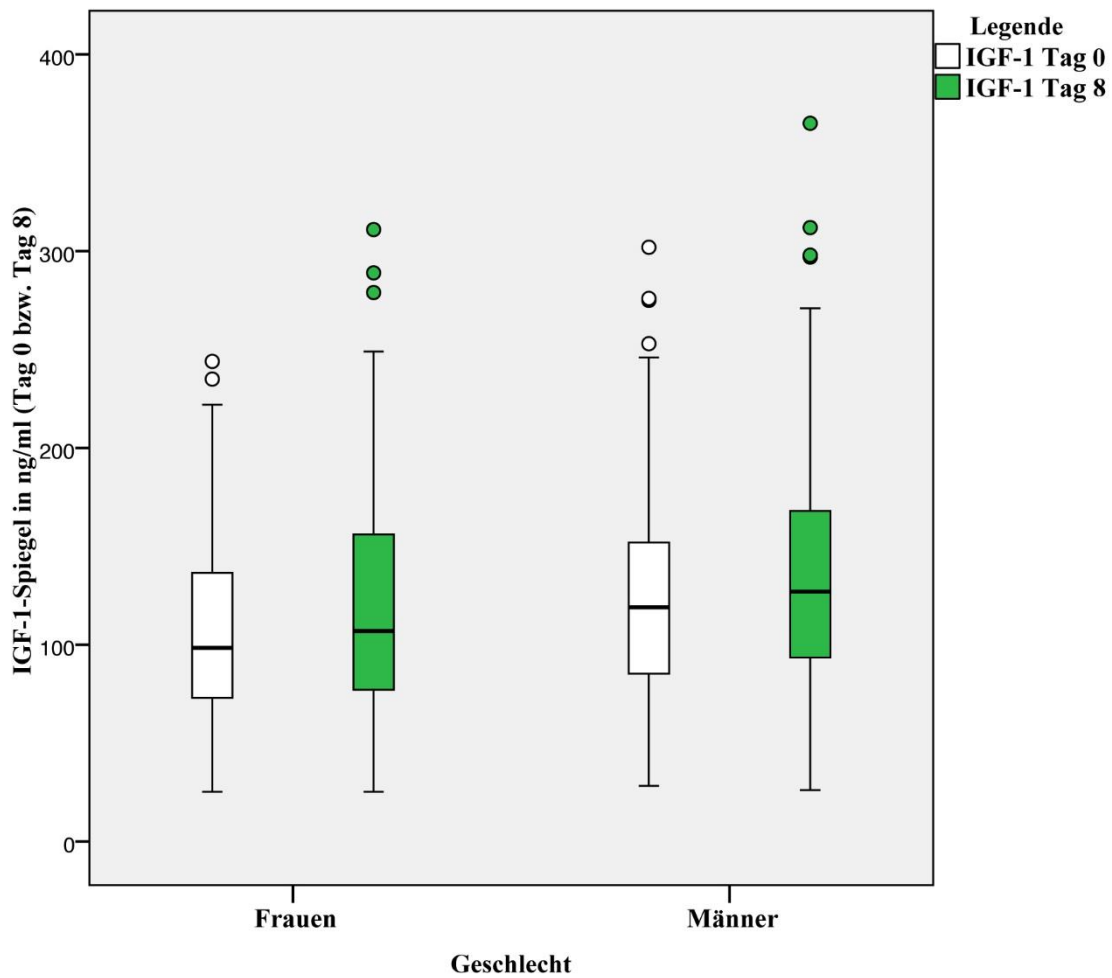


Abbildung 12: IGF-1-Verteilung nach Geschlecht und Messtag

Sowohl bei den Frauen als auch bei den Männern zeigten sich statistisch signifikante Anstiege der mittleren IGF-1-Spiegel zwischen den Messungen an Tag 0 und Tag 8 (Männer: von 122.618 ng/ml auf 132.969 ng/ml, gepaarter t-Test: $t(260) = -4.639$; $p < 0.001$; $n = 261$; Frauen: von 106.032 ng/ml auf 118.398 ng/ml, gepaarter t-Test: $t(142) = -3.746$; $p < 0.001$; $n = 143$).

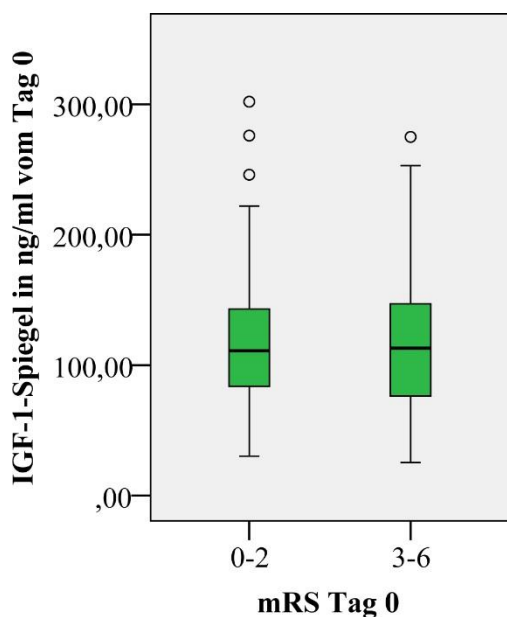


Abbildung 13: Die IGF-1-Verteilung (Tag 0) nach mRS-Dichotomie (Tag 0)

Der Mittelwert der Gruppe „0-2“ lag bei 115.976 ng/ml ($n = 229$), der Mittelwert der Gruppe „3-6“ bei 117.757 ng/ml ($n = 175$). Es gab keinen signifikanten Lageunterschied bzgl. der Mittelwerte (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.091$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = -0.365$; $p = 0.715$).

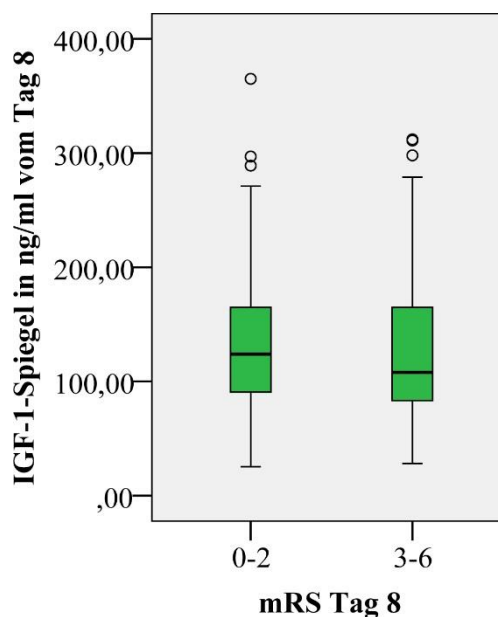


Abbildung 14: Die IGF-1-Verteilung (Tag 8) nach mRS-Dichotomie (Tag 8)

Der Mittelwert der Gruppe „0-2“ lag bei 129.029 ng/ml ($n = 258$), der Mittelwert der Gruppe „3-6“ bei 125.754 ng/ml ($n = 145$). Es gab keinen signifikanten Lageunterschied bzgl. der Mittelwerte (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.076$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(401) = 0.562$; $p = 0.575$).

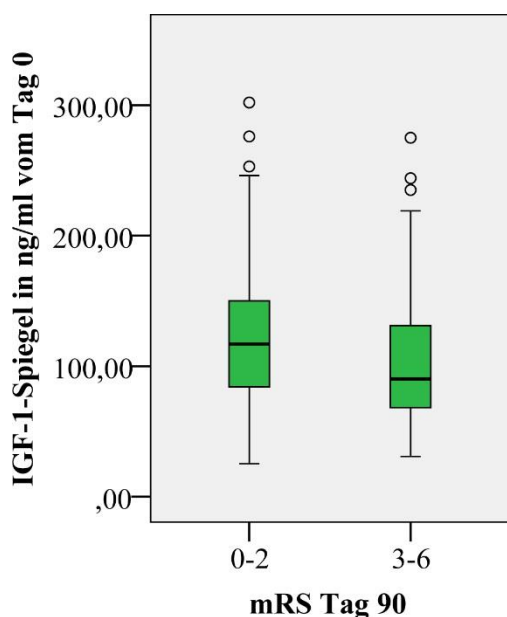


Abbildung 15: Die IGF-1-Verteilung (Tag 0) nach mRS-Dichotomie (Tag 90)

Der Mittelwert der Gruppe „0-2“ lag bei 119.724 ng/ml ($n = 315$), der Mittelwert der Gruppe „3-6“ bei 106.210 ng/ml ($n = 89$). Die IGF-1-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.479$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = 2.330$; $p = 0.020$).

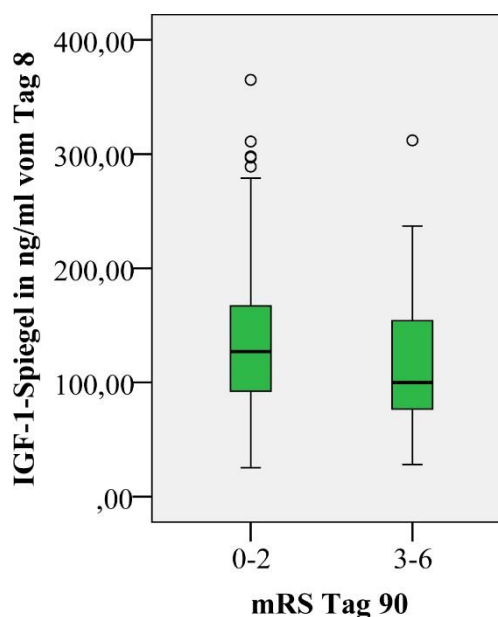


Abbildung 16: Die IGF-1-Verteilung (Tag 8) nach mRS-Dichotomie (Tag 90)

Der Mittelwert der Gruppe „0-2“ lag bei 131.655 ng/ml ($n = 315$), der Mittelwert der Gruppe „3-6“ bei 114.206 ng/ml ($n = 89$). Die IGF-1-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.934$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = 2.612$; $p = 0.009$).

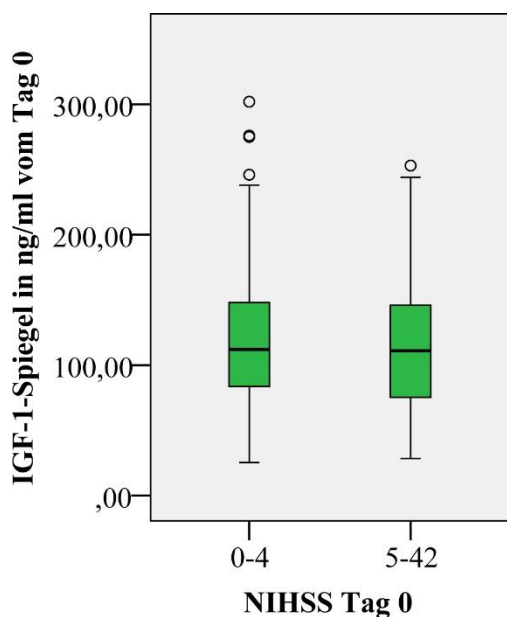


Abbildung 17: Die IGF-1-Verteilung (Tag 0) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 0)

Der Mittelwert der Gruppe „0-4“ lag bei 117.575 ng/ml ($n = 255$), der Mittelwert der Gruppe „5-42“ bei 115.331 ng/ml ($n = 149$). Es gab keinen signifikanten Lageunterschied bzgl. der Mittelwerte (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.662$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(402) = 0.447$; $p = 0.655$).

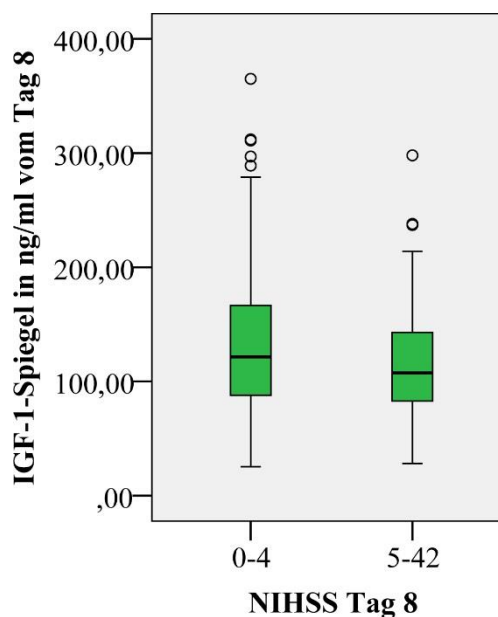


Abbildung 18: Die IGF-1-Verteilung (Tag 8) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 8)

Der Mittelwert der Gruppe „0-4“ lag bei 129.335 ng/ml ($n = 336$), der Mittelwert der Gruppe „5-42“ bei 119.080 ng/ml ($n = 66$). Es gab keinen signifikanten Lageunterschied bzgl. der Mittelwerte (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.655$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(400) = 1.360$; $p = 0.175$).

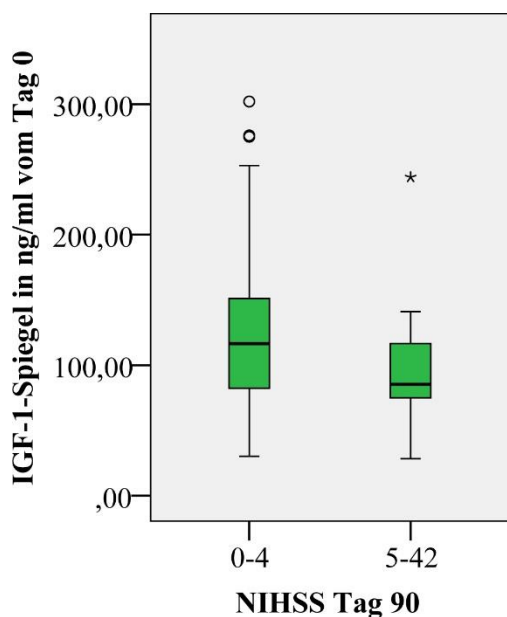


Abbildung 19: Die IGF-1-Verteilung (Tag 0) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 90)

Der Mittelwert der Gruppe „0-4“ lag bei 119.762 ng/ml ($n = 322$), der Mittelwert der Gruppe „5-42“ bei 94.885 ng/ml ($n = 27$). Die IGF-1-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.221$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(347) = 2.529$; $p = 0.012$).

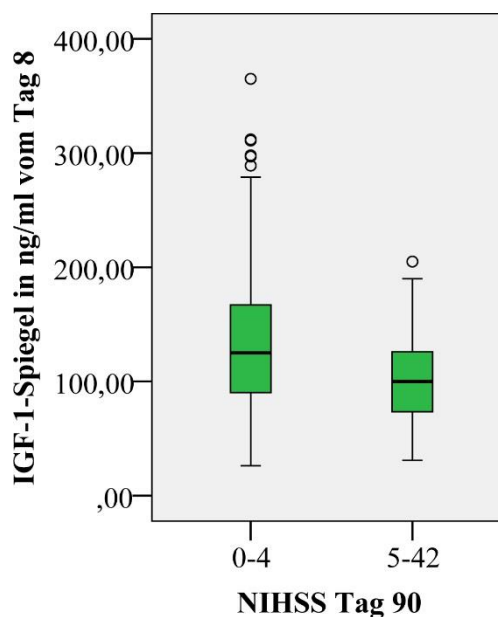


Abbildung 20: Die IGF-1-Verteilung (Tag 8) nach NIHSS-Dichotomie (Tag 90)

Der Mittelwert der Gruppe „0-4“ lag bei 130.915 ng/ml ($n = 322$), der Mittelwert der Gruppe „5-42“ bei 106.011 ng/ml ($n = 27$). Die IGF-1-Mittelwerte unterschieden sich signifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.294$; Varianzgleichheit angenommen; t-Test: $t(347) = 2.227$; $p = 0.027$).

3.2.3 Patientenparameter bei dichotomisierten IGFBP-3-Spiegeln

Die Gruppierung der IGFBP-3-Hormonplasmaspiegel (von Tag 0) in die beiden Kategorien „niedrige Spiegel“ und „normale Spiegel“ ergab 120 Patienten, die einen niedrigen Blutspiegel aufwiesen; 284 Probanden zeigten normalwertige Spiegel. Wie schon in Kapitel 2.4.2.2 beschrieben, handelte es sich bei den „niedrigen“ IGFBP-3-Spiegeln um Werte, die unterhalb der zweifachen Standardabweichung vom altersadjustierten Mittelwert der Referenzliste (gemäß Elmlinger et al.) lagen; als „normal“ galten Messergebnisse, die innerhalb des Bereiches der zweifachen Standardabweichung lagen und in die Kategorie „hoch“ fielen die Werte, welche oberhalb der zweifachen Standardabweichung lagen. Die genannte Referenzliste wurde mittels Immulite[®] Chemilumineszenz-Assays erstellt.¹⁰⁵ Diese Definition war weiterhin angelehnt an die IGFBP-3-Studie von Ebinger et al.¹⁷ Aufgrund der geringen Fallzahl in der Patientengruppe mit den hohen Werten ($n = 10$) wurden die Kategorien „normal“ und „hoch“ zu der Kategorie „normal“ zusammengefasst, sodass sich eine dichotome Datenverteilung ergab.

Anhand der Dichotomie wurden die einzelnen Patientenparameter auf Lageunterschiede und Zusammenhänge getestet. Eine Zusammenfassung der Teststatistiken mit Angabe der jeweiligen p-Werte findet sich in Tabelle 8. Bei Abweichungen von der Gesamtfallzahl ($N = 404$) wurde dies in der Tabelle vermerkt. Das Signifikanzniveau α wurde auf $\alpha = 0.05$ festgelegt.

Zu beachten ist, dass die mRS streng genommen eine ordinal skalierte Variable darstellt. Da bei Variablen mit ordinalem Charakter parametrische Testverfahren nicht angewendet werden sollten, kam zwar der Mann-Whitney-U-Test zur Testung auf Lageunterschiede innerhalb der IGFBP-3-Gruppen zum Einsatz, im Fließtext wurden hingegen zur Verdeutlichung der Unterschiede bezüglich der zentralen Tendenz der mRS-Erhebungen Mittelwertsdifferenzen angegeben; dies soll jedoch keineswegs eine kontinuierliche Skala suggerieren. In der Tabelle wurden stets die Mediane angegeben, die jedoch nicht immer einen im Test signifikanten Lageunterschied ersichtlich machten, aber gegenüber statistischen Ausreißern robust sind und den ordinalen Charakter der mRS unterstreichen.

Bezüglich der Häufigkeiten innerhalb der Kontingenztafel mit den Variablen Geschlecht und den IGFBP-3-Kategorien konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang gezeigt werden. Der Anteil der Männer war in der Gruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Spiegeln im Vergleich mit der anderen Gruppe um rund 16 Prozentpunkte erhöht. Diese unterschiedliche Geschlechterverteilung

innerhalb der beiden Gruppen war statistisch signifikant (Fisher's Exakter Test; $N = 404$; $p = 0.002$).

Weiterhin wurden mittels Mann-Whitney-U-Test statistisch signifikante Lageunterschiede der Variablen „mRS von Tag 8“ und „mRS von Tag 90“ zwischen den beiden IGFBP-3-Patientengruppen gefunden. Die mRS von Tag 8 erwies sich in der Patientengruppe mit niedrigen IGFBP-3-Spiegeln als signifikant höher (M mRS Tag 8 in der IGFBP-3-Kategorie „niedrig“ = 2.23; M mRS Tag 8 in der IGFBP-3-Kategorie „normal“ = 1.88; $U = -2.122$; $p = 0.034$). Ebenso zeigte sich eine signifikant höhere mRS von Tag 90 in der IGFBP-3-Gruppe mit den niedrigen Spiegeln (M mRS Tag 90 in der IGFBP-3-Kategorie „niedrig“ = 1.89; M mRS Tag 90 in der IGFBP-3-Kategorie „normal“ = 1.48; $U = -2.652$; $p = 0.008$).

Bezüglich der gemessenen IGF-1-Spiegel von Tag 0 und von Tag 8 wurden hochsignifikante Mittelwertsunterschiede zwischen den beiden IGFBP-3-Hormongruppen festgestellt. Die IGF-1-Spiegel von Tag 0 waren bei den Patienten mit den ebenfalls niedrigen IGFBP-3-Spiegeln hochsignifikant niedriger (M IGF-1 von Tag 0 in der IGFBP-3-Gruppe „niedrig“ = 88.679 ng/ml; M IGF-1 von Tag 0 in der IGFBP-3-Gruppe „hoch“ = 128.607 ng/ml; Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.019$; Varianzgleichheit nicht angenommen; Welch-Test: $p < 0.001$). Ebenso zeigten die ermittelten IGF-1-Spiegel von Tag 8 in der Patientengruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Werten hochsignifikant niedrigere Werte (M IGF-1 von Tag 8 in der IGFBP-3-Gruppe „niedrig“ = 99.960 ng/ml; M IGF-1 von Tag 8 in der IGFBP-3-Gruppe „hoch“ = 139.579 ng/ml; Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.003$; Varianzgleichheit nicht angenommen; Welch-Test: $p < 0.001$).

Dieser Zusammenhang zwischen dem IGF-1 und dem IGFBP-3 wurde im Sinne einer Pearson-Korrelation (es handelte sich um zwei metrische, normalverteilte Variablen; siehe Normalverteilungsplots im Appendix, Abbildungen 3-6) gesondert statistisch untersucht (Hormonmessungen von Tag 0: $r(402) = 0.621$, $p < 0.001$; Hormonmessungen von Tag 8: $r(402) = 0.685$, $p < 0.001$). Dementsprechend lag eine hochsignifikante positive Korrelation vor, welche graphisch in Streudiagrammen dargestellt wurde (siehe Abbildungen 21, 22).

Die restlichen statistischen Testungen sind der Tabelle 8 zu entnehmen; hier ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse.

Tabelle 8: Patientenparameter bei dichotomisierten IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0

Parameter	IGFBP-3-Spiegel niedrig (n=120)*	IGFBP-3-Spiegel normal (n=284)*	p-Wert
Alter (Jahre), Mittelwert (SD) (N=404)	66.75 (+/- 9.67)	66.80 (+/-11.86)	0.963 [†]
Geschlecht (%) (m/w) (N=404)	75.8/ 24.2	59.5/ 40.1	0.002 [#]
Body-Mass-Index, Mittelwert (SD) (n=398)	27.219 (+/- 4.321)	27.357 (+/- 3.916)	0.757 [‡]
NIHSS Tag 0, Median (IQR) N=404)	3 (1-6)	3 (1-5)	0.401 [§]
NIHSS Tag 8, Median (IQR) (n=402)	1 (0-3)	1 (0-3)	0.308 [§]
NIHSS Tag 90, Median (IQR) (n=349)	1 (0-2)	0 (0-1)	0.140 [§]
mRS Tag 0, Median (IQR) (N=404)	2 (1-3)	2 (1-3)	0.267 [§]
mRS Tag 8, Median (IQR) (n=403)	2 (1-4)	2 (1-3)	0.034 [§]
mRS Tag 90, Median (IQR) (N=404)	2 (1-3)	1 (0-2)	0.008 [§]
Hyperlipidämie, absolut (%) (N=404)			
- Ja	35 (29.2)	102 (35.9)	0.207 [#]
- Nein	85 (70.8)	182 (64.1)	
Raucherstatus, absolut (%) (n=402)			
-Raucher	35 (29.4)	62 (21.9)	0.276 ^{**}
-Ex-Raucher	33 (27.7)	87 (30.7)	
-Nie geraucht	51 (42.9)	134 (47.3)	
Hypertonie, absolut (%) (N=404)			
- Ja	93 (77.5)	208 (73.2)	0.385 [#]
- Nein	27 (22.5)	76 (26.8)	
Vorhofflimmern, absolut (%) (N=404)			
- Ja	0 (0.0)	4 (1.4)	0.323 [#]
- Nein	120 (100.0)	280 (98.6)	
Herzinsuffizienz, absolut (%) (N=404)			
- Ja	7 (5.8)	9 (3.2)	0.263 [#]
- Nein	113 (94.2)	275 (96.8)	
Diabetes, absolut (%) (N=404)			
- Ja	32 (26.7)	64 (22.5)	0.374 [#]
- Nein	88 (73.3)	220 (77.5)	
Schlaganfälle [vor dem zum Studieneinschluss führenden Ereignis], absolut (%) (N=404)			
- Ja	15 (12.5)	41 (14.4)	0.753 [#]
- Nein	105 (87.5)	243 (85.6)	
IGF-1-Spiegel Tag 0 (ng/ml), Mittelwert (SD) (N=404)	88.679 (+/- 38.187)	128.607 (+/- 47.681)	< 0.001 [†]

IGF-1-Spiegel Tag 8 (ng/ml), Mittelwert (SD) (N=404)	99.960 (+/- 43.607)	139.579 (+/- 56.636)	< 0.001 [†]
---	------------------------	-------------------------	----------------------

***Hinweis:** Bei $N \neq 404$ in den Variablen weichen die angegebenen Fallzahlen für die Hormongruppen entsprechend ab; die angegebenen Fallzahlen der Hormongruppen entsprechen der gesamten Fallzahl der Hormonmessungen.

Legende Tabelle 8:

†	Welch-Test
#	Exakter Test nach Fisher
‡	t-Test
§	Mann-Whitney-U-Test
**	Chi-Quadrat-Test
IQR	Interquartilsabstand
N	Fallzahl (komplett, 404 Patienten)
n	Fallzahl (inkomplett)
SD	Standardabweichung

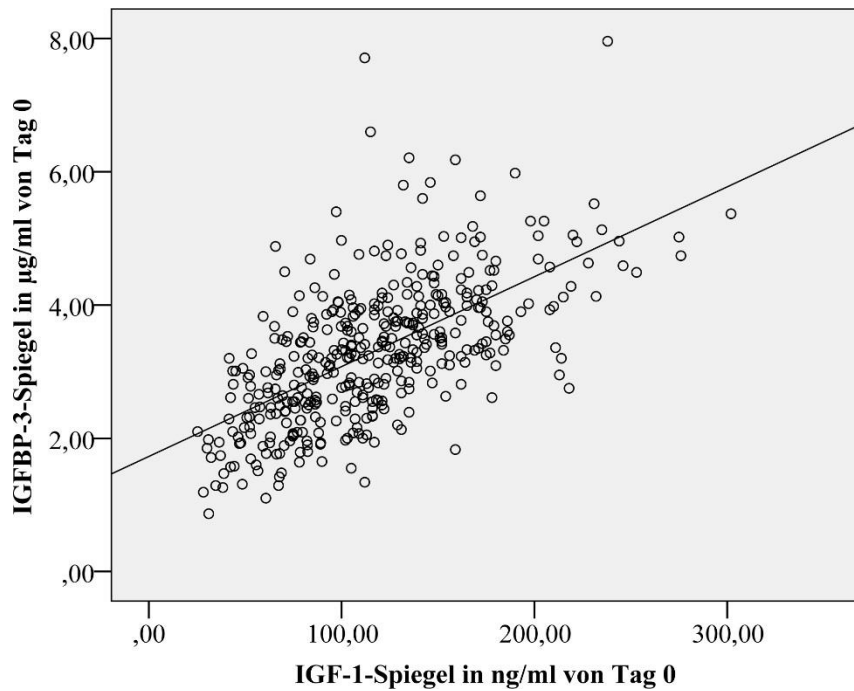


Abbildung 21: Streudiagramm der IGF-1- und IGFBP-3-Werte von Tag 0

Die IGF-1- und die IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 waren gemäß der Pearson-Korrelation hochsignifikant positiv miteinander korreliert ($r(402) = 0.621$, $p < 0.001$): Patienten mit hohen IGF-1-Spiegeln wiesen tendenziell auch hohe IGFBP-3-Spiegel auf und umgekehrt.

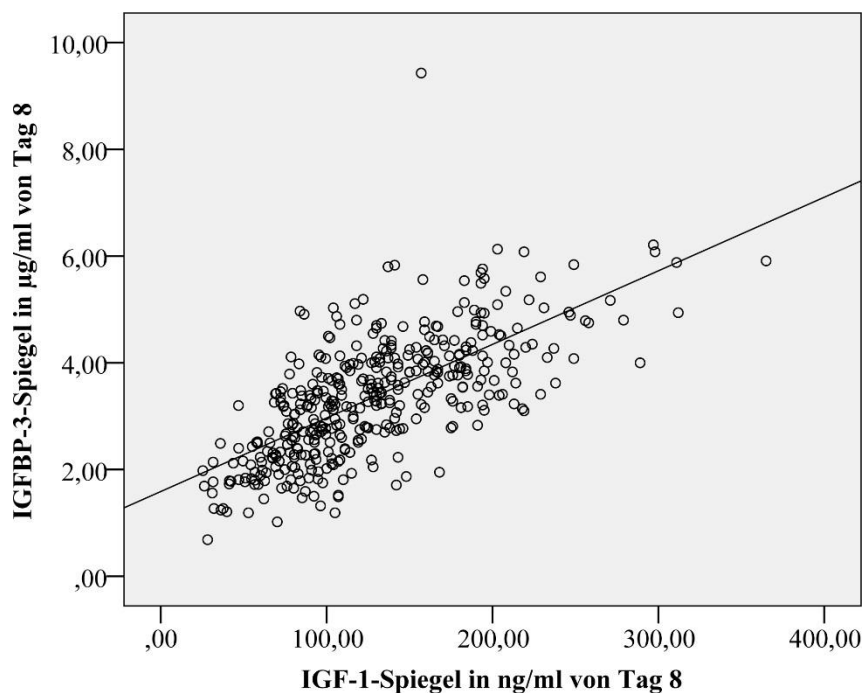


Abbildung 22: Streudiagramm der IGF-1 und IGFBP-3-Werte von Tag 8

Die IGF-1- und die IGFBP-3-Spiegel von Tag 8 waren gemäß der Pearson-Korrelation hochsignifikant positiv miteinander korreliert ($r(402) = 0.685$, $p < 0.001$): Patienten mit hohen IGF-1-Spiegeln wiesen tendenziell auch hohe IGFBP-3-Spiegel auf und umgekehrt.

3.2.4 Patientenparameter bei dichotomisierem Outcome

Die Dichotomie des Schlaganfall-*Outcomes* anhand der mRS von Tag 90 in Patienten mit einem „guten“ (mRS = 0-2) oder einem „schlechten“ *Outcome* (mRS = 3-6) ergab 315 Patienten mit einem „guten“ und 89 Patienten mit einem „schlechten“ *Outcome*. Analog zu den Dependenzanalysen bezüglich des IGFBP-3 wurden auch hier Tests auf Lageunterschiede und Zusammenhänge durchgeführt.

Eine Zusammenfassung der Teststatistiken mit Angabe der jeweiligen p-Werte findet sich in Tabelle 9. Bei Abweichungen von der Gesamtfallzahl (N = 404) wurde dies in der Tabelle vermerkt. Das Signifikanzniveau α wurde auf $\alpha = 0.05$ festgelegt.

Für die Variable „Patientenalter“ konnte gezeigt werden, dass die Patienten mit der höheren mRS am Tag 90 durchschnittlich rund acht Jahre älter waren als die Probanden der Vergleichsgruppe. Dieser Altersunterschied war statistisch hochsignifikant (Levene-Test der Varianzgleichheit: $p = 0.010$; Varianzgleichheit nicht angenommen; Welch-Test: $p < 0.001$).

Hinsichtlich der Geschlechterverteilung in den beiden *Outcome*-Gruppen war der Anteil der Männer in der Patientengruppe mit dem besseren *Outcome* signifikant höher als in der Vergleichsgruppe (67.3 % und 55.1 %; $p = 0.044$).

Weiterhin waren die ermittelten Mediane der einzelnen NIHSS-Erhebungen (an den Tagen 0, 8 und 90) jeweils hochsignifikant niedriger in der Gruppe mit dem besseren *Outcome* (NIHSS Tag 0: MD 2, IQR 1-5 gegenüber MD 6, IQR 4-8, $U = -8.125$; NIHSS Tag 8: MD 1, IQR 0-2 gegenüber MD 5, IQR 3-9, $U = -10.514$; NIHSS Tag 90: MD 0, IQR 0-1 gegenüber MD 3, IQR 1-6, $U = -9.062$; p jeweils < 0.001).

Auch bezüglich der mRS-Erhebungen an den Tagen 0, 8 und 90 ergaben sich hochsignifikant niedrigere mRS-Werte in der Gruppe mit dem besseren *Outcome* (mRS Tag 0: MD 2, IQR 1-3 gegenüber MD 4, IQR 3-4, $U = -8.590$; mRS Tag 8: MD 1, IQR 1-2 gegenüber MD 4, IQR 4-4, $U = -12.663$; mRS Tag 90: MD 1, IQR 0-2 gegenüber MD 4, IQR 3-4, $U = -14.866$; p jeweils < 0.001). Die mRS-Erhebung von Tag 90 ist der Vollständigkeit halber in der Tabelle 9 mit aufgeführt und rein deskriptiv aufzufassen.

In Hinblick auf das Rauchverhalten konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nikotinkonsum und der mRS von Tag 90 demonstriert werden. In der Patientengruppe mit dem besseren *Outcome* waren anteilmäßig mehr Raucher vertreten als in der anderen Gruppe (26.7 % gegenüber 14.9 %; ($X^2(2, N = 402) = 8.148$; $p = 0.017$). Außerdem ließen sich statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen der mRS von Tag 90 und dem Vorliegen einer Herzinsuffizienz, eines Diabetes mellitus und vorheriger Insulte finden. Der Anteil derjenigen Patienten, die eine der genannten Vorerkrankungen vorwiesen beziehungsweise einen dem zum Studieneinschluss führenden ischämischen Ereignis vorausgegangenem Hirninfarkt erlitten hatten, war jeweils in der Patientengruppe mit dem schlechteren *Outcome* signifikant erhöht (Herzinsuffizienz: 10.2 % gegenüber 2.2 %; Diabetes mellitus: 34.8 % gegenüber 20.6 %; vorherige Insulte: 24.7 % gegenüber 10.8 %; $p = 0.002$, $p = 0.007$; $p = 0.002$).

Aus Gründen der Vollständigkeit wurden in Tabelle 9 auch die signifikanten Mittelwertsunterschiede der einzelnen IGF-1- und IGFBP-3-Hormonspiegel innerhalb der beiden *Outcome*-Gruppen aufgeführt. Diese signifikanten Lageunterschiede wurden bereits in den Kapiteln 3.2.1 und 3.2.2 ausführlich abgebildet und besprochen.

Tabelle 9: Patientenparameter bei dichotomisiertem Outcome

Parameter	mRS Tag 90 = 0-2 Punkte (n=315)*	mRS Tag 90 = 3-6 Punkte (n=89)*	p-Wert
Alter (Jahre), Mittelwert (SD) (N=404)	65.06 (+/- 11.099)	72.91 (+/- 9.531)	< 0.001 [†]
Geschlecht, absolut (%) (m/w) (N=404)	212 (67.3) / 103 (32.7)	49 (55.1) / 40 (44.9)	0.044 [#]
Body-Mass-Index, Mittelwert (SD) (n=398)	27.47 (+/- 3.91)	26.76 (+/- 4.44)	0.148 [‡]
NIHSS Tag 0, Median (IQR) (N=404)	2 (1-5)	6 (4-8)	< 0.001 [§]
NIHSS Tag 8, Median (IQR) (n=402)	1 (0-2)	5 (3-9)	< 0.001 [§]
NIHSS Tag 90, Median (IQR) (n=349)	0 (0-1)	3 (1-6)	< 0.001 [§]
mRS Tag 0, Median (IQR) (N=404)	2 (1-3)	4 (3-4)	< 0.001 [§]
mRS Tag 8, Median (IQR) (n=403)	1 (1-2)	4 (4-4)	< 0.001 [§]
mRS Tag 90, Median (IQR) (N=404)	1 (0-2)	4 (3-4)	< 0.001 [§]
Hyperlipidämie, absolut (%) (N=404)			
- Ja	107 (34.0)	30 (33.7)	> 0.999 [#]
- Nein	208 (66.0)	59 (66.3)	
Raucherstatus, absolut (%) (n=402)			
- Raucher	84 (26.7)	13 (14.9)	0.017 ^{**}
- Ex-Raucher	97 (30.8)	23 (26.4)	
- Nie geraucht	134 (42.5)	51 (58.6)	
Hypertension, absolut (%) (N=404)			
- Ja	228 (72.4)	73 (82.0)	0.074 [#]
- Nein	87 (27.6)	16 (18.0)	
Vorhofflimmern, absolut (%) (N=404)			
- Ja	2 (0.6)	2 (2.2)	0.212 [#]
- Nein	313 (99.4)	87 (97.8)	
Herzinsuffizienz, absolut (%) (N=404)			
- Ja	7 (2.2)	9 (10.1)	0.002 [#]
- Nein	308 (97.8)	80 (89.9)	
Diabetes mellitus, absolut (%) (N=404)			
- Ja	65 (20.6)	31 (34.8)	0.007 [#]
- Nein	250 (79.4)	58 (65.2)	

Schlaganfälle [vor dem zum Studieneinschluss führenden Ereignis], absolut (%) (N=404)			
- Ja	34 (10.8)	22 (24.7)	
- Nein	281 (89.2)	67 (75.3)	0.002 [#]
IGF-1 Tag 0 (ng/ml), Mittelwert (SD) (N=404)	119.724 (+/- 47.381)	106.210 (+/- 51.548)	0.020 [†]
IGFBP-3 Tag 0 (µg/ml), Mittelwert (SD) (N=404)	3.403 (+/- 1.039)	2.943 (+/- 1.038)	< 0.001 [‡]
IGF-1 Tag 8 (ng/ml), Mittelwert (SD) (N=404)	131.655 (+/- 55.749)	114.206 (+/- 55.334)	0.009 [‡]
IGFBP-3 Tag 8 (µg/ml), Mittelwert (SD) (N=404)	3.514 (+/- 1.113)	2.772 (+/- 0.982)	< 0.001 [‡]

*Hinweis: Bei $n \neq 404$ in den Variablen weichen die angegeben Fallzahlen für die Hormongruppen entsprechend ab; die angegeben Fallzahlen der Hormongruppen entsprechen der gesamten Fallzahl der Hormonmessungen.

Legende Tabelle 9:

†	Welch-Test
#	Exakter Test nach Fisher
‡	t-Test
§	Mann-Whitney-U-Test
**	Chi-Quadrat-Test
IQR	Interquartilsabstand
N	Fallzahl (komplett, 404 Patienten)
n	Fallzahl (inkomplett)
SD	Standardabweichung

3.2.5 Kreuztabellen und Assoziationsmaße

Anhand der Dichotomie sowohl der Hormonspiegel in Patientengruppen mit einem jeweils niedrigen oder normalen bis hohen Hormonspiegel als auch der mRS-Werte vom Tag 90 in *Outcome*-Gruppen mit einem mRS von 0-2 Punkten oder 3-6 Punkten wurden Kreuztabellen-Testungen durchgeführt, anhand derer auf Zusammenhänge zwischen der Höhe der Hormonspiegel und dem Schlaganfall-*Outcome* geprüft wurde.

Zunächst wurde mit dem Exakten Test nach Fisher auf etwaig vorliegende signifikante Unterschiede der *Outcome*-Häufigkeiten innerhalb der beiden IGFBP-3-Gruppen getestet.

Bezüglich der IGFBP-3-Spiegel ließen sich für beide Messungen (Tag 0 und Tag 8) jeweils ein höherer Anteil an Patienten mit einem schlechten *Outcome* (mRS = 3-6) in der Patientengruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Werten, verglichen mit der Patientengruppe mit den normalen oder hohen IGFBP-3-Spiegeln, demonstrieren: Der Anteil der Patienten mit einem schlechten *Outcome* war in der Gruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0 um 10.2 Prozentpunkte höher als in der Gruppe mit den normalen oder hohen Spiegeln; in der Gruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Spiegeln von Tag 8 war der Anteil mit dem schlechten *Outcome* gegenüber der Gruppe mit den normalen oder hohen IGFBP-3-Spiegeln um 14.2 Prozentpunkte erhöht. Diese unterschiedliche Verteilung erwies sich in beiden Fällen als statistisch signifikant (IGFBP-3-Messung von Tag 0: Exakter Test nach Fisher: $p = 0.035$; IGFBP-3-Messung von Tag 8: Exakter Test nach Fisher: $p = 0.003$; vgl. Tabellen 10-11, Abbildungen 23-24).

Hinsichtlich der IGF-1-Spiegel von Tag 0 erwies sich die *Outcome*-Verteilung innerhalb der Vierfeldertafel in beiden Hormonspiegel-Gruppen als annähernd identisch (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.866$; vgl. Tabelle 12, Abbildung 25). Betreffend der IGF-1-Messungen von Tag 8 war der Anteil der Patienten mit einem schlechten *Outcome* in der Gruppe mit den niedrigen IGF-1-Spiegeln der Gruppe mit den normalen und hohen IGF-1-Spiegeln gegenüber zwar um 10.6 Prozentpunkte erhöht, doch war auch dieser Unterschied statistisch nicht signifikant (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.151$; vgl. Tabelle 13, Abbildung 26).

Zusätzlich zu dem Exakten Test nach Fisher wurden die Zusammenhangsmaße des RR und der OR für alle Kreuztabellen berechnet. Der Fokus dieser Berechnungen lag dabei stets auf der

Ermittlung des Risikos beziehungsweise der „Chance“, als Patient mit einem definitionsgemäß niedrigen Hormonspiegel ein schlechtes *Outcome* nach 90 Tagen zu entwickeln.

Hinsichtlich der IGFBP-3-Messungen von Tag 0 ergab sich ein RR von 1.534 (95%-KI: 1.062 – 2.216, signifikant); damit war das Risiko, mit einem niedrigen IGFBP-3-Spiegel an Tag 0 ein schlechtes *Outcome* nach 90 Tagen aufzuweisen, gegenüber den Patienten mit einem normalen oder hohen IGFBP-3-Spiegel um das rund 1.5fache (also um rund 50%) erhöht.

Die ermittelte OR für die IGFBP-3-Messungen von Tag 0 lag bei 1.754 (95% KI: 1.071 – 2.871, signifikant). Damit war die Quote für ein schlechtes *Outcome* unter den Patienten mit einem niedrigen IGFBP-3-Spiegel an Tag 0 rund 1.8-mal so hoch wie unter den Patienten mit einem normalen oder hohen IGFBP-3-Spiegel, oder, anders ausgedrückt: In der Patientengruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0 gab es rund 1.8-mal so viele Patienten, die nach 90 Tagen ein definitionsgemäß schlechtes *Outcome* aufwiesen, als in der Vergleichsgruppe der Patienten mit den normalen bis hohen IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0.

Analog wurden das RR und die rohe OR für die übrigen Hormonmessungen berechnet.

Es ergab sich ein RR von 1.788 (95%-KI: 1.245 – 2.568) und eine OR von 2.162 (95%-KI: 1.320 – 3.540) für die Patienten mit einem niedrigen IGFBP-3-Spiegel von Tag 8, ein schlechtes *Outcome* aufzuweisen.

Für die Patienten mit einem niedrigen IGF-1-Spiegel von Tag 0 ergab sich ein RR von 1.070 (95%-KI: 0.649 – 1.765, nicht signifikant) sowie eine OR von 1.092 (95%-KI: 0.569 – 2.092, nicht signifikant).

Für Patienten mit einem niedrigen IGF-1-Spiegel von Tag 8 ergab sich ein RR von 1.501 (95%-KI: 0.903 – 2.496, nicht signifikant) sowie eine OR von 1.732 (95%-KI: 0.836 – 3.590, nicht signifikant).

Die einzelnen Resultate des Exakten Test nach Fisher, des RR und der rohen OR für die einzelnen Hormonmessungen finden sich zusammengefasst in Tabelle 14.

Tabelle 10: Kreuztabelle IGFBP-3-Werte von Tag 0 und dichotome mRS von Tag 90
(Angabe der Personenzahlen; in den Klammern sind die Spaltenprozentage angegeben)

	IGFBP-3 von Tag 0 niedrig	IGFBP-3 von Tag 0 normal / hoch	Gesamtsumme
mRS Tag 90 = 0-2	85 (70.8)	230 (81.0)	315
mRS Tag 90 = 3-6	35 (29.2)	54 (19.0)	89
Gesamtsumme	120	284	404

Der Patientenanteil mit einem schlechten *Outcome* war in der Gruppe mit dem niedrigen IGFBP-3-Spiegel im Vergleich zu dem entsprechenden Anteil in der Gruppe mit einem normalen / hohen IGFBP-3-Spiegel um 10.2 Prozentpunkte erhöht (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.035$).

Tabelle 11: Kreuztabelle IGFBP-3-Werte von Tag 8 und dichotome mRS von Tag 90
(Angabe der Personenzahlen; in den Klammern sind die Spaltenprozentage angegeben)

	IGFBP-3 von Tag 8 niedrig	IGFBP-3 von Tag 8 normal / hoch	Gesamtsumme
mRS Tag 90 = 0-2	78 (67.8)	237 (82.0)	315
mRS Tag 90 = 3-6	37 (32.2)	52 (18.0)	89
Gesamtsumme	115	289	404

Der Patientenanteil mit einem schlechten *Outcome* war in der Gruppe mit dem niedrigen IGFBP-3-Spiegel im Vergleich zu dem entsprechenden Anteil in der Gruppe mit einem normalen / hohen IGFBP-3-Spiegel um 14.2 Prozentpunkte erhöht (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.003$).

Tabelle 12: Kreuztabelle IGF-1-Werte von Tag 0 und dichotome mRS von Tag 90
(Angabe der Personenzahlen; in den Klammern sind die Spaltenprozentage angegeben)

	IGF-1 von Tag 0 niedrig	IGF-1 von Tag 0 normal / hoch	Gesamtsumme
mRS Tag 90 = 0-2	46 (76.7)	269 (78.2)	315
mRS Tag 90 = 3-6	14 (23.3)	75 (21.8)	89
Gesamtsumme	60	344	404

Die prozentualen Patientenanteile mit einem schlechten *Outcome* nach 90 Tagen erwiesen sich in beiden Hormonspiegelgruppen als annähernd gleich (Gruppe „niedrig“: 23.3%, Gruppe „normal/hoch“: 21.8%; Exakter Test nach Fisher: $p = 0.866$).

Tabelle 13: Kreuztabelle IGF-1-Werte von Tag 8 und dichotome mRS von Tag 90
(Angabe der Personenzahlen; in den Klammern sind die Spaltenprozentage angegeben)

	IGF-1 von Tag 8 niedrig	IGF-1 von Tag 8 normal / hoch	Gesamtsumme
mRS Tag 90 = 0-2	26 (68.4)	289 (79.0)	315
mRS Tag 90 = 3-6	12 (31.6)	77 (21.0)	89
Gesamtsumme	38	366	404

Zwar erwies sich der Patientenanteil mit einem schlechten *Outcome* in der Gruppe mit dem niedrigen IGF-1-Spiegel von Tag 8 im Vergleich zu dem entsprechenden Anteil in der Gruppe mit einem normalen / hohen IGF-1-Spiegel um 10.6 Prozentpunkte erhöht, doch war dieser Unterschied nicht signifikant (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.151$).

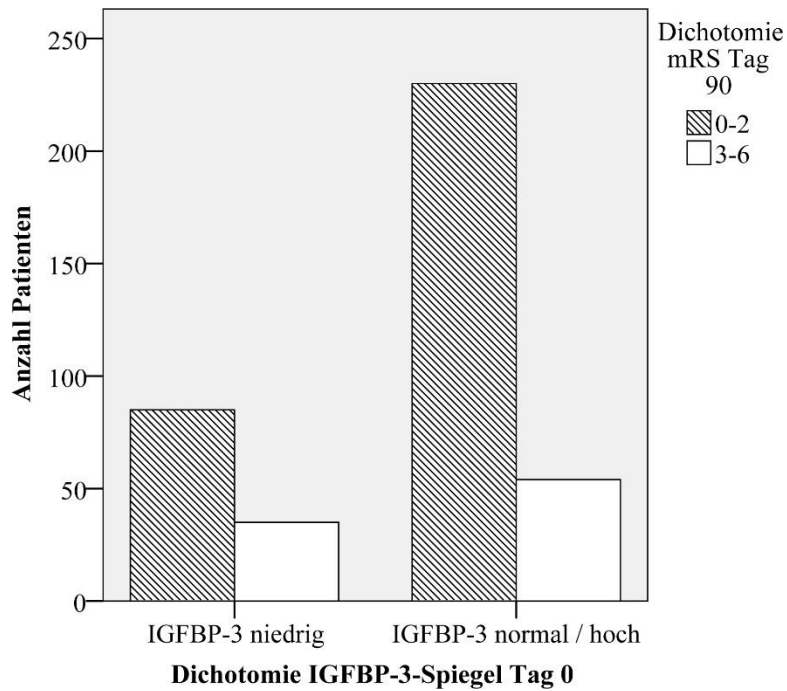


Abbildung 23: Visualisierung der Kreuztabelle 10

Der Patientenanteil mit einem schlechten *Outcome* war in der Patientengruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Spiegeln, relativ zu dem Anteil mit einem schlechten *Outcome* in der Gruppe mit normalen bis hohen IGFBP-3-Spiegeln, erhöht (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.035$).

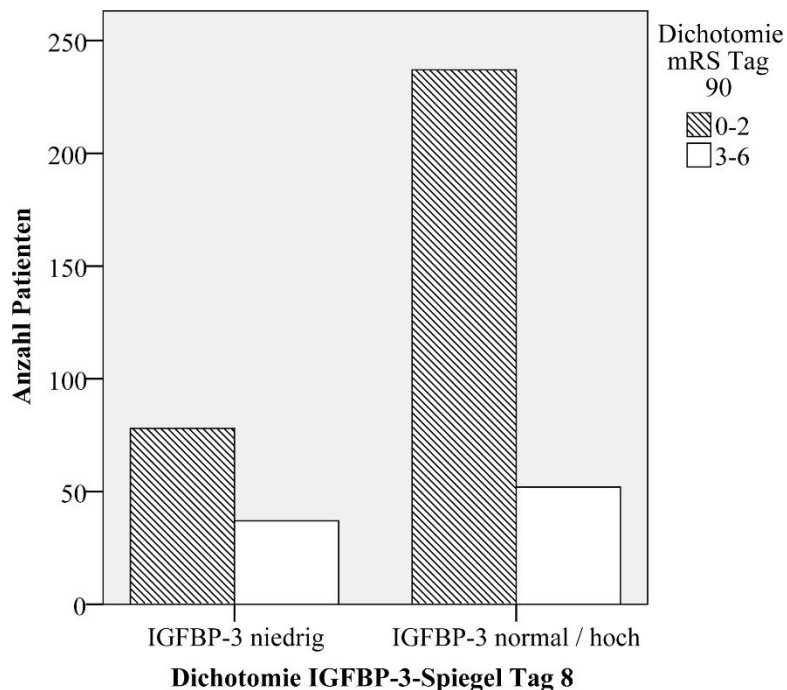


Abbildung 24: Visualisierung der Kreuztabelle 11

Der Patientenanteil mit einem schlechten *Outcome* war in der Patientengruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Spiegeln, relativ zu dem Anteil mit einem schlechten *Outcome* in der Gruppe mit normalen bis hohen IGFBP-3-Spiegeln, erhöht (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.003$).

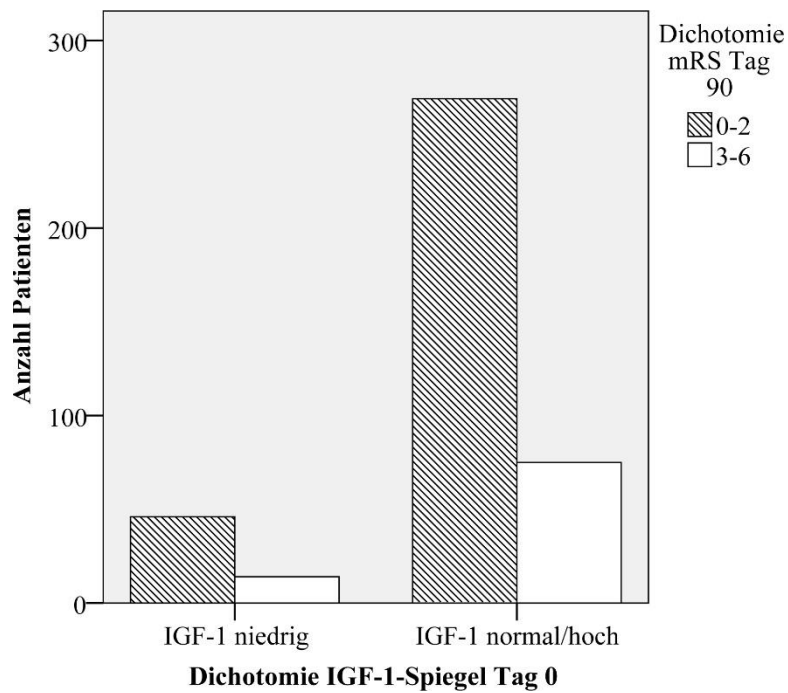


Abbildung 25: Visualisierung der Kreuztabelle 12

Die Patientenanteile mit einem schlechten *Outcome* erwiesen sich in beiden Hormonspiegelgruppen als annähernd gleich (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.866$).

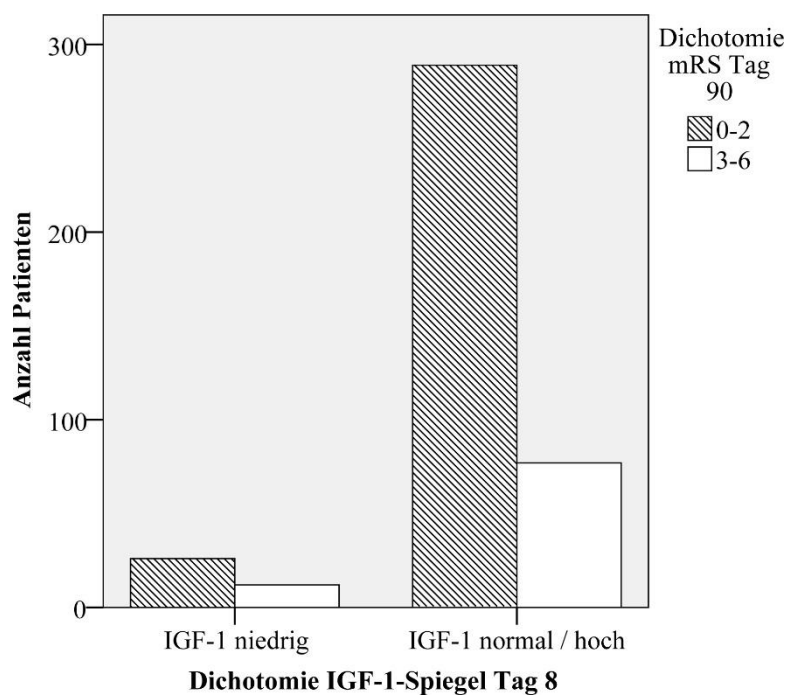


Abbildung 26: Visualisierung der Kreuztabelle 13

Zwar erwies sich der Patientenanteil mit einem schlechten *Outcome* in der Gruppe mit dem niedrigen IGF-1-Spiegel im Vergleich zu dem entsprechenden Anteil in der Gruppe mit einem normalen / hohen IGF-1-Spiegel erhöht, doch war dieser Unterschied nicht signifikant (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.151$).

Tabelle 14: Assoziationsmaße aus den Kreuztabellen

Hormonmessung	RR* (95%-KI)	Rohe OR* (95%-KI)	Exakter Test nach Fisher
IGFBP-3 Tag 0	1.534 (1.062 – 2.216)	1.754 (1.071 – 2.871)	p = 0.035
IGFBP-3 Tag 8	1.788 (1.245 – 2.568)	2.162 (1.320 – 3.540)	p = 0.003
IGF-1 Tag 0	1.070 (0.649 – 1.765)	1.092 (0.569 – 2.092)	p = 0.866
IGF-1 Tag 8	1.501 (0.903 – 2.496)	1.732 (0.836 – 3.590)	p = 0.151

Der exakte Test nach Fisher zeigte signifikante Zusammenhänge zwischen den IGFBP-3-Spiegeln und dem *Outcome*. Die Assoziationsmaße zeigten außerdem: Niedrige IGFBP-3-Spiegel erhöhten das Risiko eines schlechten *Outcomes* nach 90 Tagen um das rund 1.5- bzw. 1.8-fache gegenüber denjenigen Patienten mit normalen/hohen IGFBP-3-Spiegeln. Zudem gab es in der Gruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Spiegeln rund 1.8- bzw. 2.2-mal so viele Patienten mit einem schlechten *Outcome* wie in der Gruppe mit den normalen/hohen Spiegeln. Die KI schlossen jeweils die 1 nicht mit ein; somit handelte es sich hierbei um signifikante Ergebnisse.

In puncto IGF-1-Spiegel ergab der exakte Test nach Fisher keine signifikanten Zusammenhänge zu dem *Outcome*; zudem schlossen die KI der Assoziationsmaße die 1 mit ein und galten somit als nicht signifikant.

Legende Tabelle 14:

- 95%-KI** **95%-Konfidenzintervall**; schließt dieses den Wert 1 mit ein, so sind die Ergebnisse der Assoziationsmaße (RR und OR) als nicht signifikant einzustufen, da ein Risiko- bzw. Quotenverhältnis (in diesem Fall bei niedrigen Hormonspiegeln) von 1 unverändert bleibt.
- RR** **Relatives Risiko**; das angegebene RR gibt jeweils das Risiko der Patienten mit einem niedrigen Hormonspiegel (bezüglich des in der Zeile angegeben Hormons und Messzeitpunkts) ein schlechtes *Outcome* am Tag 90 aufzuweisen, im Verhältnis zu den Patienten mit einem normalen oder hohen Hormonspiegel, an.
- OR** **Odds Ratio**; gibt das Quotenverhältnis zwischen den Patienten mit niedrigen und den Patienten mit normalen / hohem Hormonspiegeln (bezüglich des in der Zeile angegeben Hormons und Messzeitpunkts) für die Entwicklung eines schlechten *Outcomes* nach 90 Tagen an. Hier sind die rohen (nicht-adjustierten) *Odds Ratios* angegeben.

3.2.6 Regressionsanalysen

Im Folgenden werden die Resultate der beiden multiplen Regressionsmodelle dargestellt. Neben den einzelnen Prädiktoren finden sich in den Tabellen die jeweiligen Regressionsgewichte (und OR im Falle der logistischen Regression) sowie die statistische Signifikanz im Sinne der Wald-Statistik und Konfidenzintervalle. Weiterhin wurden die Ergebnisse der Testungen bezüglich der allgemeingültigen Modellprämissen sowie die Gütemaße der Modelle angegeben.

3.2.6.1 Multiple lineare Regression

Zunächst werden an dieser Stelle die Resultate der Überprüfungen der allgemeinen Modellprämissen der linearen Regressionsanalyse dargestellt.

Im Kontext der allgemeinen Grundregel, dass festgestellte Toleranzen innerhalb des Modells unter 0.1 den Verdacht auf Kollinearität unter den Prädiktoren erhärtet und Toleranzen unter 0.01 eindeutig auf diese hindeuten, konnte keine Kollinearität konstatiert werden. Der Varianzinflationsfaktor VIF – der Kehrwert der Toleranz – wird folgendermaßen interpretiert: VIF-Werte über 10 sind verdächtig auf Kollinearität, VIF-Werte über 100 sind eindeutig zu hoch und deuten damit auf Kollinearität hin. Die einzelnen VIF-Werte bestätigten das Ergebnis der Toleranz-Testung. Die jeweilige Toleranz sowie der VIF zu den einzelnen Prädiktoren finden sich in Tabelle 15.

Der Breusch-Pagan-Test zur statistischen Testung auf etwaig in dem Modell vorliegende Heteroskedastizität ergab eine eindeutig vorliegende Homoskedastizität der Residuen, sodass mit dem Datensatz auch diese Modellvoraussetzung erfüllt werden konnte. Die Nullhypothese, dass Homoskedastizität vorliegt, konnte bestätigt, die Alternativhypothese über Heteroskedastizität verworfen werden ($F = 2.029$; $p = 0.109$). Die graphische Auswertung findet sich im Appendix (Abbildung 15).

Die Durban-Watson-Statistik ergab einen Wert von 1.540 und lag damit innerhalb der tolerablen Grenzen von 1.5 und 2.5. Somit konnte das Fehlen von Autokorrelation innerhalb der Residuen angenommen werden.

Die varianzanalytische Untersuchung bezüglich der erklärenden *Power* des aufgestellten Regressionsmodells ergab, dass die Prädiktoren innerhalb des Modells die abhängige Variable signifikant vorhersagen konnten ($F = 131.541$, $p < 0.001$).

Sämtliche in die multiple lineare Regression eingeschlossenen Variablen zeigten innerhalb des Modells einen hochsignifikanten Einfluss auf die Kriteriumsvariable (also auf die IGFBP-3-Werte von Tag 0). Die nachfolgend beschriebenen Variablen wurden entweder aufgrund eines in den vorherigen statistischen Analysen ermittelten signifikanten Zusammenhangs zu den IGFBP-3-Spiegeln (betrifft die Variablen „IGF-Spiegel von Tag 0“ sowie „Geschlecht“) oder aus sachlogischen Überlegungen heraus (betrifft die Variable „Alter“) in das Regressionsmodell inkludiert. Referenzlisten bezüglich der IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel zeigen kontinuierlich absinkende Spiegel bei steigendem Alter; dieser beschriebene Zusammenhang sollte auch für die vorliegende Kohorte überprüft werden.¹⁰⁵

Die IGF-1-Werte von Tag 0 standen in einem positiven Zusammenhang zu den IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0, wie auch schon in den vorangegangenen Analysen deutlich wurde (vgl. Tabelle 8, Abbildungen 21-22). So zeigte sich für die IGF-1-Werte ein positiver unstandardisierter Regressionskoeffizient (b-Gewicht = $+0.013$, $p < 0.001$), sodass steigende IGF-1-Spiegel mit steigenden IGFBP-3-Spiegeln assoziiert waren. Für das Patientenalter ergab sich ein negativer unstandardisierter Regressionskoeffizient (b-Gewicht = -0.024 , $p < 0.001$), sodass bei steigendem Patientenalter sinkende IGFBP-3-Spiegel zu erwarten waren. Das Geschlecht stellte eine binäre Variable in dem linearen Regressionsmodell dar; die Frauen waren dabei mit 0 kodiert, die Männer mit 1. Die in der Tabelle angegebenen Werte sind entsprechend einem „Wechsel“ von dem weiblichen zum männlichen Geschlecht zu interpretieren. Die Männer wiesen also innerhalb des Modells einen niedrigeren IGFBP-3-Spiegel auf als die Frauen (b-Gewicht = -0.598 , $p < 0.001$). Auch dieses Ergebnis war schon in den vorherigen Analysen abzusehen (vgl. Kapitel 3.2.1 und Tabelle 8).

Den innerhalb des Regressionsmodells größten Einfluss auf die IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 hatten die IGF-1-Werte von Tag 0, erkennbar an dem Betrag des z-standardisierten Regressionskoeffizienten (β -Gewicht = $+0.590$). Dieser war damit größer als der Einfluss des Patientenalters auf die IGFBP-3-Spiegel (β -Gewicht = -0.251). Für das Patientengeschlecht wurde kein standardisierter Regressionskoeffizient berechnet, da bezüglich des Geschlechts eine gedachte Änderung um eine Standardabweichung (siehe dazu Legende der Tabelle 15) natürlich

keinen Sinn ergibt, sondern in diesem Fall lediglich der Wechsel von einem Geschlecht zum anderen als Variablenveränderung betrachtet werden konnte.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse, inklusive der einzelnen Konfidenzintervalle, ist der Tabelle 15 zu entnehmen.

Das angepasste R^2 lag bei 0.493. Daraus ergab sich eine Varianzaufklärung von 49,3 % durch das formulierte lineare Regressionsmodell.

Tabelle 15: Resultate der multiplen linearen Regression

Prädiktor	b-Gewicht	β -Gewicht	95%-KI (b-Gewicht)	Differenz für Koeffizienten	p-Wert	Toleranz	VIF
Konstante	+3.765		3.197 – 4.333		< 0.001		
IGF-1- Werte Tag 0	+0.013	+0.590	0.011 – 0.014	+ 1 ng/ml	< 0.001	0.896	1.116
Alter	-0.024	-0.251	-0.030 - - 0.017	+ 1 Lebensjahr	< 0.001	0.891	1.123
Geschlecht	-0.598		-0.755 - - 0.440	Referenzkategorie: Frauen	< 0.001	0.954	1.048

Kriteriumsvariable Y (abhängige Variable) = IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 (als kontinuierliche Variable)

Legende Tabelle 15:

b-Gewicht	unstandardisierte Regressionskoeffizienten; spiegeln die Veränderung der IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 bei einer Veränderung der jeweiligen unabhängigen Variable um eine Einheit wider
β-Gewicht	z-standardisierte Regressionskoeffizienten; spiegeln die Veränderung der IGFBP-3-Spiegel in β -Standardabweichungen bei einer Veränderung der jeweiligen unabhängigen Variable um eine Standardabweichung wider; diese sind damit untereinander vergleichbar und spiegeln auch die Einflussstärke der einzelnen Variable wider
Toleranz	Wert zur Testung auf Kollinearität innerhalb des Modells; Werte unter 0.1 deuten auf Kollinearität hin
VIF	Varianzinflationsfaktor; der Kehrwert der Toleranz. VIF-Werte über 10 deuten auf Kollinearität hin

3.2.6.2 Multiple binäre logistische Regression

Zur Überprüfung der Modellgüte der multiplen binären logistischen Regression wurde im Vorfeld die Hosmer-Lemeshow-Anpassungsstatistik durchgeführt ($p = 0.363$). Das Ergebnis war so zu interpretieren, dass die Hypothese über die Modell-Korrektheit nicht abgelehnt werden konnte. Das R^2 nach Nagelkerke lag bei 0.358; ergo konnten 35.8 % der Varianz innerhalb des Modells erklärt werden. Anhand der Wald-Statistik wurden die einzelnen Variablen auf einen signifikanten beziehungsweise nicht-signifikanten Einfluss auf die abhängige Variable getestet.

Bezüglich der IGFBP-3-Spiegel von Tag 8 ergab sich eine OR von rund 2.8 (KI: 1.6 – 4.8; $p < 0.001$); demnach war eine gedachte Erniedrigung der IGFBP-3-Spiegel von Tag 8 um 1 $\mu\text{g/ml}$ (unter Konstanthaltung der übrigen Variablen) signifikant mit einer Erhöhung der *Chance* des Eintritts eines schlechten *Outcomes* um das 2.8-fache verbunden.

Die Erniedrigung der IGF-1-Spiegel von Tag 8 um 50 ng/ml war mit einer signifikanten Erniedrigung der *Chance*, ein schlechtes *Outcome* nach 90 Tagen aufzuweisen, um den Faktor OR (rund) = 0.6 (KI, nicht gerundet: 0.373 – 0.986; $p = 0.044$) verbunden.

Eine Erhöhung des Patientenalters um 10 Jahre war mit einer signifikanten Erhöhung der *Chance* auf ein schlechtes *Outcome* um den Faktor OR (rund) = 1.5 (KI: 1.1 – 2.0; $p = 0.012$) verbunden.

Stattgehabte Vorinsulte erhöhten die *Chance* auf ein schlechtes *Outcome* signifikant um den Faktor OR (rund) = 2.9 (KI: 1.4 – 6.0; $p = 0.005$).

Ein schlechter mRS an Tag 0 (mRS = 3-6) erhöhte die *Chance* auf ein schlechtes *Outcome* signifikant um den Faktor OR (rund) = 4.6 (KI: 2.5 – 8.5; $p < 0.001$).

Alle übrigen inkludierten Prädiktoren zeigten keinen signifikanten Einfluss auf die Eintrittswahrscheinlichkeit eines definitionsgemäß schlechten *Outcomes* an Tag 90. Dies war erkennbar an den nicht signifikanten Werten aus der Wald-Statistik sowie an den entsprechenden Konfidenzintervallen, die den Wert 1 mit umfassten.

Eine Zusammenfassung der Resultate aus der multiplen binären logistischen Regressionsanalyse findet sich in Tabelle 16.

Tabelle 16: Resultate der multiplen binären logistischen Regressionsanalyse

Prädiktor	Regressionskoeffizient	OR	95%-Konfidenzintervall für OR	Differenz für OR	p-Wert
IGFBP-3 Tag 0	-0.359	0.698	0.420 – 1.162	-1 µg/ml	0.167
IGFBP-3 Tag 8	1.012	2.751	1.564 – 4.840	-1 µg/ml	< 0.001
IGF-1 Tag 0	0.367	1.444	0.853 – 2.445	-50 ng/ml	0.172
IGF-1 Tag 8	-0.500	0.607	0.373 – 0.986	-50 ng/ml	0.044
Alter	0.392	1.480	1.091 – 2.009	+10 Lebensjahre	0.012
Geschlecht	-0.545	0.580	0.307 – 1.095	Referenzkategorie: Frauen	0.093
Herzinsuffizienz	0.679	1.972	0.523 – 7.442	Referenzkategorie: Merkmal nicht ausgeprägt	0.316
Diabetes mellitus	0.379	1.460	0.794 – 2.684	Referenzkategorie: Merkmal nicht ausgeprägt	0.223
Schlaganfälle [vor dem zum Studieneinschluss führenden Ereignis]	1.056	2.875	1.384 – 5.972	Referenzkategorie: Merkmal nicht ausgeprägt	0.005
mRS Tag 0	1.535	4.642	2.533 – 8.510	Referenzkategorie: mRS Tag 0 = 0-2	< 0.001
Konstante	-3.202	0.041			0.001

Die abhängige Variable stellte die dichotomisierte mRS von Tag 90 in "gut" (mRS = 0-2) und "schlecht" (mRS = 3-6) dar; die angegebenen Resultate sind in Bezug auf die Eintrittswahrscheinlichkeit einer mRS = 3-6 an Tag 90 zu interpretieren.

Die IGF-1- und IGFBP-3-Werte sowie das Patientenalter wurden als stetige Variablen inkludiert; die entsprechenden OR traten im Falle des IGFBP-3 bei einer Erniedrigung um 1 µg/ml auf, im Falle des IGF-1 bei einer Erniedrigung um 50 ng/ml. Die übrigen Patientenparameter lagen kategorial vor (ja/nein) und sind entsprechend einer vorliegenden Ausprägung des jeweiligen Parameters zu verstehen. Die mRS von Tag 0 wurde als dichotome Variable mit den Ausprägungen mRS Tag 0 = 0-2 und mRS Tag 0 = 3-6 eingeschlossen.

Legende Tabelle 16:

Regressionskoeffizient	Gibt die Richtung eines Einflusses einer Variablen auf die Eintrittswahrscheinlichkeit eines mRS = 3-6 an Tag 90 an; positive Koeffizienten erhöhen diese Wahrscheinlichkeit bei Erniedrigung der erklärenden Variablen um die angegebene Einheitendifferenz (stetige Variablen) bzw. bei dem Wechsel von der Referenzkategorie zur höheren Kategorie (kategoriale Variablen), negative Koeffizienten vermindern diese Wahrscheinlichkeit
OR	<i>Odds Ratio</i> ; gibt die Erhöhung bzw. Erniedrigung des Chancenverhältnisses (bezogen auf die <i>Chance</i> , ein schlechtes <i>Outcome</i> nach 90 Tagen aufzuweisen) bei Erniedrigung der stetigen Variablen um die angegebene Einheitendifferenz bzw. bei einem Wechsel von der Referenzkategorie zur höheren Kategorie bei den kategorialen Variablen an

4 Diskussion

Im Folgenden werden die Resultate der statistischen Analysen, getrennt nach IGFBP-3 und IGF-1, bewertet, interpretiert und im Kontext der gegenwärtigen Forschungsliteratur eingeordnet. Im Rahmen der kritischen Betrachtung wird diese Arbeit hinsichtlich ihrer Limitationen und Stärken überprüft. Anschließend wird die Arbeit im Fazit zusammenfassend und in Hinblick auf die im Vorfeld formulierten Fragestellungen und Hypothesen beurteilt. Im Ausblick folgt eine Stellungnahme bezüglich der klinischen Relevanz dieser Dissertation.

4.1 Hauptergebnisse: IGFBP-3

Im Rahmen dieser Arbeit konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen niedrigen IGFBP-3-Spiegeln 8 Tage nach einem ischämischen Schlaganfall und einem schlechten funktionellen Zustand nach drei Monaten demonstriert werden. Dieses Ergebnis wird als Hauptergebnis dieser Dissertation gewertet, da während der Hypothesen-Formulierung im Vorfeld der Forschungsschwerpunkt aufgrund der geringen gegenwärtig existierenden Datenlage auf das IGFBP-3 gelegt wurde (vgl. Kapitel 1.1). Damit wurde das Hauptziel der vorliegenden Arbeit, die Verifizierung der durch Ebinger et al. in einer 100 Patienten starken Studie gelieferten Hinweise auf den prädiktiven Wert niedriger IGFBP-3-Spiegel in der Schlaganfall-Akutphase auf das funktionelle *Outcome* anhand einer größeren Kohorte, konsequent verfolgt.¹⁷ In den folgenden Abschnitten wird die durchgeführte Statistik bezüglich der Haupt- und Nebenergebnisse zusammenfassend bewertet.

4.1.1 Confounder-Analyse

Das IGFBP-3 wurde aufgrund des Fokus dieser Dissertation in den statistischen Analysen gesondert betrachtet. Im Rahmen der bivariaten Dependenzanalysen wurden daher sämtliche vorliegenden Patientenparameter auf einen potentiellen statistischen Zusammenhang zu den IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0 überprüft. Das Hauptziel dieser bivariaten Analysen war es, die statistische Unabhängigkeit der IGFBP-3-Spiegel von den übrigen Parametern, die freundlicherweise durch die EARLY-Investigatoren zur Verfügung gestellt worden waren, demonstrieren und somit mögliche Störfaktoren, sogenannte *Confounder*, detektieren zu können. Tatsächlich konnten dadurch, abgesehen vom Patientengeschlecht und den IGF-1-Spiegeln von Tag 0, alle weiteren Parameter (ergo: Alter, BMI, Hyperlipidämie, Raucherstatus, Hypertonie, Vorhofflimmern, Herzinsuffizienz, Diabetes mellitus, vor dem zum Studieneinschluss führenden ischämischen Ereignis stattgehabte Schlaganfälle) bezüglich eines Zusammenhangs zu den

IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0 ausgeklammert werden (vgl. Tabelle 8). Der bereits in Tabelle 8 ersichtliche hochsignifikante Zusammenhang zwischen den IGF-1- und den IGFBP-3-Spiegeln wurde zusätzlich gesondert anhand einer Pearson-Korrelation untersucht und graphisch dargestellt (vgl. Abbildung 21). Damit waren zwei denkbare Einflussfaktoren auf das IGFBP-3 von Tag 0 innerhalb der Studienkohorte (das Patientengeschlecht und die IGF-1-Werte von Tag 0) detektiert. Zwar zeigten sich in Tabelle 8 auch statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen den mRS-Werten von den Tagen 8 und 90 sowie den IGF-1-Spiegeln von Tag 8 und den IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0, doch wurde dies aufgrund sachlogischer Überlegungen vernachlässigt (die einzelnen Schlaganfall-Scores wurden in Tabelle 8 aufgeführt, um einen Überblick der Verteilung der Scores in den beiden IGFBP-3-Spiegel-Gruppen zu liefern).

Zur Abrundung dieser *Confounder*-Analyse bezüglich der IGFBP-3-Spiegel wurden alle ermittelten relevanten Faktoren in der multiplen linearen Regression hinsichtlich ihrer Einflussstärke auf die abhängige Variable, die IGFBP-3-Spiegel von Tag 0, getestet und verglichen (vgl. Tabelle 15). Die ermittelten b-Gewichte in einer multiplen linearen Regression stellen allgemeingültig für die übrigen in dem Modell enthaltenen erklärenden Variablen adjustierte Effektmaße dar, sodass der ermittelte Einzeleffekt einer Variablen unter Berücksichtigung der übrigen Variablen interpretiert werden kann.¹⁰⁸ So ließ sich beispielsweise demonstrieren, dass die IGF-1-Spiegel auch unter Adjustierung für das Patientenalter und Geschlecht einen Einfluss auf die Höhe der IGFBP-3-Spiegel hatten. An dem Betrag der z-standardisierten Regressionskoeffizienten wiederum ließ sich die Einflussstärke der einzelnen Variablen untereinander vergleichen; die IGF-1-Spiegel zeigten in dem Modell den stärksten Einfluss auf die IGFBP-3-Spiegel. Angesichts der Tatsache, dass sämtliche Prädiktoren innerhalb des multiplen linearen Regressionsmodells einen signifikanten Einfluss auf die IGFBP-3-Spiegel aufwiesen, wurden alle diese Prädiktoren auch als potentielle *Confounder* bezüglich des Zusammenhanges zwischen den IGFBP-3-Spiegeln und der mRS-Scores von Tag 90 angesehen.

Die bivariaten Dependenzanalysen der Patientenparameter anhand der dichotomisierten mRS von Tag 90 hatten ebenfalls die *Confounder*-Detektion zum Ziel (vgl. Tabelle 9). An dieser Stelle sollten potentielle Störfaktoren innerhalb der Kohorte, die einen Zusammenhang zu dem 90-Tages-*Outcome* aufwiesen, aufgespürt werden: die Variablen Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Herzinsuffizienz, Diabetes mellitus, vor dem zum Studieneinschluss führenden ischämischen Ereignis stattgehabte Schlaganfälle sowie die an den Tagen 0 und 8 gemessenen IGF-1- und IGFBP-3-Werte erwiesen sich als statistisch signifikant zu der dichotomisierten mRS von Tag 90 assoziiert. Obendrein konnte auch der intuitiv plausible hochsignifikante Zusammenhang

sämtlicher an den Tagen 0, 8 und 90 ermittelten Schlaganfall-Scores (mRS und NIHSS) zu der mRS von Tag 90 demonstriert werden. In der Literatur wurden von diesen Parametern ein fortgeschrittenes Patientenalter, das männliche Geschlecht, ein Vorinsult, ein bestehender Diabetes mellitus sowie der initiale Schweregrad des Schlaganfalls als potente *Outcome*-Prädiktoren identifiziert – zumindest nach erfolgter intravenöser Thrombolyse.^{86,87,109}

Zusammenfassend lag die hauptsächliche Bedeutung der bivariaten Dependenzanalysen bei Dichotomie der Patientenparameter anhand der IGFBP-3-Spiegel (vgl. Tabelle 8), der bivariaten Dependenzanalysen bei Dichotomie der Patientenparameter anhand der mRS von Tag 90 (vgl. Tabelle 9), der Korrelationsanalysen der IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel (vgl. Abbildungen 21,22) sowie der multiplen linearen Regressionsanalyse mit den IGFBP-3-Spiegeln von Tag 0 als abhängige Variable (vgl. Tabelle 15) in der Detektion von Einflussgrößen sowohl auf die IGFBP-3-Spiegel als auch auf das *Outcome* nach 90 Tagen.

Die Kenntnis über die statistisch zu dem *Outcome* assoziierten Parameter war bedeutsam für die abschließende Modellierung einer multiplen binären logistischen Regression mit dem dichotomisierten mRS von Tag 90 als abhängige Variable (vgl. Tabelle 16). Alle Patientenparameter mit einem p-Wert von maximal 0.01 in den bivariaten Analysen oder einem signifikanten Einfluss auf die IGFBP-3-Spiegel in der multiplen linearen Regression wurden in die binäre logistische Regression inkludiert (mit Ausnahmen: vgl. Kapitel 2.4.2.6). Die Bedeutung der multiplen logistischen Regression für die vorliegende Arbeit lag, wie auch bei der vorherigen multiplen linearen Regression, in der Möglichkeit der *Confounder*-Adjustierung, also einer möglichen Einschätzung des interessierenden Einflusses der IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel auf das *Outcome* unter Kontrolle der übrigen Variablen in dem Modell; dadurch konnte eine Verzerrung der Effektschätzung reduziert werden.¹⁰⁶ Die Regel, dass die Anzahl der Beobachtungen die Anzahl der Prädiktoren in einem multivariablen Modell um das mindestens 20-fache überschreiten sollten, wurde bei 10 inkludierten Prädiktoren und insgesamt 404 Patienten in der Kohorte nicht verletzt.¹¹⁰

4.1.2 Bewertung der Statistik zum IGFBP-3

Während der Untersuchungen zu einem Effekt des IGFBP-3 auf das 90-Tages-*Outcome* konnte insgesamt eine beträchtliche innere Beständigkeit der Resultate demonstriert werden. In der deskriptiven Statistik ließ die Darstellung der IQR und Mediane der IGFBP-3-Spiegel über die

einzelnen mRS- sowie NIHSS-Kategorien der Schlaganfall-Skalen von Tag 90 erkennen, dass diejenigen Patienten, bei denen tendenziell niedrige IGFBP-3-Spiegel gemessen worden waren, tendenziell auch höhere mRS- sowie NIHSS-Werte am Tag 90 aufwiesen. Dieser Trend war für beide IGFBP-3-Messungen (Tag 0 und Tag 8) zu verzeichnen (vgl. Appendix, Abbildungen 7-10). Die Auswertbarkeit dieser *Boxplot*-Graphiken blieb aber limitiert: die Patientengruppen, in denen die Studienteilnehmer an Tag 90 mRS-Werte von 5 oder gar 6 Punkten auf der Skala erreichten, waren lediglich 6, respektive 7 Patienten stark. Weiterhin präsentierte sich das Patientenkollektiv hinsichtlich der NIHSS von Tag 90 nicht schlechter als über die Kategorie „mittelgradiger Schlaganfall“ hinaus: in den höheren Kategorien war jeweils nur ein Patient vertreten (vgl. Tabelle 7). Die konsequente Entfernung der letzten beiden *Boxplots* aus den Graphiken aus Gründen der geringen Fallzahl geht jedoch mit einem Verschwinden des Trends der Hormonspiegelverteilungen einher.

Der klinische Endpunkt dieser Arbeit bestand aus der mRS von Tag 90, dichotomisiert in ein „gutes“ *Outcome* mit 0-2 Punkten und ein „schlechtes“ *Outcome* mit 3-6 Punkten. Um einen denkbaren Zusammenhang der gemessenen IGFBP-3-Werte auch auf zeitlich vor dem Endpunkt festgestellte mRS-Werte aufdecken zu können, wurde die Kohorte zusätzlich anhand der mRS-Erhebungen von den Tagen 0 und 8 in zwei Patientengruppen (mRS = 0-2 und mRS = 3-6) aufgeteilt, die Verteilung der IGFBP-3-Spiegel (entweder von Tag 0 oder 8) innerhalb der beiden mRS-Gruppen mittels *Boxplots* visualisiert und mit Hilfe des unverbundenen t-Tests auf Mittelwertsunterschiede der IGFBP-3-Spiegel getestet (vgl. Abbildungen 4-7). Es zeigte sich, dass die IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 in den mRS-Gruppen von Tag 0 statistisch nicht unterschiedlich verteilt waren. Überraschenderweise erwiesen sich die IGFBP-3-Spiegel von Tag 8 jedoch in der Patientengruppe mit den schlechteren mRS-Werten von Tag 8 als statistisch signifikant niedriger, erkennbar an einer im Mittel um rund 0,5 µg/ml niedrigeren IGFBP-3-Konzentration als in der Vergleichsgruppe ($p < 0.001$). Hinsichtlich des klinischen Endpunktes (mRS Tag 90) wurde doppelt getestet. Die Patienten, bei denen an Tag 90 eine schlechte mRS festgestellt wurde, hatten durchschnittlich um 0,46 µg/ml niedrigere IGFBP-3-Spiegel an Tag 0 ($p < 0.001$) und um rund 0,74 µg/ml niedrigere IGFBP-3-Spiegel an Tag 8 ($p < 0.001$). Bedeutsam war in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass die durchschnittlichen IGFBP-3-Konzentrationen, bezogen auf die gesamte Kohorte, zwischen Tag 0 und Tag 8 annähernd gleich geblieben waren (vgl. Kapitel 3.2.1). Auch bei der isolierten Betrachtung der Männer und der Frauen zeigten sich keine signifikanten IGFBP-3-Konzentrationsveränderungen zwischen den Tagen 0 und 8 (vgl. Abbildung 3).

Um auch auf Zusammenhänge zwischen dem IGFBP-3 und der NIHSS von Tag 90 zu testen, wurde eine Dichotomie der Kohorte anhand der NIHSS von Tag 90 in NIHSS = 0-4 Punkte und NIHSS = 5-42 Punkte durchgeführt. Gemäß der NIHSS-Kategorisierung nach Bradley et al. ließen sich die Patienten anhand dieser Grenzwerte in eine Gruppe mit maximal „leichtem“ Schlaganfall und eine Gruppe mit höhergradig ausgeprägtem Schlaganfall einteilen;¹⁰⁴ diese Einteilung kam damit der mRS-Dichotomie anhand des Grenzwertes von 2 Punkten (entspricht definitionsgemäß einer „leichten“ Schlaganfall-Ausprägung, vgl. Tabelle 1) am nächsten. Die Verteilungen der IGFBP-3-Spiegel innerhalb der beiden NIHSS-Gruppen waren vergleichbar zu den Verteilungen in den mRS-Gruppen (vgl. Abbildungen 8-11). Die NIHSS von Tag 90 wurde als *Outcome*-Parameter in den weiterführenden statistischen Analysen jedoch nicht weiter berücksichtigt. Zum einen wurde die mRS von Tag 90 bereits im Vorfeld als primärer Endpunkt der vorliegenden Arbeit festgelegt und zum anderen war die NIHSS-Erhebung bei 55 Patienten nicht durchgeführt worden, die mRS von Tag 90 lag jedoch von allen 404 Patienten vor.

Ein an Tag 0 oder Tag 8 festgestellter niedriger IGFBP-3-Spiegel kann gemäß der dieser Arbeit zugrunde liegenden Hypothese (vgl. Kapitel 1.1) als Risikofaktor für ein schlechtes *Outcome* verstanden werden. Die üblicherweise verwendeten Maßzahlen für die Auswirkung einer Exposition gegenüber eines Risikofaktors auf die binäre Größe einer entweder vorliegenden Erkrankung oder Nicht-Erkrankung sind das relative Risiko sowie die *Odds Ratio*, die sich anhand von Vierfeldertafeln berechnen lassen.^{111,112} Das relative Risiko als Verhältnis zweier Inzidenzen (absoluter Risiken) ist dabei nur für Kohortenstudien geeignet, da die Inzidenz von Erkrankungsfällen nicht im Vorfeld durch das Studiendesign (wie etwa bei Fall-Kontroll-Studien) vorgegeben ist; die *Odds Ratio* ist als Quotenverhältnis von den Randverteilungen einer Kreuztabelle (und damit der Inzidenz) unabhängig.^{111,113} Im Rahmen der vorliegenden retrospektiven Kohortenstudie konnten entsprechend, um einen umfassenden Eindruck der Auswirkung niedriger IGFBP-3-Spiegel in der Akutphase auf das *Outcome* nach 90 Tagen zu erhalten, beide Assoziationsmaße ermittelt werden (vgl. Tabelle 14).

In den aufgestellten Vierfeldertafeln ließ sich zeigen, dass der Anteil derjenigen Patienten mit einem schlechten *Outcome* in der Gruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Spiegeln an Tag 0 um 10.2 Prozentpunkte höher lag als in der Vergleichsgruppe (normale bis hohe IGFBP-3-Spiegel); bezüglich der Gruppe mit niedrigen IGFBP-3-Spiegeln von Tag 8 war dieser Anteil um 14.2 Prozentpunkte erhöht (vgl. Tabellen 10-11, Abbildungen 23-24). In beiden Fällen erwies sich die unterschiedliche *Outcome*-Verteilung als statistisch signifikant (Exakter Test nach Fisher: $p = 0.035$, $p = 0.003$). Anhand der errechneten Assoziationsmaße ließ sich nun zusätzlich ausdrücken,

dass ein an Tag 0 gemessener niedriger IGFBP-3-Spiegel die Wahrscheinlichkeit eines schlechten *Outcomes* nach 90 Tagen um das rund 1.5-fache erhöhte und es weiterhin in der Patientengruppe mit einem gemessenen niedrigen IGFBP-3-Spiegel an Tag 0 rund 1.8-mal so viele Patienten gab, die einen schlechten funktionellen Zustand nach 90 Tagen aufzeigten. In puncto niedriger IGFBP-3-Spiegel von Tag 8 erhöhte sich die Wahrscheinlichkeit eines schlechten *Outcomes* um das rund 1.8-fache und gleichzeitig gab es in der Gruppe mit den niedrigen IGFBP-3-Konzentrationen von Tag 8 rund 2.2-mal so viele Patienten mit einem schlechten Zustand nach 90 Tagen. Wichtig war in diesem Zusammenhang, ob die zugehörigen 95%-Konfidenzintervalle den „Null-Effekt“, also den Wert 1.0, einschlossen; dies war bei keinem Assoziationsmaß der Fall, sodass alle Risiko- und Quotenverhältnisse bezüglich niedriger IGFBP-3-Spiegel als statistisch signifikant gelten konnten.¹¹⁴

In der Zusammenschau zeigten die Ergebnisse der besprochenen bivariaten Analysen bezüglich eines Zusammenhangs zwischen niedrigen IGFBP-3-Spiegeln und einem schlechten funktionellen Zustand nach 90 Tagen sowohl für die IGFBP-3-Messungen von Tag 0 als auch von Tag 8 eine Assoziation auf. Zu beachten ist jedoch, dass bei diesen Analysen keine potentiellen Störfaktoren berücksichtigt werden konnten. Die daher abschließend durchgeführte multiple binäre logistische Regression ließ den interessierenden Einfluss der IGFBP-3-Spiegel auf den funktionellen Zustand nach 90 Tagen unter Adjustierung für die übrigen potentiell relevanten Parameter erkennen (vgl. Kapitel 4.1.1). Dies war insbesondere auch im Kontext der in den Kreuztabellen ermittelten OR interessant (vgl. Tabelle 14). Generell würden sich die in Tabelle 14 gezeigten OR in einer einfachen binären logistischen Regressionsanalyse mit genau einer erklärenden binären Variable (also in diesem Fall mit einer der vier durchgeführten Hormonspiegelmessungen, binär vorliegend als „niedrige“ und „normale/hohe“ Spiegel) und der dichotomisierten mRS von Tag 90 als Zielvariable exakt reproduzieren lassen.¹⁰⁶ In beiden Fällen ist das Resultat eine rohe, also nicht-adjustierte OR; die adjustierte OR ist durch das Einbringen sämtlicher interessierenden Variablen in eine multiple, also multivariate binäre logistische Regression zu erhalten.¹⁰⁶

Anhand der abschließend durchgeführten multiplen logistischen Regression konnten folglich die in den Vierfeldertafeln ermittelten rohen OR mit den adjustierten OR verglichen werden. Die Ergebnisse der multiplen logistischen Regression bilden somit den Kern der vorliegenden Arbeit. Streng genommen sollten im Sinne einer perfekten Vergleichbarkeit der rohen und adjustierten OR die erklärenden Variablen in dem Regressionsmodell, wie in einer Vierfeldertafel auch, binär kodiert vorliegen; die Hormonspiegel wurden jedoch allesamt als metrische Variablen inkludiert,

damit der Effekt einer Veränderung der Hormonspiegel um die definierte (und damit klinisch relevante) Differenz auf das *Outcome* aufgezeigt werden konnte (vgl. Kapitel 2.4.2.6, Tabelle 16).

Interessanterweise erwiesen sich niedrige IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 als nicht förderlich für ein schlechtes *Outcome*; zudem waren die Resultate nicht signifikant (OR = 0.7, 95%-KI: 0.4 – 1.2; $p = 0.167$). Unter Ausschaltung der übrigen Einflussfaktoren konnte allerdings ein starker prädiktiver Wert des IGFBP-3 von Tag 8 auf den funktionellen Zustand nach 90 Tagen demonstriert werden. Erkennbar war dies an der hochsignifikanten OR von rund 2.8 (95%-KI: 1.6 – 4.8; $p < 0.001$): eine Erniedrigung der IGFBP-3-Spiegel von Tag 8 um 1 $\mu\text{g/ml}$ hatte also den unabhängigen Effekt einer rund 2.8-fachen Erhöhung der *Chance*, nach 90 Tagen einen definitionsgemäß schlechten funktionellen Zustand aufzuweisen. Das IGFBP-3 von Tag 8 übertraf dabei andere in der Literatur beschriebene Schlaganfall-Prädiktoren wie ein fortgeschrittenes Patientenalter, das männliche Geschlecht und einen vorliegenden Diabetes mellitus und war in dem Modell in der Einflussstärke vergleichbar mit dem Effekt eines bestehenden Vorinsults (vgl. Tabelle 16).⁸⁶ Die Vermutung, dass der prädiktive Wert des IGFBP-3 in der Akutphase von dem genauen Zeitpunkt der Messung abhängig ist, ist durch die Resultate naheliegend. Insgesamt konnte die im Vorfeld aufgestellte Hypothese bezüglich des IGFBP-3 als Prädiktor eines schlechten funktionellen Zustands nach 90 Tagen angenommen werden. Die Ergebnisse der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie konnten folglich verifiziert und statistisch abgesichert werden.¹⁷

4.2 Nebenergebnisse: IGF-1

In Zusammenschau der Ergebnisse der IGF-1-Analysen konnte gezeigt werden, dass zumindest die niedrigen IGF-1-Spiegel von Tag 8 einen signifikanten und protektiven Einfluss auf das Schlaganfall-*Outcome* nach 90 Tagen aufwiesen (vgl. Kapitel 1.1). Insgesamt wurden diese Erkenntnisse als Nebenergebnis dieser Dissertation gewertet, da sich in puncto IGF-1 in der gegenwärtigen Literatur bereits mehrere Studien über die Beziehung zwischen den IGF-1-Spiegeln und dem *Outcome* nach Hirninfarkt finden lassen.

Hohen zirkulierenden IGF-1-Spiegeln wurde so mehrfach eine Assoziation zu einem besseren funktionell-neurologischen *Outcome* und damit auch ein potentiell prädiktiver Wert bezüglich der Rehabilitation nach stattgehabtem Schlaganfall zugesprochen.^{12,13} Derartige Studien stehen im Gegensatz zu der in der vorliegenden Arbeit gefundenen Assoziation, unterstreichen jedoch die im Rahmen dieser Arbeit formulierte Hypothese über negative Effekte niedriger IGF-1-Spiegel in der post-ischämischen Phase.

Die Untersuchungen zum IGF-1 dienten zusätzlich der Verifizierung der aufgestellten Nebenhypothese (vgl. Kapitel 1.1). In der Studie zu den IGFBP-3-Effekten auf das Schlaganfall-*Outcome* von Ebinger et al. konnte eine positive IGF-1-IGFBP-3-Korrelation gefunden werden.¹⁷ Auch in einer Studie bezüglich der Assoziation zwischen IGF-1, IGFBP-3 und dem Auftreten von Arteriosklerose in den Karotiden waren das zirkulierende IGF-1- und IGFBP-3 hochsignifikant positiv miteinander korreliert.¹¹ Das Verhältnis zwischen den IGF-1- und IGFBP-3-Spiegeln könnte gemäß der aktuellen Literatur zudem abhängig von den Ausgangsbedingungen sein. So konnte eine hochsignifikante positive Korrelation bei Patienten mit Ösophaguskarzinom gefunden werden; Untersuchungen bei Brustkrebspatientinnen zeigten hingegen keine Korrelation.^{115,116} Im Kontext der vorliegenden Arbeit war die Kenntnis über Wechselbeziehungen zwischen den beiden Proteinen, insbesondere nach Schlaganfall, von Interesse, da manche Autoren die neuroprotektiven IGF-1-Effekte in Zusammenhang mit dem IGFBP-3 beschreiben, zum Teil unter Beachtung des Quotienten der Blutspiegel beider Proteine.^{117,118}

4.2.1 Bewertung der Statistik zum IGF-1

Analog zu der Analyse des IGFBP-3 wurde auch das IGF-1 zunächst in bivariaten Dependenzanalysen auf mögliche statistische Zusammenhänge zu den ermittelten mRS-Scores an den Tagen 0, 8 und 90 getestet. Anhand der Dichotomie der jeweiligen mRS-Scores in „gut“ (mRS = 0-2) und „schlecht“ (mRS = 3-6) wurden die IGF-1-Spiegel-Verteilungen in den mRS-Gruppen mittels *Boxplot*-Graphiken visualisiert und unter Gebrauch des t-Tests auf Lageunterschiede der IGF-1-Mittelwerte zwischen den Gruppen getestet. Es ergab sich kein Zusammenhang zwischen der initialen Schwere des Hirninfarkts und der Höhe der IGF-1-Serumspiegel (vgl. Abbildungen 13,14). Allerdings erwiesen sich die Patienten mit einem schlechten funktionellen Zustand nach 90 Tagen als diejenigen Personen, bei denen an den Tagen 0 und 8 auch tendenziell niedrige IGF-1-Spiegel gemessen worden waren: in den Gruppen mit dem schlechten 90-Tages-mRS waren die mittleren IGF-1-Spiegel von Tag 0 um rund 13.5 ng/ml ($p = 0.020$) und die IGF-1-Spiegel von Tag 8 um rund 17.4 ng/ml ($p = 0.009$) signifikant vermindert (vgl. Abbildungen 15,16). Dieselben Analysen wurden auch anhand der NIHSS der Tage 0, 8 und 90 durchgeführt und zeigten vergleichbare Ergebnisse. Auch hier wurde, analog zu den IGFBP-3-Untersuchungen und mit derselben Begründung, auf weitergehende Analysen verzichtet (vgl. Kapitel 4.1.2).

Hervorgehend aus den Kreuztabellenanalysen ergab sich hinsichtlich niedriger IGF-1-Spiegel an Tag 8 eine OR von rund 1.5 und ein RR von rund 1.7 bezüglich eines schlechten *Outcomes*, doch

waren diese Resultate statistisch nicht signifikant (vgl. Tabelle 14). Zu beachten ist an dieser Stelle der Umstand, dass, relativ zu den Kreuztabelletestungen bezüglich des IGFBP-3, der Anteil Patienten, bei denen ein niedriger IGF-1-Wert überhaupt gemessen werden konnte, gering war. So konnten niedrige IGF-1-Spiegel an Tag 8 bei lediglich etwa 10% der gesamten Studienkohorte festgestellt werden (vgl. Tabellen 12,13). Insgesamt blieb die Auswertbarkeit der IGF-1-Ergebnisse aus den Kreuztabellen limitiert.

Die multiple binäre logistische Regression bildete, wie bei den IGFBP-3-Analysen auch, den Kern der Statistik zum IGF-1. Es zeigte sich, dass die Erniedrigung der IGF-1-Spiegel von Tag 0 um 50 ng/ml mit einer Erhöhung der *Chance* auf die Ausprägung eines schlechten *Outcomes* um das rund 1.4-fache verbunden war; dieser Einfluss erwies sich gleichzeitig als nicht signifikant (95%-KI: 0.9 – 2.4; $p = 0.172$). Niedrige IGF-1-Werte an Tag 8 wirkten dahingegen signifikant protektiv (OR = 0.6, 95%-KI: 0.4 – 1.0; $p = 0.044$).

In zusammenfassender Betrachtung der Resultate aus der multiplen logistischen Regression konnte die formulierte Hypothese bezüglich der Assoziation zwischen niedrigen IGF-1-Spiegeln in der Akutphase und dem funktionellen Zustand nach 90 Tagen dahingehend angenommen werden, dass niedrige IGF-1-Spiegel von Tag 8 einen protektiven Einfluss auf das *Outcome* aufwiesen.

Die bereits in Kapitel 4.1.1 erläuterten Analysen hinsichtlich einer Assoziation der IGF-1- und IGFBP-3-Serumspiegel zeigten die erwartete signifikante positive Korrelation zwischen den beiden Hormonen (vgl. Abbildungen 21,22). Damit konnte die im Vorfeld formulierte Nebenhypothese bestätigt werden.

4.3 Einordnung in die gegenwärtige Literatur

In der wissenschaftlichen Literatur finden sich diverse Hinweise auf zytoprotektive Effekte sowohl des IGF-1 als auch des IGFBP-3 auf Nervengewebe.^{9,58,79,119} Die Theorie, dass es sich bei diesen Proteinen um potentiell bedeutende Biomarker beim Schlaganfall handeln könnte, erscheint plausibel. Bedingt durch die komplexe und multifaktorielle Pathogenese des Schlaganfalls einerseits und die komplizierten und teilweise in der Literatur konträr beschriebenen neuroprotektiven Auswirkungen des IGF-1 und IGFBP-3 können kausale Aspekte der gefundenen Zusammenhänge lediglich spekulativer Natur sein.

Auffällig waren zunächst die zwischen Tag 0 und Tag 8 nahezu unveränderten IGFBP-3-Plasmaspiegel in der vorliegenden Kohorte (vgl. Kapitel 3.2.1). Die mittleren IGF-1-Spiegel waren hingegen am Studientag 8 signifikant angestiegen (vgl. Kapitel 3.2.2). Dieser Befund deckt sich teilweise mit anderen Studienergebnissen. In einer schwedischen Studie berichteten Åberg et al. über signifikante IGF-1-Serumanstiege bei Schlaganfallpatienten in den ersten 19 Tagen; die erhöhten IGF-1-Spiegel waren mit einer signifikanten Verbesserung des Langzeit-*Outcomes* nach Schlaganfall assoziiert.¹² Interessanterweise ließ sich an dieser Stelle auch zeigen, dass sich die IGF-1-Spiegel nach drei Monaten zwischen der Kontroll- und der Schlaganfall-Gruppe nicht mehr signifikant voneinander unterschieden. Weiterhin konnten Wang et al. in Tierversuchen nach einem durch Arteria-Media-Okklusion provozierten Hirninfarkt signifikante Serumanstiege sowohl der IGF-1- als auch der IGFBP-2-Spiegel nachweisen.¹²⁰ Der *Peak* der IGF-1-Messungen wurde am dritten post-ischämischen Tag verzeichnet, während die höchsten IGFBP-2-Werte schon nach 24 Stunden gemessen wurden; bis zum siebten Tag fielen beide Spiegel wieder ab. Denkbar ist, dass ähnliche Plasmaspiegelveränderungen auch in der vorliegenden Studienkohorte abgelaufen sind. Insbesondere die festgestellten IGF-1-Mittelwertsunterschiede zwischen Tag 0 und Tag 8 könnten Ausdruck eines reaktiven und damit physiologischen Plasmaanstiegs im Sinne eines Schutzmechanismus sein. Die von Guan et al. im Tierversuch an Ratten beschriebene direkte Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen einer zwei Stunden nach provozierte Ischämie durchgeführten intrazerebroventrikulären (nachfolgend: ICV) Applikation von rekombinatem humanem IGF-1 und einer reduzierten kortikalen Infarzierung dürfte in diesem Zusammenhang zumindest als Hinweis auf die Relevanz der IGF-1-Spiegel in der postischämischen Phase zu werten sein; interessanterweise erwies sich die präventive ICV-Behandlung vor Ischämie als ineffektiv.¹²¹ An anderer Stelle stand der Neuronenverlust nach einer transienten Ischämie bei Ratten in keinem Zusammenhang zu einer ICV-IGF-1-Injektion, unabhängig von deren Zeitpunkt; gleichzeitig wurde aber eine verstärkte IGF-1-Bindung an den IGF-Rezeptoren registriert. Anhand dieser Befunde mutmaßten die Autoren, die intrazelluläre IGF-1-Signaltransduktion könne durch die Ischämie beeinträchtigt werden, was wiederum in einer kompensatorischen Hochregulation der IGF-1-Rezeptoren in den betroffenen Hirnarealen münden könne.¹²² Dazu passt, dass die IGF-1-Penetration in das Hirngewebe von Ratten in einer hypoxisch-ischämisch geschädigten Umgebung schneller abzulaufen scheint als in gesundem Gewebe.¹²³ Generell kann die Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke nach Ischämie erhöht sein.¹²⁴

Der signifikant protektive und unabhängige Effekt niedriger IGF-1-Spiegel von Tag 8 innerhalb der multiplen binären logistischen Regression könnte in diesem Kontext auch als Ausdruck einer vermehrten IGF-1-Umverteilung aus dem peripheren Kreislauf in das Hirngewebe als Ausdruck

eines maximierten IGF-1-Bedarfs nach Hirninfarkt verstanden werden, wie auch von Schwab et al. postuliert (vgl. Tabelle 16).⁷⁸ Tatsächlich konnten Schwab et al. gegenüber einer Kontrollgruppe signifikant erniedrigte IGF-1- sowie IGFBP-3-Plasmaspiegel bei Schlaganfallpatienten zu mehreren Messzeitpunkten innerhalb der ersten zehn Tage nach dem ischämischen Ereignis konstatieren. Derartige Konzentrationsverminderungen stehen zunächst im Gegensatz zu den in dieser Arbeit gefundenen IGF-Plasmaanstiegen und den unveränderten IGFBP-3-Spiegeln zwischen Tag 0 und Tag 8. Erstaunlicherweise war das Ausmaß der Konzentrationsverminderung im Plasma bei Schwab und Kollegen jedoch abhängig von der Infarktgröße im CT: je größer das Infarktvolumen, desto geringer waren die gemessenen IGF-1- und IGFBP-3-Plasmaspiegel.⁷⁸ Dies verdeutlicht den Umstand, dass potentielle Umverteilungen der IGF-1- und IGFBP-3-Proteinpools womöglich in einer Abhängigkeit zu der initialen Schwere eines Hirninfarkts stehen; es stellt sich die Frage, ob die dieser Arbeit zugrunde liegende Studienkohorte, insbesondere hinsichtlich einer Detektion von IGFBP-3-Spiegel-Veränderungen, insgesamt ausreichend schwer betroffen war (vgl. Kapitel 3.1.1).

Der in der vorliegenden Arbeit gefundene hochsignifikante Zusammenhang zwischen niedrigen IGFBP-3-Spiegeln an Tag 8 und einem schlechten funktionellen Zustand nach 90 Tagen war im Rahmen der multiplen logistischen Regression für alle innerhalb der Kohorte relevanten *Confounder* adjustiert und damit auch vom IGF-1, dessen Assoziation zum *Outcome* an anderen Stellen mehrfach beschrieben wurde, unabhängig.^{13,16,117} Ob die IGFBP-3-Wirkung auf eigene, vor allem IGF-1-entkoppelte Wirkmechanismen auf molekularer und zellulärer Ebene zurückführbar ist, bleibt an dieser Stelle spekulativ; zumindest lässt der unabhängige IGFBP-3-Effekt in dieser Arbeit vermuten, dass das IGFBP-3 nicht nur als reines IGF-1-Trägerprotein zu sehen ist, wie auch von Ebinger et al. postuliert.¹⁷ Insbesondere die dem IGFBP-3 zugeschriebene fördernde Beeinflussung der Vaskulogenese ist im Kontext der Adaption nach Schlaganfall von Interesse.^{73,74} Es ist nicht auszuschließen, dass dem IGFBP-3 eine Schlüsselfunktion im mikrovaskulären *Remodelling* nach Ischämie zukommt - vergleichbar mit den Effekten des *Vascular Endothelial Growth Factor*, dessen pro-angiogenetische Wirkungen im Tierversuch mit einem optimierten zerebralen Blutfluss, einem reduzierten Infarktvolumen und einer maximierten Erhaltung der metabolischen Penumbra nach ischämischem Gewebeschaden in Verbindung gebracht worden ist.¹²⁵ Der Umstand, dass in der vorliegenden Arbeit lediglich niedrige IGFBP-3-Plasmaspiegel der Messungen von Tag 8 mit einem schlechten neurologischen *Outcome* verbunden waren, könnte Ausdruck einer zeitverzögerten IGFBP-3-Wirkung auf die Mikrozirkulation im ischämischen Hirnareal sein. Die weiterhin in der Literatur beschriebenen

direkt proliferativen und, konträr dazu, apoptoseinduzierenden IGFBP-3-Effekte sowie dessen IGF-1-Modulation lassen die gefundenen Zusammenhänge zwischen dem IGFBP-3 und dem Schlaganfall-*Outcome* generell am wahrscheinlichsten auf ein multifaktorielles Geschehen zurückführen.¹⁵

Ungeachtet expliziter Wirkmechanismen wurden niedrige IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel im Menschen neuerdings zunehmend als möglicher Risikofaktor unterschiedlicher pathologischer Zustände, zum Beispiel Vorhofflimmern, koronare Herzerkrankung und auch Schlaganfall, identifiziert.¹²⁶⁻¹²⁸ Der im Rahmen der vorliegenden Arbeit gefundene unabhängige prädiktive Wert niedriger IGFBP-3-Plasmaspiegel am 8. post-ischämischen Tag auf den funktionellen Zustand am 90. post-ischämischen Tag ist insgesamt aufgrund der bisher spärlichen Datenlage zum IGFBP-3 und dem *Outcome* nach Schlaganfall als neuartige IGFBP-3-Komponente zu werten.

4.3.1 Limitationen

Die Limitationen dieser Arbeit sollten nicht unerwähnt bleiben. Ressourcenbedingt wurde auf die Bestimmung des GH bei den Patienten verzichtet. Bondanelli et al. berichteten, dass Patienten nach ischämischem Schlaganfall eine Hypophysendysfunktion, in Verbund mit einem GH-Mangel, durchleben können.¹³ Dies ist insbesondere von Interesse, weil die Somatomedine unter dem Einfluss des GH stehen (vgl. Kapitel 1.4.1). Ebenso unterliegen die Bindungsprotein-Spiegel in Humanserum dem GH; die IGF-Bindungsproteinspiegel können bei Akromegalie-Patienten erhöht und bei Kindern mit diagnostizierter GH-Defizienz vermindert sein.¹²⁹ Manche Prozesse innerhalb der IGF-Achse werden allerdings auch als autark beschrieben: Die IGFBP-3-Expression in der menschlichen Leber kann GH-unabhängig ablaufen.¹³⁰

Aufgrund fehlender Bildgebung lagen keine Angaben bezüglich der Schlaganfall-Subtypen bei den Patienten vor. Die Schlaganfall-Subtypen sowie die unterschiedlichen Lokalisationen der Ischämie-Areale können allerdings, gerade in Bezug auf die beschriebenen neuroprotektiven IGF-1-Effekte, durchaus von Bedeutung sein. Führt man in Ratten gemäß eines modifizierten Modells nach Levine eine unilaterale Arteria-Karotis-Ligatur mit einer nachfolgenden kurzen Episode, in welcher die Ratten einer hypoxischen Umgebung ausgesetzt sind, durch, so ergeben sich oft reproduzierbare Verteilungsmuster der ischämisch geschädigten Areale im Gehirn. In Mitleidenschaft gezogen werden dabei meist der laterale parietale Kortex, der piriforme Kortex

und der Hippokampus – dort meist die CA1-2-Subregionen - sowie der dorsolaterale Thalamus und das Striatum.⁶⁴ Studien über die IGF-1-Schutzwirkung, in denen gemäß dieses Modells experimentiert wurde, ergaben, relativ konstant, die größte Neuroprotektivität im Bereich des parietalen Kortex sowie einen mittleren Effekt für das Striatum und den Thalamus; der hippokampale post-ischämische Neuronenverlust war demgegenüber typischerweise nur in geringem Ausmaß durch eine IGF-1-Applikation zu verhindern.⁶⁴ Die IGF-1-Auswirkungen auf verletzte neuronale Netzwerke scheinen also eine direkte Abhängigkeit von den verschiedenen Hirn-Arealen aufzuweisen. In der Literatur gibt es Hinweise auf unterschiedliche IGF-1-Verteilungen in den verschiedenen Hirn-Arealen nach provozierter Ischämie und ICV-Applikation im Nagetier.¹³¹ Allgemein ist eine regional unterschiedliche IGF-1-Rezeptordichte im Gehirn denkbar.¹³²

Im Sinne einer ganzheitlichen Betrachtung wären lokale Konzentrationsveränderungen des IGF-1 und IGFBP-3 im Gehirn von Interesse gewesen. Im Jahr 1982 konnten Nieto-Sampedro et al. im Tierversuch demonstrieren, dass das Gehirn drei bis zehn Tage nach traumatischer Verletzung endogene Neurotrophine freisetzt.¹³³ Zudem zeigte sich eine direkt nach hypoxisch-ischämischer Hirnverletzung einsetzende Reduktion von IGF-1-mRNA in den betroffenen Hirnarealen bei neonatalen Ratten, die in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Erscheinen von Zell-Apoptosen und nekrotischen Veränderungen in Verbindung gebracht wurde; in den Folgetagen nach der Akutphase kam es dann zu einer progressiven Induktion der IGF-1-mRNA-Synthese.¹³⁴ Solch wandlungsfähige Muster der Proteinexpression zwischen gesundem und ischämischem Gewebe finden sich auch bezüglich des IGFBP-3 und weiterer IGF-Bindungsproteine.^{14,78}

Im Rahmen der durchgeführten Dependenzanalysen konnten viele denkbare *Confounder* ausgeschlossen werden (vgl. Kapitel 4.1.1). Erwähnt werden sollte dennoch, dass nicht alle für die Schlaganfall-Forschung gängigen Parameter in EARLY erfasst worden waren. Somit lagen beispielsweise keine Informationen über die Blutglucose-Situation der Patienten innerhalb der Akutphase vor. Die Somatomedine und ihre Bindungsproteine können jedoch verschiedene Aspekte des Metabolismus entscheidend beeinflussen: So vergrößert die Gabe von rekombinantem IGF-1 im Komplex mit IGFBP-3 zwar nicht das Risiko einer ausgeprägten Hypoglykämie, kann aber Blutzuckersenkungen verursachen.¹³⁵ Durch die Nicht-Erfassung einiger Parameter konnten unbekannte Störgrößen im Rahmen der statistischen Auswertung nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

Die aus der EARLY-Studie stammenden Plasmaproben waren eingefroren und mussten entsprechend vor der Hormonbestimmung aufgetaut werden. Es ist nicht auszuschließen, dass dadurch bedingte Messungenauigkeiten aufgetreten sein könnten. Zumindest existieren aber Daten, nach denen sich IGF-1- und IGFBP-3-Werte aus über neun Jahre bei -80° Celsius eingefrorenen Sera nicht signifikant von Werten aus frisch gewonnenen Sera unterscheiden.¹³⁶ Generell sollte betont werden, dass es sich bei den Messungen für diese Arbeit jeweils um hormonelle Momentaufnahmen handelte, welche die wahre Hormondynamik in der Zeit nach dem Insultgeschehen nicht en détail abbilden konnten.

Die vorliegende Studienpopulation war klinisch vergleichsweise milde betroffen. Insbesondere die ermittelten NIHSS- sowie mRS-Scores vom Studientag 8 zeigten, dass der überwiegende Anteil der Patienten maximal in die Kategorie „mittelgradiger Schlaganfall“ (NIHSS) einzuordnen war und auch in Bezug auf die mRS nicht mehr als 2 Punkte erreichte. Möglicherweise lassen sich die in dieser Arbeit gefundenen Zusammenhänge nicht unmittelbar auf schwerer betroffene Populationen übertragen.

Es stellt sich die Frage nach dem optimalen Zeitpunkt zur Erfassung eines post-ischämischen neurologischen *Outcomes*. Der neuronale Zelltod kann auch Monate nach dem Insultgeschehen noch andauern.¹³⁷ Zudem werden im Allgemeinen dementielle Entwicklungen nach einem stattgehabten Hirninfarkt beobachtet. Tatemichi et al. folgerten aus ihren Studienergebnissen, dass das Risiko, durch einen ischämischen Insult an einer Demenz zu erkranken, im Vergleich zu Nicht-Infarkt-Patienten etwa 6-fach erhöht ist.¹³⁸ Mit hoher Wahrscheinlichkeit tragen sowohl ein verzögerter Neuronenverlust, als auch der progressive dementielle Abbau zu einer Verschlechterung des Langzeit-*Outcomes* bei. Langzeit-Effekte, über die Dauer von drei Monaten hinausgehend, wurden durch den in EARLY festgelegten Endpunkt nach drei Monaten nicht überprüft.

4.3.2 Stärken

Aufgrund der Ein- und Ausschlusskriterien in EARLY lag ein insgesamt homogenes Kollektiv vor (vgl. Kapitel 2.1.2). Durch die Homogenität der Kohorte konnten wahrscheinlich *Confounder*-Effekte bezüglich der Hormonspiegelmessungen und des *Outcomes* minimiert werden.

So demonstrierte eine niederländische Arbeitsgruppe die Maximierung der Bioverfügbarkeit von freiem IGF-1 durch eine intravenöse t-PA-Behandlung.¹³⁹ Zudem kann sich eine Lyse-Behandlung

generell positiv auf das funktionelle klinische Endergebnis auswirken.²⁹ Da die Thrombolyse in EARLY ein Ausschlusskriterium darstellte, gab es entsprechend keine lysierten Patienten in der vorliegenden Kohorte.

Die für diese Arbeit zur Verfügung stehende Fallzahl von 404 Patienten war ausreichend hoch. Eine im Rahmen der Vorstudie am Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin durchgeführte *Power Calculation* ergab eine benötigte Fallzahl von rund 280 Patienten und einem Patientenanteil von 13 % mit niedrigen IGFBP-3-Spiegeln (IGFBP-3-Spiegel unterhalb der altersadjustierten 5. Perzentile) um bei einem zweiseitigen Chi-Quadrat-Test mit einem Signifikanzniveau $\alpha = 0.05$ eine *Power* von 80 % zu erreichen.

Der klinische Endpunkt der vorliegenden Arbeit bestand aus der mRS nach 90 Tagen. In der Literatur wird die mRS generell als wertvoller Endpunkt für klinische Schlaganfall-Studien bewertet.⁹⁷ Die mRS stellt unter Schlaganfall-Studien ein häufig benutztes Messinstrument für das *Outcome* dar; das *Outcome* wird gleichzeitig üblicherweise nach 90 Tagen bestimmt.¹⁴⁰ Daraus ergibt sich eine gute Vergleichbarkeit mit anderen großen Studien.

4.4 Zusammenfassendes Fazit

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung eines prädiktiven Wertes der IGF-1- sowie IGFBP-3-Plasmaspiegel in der Akutphase nach ischämischem Schlaganfall auf den funktionell-neurologischen Zustand der Patienten nach 90 Tagen.

Die Resultate aus der multiplen binären logistischen Regression, der Kernanalyse der vorliegenden Arbeit, ergaben, dass die IGF-1- und IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 in keinem signifikanten Zusammenhang zu dem *Outcome* nach 90 Tagen standen. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass niedrige IGF-1-Spiegel von Tag 8 mit einer unabhängigen und signifikanten Risikoreduktion eines schlechten funktionellen Zustands nach 90 Tagen assoziiert waren.

Als Hauptergebnis der vorliegenden Arbeit ist der gezeigte unabhängige signifikante Effekt einer Risikoerhöhung eines schlechten funktionell-neurologischen Zustands nach 90 Tagen bei niedrigen an Tag 8 gemessenen IGFBP-3-Spiegeln zu werten.

Insgesamt konnten die Hypothesen über Zusammenhänge zwischen den IGF-1- sowie IGFBP-3-Spiegeln in der Akutphase nach einem ischämischen Schlaganfall und dem *Outcome* nach 90 Tagen angenommen werden, zumindest hinsichtlich der Messwerte von Tag 8 nach Schlaganfall (vgl. Tabelle 16). Insbesondere die formulierte Hypothese über einen Zusammenhang zwischen

niedrigen IGFBP-3-Spiegeln in der Akutphase nach ischämischem Schlaganfall und einem schlechten *Outcome* konnte damit verifiziert und eine bis dato kaum untersuchte IGFBP-3-Eigenschaft konstatiert werden.

Insgesamt lässt sich anhand der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit postulieren, dass der prädiktive Wert von IGF-1- und IGFBP-3-Messungen in der Akutphase nach ischämischem Schlaganfall abhängig vom genauen Zeitpunkt der Messung ist. Interessant wäre die Überprüfung der aus dieser Dissertation hervorgehenden neuen Hypothese anhand von Studien mit mehr als zwei Messzeitpunkten bei Schlaganfall-Patienten in der unmittelbaren Akutphase.

4.5 Ausblick

Es ist vorstellbar, dass die Kenntnis über den prädiktiven Wert sowohl des IGF-1 als auch des IGFBP-3 für das Schlaganfall-*Outcome* in Zukunft die Nachsorge bei Patienten mit ischämischem Schlaganfall optimieren könnte. Sollte sich der unabhängige Zusammenhang zwischen niedrigen IGFBP-3-Plasmaspiegeln in der Akutphase und dem funktionellen Zustand nach drei Monaten weiterhin bestätigen, wäre ein neuer prognostisch wertvoller Schlaganfall-Biomarker gefunden. Dies könnte weiterhin den Weg für neue Therapiekonzepte im Bereich des hypoxisch-ischämisch geschädigten Gehirns bahnen. Die bislang in Tierversuchen gefundenen *Outcome*-optimierenden Effekte von ICV-verabreichtem IGF-1 sollten dabei mit in Betracht gezogen werden. Kooijman et al. jedenfalls prognostizierten bereits klinische Studien zur Untersuchung der Effekte von kurzzeitig subkutan applizierten IGF-1/IGFBP-3-Kombinationen auf den Erhalt der Penumbra und das klinische *Outcome* bei Patienten nach ischämischem Schlaganfall.¹¹⁷

Ein ganzheitlicher Betrachtungsansatz unter Einbezug der gesamten IGF-Achse – inklusive der Durchführung von Provokationstestungen – könnte mehr Klarheit über die Rolle der gesamten Hormonachse für die neuronale Regeneration auf zellulärer, histologischer und letztendlich geistig-funktioneller Ebene bringen. Generell sind weitere Untersuchungen notwendig, um in Zukunft die globale Bürde der zerebrovaskulären und neurodegenerativen Erkrankungen etwas eindämmen zu können: denkbar ist nicht nur der neuroprotektive Nutzen nach ischämischen Verletzungen des Gehirns, sondern ebenfalls im Bereich degenerativer Erkrankungen, wie etwa dem Morbus Alzheimer oder der Amyotrophen Lateralsklerose.

Literaturverzeichnis

- 1 Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015;386(9995):743-800.
- 2 Feigin VL, Forouzanfar MH, Krishnamurthi R, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, Moran AE, Sacco RL, Anderson L, Truelsen T, O'Donnell M, Venketasubramanian N, Barker-Collo S, Lawes CM, Wang W, Shinohara Y, Witt E, Ezzati M, Naghavi M, Murray C. Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2014;383(9913):245-54.
- 3 Nedeltchev K, der Maur TA, Georgiadis D, Arnold M, Caso V, Mattle HP, Schroth G, Remonda L, Sturzenegger M, Fischer U, Baumgartner RW. Ischaemic stroke in young adults: predictors of outcome and recurrence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76(2):191-5.
- 4 Kappelle LJ, Adams HP, Jr., Heffner ML, Torner JC, Gomez F, Biller J. Prognosis of young adults with ischemic stroke. A long-term follow-up study assessing recurrent vascular events and functional outcome in the Iowa Registry of Stroke in Young Adults. *Stroke* 1994;25(7):1360-5.
- 5 Heuschmann PU, Busse O, Wagner M, Endres M, Villringer A, Röther J, Kolominsky-Rabas PL, Berger K, für das Kompetenznetz Schlaganfall dDSGsdSDS-H. Schlaganfallhäufigkeit und Versorgung von Schlaganfallpatienten in Deutschland. *Akt Neurol* 2010;37(07):333-40.
- 6 Sitzler M, Dvorak F, Förch C. Biomarker des Schlaganfall - Klinische Relevanz in Diagnose und Prognose. *Nervenheilkunde* 2007;26(5):352-6.
- 7 Whiteley W, Chong WL, Sengupta A, Sandercock P. Blood markers for the prognosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke* 2009;40(5):e380-9.
- 8 Colao A. The GH-IGF-I axis and the cardiovascular system: clinical implications. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008;69(3):347-58.
- 9 Aberg D. Role of the growth hormone/insulin-like growth factor 1 axis in neurogenesis. *Endocr Dev* 2010;17:63-76.
- 10 Schuler-Luttman S, Monnig G, Enbergs A, Schulte H, Breithardt G, Assmann G, Kerber S, von Eckardstein A. Insulin-like growth factor-binding protein-3 is associated with the presence and extent of coronary arteriosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(4):E10-5.
- 11 Kawachi S, Takeda N, Sasaki A, Kokubo Y, Takami K, Sarui H, Hayashi M, Yamakita N, Yasuda K. Circulating insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-3 are associated with early carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(3):617-21.

- 12 Aberg D, Jood K, Blomstrand C, Jern C, Nilsson M, Isgaard J, Aberg ND. Serum IGF-I levels correlate to improvement of functional outcome after ischemic stroke. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(7):E1055-64.
- 13 Bondanelli M, Ambrosio MR, Onofri A, Bergonzoni A, Lavezzi S, Zatelli MC, Valle D, Basaglia N, degli Uberti EC. Predictive value of circulating insulin-like growth factor I levels in ischemic stroke outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(10):3928-34.
- 14 Endres M, Piriz J, Gertz K, Harms C, Meisel A, Kronenberg G, Torres-Aleman I. Serum insulin-like growth factor I and ischemic brain injury. *Brain Res* 2007;1185:328-35.
- 15 Jogie-Brahim S, Feldman D, Oh Y. Unraveling insulin-like growth factor binding protein-3 actions in human disease. *Endocr Rev* 2009;30(5):417-37.
- 16 Denti L, Annoni V, Cattadori E, Salvagnini MA, Visioli S, Merli MF, Corradi F, Ceresini G, Valenti G, Hoffman AR, Ceda GP. Insulin-like growth factor 1 as a predictor of ischemic stroke outcome in the elderly. *Am J Med* 2004;117(5):312-7.
- 17 Ebinger M, Ipsen N, Leonards CO, Empl L, Hanne L, Liman T, Mai K, Strasburger CJ, Spranger J, Endres M. Circulating Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 Predicts One-year Outcome after Ischemic Stroke. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2015;123(8):461-5.
- 18 Ebinger M, Heuschmann PU, Jungehülsing GJ, Werner C, Laufs U, Endres M. The Berlin 'Cream&Sugar' Study: the prognostic impact of an oral triglyceride tolerance test in patients after acute ischaemic stroke. *Int J Stroke* 2010;5(2):126-30.
- 19 The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. WHO MONICA Project Principal Investigators. *J Clin Epidemiol* 1988;41(2):105-14.
- 20 Veltkamp R, Fiehler J, Grond M. Kapitel Vaskuläre Erkrankungen. Akuttherapie des ischämischen Schlaganfalls. In: Diener H-C, Weimar C, Kommission Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, eds. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. 5th ed. Stuttgart: Thieme Verlag, 2012:2-10.
- 21 Masuhr F, Masuhr KF, Neumann M. Zerebrale Ischämien. In: Bob A, Bob K, eds. Duale Reihe Neurologie. 7th ed. Stuttgart: Thieme Verlag, 2013:381.
- 22 Albers GW, Caplan LR, Easton JD, Fayad PB, Mohr JP, Saver JL, Sherman DG. Transient ischemic attack--proposal for a new definition. *N Engl J Med* 2002;347(21):1713-6.
- 23 Kolominsky-Rabas PL, Sarti C, Heuschmann PU, Graf C, Siemonsen S, Neundoerfer B, Katalinic A, Lang E, Gassmann KG, von Stockert TR. A prospective community-based study of stroke in Germany--the Erlangen Stroke Project (ESPro): incidence and case fatality at 1, 3, and 12 months. *Stroke* 1998;29(12):2501-6.
- 24 Kolominsky-Rabas PL, Heuschmann PU, Marschall D, Emmert M, Baltzer N, Neundorfer B, Schoffski O, Krobot KJ. Lifetime cost of ischemic stroke in Germany: results and national projections from a population-based stroke registry: the Erlangen Stroke Project. *Stroke* 2006;37(5):1179-83.

- 25 Collaborative systematic review of the randomised trials of organised inpatient (stroke unit) care after stroke. Stroke Unit Trialists' Collaboration. *BMJ* 1997;314(7088):1151-9.
- 26 Masuhr F, Masuhr KF, Neumann M. Zerebrale Ischämien. In: Bob A, Bob K, eds. *Duale Reihe Neurologie*. 7th ed. Stuttgart: Thieme Verlag, 2013:390.
- 27 Wahlgren N, Ahmed N, Davalos A, Hacke W, Millan M, Muir K, Roine RO, Toni D, Lees KR. Thrombolysis with alteplase 3-4.5 h after acute ischaemic stroke (SITS-ISTR): an observational study. *Lancet* 2008;372(9646):1303-9.
- 28 Masuhr F, Masuhr KF, Neumann M. Zerebrale Ischämien. In: Bob A, Bob K, eds. *Duale Reihe Neurologie*. 7th ed. Stuttgart: Thieme Verlag, 2013:394.
- 29 Lees KR, Bluhmki E, von Kummer R, Brott TG, Toni D, Grotta JC, Albers GW, Kaste M, Marler JR, Hamilton SA, Tilley BC, Davis SM, Donnan GA, Hacke W, Allen K, Mau J, Meier D, del Zoppo G, De Silva DA, Butcher KS, Parsons MW, Barber PA, Levi C, Bladin C, Byrnes G. Time to treatment with intravenous alteplase and outcome in stroke: an updated pooled analysis of ECASS, ATLANTIS, NINDS, and EPITHET trials. *Lancet* 2010;375(9727):1695-703.
- 30 Berkhemer OA, Fransen PS, Beumer D, van den Berg LA, Lingsma HF, Yoo AJ, Schonewille WJ, Vos JA, Nederkoorn PJ, Wermer MJ, van Walderveen MA, Staals J, Hofmeijer J, van Oostayen JA, Lycklama a Nijeholt GJ, Boiten J, Brouwer PA, Emmer BJ, de Bruijn SF, van Dijk LC, Kappelle LJ, Lo RH, van Dijk EJ, de Vries J, de Kort PL, van Rooij WJ, van den Berg JS, van Hasselt BA, Aerden LA, Dallinga RJ, Visser MC, Bot JC, Vroomen PC, Eshghi O, Schreuder TH, Heijboer RJ, Keizer K, Tielbeek AV, den Hertog HM, Gerrits DG, van den Berg-Vos RM, Karas GB, Steyerberg EW, Flach HZ, Marquering HA, Sprengers ME, Jenniskens SF, Beenen LF, van den Berg R, Koudstaal PJ, van Zwam WH, Roos YB, van der Lugt A, van Oostenbrugge RJ, Majoie CB, Dippel DW, Investigators MC. A randomized trial of intraarterial treatment for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 2015;372(1):11-20.
- 31 Campbell BC, Mitchell PJ, Kleinig TJ, Dewey HM, Churilov L, Yassi N, Yan B, Dowling RJ, Parsons MW, Oxley TJ, Wu TY, Brooks M, Simpson MA, Miteff F, Levi CR, Krause M, Harrington TJ, Faulder KC, Steinfurt BS, Priglinger M, Ang T, Scroop R, Barber PA, McGuinness B, Wijeratne T, Phan TG, Chong W, Chandra RV, Bladin CF, Badve M, Rice H, de Villiers L, Ma H, Desmond PM, Donnan GA, Davis SM, Investigators E-I. Endovascular therapy for ischemic stroke with perfusion-imaging selection. *N Engl J Med* 2015;372(11):1009-18.
- 32 Saver JL, Goyal M, Bonafe A, Diener HC, Levy EI, Pereira VM, Albers GW, Cognard C, Cohen DJ, Hacke W, Jansen O, Jovin TG, Mattle HP, Nogueira RG, Siddiqui AH, Yavagal DR, Baxter BW, Devlin TG, Lopes DK, Reddy VK, du Mesnil de Rochemont R, Singer OC, Jahan R, Investigators SP. Stent-retriever thrombectomy after intravenous t-PA vs. t-PA alone in stroke. *N Engl J Med* 2015;372(24):2285-95.
- 33 Goyal M, Demchuk AM, Menon BK, Eesa M, Rempel JL, Thornton J, Roy D, Jovin TG, Willinsky RA, Sapkota BL, Dowlatshahi D, Frei DF, Kamal NR, Montanera WJ, Poppe AY, Ryckborst KJ, Silver FL, Shuaib A, Tampieri D, Williams D, Bang OY, Baxter BW, Burns PA, Choe H, Heo J-H, Holmstedt CA, Jankowitz B, Kelly M, Linares G, Mandzia JL, Shankar J, Sohn S-I, Swartz RH, Barber PA, Coutts SB, Smith EE, Morrish WF, Weill A, Subramaniam S, Mitha AP, Wong JH, Lowerison MW, Sajobi TT, Hill MD. Randomized Assessment of Rapid

Endovascular Treatment of Ischemic Stroke. *New England Journal of Medicine* 2015;372(11):1019-30.

34 Endres M, Diener HC, Roether J. Kapitel Vaskuläre Erkrankungen. Sekundärprophylaxe des ischämischen Insults. In: Diener H-C, Weimar C, Kommission Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, eds. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. 5th ed. Stuttgart: Thieme Verlag, 2012:1-3.

35 Masuhr F, Masuhr KF, Neumann M. Zerebrale Ischämien. In: Bob A, Bob K, eds. Duale Reihe Neurologie. 7th ed. Stuttgart: Thieme Verlag, 2013:385-8.

36 Adams HP, Jr., Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE, 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993;24(1):35-41.

37 Hensler S, Barzel A, Koneczny N. Primäre und sekundäre Prävention des Schlaganfalls. In: Deutsche Gesellschaft für Allgemeinmedizin und Familienmedizin (DEGAM), editor. DEGAM-Leitlinie Nr 8: Schlaganfall. 8th ed. Düsseldorf: omikron Publishing, 2012:56.

38 Allen CL, Bayraktutan U. Risk factors for ischaemic stroke. *Int J Stroke* 2008;3(2):105-16.

39 Martiskainen M, Pohjasvaara T, Mikkelsen J, Mantyla R, Kunnas T, Laippala P, Ilveskoski E, Kaste M, Karhunen PJ, Erkinjuntti T. Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke. *Stroke* 2003;34(4):886-91.

40 Cheng SY, Zhao YD, Zeng JW, Chen XY, Wang RD. A polymorphism (-455G>A) in the beta-fibrinogen gene is associated with an increased risk of cerebral infarction in the Chinese population: A meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2015;16(2):399-408.

41 Peng DQ, Zhao SP, Wang JL. Lipoprotein (a) and apolipoprotein E epsilon 4 as independent risk factors for ischemic stroke. *J Cardiovasc Risk* 1999;6(1):1-6.

42 Iso H, Jacobs DR, Jr., Wentworth D, Neaton JD, Cohen JD. Serum cholesterol levels and six-year mortality from stroke in 350,977 men screened for the multiple risk factor intervention trial. *N Engl J Med* 1989;320(14):904-10.

43 Masuhr F, Masuhr KF, Neumann M. Zerebrale Ischämien. In: Bob A, Bob K, eds. Duale Reihe Neurologie. 7th ed. Stuttgart: Thieme Verlag, 2013:380-96.

44 Drenckhahn D. Blutgefäße des Zentralnervensystems. In: Benninghoff A, Drenckhahn D, eds. Anatomie - Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie. 16th ed. München: Elsevier GmbH, 2004:621.

45 Gunnal SA, Farooqui MS, Wabale RN. Anatomical variations of the circulus arteriosus in cadaveric human brains. *Neurol Res Int* 2014;2014:687281.

46 Henriksen JH. Ernest Henry Starling (1866-1927): the scientist and the man. *J Med Biogr* 2005;13(1):22-30.

- 47 Hofmann E. Hormone und Stoffwechsel. In: Medizinische Biochemie Systematisch. 4th ed. Bremen: UNI-MED Verlag, 2006:623.
- 48 Drenckhahn D. Endokrines System Übersicht. In: Benninghoff A, Drenckhahn D, eds. Anatomie - Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie. 16th ed. München: Elsevier GmbH, 2004:186-7.
- 49 Hofmann E. Hormone und Stoffwechsel. In: Medizinische Biochemie Systematisch. 4th ed. Bremen: UNI-MED Verlag, 2006:624.
- 50 Lüllmann-Rauch R. Endokrine Organe. In: Taschenlehrbuch Histologie. 2nd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2006:410-2.
- 51 Groscurth D. Hypophyse. In: Benninghoff A, Drenckhahn D, eds. Anatomie - Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie. 16th ed. München: Elsevier GmbH, 2004:195.
- 52 Lüllmann-Rauch R. Endokrine Organe. In: Taschenlehrbuch Histologie. 2nd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2006:419.
- 53 Hofmann E. Hormone und Stoffwechsel. In: Medizinische Biochemie Systematisch. 4th ed. Bremen: UNI-MED Verlag, 2006:641-4.
- 54 Collett-Solberg PF, Cohen P. Genetics, chemistry, and function of the IGF/IGFBP system. *Endocrine* 2000;12(2):121-36.
- 55 Arany E, Afford S, Strain AJ, Winwood PJ, Arthur MJ, Hill DJ. Differential cellular synthesis of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) and IGFBP-3 within human liver. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79(6):1871-6.
- 56 Puche JE, Castilla-Cortazar I. Human conditions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) deficiency. *J Transl Med* 2012;10:224.
- 57 Duffy KR, Pardridge WM, Rosenfeld RG. Human blood-brain barrier insulin-like growth factor receptor. *Metabolism* 1988;37(2):136-40.
- 58 Joseph D'Ercole A, Ye P. Expanding the mind: insulin-like growth factor I and brain development. *Endocrinology* 2008;149(12):5958-62.
- 59 Castilla-Cortazar I, Garcia-Fernandez M, Delgado G, Puche JE, Sierra I, Barhoum R, Gonzalez-Baron S. Hepatoprotection and neuroprotection induced by low doses of IGF-II in aging rats. *J Transl Med* 2011;9:103.
- 60 Varbo A, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P, Jensen GB, Benn M. Nonfasting triglycerides, cholesterol, and ischemic stroke in the general population. *Ann Neurol* 2011;69(4):628-34.
- 61 Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Nordestgaard BG. Nonfasting triglycerides and risk of ischemic stroke in the general population. *JAMA* 2008;300(18):2142-52.

- 62 Liu X, Yao DL, Webster H. Insulin-like growth factor I treatment reduces clinical deficits and lesion severity in acute demyelinating experimental autoimmune encephalomyelitis. *Mult Scler* 1995;1(1):2-9.
- 63 Yin QW, Johnson J, Prevette D, Oppenheim RW. Cell death of spinal motoneurons in the chick embryo following deafferentation: rescue effects of tissue extracts, soluble proteins, and neurotrophic agents. *J Neurosci* 1994;14(12):7629-40.
- 64 Guan J, Bennet L, Gluckman PD, Gunn AJ. Insulin-like growth factor-1 and post-ischemic brain injury. *Prog Neurobiol* 2003;70(6):443-62.
- 65 Kim HS, Nagalla SR, Oh Y, Wilson E, Roberts CT, Jr., Rosenfeld RG. Identification of a family of low-affinity insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs): characterization of connective tissue growth factor as a member of the IGFBP superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(24):12981-6.
- 66 Martin JL, Baxter RC. Insulin-like growth factor-binding protein from human plasma. Purification and characterization. *J Biol Chem* 1986;261(19):8754-60.
- 67 Albiston AL, Saffery R, Herington AC. Cloning and characterization of the promoter for the rat insulin-like growth factor-binding protein-3 gene. *Endocrinology* 1995;136(2):696-704.
- 68 Conover CA. Glycosylation of insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) is not required for potentiation of IGF-I action: evidence for processing of cell-bound IGFBP-3. *Endocrinology* 1991;129(6):3259-68.
- 69 Mondschein JS, Smith SA, Hammond JM. Production of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) by porcine granulosa cells: identification of IGFBP-2 and -3 and regulation by hormones and growth factors. *Endocrinology* 1990;127(5):2298-306.
- 70 Domene HM, Hwa V, Jasper HG, Rosenfeld RG. Acid-labile subunit (ALS) deficiency. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011;25(1):101-13.
- 71 Martin JL, Weenink SM, Baxter RC. Insulin-like growth factor-binding protein-3 potentiates epidermal growth factor action in MCF-10A mammary epithelial cells. Involvement of p44/42 and p38 mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 2003;278(5):2969-76.
- 72 Martin JL, Coverley JA, Pattison ST, Baxter RC. Insulin-like growth factor-binding protein-3 production by MCF-7 breast cancer cells: stimulation by retinoic acid and cyclic adenosine monophosphate and differential effects of estradiol. *Endocrinology* 1995;136(3):1219-26.
- 73 Chang KH, Chan-Ling T, McFarland EL, Afzal A, Pan H, Baxter LC, Shaw LC, Caballero S, Sengupta N, Li Calzi S, Sullivan SM, Grant MB. IGF binding protein-3 regulates hematopoietic stem cell and endothelial precursor cell function during vascular development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(25):10595-600.
- 74 Lofqvist C, Chen J, Connor KM, Smith AC, Aderman CM, Liu N, Pintar JE, Ludwig T, Hellstrom A, Smith LE. IGFBP3 suppresses retinopathy through suppression of

oxygen-induced vessel loss and promotion of vascular regrowth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(25):10589-94.

75 Huang SS, Ling TY, Tseng WF, Huang YH, Tang FM, Leal SM, Huang JS. Cellular growth inhibition by IGFBP-3 and TGF-beta1 requires LRP-1. *FASEB J* 2003;17(14):2068-81.

76 Rajah R, Lee KW, Cohen P. Insulin-like growth factor binding protein-3 mediates tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis: role of Bcl-2 phosphorylation. *Cell Growth Differ* 2002;13(4):163-71.

77 Liu B, Lee HY, Weinzimer SA, Powell DR, Clifford JL, Kurie JM, Cohen P. Direct functional interactions between insulin-like growth factor-binding protein-3 and retinoid X receptor-alpha regulate transcriptional signaling and apoptosis. *J Biol Chem* 2000;275(43):33607-13.

78 Schwab S, Spranger M, Krempien S, Hacke W, Bettendorf M. Plasma insulin-like growth factor I and IGF binding protein 3 levels in patients with acute cerebral ischemic injury. *Stroke* 1997;28(9):1744-8.

79 Kielczewski JL, Hu P, Shaw LC, Li Calzi S, Mames RN, Gardiner TA, McFarland E, Chan-Ling T, Grant MB. Novel protective properties of IGFBP-3 result in enhanced pericyte ensheathment, reduced microglial activation, increased microglial apoptosis, and neuronal protection after ischemic retinal injury. *Am J Pathol* 2011;178(4):1517-28.

80 Kritas SK, Saggini A, Cerulli G, Caraffa A, Antinolfi P, Pantalone A, Rosati M, Tei M, Speziali A, Saggini R, Conti P. Corticotropin-releasing hormone, microglia and mental disorders. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2014;27(2):163-7.

81 Ikonen M, Liu B, Hashimoto Y, Ma L, Lee KW, Niikura T, Nishimoto I, Cohen P. Interaction between the Alzheimer's survival peptide humanin and insulin-like growth factor-binding protein 3 regulates cell survival and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(22):13042-7.

82 Dengler R, Diener HC, Schwartz A, Grond M, Schumacher H, Machnig T, Eschenfelder CC, Leonard J, Weissenborn K, Kastrup A, Haberl R. Early treatment with aspirin plus extended-release dipyridamole for transient ischaemic attack or ischaemic stroke within 24 h of symptom onset (EARLY trial): a randomised, open-label, blinded-endpoint trial. *Lancet Neurol* 2010;9(2):159-66.

83 Albers GW, Amarenco P, Easton JD, Sacco RL, Teal P. Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008;133(6 Suppl):630S-69S.

84 World Medical A. World medical association declaration of helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2013;310(20):2191-4.

85 Adams HP, Jr., Davis PH, Leira EC, Chang KC, Bendixen BH, Clarke WR, Woolson RF, Hansen MD. Baseline NIH Stroke Scale score strongly predicts outcome after stroke: A report of the Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST). *Neurology* 1999;53(1):126-31.

- 86 Topakian R, Haring HP, Aichner FT, Mitarbeiter am Osterreichischen S-R. Baseline predictors of outcome in stroke patients treated with intravenous thrombolysis--the Austrian stroke unit registry. *Wien Med Wochenschr* 2008;158(15-16):429-34.
- 87 Sobesky J, Frackowiak M, Zaro Weber O, Hahn M, Moller-Hartmann W, Rudolf J, Neveling M, Grond M, Schmulling S, Jacobs A, Heiss WD. The Cologne stroke experience: safety and outcome in 450 patients treated with intravenous thrombolysis. *Cerebrovasc Dis* 2007;24(1):56-65.
- 88 Huybrechts KF, Caro JJ, Xenakis JJ, Vemmos KN. The prognostic value of the modified Rankin Scale score for long-term survival after first-ever stroke. Results from the Athens Stroke Registry. *Cerebrovasc Dis* 2008;26(4):381-7.
- 89 Prencipe M, Culasso F, Rasura M, Anzini A, Beccia M, Cao M, Giubilei F, Fieschi C. Long-term prognosis after a minor stroke: 10-year mortality and major stroke recurrence rates in a hospital-based cohort. *Stroke* 1998;29(1):126-32.
- 90 Brott T, Adams HP, Jr., Olinger CP, Marler JR, Barsan WG, Biller J, Spilker J, Holleran R, Eberle R, Hertzberg V, et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. *Stroke* 1989;20(7):864-70.
- 91 Meyer BC, Hemmen TM, Jackson CM, Lyden PD. Modified National Institutes of Health Stroke Scale for use in stroke clinical trials: prospective reliability and validity. *Stroke* 2002;33(5):1261-6.
- 92 Rankin J. Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. II. Prognosis. *Scott Med J* 1957;2(5):200-15.
- 93 Farrell B, Godwin J, Richards S, Warlow C. The United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: final results. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54(12):1044-54.
- 94 New PW, Buchbinder R. Critical appraisal and review of the Rankin scale and its derivatives. *Neuroepidemiology* 2006;26(1):4-15.
- 95 de Haan R, Limburg M, Bossuyt P, van der Meulen J, Aaronson N. The clinical meaning of Rankin 'handicap' grades after stroke. *Stroke* 1995;26(11):2027-30.
- 96 van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke* 1988;19(5):604-7.
- 97 Banks JL, Marotta CA. Outcomes validity and reliability of the modified Rankin scale: implications for stroke clinical trials: a literature review and synthesis. *Stroke* 2007;38(3):1091-6.
- 98 Baggio JA, Santos-Pontelli TE, Cougo-Pinto PT, Camilo M, Silva NF, Antunes P, Machado L, Leite JP, Pontes-Neto OM. Validation of a structured interview for telephone assessment of the modified Rankin Scale in Brazilian stroke patients. *Cerebrovasc Dis* 2014;38(4):297-301.

- 99 Savio K, Pietra GL, Oddone E, Reggiani M, Leone MA. Reliability of the modified Rankin Scale applied by telephone. *Neurol Int* 2013;5(1):e2.
- 100 Worthmann H, Dengler R, Schumacher H, Schwartz A, Eisert WG, Lichtinghagen R, Weissenborn K. Monocyte Chemotactic Protein-1 as a Potential Biomarker for Early Anti-Thrombotic Therapy after Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci* 2012;13(7):8670-8.
- 101 IMMULITE 2000® Immunoassay-Analyseautomat - Bedienerhandbuch Juni 2007. Available online: <http://internetmed.com/biomed-dept/service-manuals/diagnostic-products-immulite-2000-chemistry-analyzer-operators-manual>. Date accessed: 02/02/2015.
- 102 Webinger J, Keller D, Budrich B. Phase 3: Analysieren. In: *Wie schreibe ich eine Doktorarbeit? Leitfaden für Mediziner und Zahnmediziner*. 1st ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2014:50.
- 103 du Prel JB, Röhrig B, Hommel G, Blettner M. Choosing Statistical Tests: Part 12 of a Series on Evaluation of Scientific Publications. *Dtsch Arztebl Int* 2010;107(19):343-8.
- 104 Principles of endovascular therapy. In: Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J, eds. *Neurology in Clinical Practice - Principles of Diagnosis and Management*. 1. 4th ed. Boston: Butterworth Heinemann, 2004:1008.
- 105 Elmlinger MW, Kuhnel W, Weber MM, Ranke MB. Reference ranges for two automated chemiluminescent assays for serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3). *Clin Chem Lab Med* 2004;42(6):654-64.
- 106 Bender R, Ziegler A, Lange S. [Logistic regression]. *Dtsch Med Wochenschr* 2007;132 Suppl 1:e33-5.
- 107 World Health Organisation. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2000;894:9.
- 108 Bender R, Ziegler A, Lange S. [Multiple regression]. *Dtsch Med Wochenschr* 2007;132 Suppl 1:e30-2.
- 109 Kent DM, Selker HP, Ruthazer R, Bluhmki E, Hacke W. The stroke-thrombolytic predictive instrument: a predictive instrument for intravenous thrombolysis in acute ischemic stroke. *Stroke* 2006;37(12):2957-62.
- 110 Schneider A, Hommel G, Blettner M. Linear regression analysis: part 14 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int* 2010;107(44):776-82.
- 111 Sauerbrei W, Blettner M. Interpreting results in 2 x 2 tables: part 9 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int* 2009;106(48):795-800.
- 112 Bender R, Lange S. [The 2 by 2 table]. *Dtsch Med Wochenschr* 2007;132 Suppl 1:e12-4.
- 113 Klug SJ, Bender R, Blettner M, Lange S. [Common study designs in epidemiology]. *Dtsch Med Wochenschr* 2007;132 Suppl 1:e45-7.

- 114 du Prel JB, Hommel G, Rohrig B, Blettner M. Confidence interval or p-value?: part 4 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int* 2009;106(19):335-9.
- 115 Sohda M, Kato H, Miyazaki T, Nakajima M, Fukuchi M, Manda R, Fukai Y, Masuda N, Kuwano H. The role of insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor binding protein 3 in human esophageal cancer. *Anticancer Res* 2004;24(5A):3029-34.
- 116 Tas F, Karabulut S, Bilgin E, Tastekin D, Duranyildiz D. Clinical significance of serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) in patients with breast cancer. *Tumour Biol* 2014;35(9):9303-9.
- 117 Kooijman R, Sarre S, Michotte Y, De Keyser J. Insulin-like growth factor I: a potential neuroprotective compound for the treatment of acute ischemic stroke? *Stroke* 2009;40(4):e83-8.
- 118 De Smedt A, Brouns R, Uyttenboogaart M, De Raedt S, Moens M, Wilczak N, Luijckx GJ, De Keyser J. Insulin-like growth factor I serum levels influence ischemic stroke outcome. *Stroke* 2011;42(8):2180-5.
- 119 Gluckman PD, Guan J, Williams C, Scheepens A, Zhang R, Bennet L, Gunn A. Asphyxial brain injury--the role of the IGF system. *Molecular and cellular endocrinology* 1998;140(1-2):95-9.
- 120 Wang J, Tang Y, Zhang W, Zhao H, Wang R, Yan Y, Xu L, Li P. Insulin-like growth factor-1 secreted by brain microvascular endothelial cells attenuates neuron injury upon ischemia. *Febs j* 2013;280(15):3658-68.
- 121 Guan J, Williams C, Gunning M, Mallard C, Gluckman P. The effects of IGF-1 treatment after hypoxic-ischemic brain injury in adult rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993;13(4):609-16.
- 122 Bergstedt K, Wieloch T. Changes in insulin-like growth factor 1 receptor density after transient cerebral ischemia in the rat. Lack of protection against ischemic brain damage following injection of insulin-like growth factor 1. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993;13(5):895-8.
- 123 Guan J, Skinner SJ, Beilharz EJ, Hua KM, Hodgkinson S, Gluckman PD, Williams CE. The movement of IGF-I into the brain parenchyma after hypoxic-ischaemic injury. *Neuroreport* 1996;7(2):632-6.
- 124 Preston E, Sutherland G, Finsten A. Three openings of the blood-brain barrier produced by forebrain ischemia in the rat. *Neurosci Lett* 1993;149(1):75-8.
- 125 Zechariah A, ElAli A, Doeppner TR, Jin F, Hasan MR, Helfrich I, Mies G, Hermann DM. Vascular endothelial growth factor promotes pericyte coverage of brain capillaries, improves cerebral blood flow during subsequent focal cerebral ischemia, and preserves the metabolic penumbra. *Stroke* 2013;44(6):1690-7.
- 126 Duron E, Vidal JS, Funalot B, Brunel N, Viollet C, Seux ML, Treluyer JM, Epelbaum J, Bouc YL, Hanon O. Insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein 3, and atrial fibrillation in the elderly. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014;69(8):1025-32.

- 127 Juul A, Scheike T, Davidsen M, Gyllenborg J, Jorgensen T. Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease: a population-based case-control study. *Circulation* 2002;106(8):939-44.
- 128 Johnsen SP, Hundborg HH, Sorensen HT, Orskov H, Tjonneland A, Overvad K, Jorgensen JO. Insulin-like growth factor (IGF) I, -II, and IGF binding protein-3 and risk of ischemic stroke. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(11):5937-41.
- 129 Baxter RC, Martin JL. Radioimmunoassay of growth hormone-dependent insulinlike growth factor binding protein in human plasma. *J Clin Invest* 1986;78(6):1504-12.
- 130 Olivecrona H, Hilding A, Ekstrom C, Barle H, Nyberg B, Moller C, Delhanty PJ, Baxter RC, Angelin B, Ekstrom TJ, Tally M. Acute and short-term effects of growth hormone on insulin-like growth factors and their binding proteins: serum levels and hepatic messenger ribonucleic acid responses in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(2):553-60.
- 131 Guan J, Beilharz EJ, Skinner SJ, Williams CE, Gluckman PD. Intracerebral transportation and cellular localisation of insulin-like growth factor-1 following central administration to rats with hypoxic-ischemic brain injury. *Brain Res* 2000;853(2):163-73.
- 132 Araujo DM, Lapchak PA, Collier B, Chabot JG, Quirion R. Insulin-like growth factor-1 (somatomedin-C) receptors in the rat brain: distribution and interaction with the hippocampal cholinergic system. *Brain Res* 1989;484(1-2):130-8.
- 133 Nieto-Sampedro M, Lewis ER, Cotman CW, Manthorpe M, Skaper SD, Barbin G, Longo FM, Varon S. Brain injury causes a time-dependent increase in neuronotrophic activity at the lesion site. *Science* 1982;217(4562):860-1.
- 134 Clawson TF, Vannucci SJ, Wang GM, Seaman LB, Yang XL, Lee WH. Hypoxia-ischemia-induced apoptotic cell death correlates with IGF-I mRNA decrease in neonatal rat brain. *Biol Signals Recept* 1999;8(4-5):281-93.
- 135 Regan FM, Williams RM, McDonald A, Umpleby AM, Acerini CL, O'Rahilly S, Hovorka R, Semple RK, Dunger DB. Treatment with recombinant human insulin-like growth factor (rhIGF)-I/rhIGF binding protein-3 complex improves metabolic control in subjects with severe insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(5):2113-22.
- 136 Ito Y, Nakachi K, Imai K, Hashimoto S, Watanabe Y, Inaba Y, Tamakoshi A, Yoshimura T, Group JS. Stability of frozen serum levels of insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-II, insulin-like growth factor binding protein-3, transforming growth factor beta, soluble Fas, and superoxide dismutase activity for the JACC study. *J Epidemiol* 2005;15 Suppl 1:S67-73.
- 137 Coimbra C, Drake M, Boris-Moller F, Wieloch T. Long-lasting neuroprotective effect of postischemic hypothermia and treatment with an anti-inflammatory/antipyretic drug. Evidence for chronic encephalopathic processes following ischemia. *Stroke* 1996;27(9):1578-85.
- 138 Tatemichi TK, Paik M, Bagiella E, Desmond DW, Stern Y, Sano M, Hauser WA, Mayeux R. Risk of dementia after stroke in a hospitalized cohort: results of a longitudinal study. *Neurology* 1994;44(10):1885-91.

139 Wilczak N, Elting JW, Chesik D, Kema IP, De Keyser J. Intravenous tissue plasminogen activator in patients with stroke increases the bioavailability of insulin-like growth factor-1. *Stroke* 2006;37(9):2368-71.

140 Quinn TJ, Dawson J, Walters MR, Lees KR. Functional outcome measures in contemporary stroke trials. *Int J Stroke* 2009;4(3):200-5.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Moritz Armbrust, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Der Zusammenhang zwischen den Blutplasmakonzentrationen des zirkulierenden Insulin-like-Growth-Factor-1 sowie des Insulin-like-Growth-Factor-Binding-Protein-3 und dem funktionell-neurologischen Outcome nach ischämischem Schlaganfall“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

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

Datum

Unterschrift

Curriculum Vitae

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

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich gerne bei allen Menschen bedanken, die mich auf dem Weg zur eigenen Doktorarbeit unterstützt haben.

Danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Matthias Endres, der sich freundlicherweise als Zweitbetreuer zur Verfügung gestellt hat. Weiterhin gilt mein besonderer Dank meinem Doktorvater Herrn PD Dr. Dr. Martin Ebinger, der mir durch viel Engagement bei der Kooperation mit den Kollegen in Hannover, eine ständige Erreichbarkeit sowie konstruktive Besprechungen eine gute Betreuung geboten hat.

Weiterhin möchte ich den Kollegen in Hannover meinen Dank aussprechen. Herrn Dr. Hans Worthmann bin ich sehr verbunden, weil er den Zugang zu den Blutproben an der Medizinischen Hochschule in Hannover ermöglicht hat und bei Fragen bezüglich der EARLY-Studie stets ansprechbar war. Herrn Prof. Dr. Reinhard Dengler, Herrn Dr. Christoph Eschenfelder und Herrn Dr. Helmut Schumacher bin ich dankbar für die freundliche Bereitstellung der Patienten-Datensätze. Danken möchte ich auch Herrn Frank Dsiosa für die Einarbeitung im Labor an der MHH. Ich danke weiterhin allen Patientinnen und Patienten der EARLY-Studie.

Außerdem möchte ich all meinen Freunden meinen Dank aussprechen für die ständigen Ermutigungen und Motivationsschübe. Insbesondere meiner lieben Maria danke ich für die Unterstützung im Alltag.

Eine besondere Rolle haben immer meine Eltern Dorit und Stephan eingenommen – meine Dankbarkeit für den guten Start ins Leben, die liebevolle Erziehung und die vielen Möglichkeiten während Schulzeit und Studium ist groß. Ohne Euch würde diese Arbeit am heutigen Tage wohl nicht existieren. Danke auch an meine Geschwister Juliane und Philipp, die mir stets viel zugetraut haben.


Appendix

Tabelle 17: National Institutes of Health Stroke Scale

1a	Bewusstseinslage (Vigilanz)	(0) Wach , unmittelbar antwortend. (1) Benommen , aber durch geringe Stimulation zum Befolgen von Aufforderungen, Antworten oder Reaktionen zu bewegen. (2) Somnolent , bedarf wiederholter Stimulation um aufmerksam zu sein, oder ist soporös und bedarf starker oder schmerzhafter Stimulation zum Erzielen von Bewegungen. (3) Koma , antwortet nur mit motorischen oder vegetativen Reflexen oder reagiert gar nicht, ist schlaff und ohne Reflexe. <i>Anmerkung: bei Koma erhält Skala 7 (Extremitätenataxie) 0 Punkte.</i>
1b	Orientierung	Frage nach Monat und Alter (0) beide Fragen richtig beantwortet. (1) eine Frage richtig beantwortet. (2) keine Frage richtig beantwortet.
1c	Befolgung von Aufforderungen	Aufforderung die Augen und die nicht paretische Hand zu öffnen und zu schließen (0) beide Aufforderungen richtig befolgt. (1) eine Aufforderung richtig befolgt. (2) keine Aufforderung richtig befolgt.
2	Blickbewegungen (Okulomotorik)	(0) Normal. (1) Partielle Blickparese = wenn die Blickrichtung von einem oder bd. Augen abnormal ist, jedoch keine forcierte Blickdeviation oder komplette Blickparese besteht (e. g. Augenmuskelparese). <i>Auch bei unzureichender Kooperation 1 Punkt.</i> (2) Forcierte Blickdeviation oder komplette Blickparese, die durch Ausführen des oculocephalen Reflexes nicht überwunden werden kann.
3	Gesichtsfeld	(0) keine Einschränkung. (1) partielle Hemianopsie. (2) komplette Hemianopsie. (3) bilaterale Hemianopsie (Blindheit oder korticale Blindheit). <i>Anmerkung: Bei fehlender Beurteilbarkeit 0 Punkte.</i>
4	Facialisparese	(0) normal. (1) gering (abgeflachte Nasolabialfalte, Asymmetrie beim Lächeln). (2) partiell (vollständige oder fast vollständige Parese des unteren Gesichts). (3) vollständig auf einer oder bd. Seiten (fehlende Bewegungen unterer und oberer Teil des Gesichts).
5	Motorik und Arme	(0) kein Absinken (der Arm wird über 10 Sekunden in der 90°-/45°-Position gehalten)

	Getrennt für links und rechts, z.B. bei Tetraparese	<p>(1) Absinken (der Arm wird zunächst bei 90°/45° gehalten, sinkt aber im Verlauf von 10 Sek. ab.)</p> <p>(2) Anheben gegen Schwerkraft möglich (der Arm kann die 90°-/45°-Position nicht erreichen oder halten, sinkt auf die Liegefläche ab, kann aber gegen Schwerkraft angehoben werden)</p> <p>(3) Kein (aktives) Anheben gegen Schwerkraft, der Arm fällt nach passivem Anheben sofort auf die Liegefläche.</p> <p>(4) Keine Bewegung.</p> <p><i>Anmerkung: bei Amputation oder Gelenkversteifung 0 Punkte; bei Plegie erhält Skala 7 (Extremitätenataxie) 0 Punkte.</i></p>
6	Motorik Beine Getrennt für links und rechts, z.B. bei Tetraparese	<p>(0) Kein Absinken (das Bein bleibt über 5 Sekunden in der 30°-Position).</p> <p>(1) Absinken (das Bein sinkt am Ende der 5-Sekundenperiode, berührt aber die Liegefläche nicht).</p> <p>(2) Aktive Bewegung gegen die Schwerkraft (das Bein sinkt binnen 5 Sek. auf die Liegefläche ab, kann aber gegen die Schwerkraft gehoben werden).</p> <p>(3) Kein (aktives) Anheben gegen die Schwerkraft, das Bein fällt nach passivem Anheben sofort auf die Liegefläche.</p> <p>(4) Keine Bewegung.</p> <p><i>Anmerkung: bei Amputation oder Gelenkversteifung 0 Punkte; bei Plegie erhält Skala 7 (Extremitätenataxie) 0 Punkte.</i></p>
7	Extremitätenataxie	<p>(0) fehlend.</p> <p>(1) in einer Extremität vorhanden.</p> <p>(2) in zwei Extremitäten vorhanden.</p> <p><i>Anmerkung: Wird bei Verständigungsschwierigkeiten oder Plegie als fehlend (0 Punkte) gewertet. wird bei Angabe von Koma (siehe Skala 1a) als fehlend (0 Punkte) gewertet.</i></p>
8	Sensibilität	<p>(0) Normal; kein Sensibilitätsverlust.</p> <p>(1) Leichter bis mittelschwerer Sensibilitätsverlust; Patient empfindet Nadelstiche auf der betroffenen Seite als stumpf, oder er nimmt diese nur als Berührung wahr.</p> <p>(2) Schwerer bis vollständiger Sensibilitätsverlust; Patient nimmt die Berührung von Gesicht, Arm und Bein nicht wahr.</p>
9	Sprache (Bilder beschreiben und Gegenstände benennen)	<p>(0) normal; keine Aphasie.</p> <p>(1) Leichte bis mittelschwere Aphasie; deutliche Einschränkung der Wortflüssigkeit oder des Sprachverständnisses, keine relevante Einschränkung von Umfang oder Art des Ausdrucks. Die Einschränkung des Sprachvermögens und/oder des Sprachverständnisses macht die Unterhaltung schwierig bis unmöglich.</p> <p>(2) Schwere Aphasie; die Kommunikation findet über</p>

		<p>fragmentierte Ausdrucksformen statt. Der Untersucher muss das Gesagte in großem Umfang interpretieren, nachfragen oder erraten. Der Untersucher trägt im wesentlichen die Kommunikation.</p> <p>(3) Stumm, globale Aphasie; Sprachproduktion oder Sprachverständnis nicht verwertbar (auch bei Koma).</p>
10	Dysarthrie	<p>(0) Normal.</p> <p>(1) Leicht bis mittelschwer; der Patient spricht zumindest einige Worte verwaschen und kann nur mit Schwierigkeiten verstanden werden.</p> <p>(2) Schwer, anarthrisch; die verwaschene Sprache des Patienten ist unverständlich und beruht nicht auf einer Aphasie.</p> <p><i>Anmerkung: Bei Intubation o. ä. 0 Punkte.</i></p>
11	Neglect	<p>(0) Keine Abnormalität.</p> <p>(1) Visuelle, taktile, auditive oder personenbezogene Unaufmerksamkeit oder Auslöschung bei Überprüfung von gleichzeitiger bilateraler Stimulation in einer der sensiblen Qualitäten.</p> <p>(2) Schwere halbseitige Unaufmerksamkeit. Kein Erkennen der eigenen Hand oder Orientierung nur zu einer Seite des Raumes.</p> <p><i>Anmerkung: bei fehlender Beurteilbarkeit 0 Punkte</i></p>

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention	Page 1
BI Trial No. 9.182	Visit 1 Screening / Baseline	Patient No.

VISIT

1. Date of visit (dd mon yy)

2. Time of visit (24 hour clocktime - hh:mm) :

INFORMED CONSENT

The Patient has been informed as described in the protocol.

1. Date informed consent obtained (dd mon yy)

2. Time informed consent obtained (24 hour clocktime - hh:mm) :

DEMOGRAPHICS

1. Sex 1 male 2 female

2. Race 1 white
 2 black
 3 asian

3. Date of birth (dd mon yy)

4. Height cm

5. Weight kg


6. Smoking status

 never smoked 0

 ex-smoker 1

 currently smokes 2

white: Sponsor
 pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention Visit 1 Screening / Baseline	Page 2
BI Trial No. 9.182	Patient No.	

PRE-SCREENING – AT PATIENTS ARRIVAL AT STROKE UNIT

1. Date of hospital admission (dd mon yy) / /

2. Time of hospital admission (24 hour clocktime - hh:mm) :

3. Date of brain imaging (dd mon yy) / /

4. Time of brain imaging (24 hour clocktime - hh:mm) :

5. ECG performed? 0 no 1 yes

6. Blood pressure at arrival at stroke unit (systolic / diastolic, mmHg) /

7. Pulse rate at arrival at stroke unit beats/min

PHYSICAL EXAMINATION – BASELINE

1. Has a physical examination been performed 0 no 1 yes

2. Any relevant clinical findings? 0 no 1 yes

VITAL SIGNS

1. Blood pressure [after 2 minutes, supine] systolic / diastolic (mmHg) /

2. Pulse rate [after 2 minutes, supine] beats/min

RELEVANT MEDICAL HISTORY / CONCOMITANT DISEASES

1. Hypertension 0 no 1 yes 2 unk

2. Diabetes 0 no 1 yes 2 unk

3. Hyperlipidaemia 0 no 1 yes 2 unk

4. Atrial fibrillation (incl. paroximal atrial fibrillation) 0 no 1 yes 2 unk

5. Congestive heart failure 0 no 1 yes 2 unk

6. Previous stroke(s) 0 no 1 yes 2 unk

white: Sponsor
 pink: Investigator


	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention Visit 1 Screening / Baseline	Page 3
BI Trial No. 9.182		Patient No.

PREVIOUS AND CONCOMITANT THERAPIES

1. ASA	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued – Except study medication	0 <input type="checkbox"/> no		
2. Aggrenox®	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued – Except study medication	0 <input type="checkbox"/> no		
3. Clopidogrel	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
4. Other antiplatelets	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
5. Anticoagulants, high-dose	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
6. Anticoagulants, low-dose	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
7. Anticoagulants, oral	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
8. Antihypertensives	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
9. Lipid reducers	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
10. Antidiabetics	0 <input type="checkbox"/> no	1 <input type="checkbox"/> yes	2 <input type="checkbox"/> unk
Continued	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
11. Other relevant therapies to be continued during the trial	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		

▶ **Please record these and any other therapy continued during the trial on the Concomitant Therapy Form.**

white: Sponsor
 pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention	Page 4
BI Trial No. 9.182	Visit 1 Screening / Baseline	Patient No.

NIHSS ASSESSMENT (INVESTIGATOR)

1. NIHSS score

2. Date of assessment (dd mon yy)

3. Time of assessment (24 hour clocktime - hh:mm) :

4. Initials of assessor

mRS ASSESSMENT (INVESTIGATOR)

1. mRS score

2. Date of assessment (dd mon yy)

3. Time of assessment (24 hour clocktime - hh:mm) :

4. Initials of assessor

MRI – BASELINE

If no MRI from pre-screening is available a baseline MRI should be performed before or at the latest 24 hours after start of study medication.

1. Has an MRI been performed? 0 no 1 yes

2. Date of assessment

3. Time of assessment :

LABORATORY TESTS

1. Was a blood sample taken? 0 no 1 yes


2. Please paste the tear-off label of the blood sample onto the space below

ADVERSE EVENTS

1. Did any adverse events occur or have worsened? 0 no 1 yes

▶ If YES, please enter event(s) on the Adverse Event Report Form.

white: Sponsor
 pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention	Page 5
BI Trial No. 9.182	Visit 1 Screening / Baseline	Patient No.

INCLUSION CRITERIA

1. Adult inpatient 0 no 1 yes

2. Clinical diagnosis of ischaemic stroke causing a measurable neurological deficit defined as impairment of language, motor function, cognition and/or gaze, vision or neglect. Symptoms must be distinguishable from an episode of generalized ischaemia (i.e. syncope), seizure or migraine disorder 0 no 1 yes

3. Time of stroke onset is known. Symptoms of ischaemic attack began at a time point what makes the start of study medication within 24 hours possible. When a stroke happend during sleep, bedtime is assumed as time of onset 0 no 1 yes

- Date of stroke (dd mon yy) | | | | | | | | | |

- Time of stroke (24 hour clocktime - hh:mm) | | | | : | | |

4. Stroke symptoms are to be present for at least 30 min and have not significantly improved before randomisation (will be asked for during IVRS) 0 no 1 yes

5. NIHSS between 5 and 20 points (at pre-screening and screening) 0 no 1 yes

6. Screening mRS after stroke is worse than retrospective mRS (before qualifying event) 0 no 1 yes

7. Treatment indication is given either to valid German SPC of Aggrenox® capsules or to ASS STADA 100 mg tablets 0 no 1 yes


8. A contraindication for stroke lysis is given 0 no 1 yes

9. Patient is able to swallow either medication 0 no 1 yes

10. Signed and witnessed written informed consent obtained prior to the first study intervention.
 Patients unable to sign, but who are able to understand the meaning of participation in the study, may give oral, witnessed (preferably by relatives) informed consent. These patients have to make clear without doubt that they are willing to participate voluntarily and must be able to understand an explanation of the contents of the information sheet 0 no 1 yes

► If the answer to any of the above is „no“, the patient cannot be randomised, do not continue this patient and go to Patient Eligibility (Page 7).

white: Sponsor
 pink: Investigator


	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention	Page 6
	Visit 1 Screening / Baseline	Patient No.
BI Trial No. 9.182		

EXCLUSION CRITERIA

1. Intracranial haemorrhage on CT-scan present 0 no 1 yes
2. A contraindication for Aggrenox® or ASA is given:
 - Hypersensitivity to any of the components of the product or salicylates
 - Active gastric and duodenal ulcers
 - Bleeding disorder
 - Pregnancy during the third trimester
 - Heredity problems of fructose intolerance and/or galactose intolerance, e.g. galactosaemia 0 no 1 yes
3. Precautions and warnings for ASA and Aggrenox® lead to exclusion (see Instructions for Completion) 0 no 1 yes
4. Patient underwent any thrombolysis therapy (e.g. for stroke, myocardial infarct, deep vein thrombosis) within 24 hours before medication 0 no 1 yes
5. Any antithrombotic treatment has been planned or started (Note: low-dose thrombosis prevention which is permitted in combination with ASA treatment is acceptable) 0 no 1 yes
6. A platelet inhibiting therapy with ASA doses of more than 100 mg per day, or with clopidogrel at any dose has been planned or started 0 no 1 yes
7. Current or recent (within 3 months) participation in another clinical study with a non-registered drug. 0 no 1 yes

► If the answer to any of the above is „yes“, the patient cannot be randomised, do not continue this patient and go to Patient Eligibility (Page 7).

white: Sponsor
pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention Visit 1 Screening / Baseline	Page 7
BI Trial No. 9.182		Patient No.

PATIENT ELIGIBILITY

1. Will the patient be assigned randomised treatment 0 no 1 yes

2. If **YES**, date of randomisation using IVRS (dd mon yy)

If **NO**, primary reason for non inclusion (indicate one)

Adverse event 1

Inclusion / exclusion criteria not met 2

Lost to follow-up 3

Consent withdrawn (not due to an adverse event) 4

Other (explain below) 5

If the patient will **NOT** continue in the trial, please sign the declaration below. If the patient will continue in the trial, the Investigator's declaration will be signed at the End of Trail section.


Only for patients who are NOT randomised

3. **Investigator's Declaration**


By signing and dating this page, I declare that I have reviewed for accuracy all the case report form pages for this patient; the information contained on these pages accurately reflects the medical record including the results of tests and evaluations performed on the specified dates.

Signature _____ Date (dd mon yy)

white: Sponsor
 pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention	Page 8
BI Trial No. 9.182	Visit 1 Screening / Baseline	Patient No.
DISPENSE OF STUDY MEDICATION		
1. Has the patient received the study medication 0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
TREATMENT		
1. Date of first intake (dd mon yy)		
2. Time of first intake (24 hour clocktime - hh:mm) :		

white: Sponsor
pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention Visit 2 Interim Visit (Day 8)	Page 9
BI Trial No. 9.182		Patient No.

VISIT

1. Date of visit (dd mon yy)

2. Time of visit (24 hour clocktime - hh:mm) :

NIHSS ASSESSMENT (INVESTIGATOR)

1. NIHSS score

2. Date of assessment (dd mon yy)

3. Time of assessment (24 hour clocktime - hh:mm) :

4. Initials of assessor

mRS ASSESSMENT (INVESTIGATOR)

1. mRS score

2. Date of assessment (dd mon yy)

3. Time of assessment (24 hour clocktime - hh:mm) :

4. Initials of assessor

TELE-mRS (BLINDED CENTRALISED MEASUREMENT)

▶ Will be performed by a specialized centre.

MRI

1. Has an MRI been performed? 0 no 1 yes

2. Date of assessment

3. Time of assessment :

4. Was MRI different from baseline


unchanged 1

worsened 2

improved 3

5. If worsened, does the worsening in MRI qualify for an adverse event? 0 no 1 yes

white: Sponsor
 pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention Visit 2 Interim Visit (Day 8)	Page 10 Patient No.
BI Trial No. 9.182		

DISPENSE OF STUDY MEDICATION

1. Has the patient received the study medication 0 no 1 yes

LABORATORY TESTS

1. Was a blood sample taken? 0 no 1 yes

2. Please paste the tear-off label of the blood sample onto the space below

DISCHARGE FROM STROKE UNIT

1. Was the patient already discharged from stroke unit at Visit 2? 0 no 1 yes

If YES, date of discharge (dd mon yy)

CONCOMITANT THERAPY

1. Did any changes of concomitant therapies occur? 0 no 1 yes

▶ If YES, please enter event(s) on the Concomitant Therapy Form.

ADVERSE EVENTS

1. Did any adverse events occur or have worsened? 0 no 1 yes


▶ If YES, please enter event(s) on the Adverse Event Report Form.

APPOINTMENT FOR NEXT VISIT


1. Date of next visit (dd mon yy)

2. Time of next visit (24 hour clocktime - hh:mm) :

white: Sponsor
 pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention Visit 3 Interim Visit (Day 9)	Page 11 Patient No.
BI Trial No. 9.182		
VISIT		
1. Date of visit (dd mon yy)	<input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>	
2. Time of visit (24 hour clocktime - hh:mm)	<input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> : <input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>	
CONCOMITANT THERAPY		
1. Did any changes of concomitant therapies occur?	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes	
▶ If YES, please enter event(s) on the Concomitant Therapy Form.		
ADVERSE EVENTS		
1. Did any adverse events occur or have worsened?	0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes	
▶ If YES, please enter event(s) on the Adverse Event Report Form.		
APPOINTMENT FOR NEXT VISIT		
1. Date of next visit (dd mon yy)	<input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>	
2. Time of next visit (24 hour clocktime - hh:mm)	<input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> : <input style="width: 30px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>	

white: Sponsor
 pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention	Page 12
BI Trial No. 9.182	Visit 4 Final Visit	Patient No.

VISIT

1. Date of visit (dd mon yy)

2. Time of visit (24 hour clocktime - hh:mm) :

NIHSS ASSESSMENT (INVESTIGATOR)

1. NIHSS score

2. Date of assessment (dd mon yy)

3. Time of assessment (24 hour clocktime - hh:mm) :

4. Initials of assessor

mRS ASSESSMENT (INVESTIGATOR)

1. mRS score

2. Date of assessment (dd mon yy)

3. Time of assessment (24 hour clocktime - hh:mm) :

4. Initials of assessor

TELE-mRS (BLINDED CENTRALISED MEASUREMENT)

▶ Will be performed by a specialized centre.

MRI

1. Has an MRI been performed? 0 no 1 yes

2. Date of assessment

3. Time of assessment :

4. Was MRI different from baseline


unchanged 1

worsened 2

improved 3

5. If worsened, does the worsening in MRI qualify for an adverse event? 0 no 1 yes

white: Sponsor
 pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention Visit 4 Final Visit	Page 13 Patient No.
BI Trial No. 9.182		

FOLLOW-UP PRESCRIPTION

1. Prescription after completion of the trial

Aggrenox® 1

ASS 100 mg per day 2

Other (explain below) 3

PHYSICAL EXAMINATION

1. Has a physical examination been performed 0 no 1 yes

2. Any new or worsened clinical findings? 0 no 1 yes

3. If YES, do these findings qualify for an adverse event? 0 no 1 yes

▶ **If YES, please enter event(s) on the Adverse Event Report Form.**

VITAL SIGNS

1. Blood pressure [after 2 minutes, supine] systolic / diastolic (mmHg) /

2. Pulse rate [after 2 minutes, supine] beats/min

CONCOMITANT THERAPY

1. Did any changes of concomitant therapies occur? 0 no 1 yes


▶ **If YES, please enter event(s) on the Concomitant Therapy Form.**

ADVERSE EVENTS


1. Did any adverse events occur or have worsened? 0 no 1 yes

▶ **If YES, please enter event(s) on the Adverse Event Report Form.**

white: Sponsor
 pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention	Page 14
BI Trial No. 9.182	Visit 4 Final Visit	Patient No.
RETURN OF STUDY MEDICATION		
1. Has the patient returned the study medication 0 <input type="checkbox"/> no 1 <input type="checkbox"/> yes		
ASSESSMENT OF OVERALL COMPLIANCE		
1. How do you judge the overall compliance of the patient?		
Good	1	<input type="checkbox"/>
Poor	2	<input type="checkbox"/>

white: Sponsor
pink: Investigator

	AGGRENOX® Early Initiation of Secondary Ischaemic Stroke Prevention End of Trial	Page 15
BI Trial No. 9.182		Patient No.

TERMINATION OF TRIAL MEDICATION

1. Last intake of trial drug (dd mon yy)

2. The patient did not prematurely stop the trial medication 1

The patient prematurely discontinued from trial medication due to
(indicate one reason)

A. Adverse event (must be recorded on adverse event page)

a. unexpected worsening of disease / condition under study 2

b. unexpected worsening of other pre-existing disease / condition 3

c. other adverse event 4

B. Non compliant with protocol (explain below) 5

C. Lost to follow-up (explain below) 6

D. Consent withdrawn for further participation
(not due to an adverse event, explain below) 7

E. Other (explain below) 8

Explain: _____

3. Investigator's Declaration

By signing and dating this page, I declare that I have reviewed for accuracy all the case report form pages for this patient; the information contained on these pages accurately reflects the medical record including the results of tests and evaluations performed on the dates specified.

Signature _____ Date (dd mon yy)

white: Sponsor
pink: Investigator

Analyseplan IGFBP-3

Hypothesen:

Low levels of IGFBP-3 are associated with a poor functional outcome. Low levels of IGF-1 are associated with a poor functional outcome.

1. Beschreibung der Studienpatienten als Gesamt-Gruppe: Alter (MW, SD), Geschlecht, ...
2. Baseline-Parameter nach Dichotomie des Kollektivs in niedrige und normale Proteinspiegel.
3. Überprüfung der Haupthypothesen: Kreuztabelle, Chi-Quadrat-Test

IGFBP-3	mRS (Tag 90) = 0-2	mRS (Tag 90) = 3-6
niedrig	xy	xy
normal	xy	xy

Zusätzlich ggf. Boxplot-Darstellungen der IGF-1- und IGFBP-3-Plasmaspiegel über der mRS von Tag 90 anfertigen.

Explorative Analyse: Welche Parameter korrelieren noch mit dem Outcome? Alle Patientenparameter mit dem Outcome in Beziehung setzen.

Parameter	mRS (Tag 90) = 0-2	mRS (Tag 90) = 3-6	p-Wert
Mittelwert (SD)	Wert (SD)	Wert (SD)	t-test (bei Normalverteilung)
Median (IQR)			Mann-Whitney-U-Test (bei Nicht-Normalverteilung)
Kateg. Variable			Chi-Quadrat-Test
Geschlecht			
Alter			
IGF-1			
NIHSS			
mRS baseline			
...			

2. Multiple logistische Regressions-Analyse: Als unabhängige Variablen alle diejenigen inkludieren, die in den vorherigen Analysen einen p-Wert unter 0.01 aufgewiesen hatten.

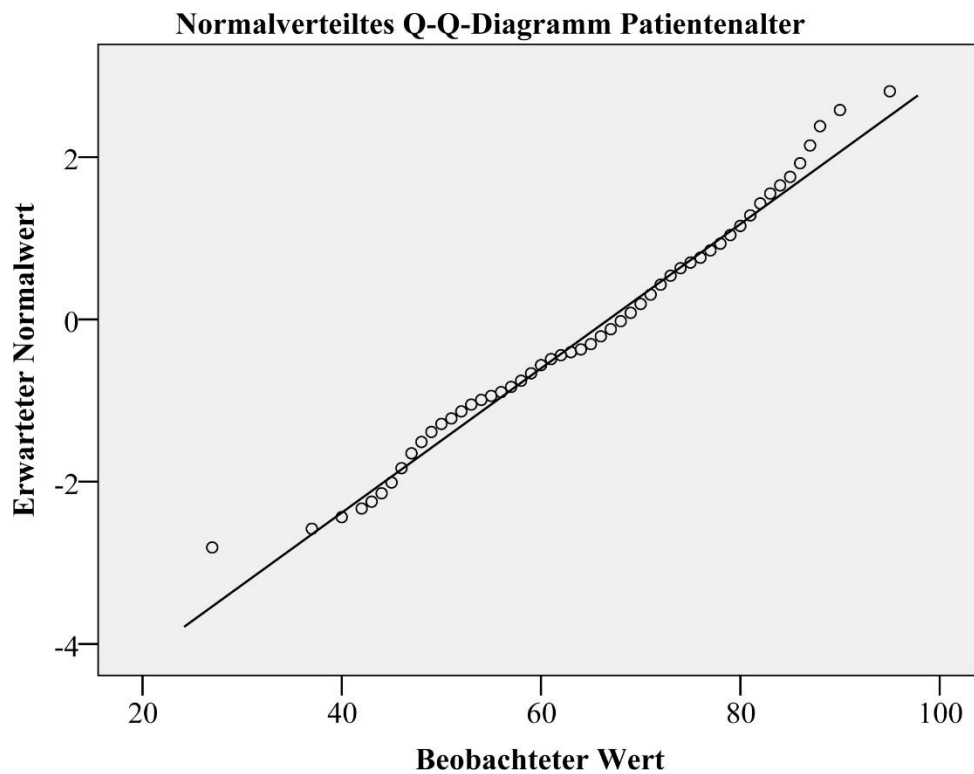


Abbildung 1: Normalverteilungsplot der Variable Patientenalter
Das Patientenalter war annähernd normalverteilt.

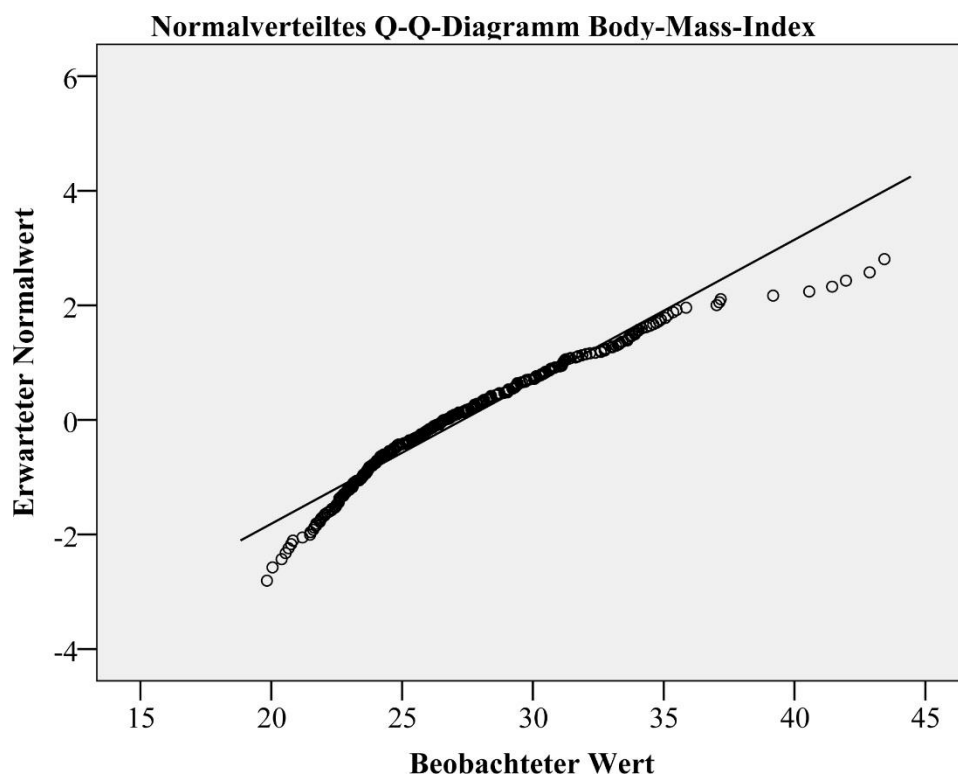


Abbildung 2: Normalverteilungsplot der Variable Body-Mass-Index
Der Body-Mass-Index war annähernd normalverteilt.

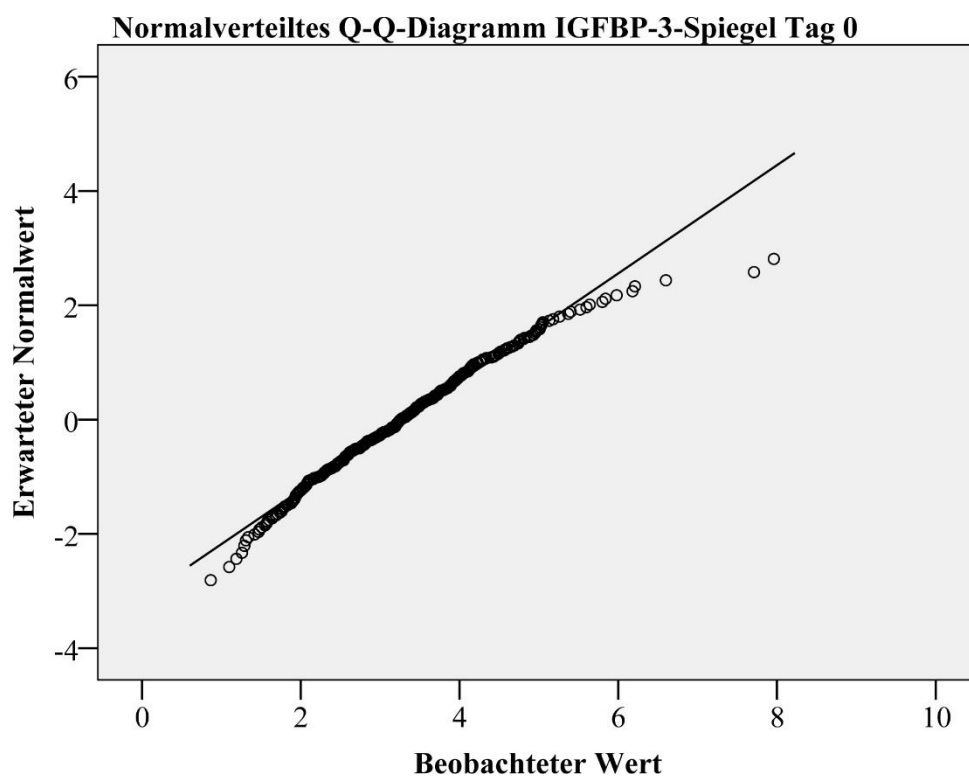


Abbildung 3: Normalverteilungsplot des IGFBP-3 von Tag 0
Die IGFBP-3-Spiegel von Tag 0 waren annähernd normalverteilt.

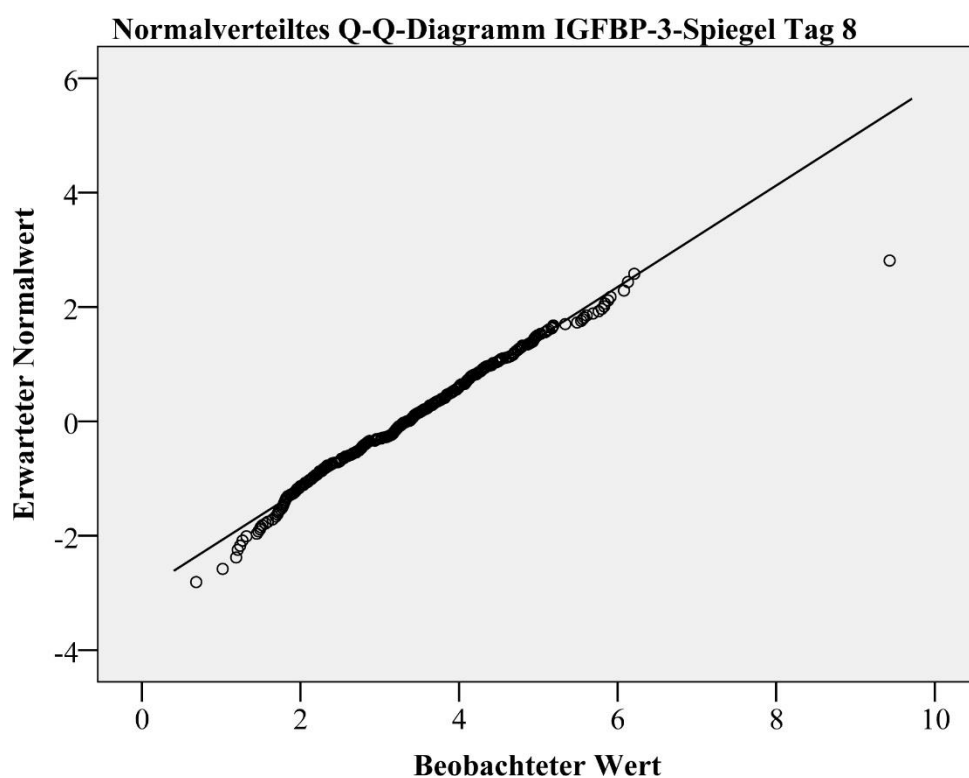


Abbildung 4: Normalverteilungsplot des IGFBP-3 von Tag 8
Die IGFBP-3-Spiegel von Tag 8 waren annähernd normalverteilt.

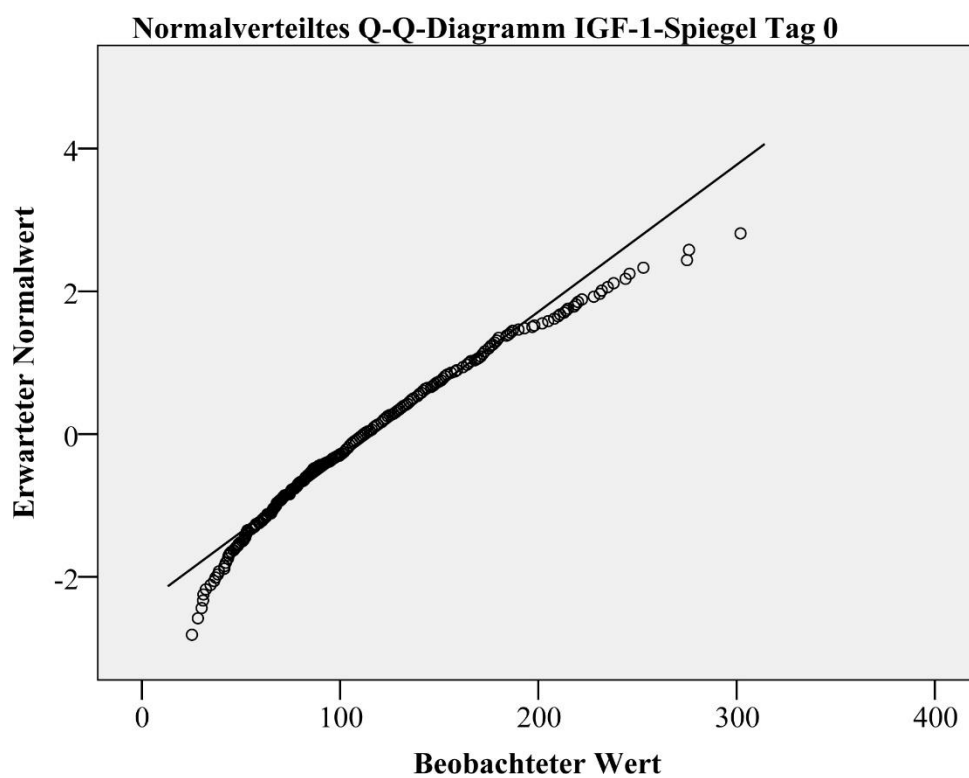


Abbildung 5: Normalverteilungsplot des IGF-1 von Tag 0
Die IGF-1-Spiegel von Tag 0 waren annähernd normalverteilt.

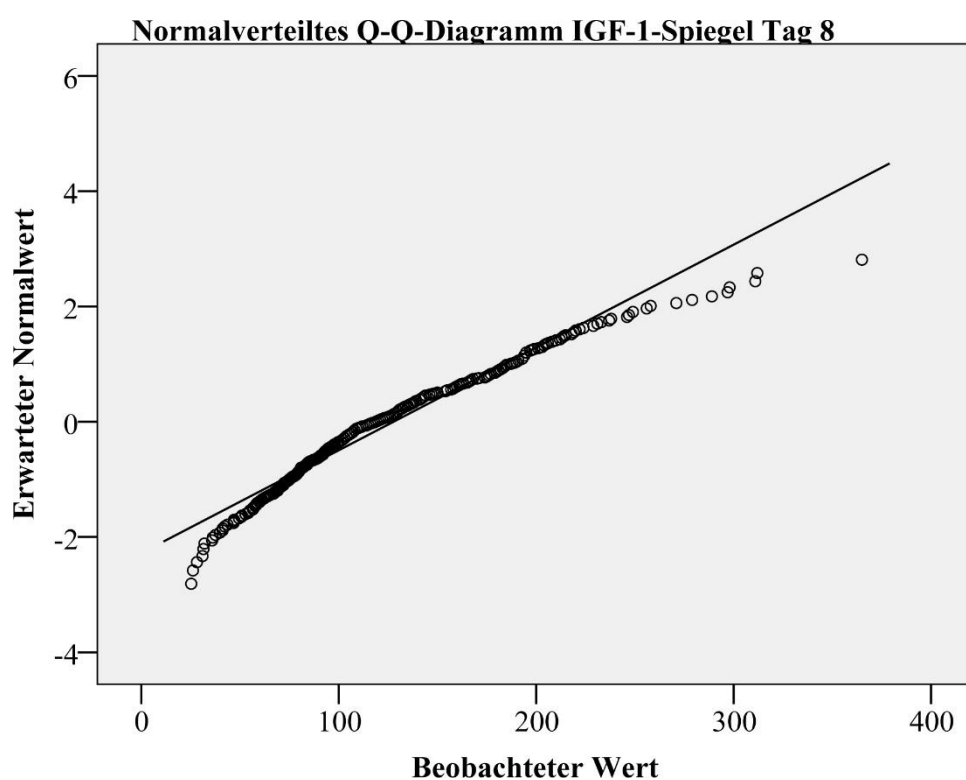


Abbildung 6: Normalverteilungsplot des IGF-1 von Tag 8
Die IGF-1-Spiegel von Tag 8 waren annähernd normalverteilt.

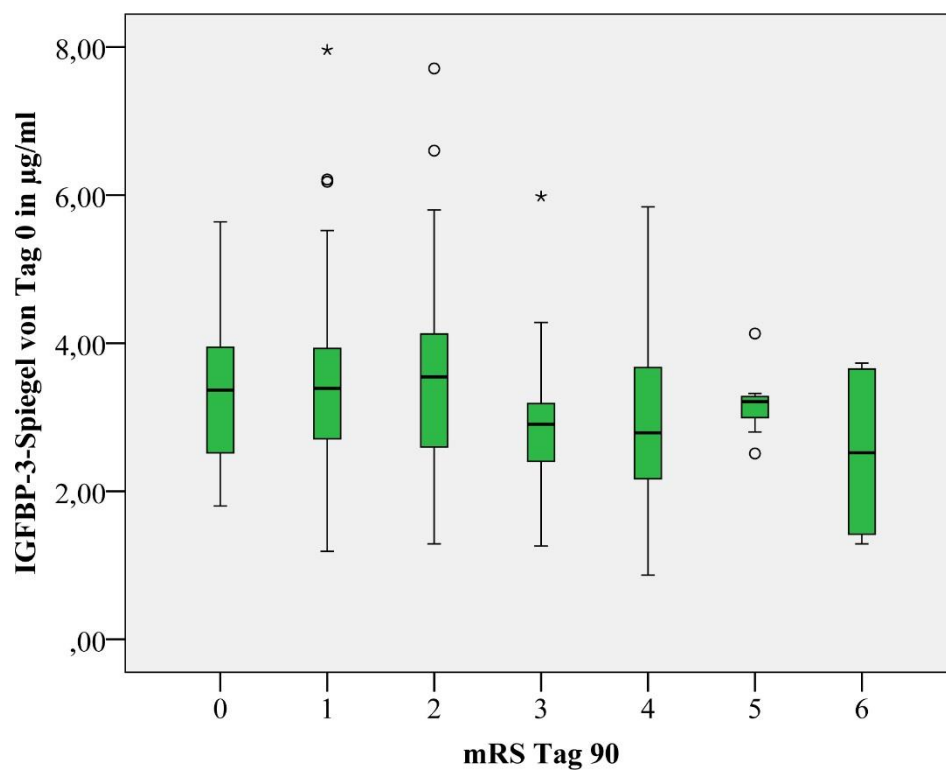


Abbildung 7: Die Verteilung des IGFBP-3 von Tag 0 über der mRS von Tag 90
 In den höheren mRS-Kategorien waren die IGFBP-3-Spiegel der Patienten tendenziell niedriger. Die Auswertbarkeit blieb jedoch aufgrund nur geringer Fallzahlen in den höheren mRS-Kategorien limitiert.

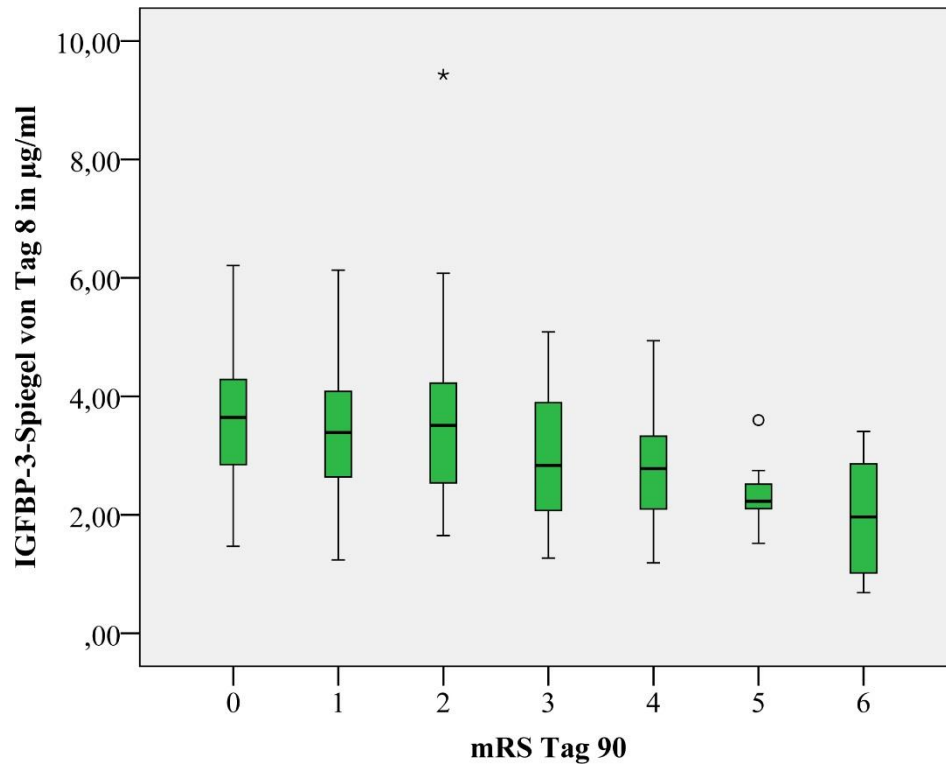


Abbildung 8: Die Verteilung des IGFBP-3 von Tag 8 über der mRS von Tag 90
 In den höheren mRS-Kategorien waren die IGFBP-3-Spiegel der Patienten tendenziell niedriger. Die Auswertbarkeit blieb jedoch aufgrund nur geringer Fallzahlen in den höheren mRS-Kategorien limitiert.

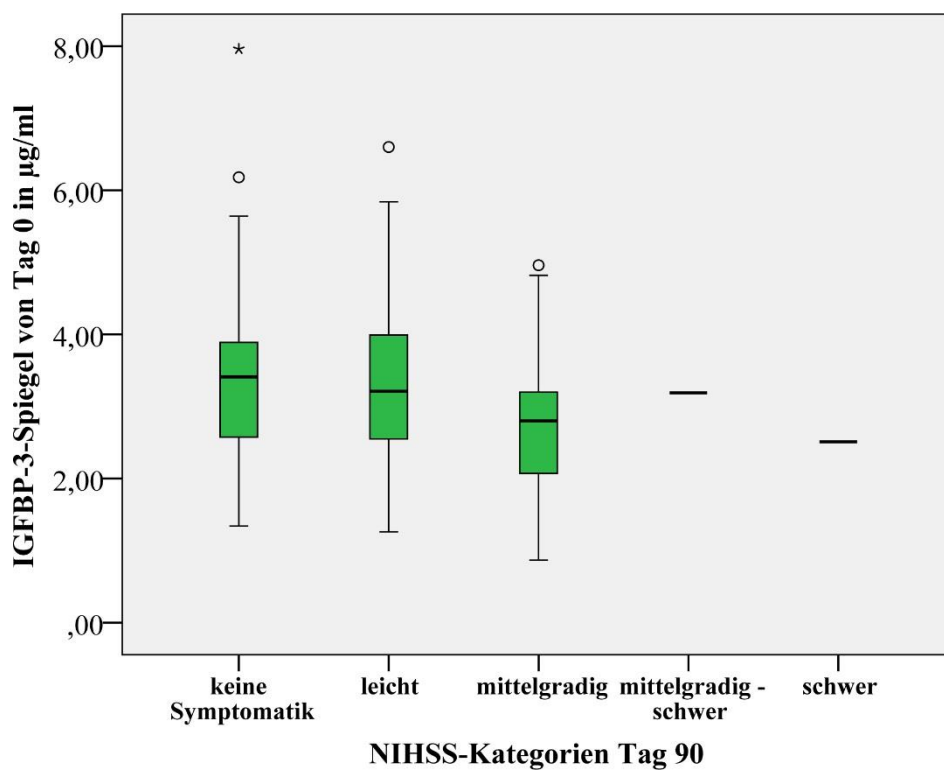


Abbildung 9: Die Verteilung des IGFBP-3 von Tag 0 über die NIHSS von Tag 90
 In den höheren mRS-Kategorien waren die IGFBP-3-Spiegel der Patienten tendenziell niedriger. Die Auswertbarkeit blieb jedoch aufgrund nur geringer Fallzahlen in den höheren mRS-Kategorien limitiert.

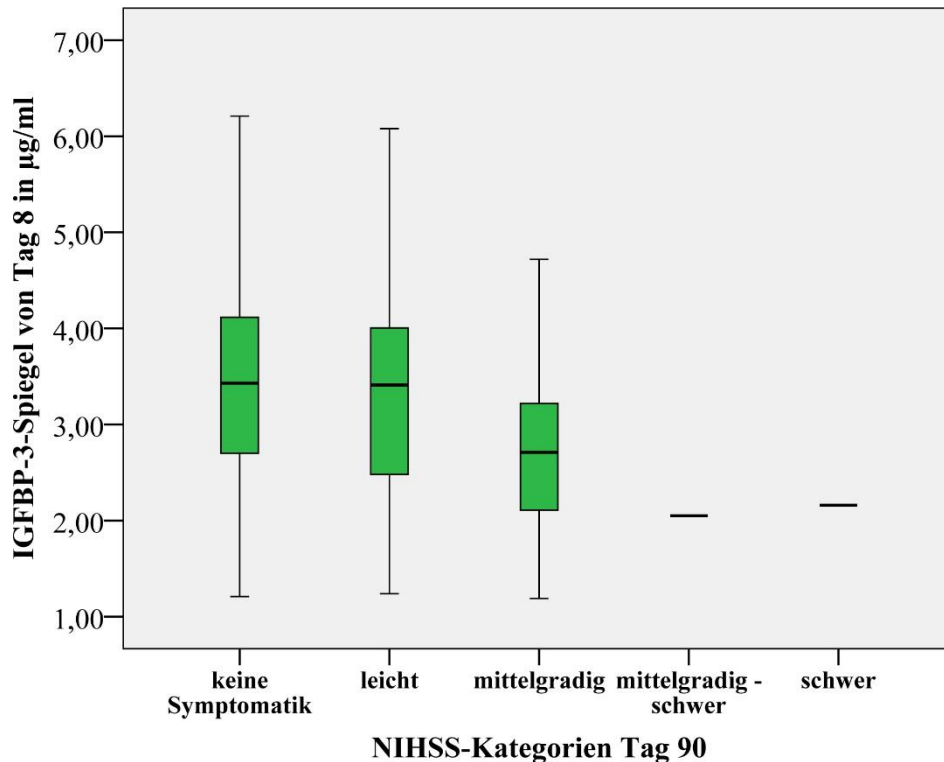


Abbildung 10: Die Verteilung des IGFBP-3 von Tag 8 über der NIHSS von Tag 90
 In den höheren mRS-Kategorien waren die IGFBP-3-Spiegel der Patienten tendenziell niedriger. Die Auswertbarkeit blieb jedoch aufgrund nur geringer Fallzahlen in den höheren mRS-Kategorien limitiert.

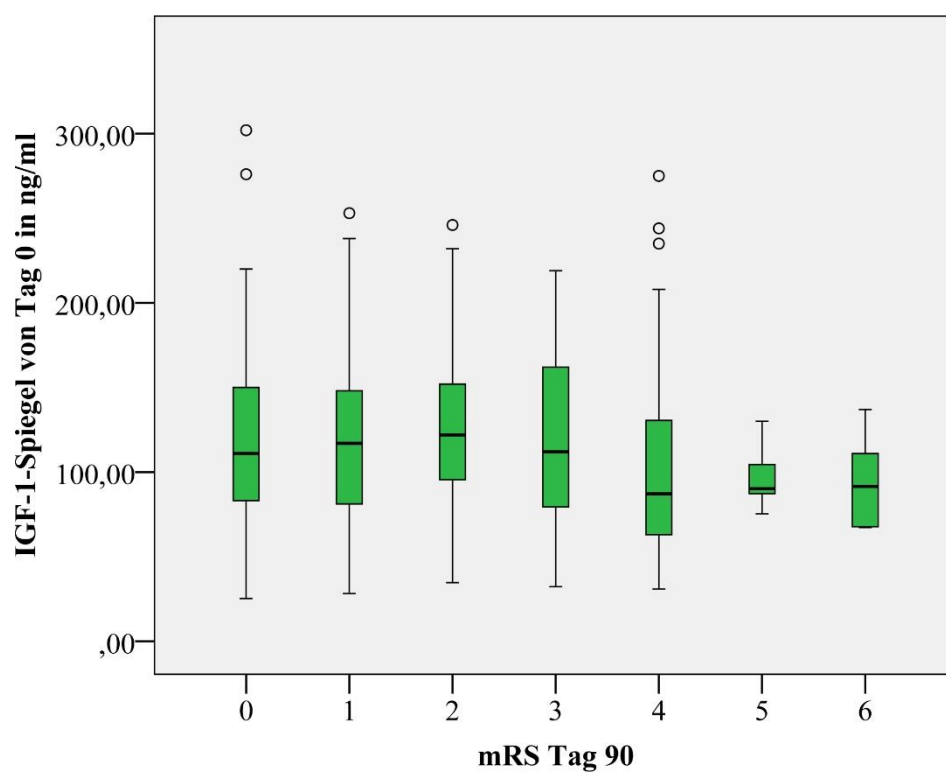


Abbildung 11: Die Verteilung des IGF-1 von Tag 0 über der mRS von Tag 90
 In den höheren mRS-Kategorien waren die IGF-1-Spiegel der Patienten tendenziell niedriger. Die Auswertbarkeit blieb jedoch aufgrund nur geringer Fallzahlen in den höheren mRS-Kategorien limitiert.

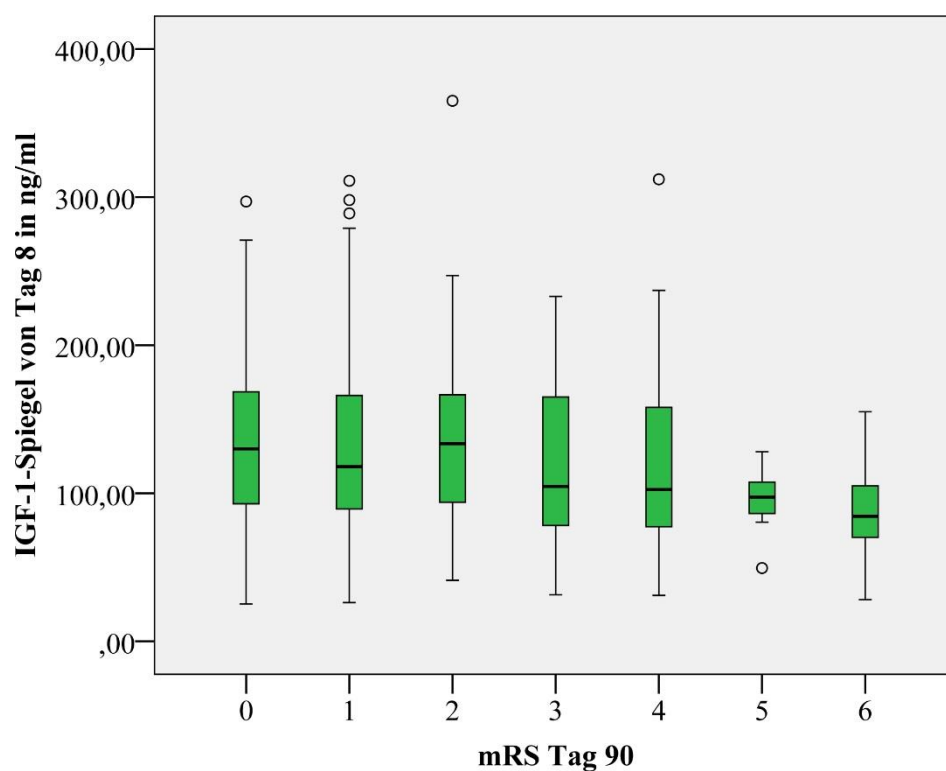


Abbildung 12: Die Verteilung des IGF-1 von Tag 8 über der mRS von Tag 90
 In den höheren mRS-Kategorien waren die IGF-1-Spiegel der Patienten tendenziell niedriger. Die Auswertbarkeit blieb jedoch aufgrund nur geringer Fallzahlen in den höheren mRS-Kategorien limitiert.

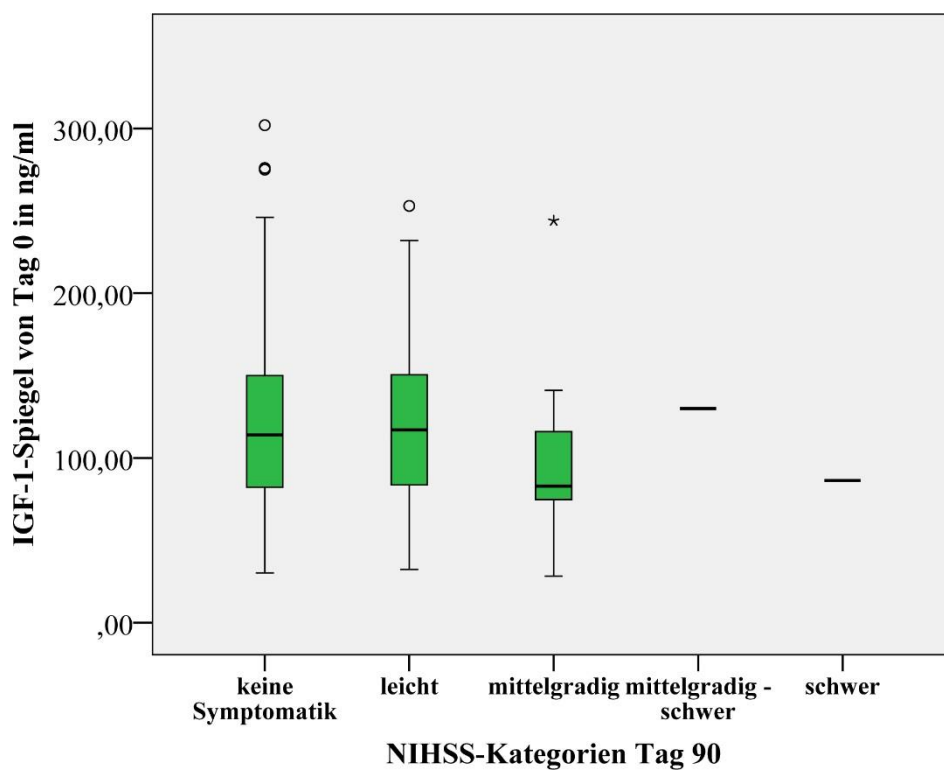


Abbildung 13: Die Verteilung des IGF-1 von Tag 0 über der NIHSS von Tag 90
 In den höheren NIHSS-Kategorien waren die IGF-1-Spiegel der Patienten tendenziell niedriger. Die Auswertbarkeit blieb jedoch aufgrund nur geringer Fallzahlen in den höheren NIHSS-Kategorien limitiert.

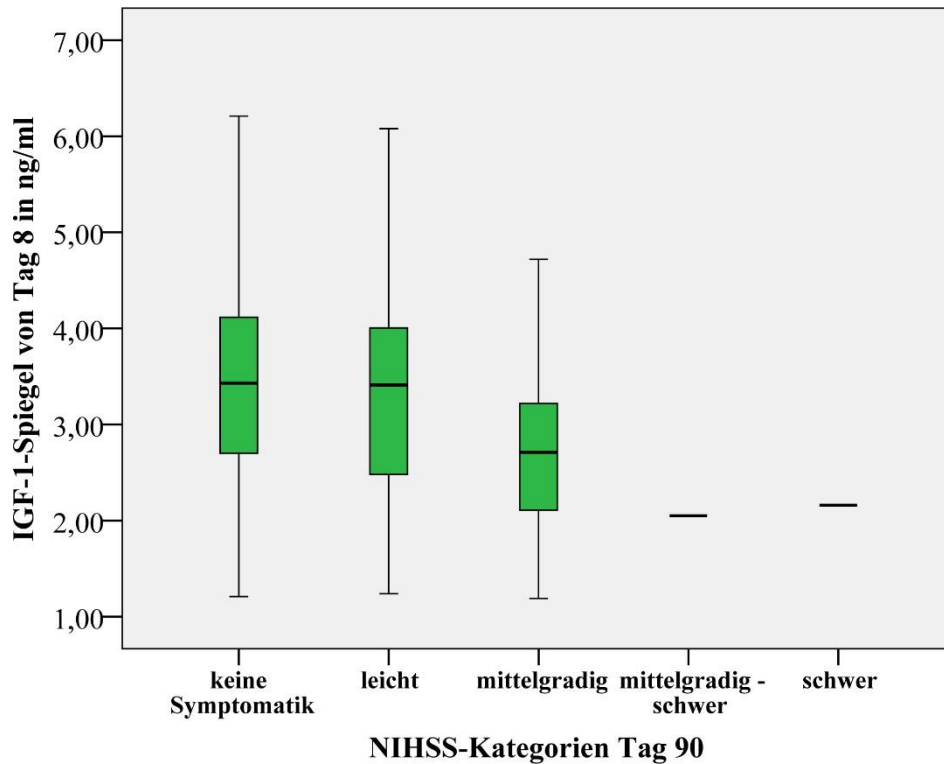


Abbildung 14: Die Verteilung des IGF-1 von Tag 8 über der NIHSS von Tag 90
 In den höheren NIHSS-Kategorien waren die IGF-1-Spiegel der Patienten tendenziell niedriger. Die Auswertbarkeit blieb jedoch aufgrund nur geringer Fallzahlen in den höheren NIHSS-Kategorien limitiert.

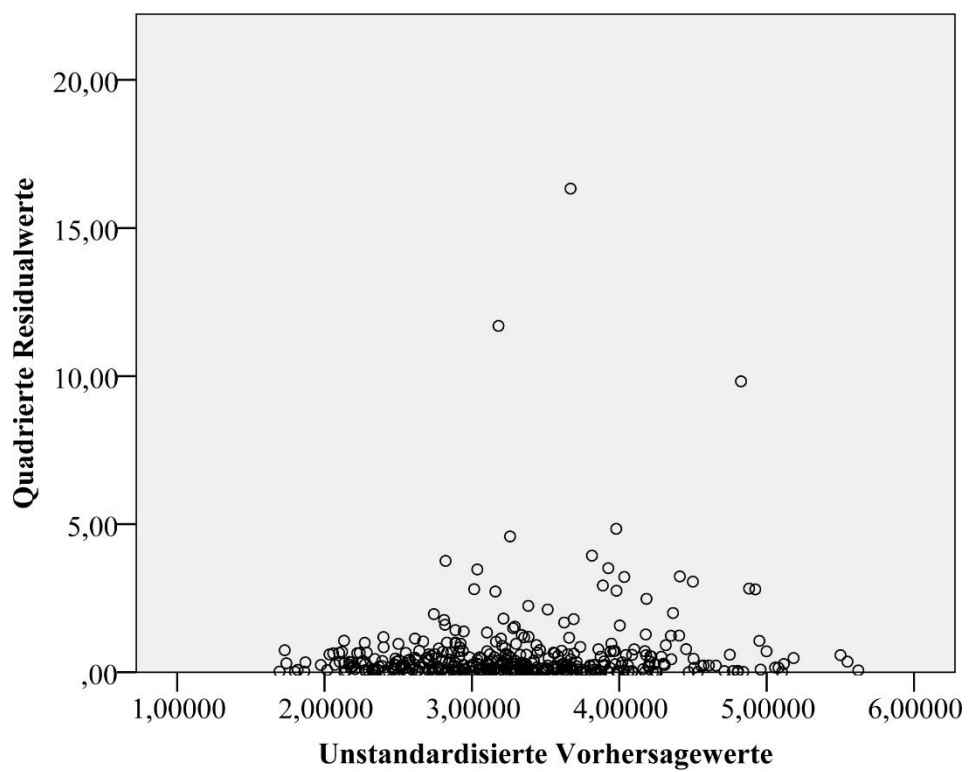


Abbildung 15: Test auf Heteroskedastizität der Residuen in der linearen Regression
Hier kann Homoskedastizität angenommen werden.