

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Direktor: Univ.- Prof. Dr. med. Tilo Kircher

des Fachbereichs Medizin
der Philipps-Universität Marburg

Titel der Dissertation:

Mineralocorticoid Receptor Dysfunction in Major Depressive
Disorder: Its Effect on Gait, Potential Relationship to Normal
Pressure Hydrocephalus and the Influence of the Inhibition of
11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase with an Extract from
Glycyrrhiza Glabra

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Lisa Lehr aus München

Marburg, 2022

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin

Dekanin: Prof. Dr. Denise Hilfiker-Kleiner

Referent: PD Dr. med. Harald Murck

1. Korreferent/in:

Abstract:

Background: Mineralocorticoid receptor (MR) dysfunction plays an important role in the pathophysiology of a subtype of major depressive disorder (MDD). Desensitised peripheral MR appears to lead to an increase in aldosterone levels and consequently to central MR overactivity. Since this subtype is particularly associated with a therapy-refractory course, a detection by means of specific biomarkers and a targeted therapy would be of special value. Some related biomarkers have already been identified. In the context of this study, the gait pattern as a potential biomarker will be addressed in particular. Furthermore, the influence of the additional administration of Glycyrrhiza glabra extract (GG), which is involved in blood pressure and neuroendocrine regulation by affecting MR activity, on the clinical course and change of biomarkers will be investigated.

Methods: Twenty-four inpatients were included in the study. The examinations took place at baseline, after two weeks and after six weeks. Depression severity was assessed by questionnaires (Hamilton Depression Rating Scale, Beck Depression Inventory, Global Assessment of Functioning, Quick Inventory of Depressive Symptomatology). Aldosterone and cortisol levels were determined via saliva samples, electrolytes via blood samples. Gait analysis was performed using the GaitAnalysisPro® application. In addition, a questionnaire was assessed (iNPHGS), which also included gait disturbances as a symptom. Furthermore, heart rate variability and blood pressure were determined. Twelve subjects received antidepressant therapy according to German guidelines (treatment as usual, TAU group). The other twelve subjects additionally received glycyrrhiza glabra extract (GG) twice a day (GG group) which is a moderator of MR activity and may therefore affect the selected biomarkers.

Results: Gait disturbances, as measured by higher scores in the iNPHGS, were associated with more severe depression at baseline ($p < 0.05$). Furthermore, a more symmetrical gait was demonstrated in subjects with more severe depression ($p < 0.1$). In the TAU group, the decrease in depressive symptoms correlated with the decrease in gait symmetry by late follow-up ($p < 0.1$) and a clinical improvement was associated with a decrease in aldosterone levels ($p < 0.05$). A small vertical center of mass displacement (COMD), which can be regarded as a sign of more stable gait, was positively predictive ($p < 0.1$) of improvement in depressive symptoms by early follow-up in the GG group. In the TAU group, there was a correlation between clinical outcome and a decrease in vertical COMD at late follow-up ($p < 0.05$). Faster clinical improvement was

observed under adjunct GG administration ($p < 0.01$). In accordance with this, there was a significant difference in the changes of iNPHGS between the two groups until early follow-up ($p < 0.01$) and in the alteration of the sodium (Na^+) to potassium (K^+) ratio until late follow-up ($p < 0.05$). Although not significant, there was a decrease in systolic and diastolic blood pressure in the TAU group, whereas the parameters increased in the GG group at early follow-up.

Conclusion: In the gait analysis, vertical COMD, bilateral symmetry and iNPHGS proved to be particularly promising parameters for assessing MDD associated with MR dysfunction. Furthermore, a faster clinical improvement was observed under adjunct GG administration. In the context of GG administration, iNPHGS and blood pressure were found to be potential markers for early, and the Na^+/K^+ ratio for late clinical improvement. It would be conceivable to use these parameters to monitor the therapy.

Zusammenfassung:

Hintergrund: Die Dysfunktion von Mineralocorticoid-Rezeptoren (MR) spielt eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie eines Subtyps der Major Depressive Disorder (MDD). Durch desensitisierte periphere MR scheint es zu einem Anstieg des Aldosteronspiegels und konsekutiv zu einer zentralen MR Überaktivität zu kommen. Da dieser Subtyp besonders mit einem Therapie-refraktärem Verlauf assoziiert ist, könnte sich eine Detektion anhand von spezifischen Biomarkern und eine angepasste Therapie als besonders sinnvoll erweisen. Einige Biomarker konnten bereits identifiziert werden. Im Rahmen dieser Studie wird besonders auf das Gangbild als potenziellen Biomarker eingegangen. Darüber hinaus wird der Einfluss der zusätzlichen Gabe von Glycyrrhiza glabra Extrakt (GG), das über die Beeinflussung der MR Aktivität an neuroendokrinen Mechanismen und der Regulation des Blutdrucks beteiligt ist, auf den klinischen Verlauf und die Biomarker untersucht.

Methoden: Vierundzwanzig stationäre Patient*innen wurden in die Studie aufgenommen. Die Untersuchungen fanden zu Beginn, nach zwei und nach sechs Wochen statt. Die Depressionsschwere wurde anhand von Fragebögen (Hamilton Depression Rating Scale, Beck Depression Inventory, Global Assessment of Functioning, Quick Inventory of Depressive Symptomatology) ermittelt. Aldosteron- und Cortisolspiegel wurden über Speichelproben, Elektrolyte über Blutproben bestimmt. Die Ganganalyse wurde mithilfe der Applikation GaitAnalysisPro® durchgeführt. Zusätzlich wurde ein Fragebogen eingesetzt (iNPHGS), welcher ebenfalls Gangstörungen als Symptom umfasst. Des Weiteren wurden Herzratenvariabilität und Blutdruck bestimmt. Zwölf Patient*innen erhielten eine antidepressive Therapie nach deutschen Leitlinien (TAU Gruppe). Die anderen zwölf Patient*innen erhielten zusätzlich zweimal täglich GG (GG Gruppe), einer Substanz, die die MR Funktion und damit möglicherweise die gewählten Biomarker beeinflussen kann.

Ergebnisse: In der TAU Gruppe zeigte sich, dass eine klinische Verbesserung mit einem Absinken des Aldosteronspiegels assoziiert war ($p < 0,05$). Eine geringe vertikale Verlagerung des Körperschwerpunkts (COMD) bei der Baseline Untersuchung erwies sich in der GG Gruppe als positiv prädiktiv ($p < 0,1$) für die Verbesserung der Depressionssymptomatik bis zur frühen Nachuntersuchung. In der TAU Gruppe zeigte sich zur späten Nachuntersuchung eine Korrelation zwischen einer Verbesserung der Depressionssymptomatik und einer Abnahme der

vertikalen COMD ($p < 0,05$). Des Weiteren konnte ein symmetrischerer Gang bei schwereren Depressionen nachgewiesen werden ($p < 0,1$). In der TAU Gruppe korrelierte das Absinken der depressiven Symptomatik mit dem Absinken der Gangsymmetrie bis zur späten Nachuntersuchung ($p < 0,1$). Darüber hinaus waren Gangbildveränderungen, gemessen an höheren Werten in der iNPHGS, mit schwereren Depressionen assoziiert ($p < 0,05$). Unter GG-Gabe konnte eine schnellere klinische Verbesserung beobachtet werden ($p < 0,01$). Zwischen den beiden Gruppen konnten signifikante Unterschiede in der Veränderung des iNPHGS zur frühen Nachuntersuchung ($p < 0,01$) und dem Verhältnis Natrium (Na^+) zu Kalium (K^+) zur späten Nachuntersuchung ($p < 0,05$) nachgewiesen werden. Wenn auch nicht signifikant, zeigte sich ein Absinken des systolischen und diastolischen Blutdrucks in der TAU Gruppe, wohingegen diese Parameter in der GG Gruppe zur frühen Nachuntersuchung anstiegen.

Schlussfolgerung: Im Rahmen der Ganganalyse stellten sich besonders das vertikale COMD, die bilaterale Symmetrie und die iNPHGS als vielversprechende Parameter zur Beurteilung der Depressivität im Zusammenhang mit einer MR-Dysfunktion dar. Darüber hinaus wurde eine schnellere klinische Verbesserung bei zusätzlicher Gabe von GG beobachtet. Im Rahmen der GG-Gabe erwiesen sich iNPHGS und Blutdruck als potenzielle Marker für die frühe, das Na^+/K^+ -Verhältnis für die spätere klinische Verbesserung bei MDD. Ein Heranziehen dieser Parameter zur Beurteilung des Therapieerfolges wäre denkbar.

Table of Contents

1.	Introduction	8
1.1	General Model of MR Dysfunction in MDD	11
1.1.1	Central Regulatory Circuits.....	14
1.1.2	Electrolytes.....	16
1.1.3	Cardiovascular System	18
1.2	INPH and MR Dysfunction in MDD.....	20
1.3	Gait in MR Dysfunction	24
1.4	Effect of Glycyrrhiza Glabra on MR Dysfunction.....	28
1.5	Hypothesis and Aim.....	30
2.	Methodology.....	32
2.1	Subjects	32
2.2	Study Conduct	33
2.3	Collected Parameter.....	35
2.3.1	Saliva Sample.....	35
2.3.2	Gait Analysis	36
2.3.3	Heart Rate Variability and Blood Pressure	37
2.3.4	Plasma Parameters.....	37
2.3.5	Clinical Rating Scales	38
2.3.6	Statistical Analysis	39
3.	Results	41
3.1	Descriptive Data	41
3.1.1	Patient Characteristics	41
3.1.2	Biomarker Parameter Characteristics	44
3.1.3	Medication	47
3.1.4	Course of GG Subjects.....	48

3.2 Results First Hypothesis: Gait Pattern and iNPHGS as Aldosterone-Dependent Biomarker	50
3.2.1 Gait Parameter and iNPHGS	50
3.2.2 Aldosterone	54
3.2.3 Aldosterone-Cortisol Ratio	55
3.2.4 Renin	56
3.3 Results Second Hypothesis: Electrolytes and their Impact on Gait	59
3.3.1 Sodium and Potassium	59
3.3.2 Magnesium	61
3.4 Results Third Hypothesis: The Mutual Influence of the Cardiovascular System and Gait	65
3.4.1 Blood Pressure	65
3.4.2 HRV	67
3.5 Results Fourth Hypothesis: Gait and the Severity of Depression	71
3.5.1 Clinical Rating Scales and Gait	71
3.5.2 Clinical Rating Scales and Hormones	79
4. Discussion and Conclusion	83
4.1 Depression and Hormones	83
4.1.1 Renin	83
4.1.2 Aldosterone and Aldo/Cort Ratio	83
4.2 Gait Parameter and iNPHGS	84
4.3 Gait and Depression	86
4.4 Gait and Hormones	90
4.5 Gait and Electrolytes	92
4.6 Gait and the Cardiovascular System	95
4.6.1 Blood Pressure	95
4.6.2 Heart Rate Variability	97
4.7 Summary Gait and MR Function in MDD	99

4.8 Effects of GG.....	101
4.8.1 ... on Depression.....	102
4.8.2 ... on the Biomarker Gait	102
4.8.3 ... on the HPA-Axis and RAAS.....	103
4.8.4 ... on Electrolytes	103
4.8.5 ... on the Cardiovascular System	103
4.9 Summary of Effects of GG	104
4.10 Limitations.....	104
4.11 Conclusion	107
Reference list.....	108
5. Appendix	134
5.1 Abbreviations	134
5.2 Index of Figures and Tables.....	136
5.3 Study protocols	138
5.4 Patient Education and Consent.....	156
6. Formalia.....	174
6.1 Lebenslauf	174
6.2 Verzeichnis der akademischen Lehrenden	174
6.3 Danksagung	175
6.4 Ehrenwörtliche Erklärung.....	175

1. Introduction

'Without mental health there can be no true physical health'

- Dr. Brock Chisholm, 1951

This quote originates from Dr. Brock Chisholm, the first Director-General of the World Health Organisation and has become the slogan of World Mental Health Day and further major projects. It is an illustration of the importance of mental health. *'About 14% of the global burden of disease has been attributed to neuropsychiatric disorders, mostly due to the chronically disabling nature of depression [...]' (Prince et al., 2007)*. According to the Global Burden of Diseases, Injury and Risk Factors Study 2017, already in 2007 depressive disorders were among the three most disabling diseases measured by years lived with disability (YLD). From 2007 to 2017, there was a further continued increase in YLD for major depressive disorder (MDD) (James et al., 2018). Although depressive disorders are one of the most common and disabling diseases, *'mechanisms associated with the pathogenesis of MDD have yet to be completely understood and current treatments remain ineffective in a large subset of patients'* (Ménard, Hodes and Russo, 2016). Response rates to first-line therapy ranges from 40% to 60% (MacQueen et al., 2017), remission rates vary from 25% to 40% (Little, 2009; Trivedi et al., 2008). These figures represent rather unsatisfactory treatment outcomes.

Currently, MDD is diagnosed based on symptoms according to the 5th edition of Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5) or 10th revision of International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-10). Main criteria according to ICD-10 are depressed mood, loss of interest and lethargy. Additional symptoms are: decreased concentration and attention; decreased self-esteem and self-confidence; feelings of guilt and worthlessness; negative and pessimistic outlook; suicidal ideation, self-harm or suicide; hyper- or hyposomnia; decreased or increased appetite. In the DSM-5 criteria, psychomotor agitation and retardation are also included as symptoms of MDD (American Psychiatric Association, 2013; Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde, 2015). Overall, the above-mentioned diagnostic criteria show that MDD can

present itself in very different, even contradictory ways. Thus, MDD represents a very heterogeneous group of disorders (Murck, 2003), which hence should be further subtyped (Korte *et al.*, 2015). Up to now, subtyping has been done on the basis of certain symptoms and the course of the disease (Rush, 2007). Within the DSM-5 classification, the following subtypes are distinguished on the basis of anxious distress, mixed features, melancholic features, atypical features, psychotic features, catatonia, peripartum onset and seasonal pattern. The melancholic subtype is characterised by loss of pleasure and a lack of mood reactivity. Furthermore, symptoms such as early-morning awakening, weight loss and reduced appetite occur. In patients with atypical depression (AD), the ability of mood reactivity is preserved. Further possible symptoms related to AD include hypersomnia, increased appetite, weight gain and leaden paralysis (American Psychiatric Association, 2013). Based on this classification, it is becoming evident that so far, reference is made to symptomatology and course. Biomarkers such as hormone levels, inflammatory markers, genetics and neuroimaging are generally neglected. Also, in the context of studies, the classification is sometimes based on the symptoms and divided into a melancholic and atypical subtype. As a third subtype, either the anxious or non-vegetative subtype may be mentioned.

At present, the German Society for Psychiatry and Psychotherapy, Psychosomatics and Neurology does not provide any detailed guidelines on medical therapy for MDD subtypes. Recommendations are largely limited to the fact that sedative medication is suggested for agitated patients, whereas activating medication is suggested for inhibited depressive patients. Currently, the side effect profile in particular is at the centre of the therapy decision (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde, 2015). No further subtyping is performed, hence subtype-specific therapy options are not considered. In general, differences in underlying pathomechanisms have hardly been taken into account for classification and corresponding specific therapy (Ménard, Hodes and Russo, 2016). Whereby it would be more than necessary, with regard to the fact that *'disorders once considered unitary based on clinical presentation have been shown to be heterogeneous by laboratory tests—e.g., destruction of islet cells versus insulin resistance in distinct forms of diabetes mellitus. From infectious diseases to subtypes of cancer, we routinely use biomarkers to direct distinct treatments. Conversely, history also shows that syndromes appearing clinically distinct may result from the same etiology, as in the diverse clinical presentations following syphilis or a range of streptococcus-related disorders'* (Insel *et al.*, 2010). Similarly, the uniform diagnosis of MDD can mask the presence of diverse underlying pathomechanisms. The fact that biomarkers have

not yet found their way into the diagnosis and treatment decision of mental diseases is therefore all the more surprising.

In general, the trend is heading towards personalised medicine (Niederlag, Lemke and Rienhoff, 2010). Thus, large projects such as the EPMA, the European Association of Predictive, Preventive & Personalised Medicine, have been launched. *'The main objective of the EPMA is to promote the paradigm change from delayed reactive medical services to evidence-based Predictive, Preventive & Personalised Medicine (PPPM) as an integrated science and healthcare practice.'* (EPMA, 2020). Due to the low remission rate under the current therapy concept in MDD, a more individualised therapy approach appears to be a potential element for improving the therapy outcome. This is particularly relevant as *'up to half [of the patients with MDD] experience significant improvement after switching to an alternative medication. [...] Accurate selection of the best initial treatment could have tremendous benefits for people living with depression.'* (Simon and Perlis, 2010). Accordingly, a more precise subtyping, based on the overall symptomatology and pathophysiology, would be necessary for the treatment decision (Beijers *et al.*, 2019).

Already in the mid-nineties, the attempt of subtyping including further factors than symptomatology was pursued. Initial investigations were carried out using biochemical and psychometric methods. In recent years, genetic investigations and neuroimaging became available as well (Beijers *et al.*, 2019). In this context, the National Institute of Mental Health (NIMH) has launched the Research Domain Criteria (RDoC) as a new classification system which is intended for a more specific classification within research on mental illnesses. It consists of six domains, which are: negative valence, positive valence, cognitive systems, systems for social processes, arousal/regulatory systems and sensorimotor systems. Each domain is analysed on the basis of the Units of Analysis. These units include: genetics, molecules, cells, circuits, physiology, behaviour and self-report. Based on these elements, a matrix was created which promises a differentiated sub-typification in the classification of mental diseases. Its purpose is not to replace old systems, but to help to understand pathomechanisms of mental illness. In a further step, the generated comprehension of the diseases should enable to create new *'screening tools, diagnostic systems and treatments'* (EPMA, 2020) that include not only the symptoms but also the pathophysiology. Problematically, there are not yet many biomarkers available for mental illnesses, including MDD. Insel *et al.* consider that *'the critical test [for RDoC] is how well the new molecular and neurobiological parameters predict prognosis or treatment*

response.' What is needed are parameters that are particularly easy to collect, cost-effective, and which can also be used in everyday clinical practice.

In this study, the focus will be on mineralocorticoid receptor (MR) dysfunction as a pathomechanism in MDD. On the one hand, potential biomarkers will be investigated. On the other hand, therapeutic options will be discussed.

1.1 General Model of MR Dysfunction in MDD

So far, endocrine research on depression has primarily focused on the activity of the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis and changes in cortisol levels. However, it was shown that aldosterone and the Renin-Angiotensin-Aldosterone-System (RAAS) also play an important role in pathophysiology (Hlavacova *et al.*, 2012; Murck, Schüssler and Steiger, 2012). Already in 1955, Selye established the concept of stress. He described three stages of stress response: firstly, a reaction without adaptation, secondly the stage of adaptation and thirdly the stage of exhaustion in which adaptation is lost again. In this process, the HPA axis is involved, whereby an increased aldosterone level plays an important role. The changes in steroid levels influence neuronal and emotional reactions, with illness being caused by an inappropriate response to stress (Selye, 1955). Furthermore, correlations between stress, whether physical or psychological, and depressive episodes could be shown (López *et al.*, 1998).

In response to stress, corticotropin-releasing hormone (CRH) is expressed in the parvocellular neurons of the paraventricular nucleus (PVN) of the hypothalamus, which in turn produces proopiomelanocortin (POMC) in the anterior pituitary lobe. This leads to the release of adrenocorticotrophic hormone (ACTH), which causes an increased release of cortisol and aldosterone in the adrenal cortex (López *et al.*, 1998). In the short term, aldosterone can lead to physiological adaptations to current circumstances, which *inter alia* also affect behaviour. Nevertheless, chronically elevated aldosterone levels or disturbed adaptive reactions can lead to pathophysiological changes (Geerling and Loewy, 2009). *'[...] [S]ubchronic treatment with aldosterone induced anxiety (Hlavacova and Jezova, 2008) and depression-like behaviours which were concomitant with gene expression changes in the hippocampus that may be relevant to major depression (Hlavacova et al., 2012).'* (Franklin *et al.*, 2012). Furthermore, under treatment with aldosterone, plasma renin levels have been shown to decrease in an animal model of depression, whereas the activity of the HPA axis remained unaffected (Hlavacova and Jezova,

2008). As renin is a regulator of aldosterone albeit not of cortisol secretion, this observation reinforces the assumption that aldosterone, and not cortisol, is responsible for anxious behaviour (Hlavacova and Jezova, 2008). This hypothesis is supported by further studies: it could be shown that patients with hyperaldosteronism are more depressed and anxious than the normal population (Apostolopoulou *et al.*, 2014) and increased aldosterone levels have also been found in patients with clinical depression (Emanuele *et al.*, 2005; Murck, 2003).

An association between increased RAAS activity and mood alterations can therefore be assumed. The cause of this phenomenon has not completely been resolved. Physiologically, when the mean arterial blood pressure in the kidney drops by more than 10-15 mmHg, the RAAS is activated: more renin is released into the systemic circulation: angiotensinogen is transformed by renin to angiotensin I, which is hydrolysed by the angiotensin-converting enzyme (ACE) to the active angiotensin II. Angiotensin II increases the release of aldosterone from the adrenal cortex, has vasoconstrictor effects, stimulates ADH secretion, Na⁺ reabsorption, salt appetite and thirst sensation (Pape, Kurtz and Silbernagl, 2019). Hence, unlike the activation of the HPA axis, only aldosterone is released via the RAAS, but not cortisol. Aldosterone promotes renal sodium retention and the secretion of potassium and magnesium (Hanna and Macintyre, 1960; Pape, Kurtz and Silbernagl, 2019). Due to the rising plasma sodium level, more water is retained. In combination with the increased intake of water and salt due to the elevated salt appetite and feeling of thirst, the intravascular volume increases. Hence, blood pressure rises (Pape, Kurtz and Silbernagl, 2019). *'[...] [R]egulatory mechanisms that have an impact on aldosterone synthesis via the RAAS are the sympathetic nervous system (SNS), baroreceptors, plasma sodium (Na⁺) and potassium (K⁺) concentrations (Francis et al., 2001; (Guyenet, 2006; Schweda, 2015).'* (Braunisch, 2017). This cascade of events may be interrupted in certain patients with depression.

The RAAS exists not only peripherally, but also centrally. *'Although the RA[A]S exerts a pivotal role on electrolyte homeostasis and blood pressure regulation, [...] [its] components are also implicated in higher brain functions, including cognition, memory, anxiety and depression, and several neurological disorders.'* (Gironacci *et al.*, 2018). In the central nervous system, it is regulated partially independently from the periphery. So far known processes in which the central RAAS is involved include *'the regulation of body water balance and thirst, blood pressure maintenance, vasopressin release, and influences on reproduction and sexual behaviors [...] [besides the] regulation of cerebral blood flow and cerebroprotection, stress, depression, seizure, alcohol consumption, memory consolidation, with possible roles in the etiology of Alzheimer's*

disease [...], Parkinson's disease, and diabetes' (Wright and Harding, 2011). Besides, the RAAS is activated by stress. Accordingly, as depression and stress are interrelated, a higher risk of depression could be associated with a higher activity of the RAAS (Pfaff and Joëls, 2017).

The effects of aldosterone and cortisol are mediated via the MR and glucocorticoid receptor (GR). The MR is located peripherally in the kidney, myocardium, endothelium, adipocytes, colon and muscle cells and centrally in certain brain loci (Emanuele *et al.*, 2005; Geerling and Loewy, 2009; Murck *et al.*, 2015; Viengchareun *et al.*, 2007). Aldosterone binds to the MR with approximately the same affinity as cortisol, but cortisol is present in about 500-fold higher concentrations. Thus, in the cells where aldosterone and not cortisol is supposed to bind to the MR, the enzyme 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11 β -HSD2) is present. This enzyme catalyses the conversion of active cortisol to inactive cortisone allowing aldosterone to unfold its effect at the MR (Murck and Lehr *et al.*, 2020; Seckl and Chapman, 1997; Stewart, 1999). Thus, despite the lower level, aldosterone is responsible for 90% of the mineralocorticoid effect in these tissues (Ames, Atkins and Pitt, 2019). Moreover, '*aldosterone is a stronger activator of the MR*' (Hlavacova and Jezova, 2019).

Furthermore, there are two types of MR: genomic MR and non-genomic MR, also called membrane-bound MR (ter Heegde, Rijk and Vinkers, 2015). In its inactive state, the genomic MR is in the cytoplasm bound to chaperones. Through ligand binding, it is activated and translocated into the nuclear compartment. It then binds to specific regions of the DNA and in this way functions as a transcription factor. In epithelial tissue, this leads to increased expression of ion channels. These include the epithelial Na⁺ channel (ENaC) and the Na⁺/K⁺-ATPase. In non-epithelial tissue, MR targets various genes, some of which are tissue dependent. The membrane-bound MR (mMR) is localised pre- and postsynaptically and influences synaptic transmission rapidly. The mMR is thought to regulate glutamate release (Prager *et al.*, 2010). A rapid increase in aldosterone or cortisol is associated with impaired behaviour and cognition, which is assumed to be mediated via the mMR. It has so far been detected in the limbic system, the hippocampus and the amygdala (Prager *et al.*, 2010). Unlike the genomic MR, the mMR has a higher affinity for aldosterone than the intracellular genomic one. Overall, it can be said that the genomic MR is particularly responsible for slower reactions to stress and influences HPA axis sensitivity, whereas the membrane-bound MR mediates fast responses (ter Heegde, Rijk and Vinkers, 2015).

Thus, the MR represents an important modulator of the stress response and correspondingly plays a role in psychiatric and somatic diseases (Juster, McEwen and Lupien, 2010). In therapy refractory MDD, a reduced activity of the peripheral MR combined with central MR overactivity has been described. This at the first glance counterintuitive findings might arise as follows: Certain patients with MDD show a desensitisation of the peripheral MR which induces a compensatory increase in aldosterone. With preserved function of the central MR, the increased aldosterone level results in central MR overactivity (Büttner *et al.*, 2015; Juruena *et al.*, 2013; Murck *et al.*, 2018). Central MR overactivity is associated with reduced heart rate variability (HRV), an increase in slow wave sleep (SWS) and increased salt appetite. Biomarkers for peripheral MR dysfunction are plasma electrolytes and systolic blood pressure (Büttner *et al.*, 2015; Murck *et al.*, 2018). Furthermore, '[...] [a] high baseline aldosterone/cortisol ratio was predictive for antidepressant nonresponse' (Murck *et al.*, 2018).

Hyperaldosteronism is associated with anxiety (Sonino, Fallo and Fava, 2006), depressive symptoms (Apostolopoulou *et al.*, 2014) and muscle weakness (Schirpenbach and Reincke, 2007). Atypical depression also manifests itself through symptoms such as anxiety and leaden paralysis, and also represents a cause of treatment refractoriness (Murck, 2003; Pfaff and Joëls, 2017). On the basis of the study results, MR dysfunction could be a pathomechanism involved in therapy refractory MDD, especially in AD.

1.1.1 Central Regulatory Circuits

At this point, for a further comprehension of the central alterations in the context of MR dysfunction in MDD, central regulatory circuits will be discussed.

So far, MR has been detected in certain brain areas of humans and rats. These include the hippocampus, nucleus of solitary tract (NTS), amygdala, periventricular nucleus (PVN) and ventromedial nucleus (VMN) of the hypothalamus, septal area, circumventricular organ (CVO), anterior cingulate cortex (ACC) and prefrontal cortex (PFC) (Gomez-Sanchez, 2011; Gomez-Sanchez and Gomez-Sanchez, 2012, 2012; Juruena *et al.*, 2013; Kloet and Joëls, 2017; Pfaff and Joëls, 2017). Furthermore, MR has been described to occur in the cerebellum, thalamus, locus coeruleus, choroid plexus and nucleus vestibularis medialis (Gomez-Sanchez and Gomez-Sanchez, 2012). Within these areas, 11 β -HSD2 is only found in certain loci. Accordingly, only in those loci cortisol can be inactivated, allowing aldosterone to bind and act on the MR (Hlavacova

and Jezova, 2019). In areas without 11 β -HSD2, glucocorticoids represent the primary ligand. 'At the level of the hippocampus [and the amygdala] a membrane-bound, nonclassical MR exists, which is not protected by [...] [11 β -HSD2], but nevertheless has some specificity for aldosterone: its affinity for aldosterone is higher in comparison to cortisol/corticosterone (Karst *et al.*, 2005).' (Büttner *et al.*, 2015)' (Braunisch, 2017). Up to now, 11 β -HSD2 has been detected in the PVN and VMN of the hypothalamus, the NTS, the CVO, the locus coeruleus and the nucleus vestibularis medialis (Geerling and Loewy, 2009; Gomez-Sanchez and Gomez-Sanchez, 2012; Kloet and Joëls, 2017; Murck *et al.*, 2018). Within a few cells of the amygdala, detection was also possible (Davies and MacKenzie, 2003). Cells that have an MR and the 11 β -HSD2 are also called aldosterone-sensitive neurons. In this respect, the NTS represents the best-studied and most relevant region (Geerling and Loewy, 2009; Murck *et al.*, 2018). The aldosterone-sensitive neurons of the NTS seem to be relevant for the regulation of the sodium balance (Gomez-Sanchez, 2011). These cells are stimulated, for instance, by the vagus nerve, which in turn project to the 'nucleus accumbens, ventrolateral bed nucleus of the stria terminalis [(BNST)] and, indirectly, the amygdala' (Gomez-Sanchez, 2011). The amygdala is involved in the generation of anxiety and depression-like behaviour (Pfaff and Joëls, 2017) and in the generation of salt appetite (Sakai *et al.*, 1996). The BNST plays an important role in anxious behaviour and addiction (Avery, Clauss and Blackford, 2016), the nucleus accumbens in behaviour and motivation (Pfaff and Joëls, 2017). Alterations of the nucleus accumbens have been shown in depression (Golden *et al.*, 2013). Through these projections, salt balance and behaviour are directly linked. With increased aldosterone levels, this regulatory circuit is activated, and anxiety and depression-like behaviour are induced. Furthermore, there are neuronal connections between the NTS and the PVN, which is involved in the regulation of electrolyte balance and salt appetite (Gomez-Sanchez, 2011; Pfaff and Joëls, 2017) as well as in the development of depression and anxiety (Pfaff and Joëls, 2017; Swaab, Bao and Lucassen, 2005; Yuan *et al.*, 2019). For an overview of the regulatory circuits, see Figure 1.

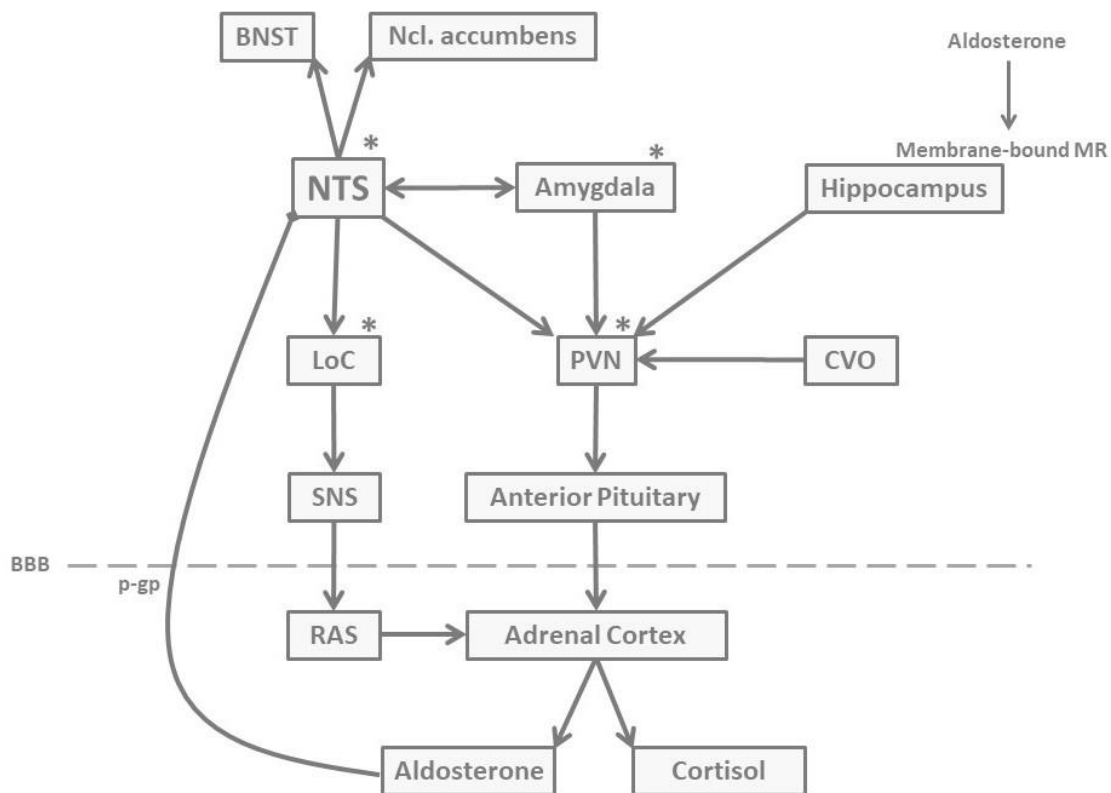


Figure 1: Overview of Circuits Involving Aldosterone Action

Adapted from Murck, Schüssler and Steiger, 2012. Loci with genomic MR are marked with *. Abbreviations: BBB = blood brain barrier, BNST = bed nucleus of the stria terminalis, CVO = circumventricular organ, LoC = Locus coeruleus, Ncl. accumbens = Nucleus accumbens, NTS = Nucleus of the solitary tract, p-gp = p-glycoprotein, PVN = periventricular nucleus, RAS = Renin-Angiotensin-System, SNS = sympathetic nervous system

Physiologically, the stress response is initiated via MR activation, whereby aldosterone increases first, and cortisol/corticosterone plays a role in the subsequent phase. Finally, it is terminated via GR activation (Franklin *et al.*, 2012; Kloet *et al.*, 2000; Pfaff and Joëls, 2017; R. de Kloet and C. Meijer, 2019).

1.1.2 Electrolytes

Desensitisation of the peripheral MR entails a change in the electrolyte balance. Sodium (Na⁺), potassium (K⁺) and magnesium (Mg²⁺) levels are particularly affected (Braunisch, 2017).

According to our hypothesis, peripheral MR dysfunction causes reduced reabsorption of sodium, which results in decreased sodium levels (Büttner *et al.*, 2015). Na⁺ depletion in turn leads to an increased release of aldosterone. In this case, this occurs particularly via the RAAS. Symptomatically, a low sodium level can manifest itself in a variety of ways. Cognitive deficits, an increased risk of falls, gait disturbances, other neurological symptoms, depression-like behaviour and anxiety are frequently described in chronic hyponatremia (Cohen, 2016; Fujisawa *et al.*, 2016; Gunathilake *et al.*, 2013; Vandergheynst *et al.*, 2016). These symptoms can occur even with mild hyponatremia (Cohen, 2016; Gunathilake *et al.*, 2013). However, the symptomatology may be very subtle. Therefore, highly sensitive tests are required for detection. Through therapy, symptoms are reversible (Renneboog *et al.*, 2006; Vandergheynst *et al.*, 2016). Mechanistically, after induction of hyponatremia, increased extracellular glutamate levels in the hippocampus could be detected by microdialysis. Due to this, long-term potentiation is disturbed, which in turn leads to memory impairment (Fujisawa *et al.*, 2016). Furthermore, *'chronic hyponatremia impairs neuronal mitochondrial distribution and decreases ATP production'* (Fujisawa *et al.*, 2016), which causes neuronal dysfunction. Disturbances in nerve impulse generation and propagation occur, resulting in reduced conduction velocity. Both sensory and motor nerves are affected (Vandergheynst *et al.*, 2016).

Moreover, the potassium level may increase due to a reduced potassium secretion (Braunisch, 2017). Clinically, hyperkalaemia presents itself through neurological, gastrointestinal and cardiac symptoms. These can manifest as hyperreflexia, cramps, paraesthesia, muscle weakness and paralysis, nausea, vomiting and cardiac arrhythmia (Schmidt, 2015). It leads to peripheral neuronal and muscular dysfunction. Chronic axonal depolarisation can cause hyperexcitability (Arnold *et al.*, 2014; Kiernan *et al.*, 2002; Krishnan *et al.*, 2005; Z'Graggen *et al.*, 2010). Furthermore, also *'muscle membranes [...] [are] chronically depolarized by hyperkalemia'* (Z'Graggen *et al.*, 2010). *'[...] [P]eripheral nerve and skeletal muscle dysfunction may occur, even at serum potassium concentrations in the high normal range'* (Arnold *et al.*, 2017). Alternations due to hyperkalaemia also found to be reversible, including an improvement in gait speed (Arnold *et al.*, 2017).

Magnesium secretion is as potassium secretion aldosterone-dependent, which means that elevated magnesium levels are to be expected in peripheral MR dysfunction. (Braunisch, 2017; Büttner *et al.*, 2015). Magnesium is involved in processes such as blood pressure regulation as well as muscular and neuronal excitation (Zhang *et al.*, 2017). Thus, it can block the neuronal

conduction which may lead to hypo- or areflexia and paralysis. Furthermore, functional restrictions of the smooth muscles might occur causing ileus and urinary retention. Due to its function as a calcium channel blocker, bradycardia and hypotension may result (Cascella and Vaqar, 2021; Topf and Murray, 2003).

Hence, all three electrolytes are important components of neuromuscular and cardiac function. Alterations in their levels and associated changes within the peripheral system might indicate peripheral MR activity. Within this study, sodium, potassium and magnesium levels are considered as biomarkers, which represent peripheral MR function and may manifest in changes of gait.

1.1.3 Cardiovascular System

Aldosterone not only affects cardiovascular activity via electrolytes, but is also involved via the autonomic nervous system (ANS) (Kemp *et al.*, 2010) and via peripheral MR of myocardium and endothelium (Viengchareun *et al.*, 2007). Both central MR overactivity and peripheral desensitisation thus also influence the functioning of the cardiovascular system. In this respect, two possible biomarkers are HRV and blood pressure (Braunisch, 2017).

The HRV is modulated by the sympathetic and parasympathetic nervous systems (Kemp *et al.*, 2010) and hence represents a marker of the ANS. It plays a central role in regulating cardiac activity and is in turn controlled by parts of the central nervous system (CNS). The amygdala and the NTS are involved in this process (Braunisch, 2017; Hamilton and Alloy, 2016). The sympathetic nervous system is activated during '*stress to mobilise physiological and cognitive resources to effectively cope and respond*' (Hamilton and Alloy, 2016) and leads to an increase in heart rate. The parasympathetic nervous system forms the counterpart of the sympathetic nervous system, influences the heart rate via the vagal nerve and leads to a decrease in it (Hamilton and Alloy, 2016; Porges, 2007). '*The vagus nerve arises from the brain stem and has connections to aldosterone sensitive sites in the NTS (Geerling and Loewy, 2009; Robson et al., 1998; Rottenberg, 2007)*' (Braunisch, 2017). Aldosterone has a parasympatholytic effect, which can lead to an imbalance between the parasympathetic and sympathetic nervous system. This is reflected by a reduction in HRV (Ovaert *et al.*, 2010). '*A mechanism for the action of aldosterone on HRV could involve aldosterone sensitive neurons in the NTS (Shin, Geerling and Loewy, 2009).*' (Braunisch, 2017). Therefore, '*HRV is also associated with the activity of the renin-*

angiotensin-aldosterone system (RAAS) (Ovaert et al., 2010; Schmidt, 1999) and MR-activation (MacFadyen, 1997)' (Büttner et al., 2015). During stress, the ANS reacts with changes in cardiac activity. Patients with MDD showed an impaired stress response mediated by interferences of the ANS (Schiweck et al., 2019). Those changes '[...] [lead] to reduced flexibility in responding to environmental demands and appropriate responsiveness [...]' (Kemp et al., 2010) and 'have been identified as potential mechanisms linking depression and poor cardiovascular health (Grippe and Johnson, 2009)' (Hamilton and Alloy, 2016). Likewise, anxiety and depression were shown to be associated with lower HRV. Moreover, the extent of HRV alteration seems to be interrelated to depression severity (Cohen, Edmondson and Kronish, 2015; Kemp et al., 2010). Kemp et al. hypothesise that the autonomic dysregulation, in the sense of a reduction of vagal activity and a consecutive disinhibition of the sympathetic nervous system, is related to alterations of the HPA axis in MDD. Hence, aldosterone can intervene at various levels in the regulation of ANS in cardiac activity, correspondingly HRV. Büttner et al. already identified the HRV as a relevant parameter of central MR activity, which is why HRV is also used as such in this framework.

Regarding alterations of blood pressure in MDD, different results have been reported. While there was evidence of reduced blood pressure in MDD in some studies (Barrett-Connor and Palinkas, 1994; Büttner et al., 2015; Hildrum, Romild and Holmen, 2011), other studies showed an association between increased blood pressure and MDD (Häfner et al., 2012; Hertzman et al., 2005). Both systolic and diastolic values are affected in MDD (Lenoir et al., 2008). Patients with reduced blood pressure show more severe depressive symptoms. In particular, fatigue is associated with lower blood pressure (Barrett-Connor and Palinkas, 1994; Stroup-Benham et al., 2000). Diastolic hypotension in MDD is especially associated with symptoms of lethargy, sadness and reduced concentration, but less with nervousness, anger and guilt (Jorm, 2001). Hildrum, Romild and Holmen showed 'that symptoms of anxiety and depression are associated with decrease in blood pressure, particularly when a high symptom level can be detected over decades'. The observation that low blood pressure occurs particularly in patients with a high symptom level over decades would suggest a connection with therapy refractory depression (TRD). Büttner et al. already detected patients with MDD and low blood pressure as nonresponders, who additionally showed a higher aldosterone/cortisol ratio. This could be a sign of peripheral MR dysfunction resulting in a reactive increase in aldosterone (Murck et al., 2018). Conversely, chronic stress can also lead to an increase in blood pressure (Sparrenberger et al., 2009). The fact that both hypotension and hypertension could be observed in MDD

suggests that the manifestation of altered blood pressure is depending on different subtypes. Low blood pressure might be a symptom of atypical depression, whereas elevation of blood pressure seems to be associated with melancholic depression (Braunisch, 2017).

1.2 INPH and MR Dysfunction in MDD

'INPH is an adult-onset syndrome of uncertain origin, showing symptoms of cognitive impairment, gait disturbance and urinary dysfunction, which involves non-obstructive enlargement of the cerebral ventricles, along with normal cerebrospinal fluid (CSF) pressure [...]. Patients with INPH may present with varying combinations or degrees of each of these classic clinical symptoms' (Kang *et al.*, 2016).

As the term *'idiopathic'* implies, the aetiology of iNPH is not yet fully understood. However, some alterations that are associated with this disease have been identified so far. These include enlarged ventricles, alterations in cerebro-spinal fluid (CSF) flow and cerebral blood flow (CBF), as well as cerebral white and grey matter changes (Kondziella *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2016).

'Altered expression of molecules regulating CSF production and absorption [...]' could play a role in the increase in ventricular volume (Shprecher, Schwalb and Kurlan, 2008). Thus, an increase in CSF aldosterone, which plays an important role in the regulation of CSF production, was also found (Sosvorova *et al.*, 2015).

Diverse alterations of the white and grey matter have been demonstrated. Disturbances in neurotransmitter metabolism affect different brain regions of the grey and white matter. These include the basal ganglia, hippocampus, brain stem and cerebellum. Memory dysfunction seems to be related to abnormalities in the hippocampus (Kondziella *et al.*, 2008; Kondziella *et al.*, 2009). In addition, diffusion tensor has been used to identify impaired white matter integrity in the sense of microstructural changes. One affected structure is the corpus callosum. Regionally reduced CBF has been found in both white and grey matter (Kondziella *et al.*, 2008; Massicotte, Buist and Del Bigio, 2000). Affected regions include cortex, hippocampus, periventricular tissue, thalamus and basal ganglia (Klinge *et al.*, 2003; Larsson *et al.*, 1994; Owler *et al.*, 2004). Changes in both the corpus callosum and the basal ganglia are associated with motor symptoms. Alterations in the corpus callosum further correlate with the extent of gait dysfunction (Kang *et al.*, 2016; Miyamoto, Imahori and Mineura, 2007).

Now, the question arises what iNPH and MDD have in common and to what extent this is related to MR dysfunction. On the one hand, there are certain overlaps in the symptomatology of both syndromes. The classic symptoms of iNPH, summarised under the Harkim triad, can also occur in MDD. Various studies have confirmed an association between MDD and an increased incidence of urge incontinence (UI) in the course of disease (Melville *et al.*, 2009; Tettamanti *et al.*, 2013, 2013; Zorn *et al.*, 1999). It is important to note that MDD predicts the occurrence of UI, but UI is not predictive for MDD. Hence, MDD seems to be a possible causal factor for UI (Melville *et al.*, 2009). Motor and cognitive impairments in MDD are more common. Cognitive impairment includes executive function, attention, memory and psychomotor function (Austin, Mitchell and Goodwin, 2001; Castaneda *et al.*, 2008; Hammar and Ardal, 2009). Frequently, memory and concentration disorders in the context of depression are also referred to as pseudodementia. Classically, the motor dysfunction in depression is divided relative generally into psychomotor agitation and retardation (American Psychiatric Association, 2013). However, changes in gait are increasingly becoming the focus of research. Commonly described changes in MDD include slowed gait speed and shortened stride length (Hausdorff *et al.*, 2004; Lemke *et al.*, 2000). Similarly *'the aberrant ambulation observed in INPH is characterised by a slow, wide-based gait, short shuffling steps, and difficulty in turning and tandem walking'* (Gallia, Rigamonti and Williams, 2006). Hence, overlaps in clinical presentation of gait pattern are apparent. The gait dysfunction will be discussed in more detail in the following section.

On the other hand, there are parallels in presentation within the imaging diagnostics. In the context of MDD, basal ganglia appear to underlie neurodegenerative processes which may play a role in the pathophysiology of the disease. Decreased metabolism and blood flow have also been observed (Austin *et al.*, 1992; Buchsbaum *et al.*, 1986; Lacerda *et al.*, 2003; Mayberg *et al.*, 1994). The impairment of motor function, including gait pattern, is associated with the basal ganglia dysfunction (Cummings, 1993; Lacerda *et al.*, 2003).

Furthermore, white matter lesions are known to be associated with MDD (Schwichtenberg *et al.*, 2017). The severity of these correlates with the severity of the disease and therapy resistance (Cole *et al.*, 2012; Diego-Adeliño *et al.*, 2014; Hoogenboom *et al.*, 2014; Lyden *et al.*, 2014). Starr *et al.* also show correlations between white matter lesions, slowed gait speed and disturbed balance as well as depressive symptoms. Likewise Walther *et al.* assume that *'[...] signs of psychomotor slowing in major depressive disorder may be linked to changes of the white matter integrity of the motor system.'*

Another alteration of particular interest in this context is the association between MDD and ventricular volume. We and others have shown that an increase in ventricular space seems to be a negative prognostic parameter with respect to outcome in depression (Cardoner *et al.*, 2003; Murck and Luerweg *et al.*, 2020). Furthermore, patients with a larger ventricular volume show a stronger severity of symptoms, especially of psychomotor ones (Schlegel *et al.*, 1989). In addition, Murck and Luerweg *et al.* were able to show that enlarged ventricular space is linked to a reduced corpus callosum volume, which could be explained by a compression of the latter. Accordingly, non-responders showed a lower corpus callosum volume than responders. This has also been demonstrated in the EMBARC study in a large population (Murck *et al.*, 2021). *'Corpus callosum [...] atrophy has been associated with dementia in patients with LA [leukoaraiosis], as well as with gait disturbances in patients with normal pressure hydrocephalus.'* (Moretti *et al.*, 2005). This study result leads to the next aspect: In addition to imaging diagnostics, the regulatory circuits of cerebrospinal fluid production must also be considered (see Figure 2). *'Apart from its function of hydromechanical protection of the central nervous system, CSF also plays a prominent role in brain development and regulation of brain interstitial fluid homeostasis, which influences neuronal functioning.'* (Sakka, Coll and Chazal, 2011). The choroid plexus is responsible for the major part of CSF secretion (Sakka, Coll and Chazal, 2011). In its epithelial cells, aldosterone can bind to the MR. As a result, Na⁺/K⁺-ATPase is increasingly expressed and incorporated into the apical membrane. Thus, more sodium is pumped into the inner CSF space. It is assumed that due to the resulting osmotic gradient, CSF secretion increases (Andrews, Liu and Ko, 2014; Leenen, 2010; Salpietro *et al.*, 2014; Sheldon *et al.*, 2015). Patients with central MR overactivity in MDD might therefore have an elevated CSF production, which can lead to an enlargement of the CSF spaces and consequently to the associated symptoms. This would be in line with previous study results as the enlarged CSF spaces were mainly found in nonresponders and nonresponse may be related to MR dysfunction (Murck and Luerweg *et al.*, 2020). Increased aldosterone levels in the CSF could also be detected in iNPH (Sosvorova *et al.*, 2015), which further strengthens the hypothesis of an aldosterone-dependent increased CSF production accompanied by ventricular enlargement. Likewise, increased intracranial pressure seems to be associated with hyperaldosteronism and consequently increased CSF production (Khan *et al.*, 2013; Salpietro *et al.*, 2014).

In conclusion, iNPH and MDD show overlaps in terms of symptoms, imaging and hormonal changes. A common underlying pathomechanism may represent increased central MR

activation by aldosterone (Cardoner *et al.*, 2003; Murck and Luerweg *et al.*, 2020; Sosvorova *et al.*, 2015).

Kubo *et al.* developed a grading scale for iNPH, which should classify the severity of symptomatology. Cognitive impairment, gait disturbances and urinary incontinence are included. The iNPH Grading Scale (iNPHGS) could also be used to assess symptoms of MDD due to central MR overactivity and changes in ventricular volume. Accordingly, the iNPHGS could also be useful to detect non-responders at an early stage. In our study, iNPHGS was used to assess central MR function.

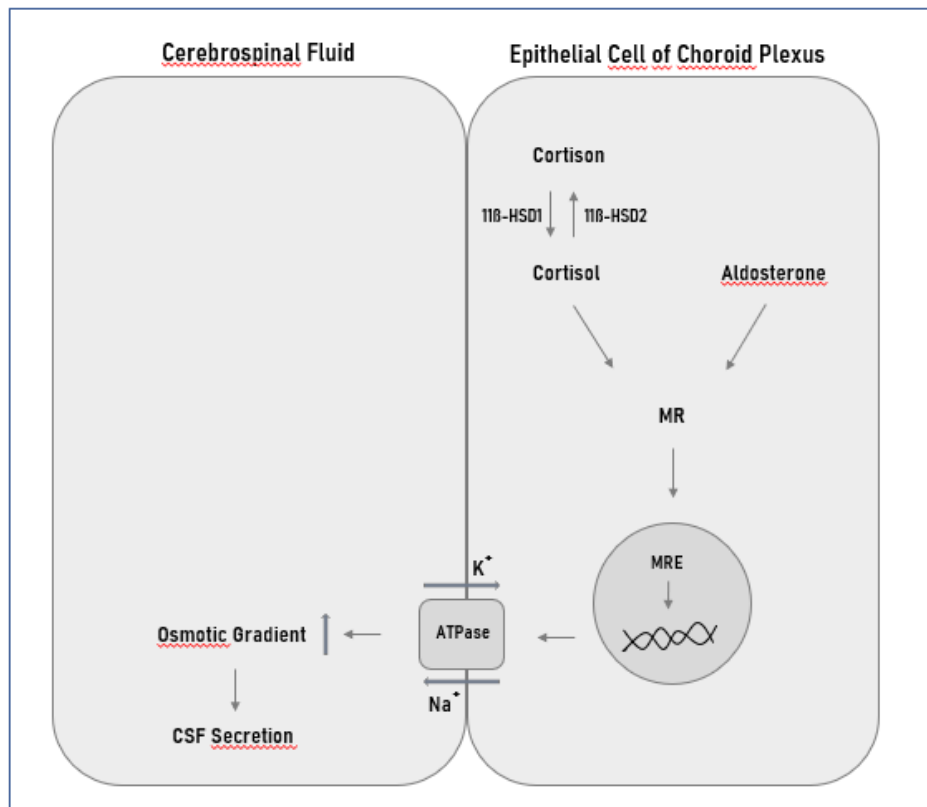


Figure 2: Regulation of the Secretion of Cerebrospinal Fluid

Adapted from Salpietro *et al.*, 2014. Cortisol and aldosterone can activate the genomic mineralocorticoid receptor (MR), which activates mineralocorticoid responsive elements (MRE). Due to this DNA synthesis of Na⁺/K⁺-ATPase is stimulated. As Na⁺ is pumped into the cerebrospinal fluid (CSF) an osmotic gradient is caused resulting in increased secretion of CSF. Cortisol can be inactivated by 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11β-HSD2), cortisone can be inactivated by 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11β-HSD1).

1.3 Gait in MR Dysfunction

'Mobility depends not only on physical functions [...], but also on mental state, in particular cognitive impairment and depressed mood [(Longstreth et al., 1996; O'Brien et al., 2000)].' (Starr et al., 2003).

As aforementioned, alterations in gait are becoming the focus of attention as a potential biomarker in MDD. The fact that motor symptoms are a long-neglected but central symptomatology of MDD (Bernard and Mittal, 2015), which however continues to take on a more pivotal role, is shown by the fact that the RDoC criteria were subsequently updated to include the domain of motor symptoms (sensimotor domain) (National Institute of Mental Health, 2021; Walther et al., 2019). In this way, motor symptoms can be placed in relation to the course of disease on the one hand and to evaluate associations with the other domains on the other. Ultimately, this should enable more specific treatment through sub-typification (Walther et al., 2019). According to Sobin and Sackeim's meta-analysis, motor symptoms occur in 58-69% of patients with MDD. Moreover, they seem to be associated with poorer outcome and severity (Aybek et al., 2012; Murck et al., 2019; Sakurai et al., 2017; Sobin and Sackeim, 1997; Ulbricht et al., 2016). Wang et al. further discovered that gait pattern can also be used to confirm the diagnosis of MDD. They see the advantages over questionnaires in the fact that they can be used to assess the severity of depression, but not as a diagnostic tool, and that gait analysis preserves more objectivity. Garvey and Cuthbert describe the examination of the motor system *'in psychiatric disorders as a window into cognitive and emotional regulation processes'* and also identify its strength in reproducibility and objectivity.

The gait pattern is influenced by several factors. Both central and peripheral conditions play a role in the final gait product, which will be discussed further in the following.

Centrally, the generation of the gait pattern involves different brain loci. The decision to perform a certain movement originates in the prefrontal cortex, which activates the relevant cortex areas. The association cortex and limbic system are responsible for movement planning, in which the premotor and supplementary motor cortex are also involved. Basal ganglia and cerebellum represent control instances through which the movement plan is adapted and finally passed on via the thalamus to the primary motor cortex in particular. From there, the movement programme is transmitted to the brainstem and spinal cord in order to execute the planned movement (Aumüller et al., 2020; Pape, Kurtz and Silbernagl, 2019). For an overview see figure 3.

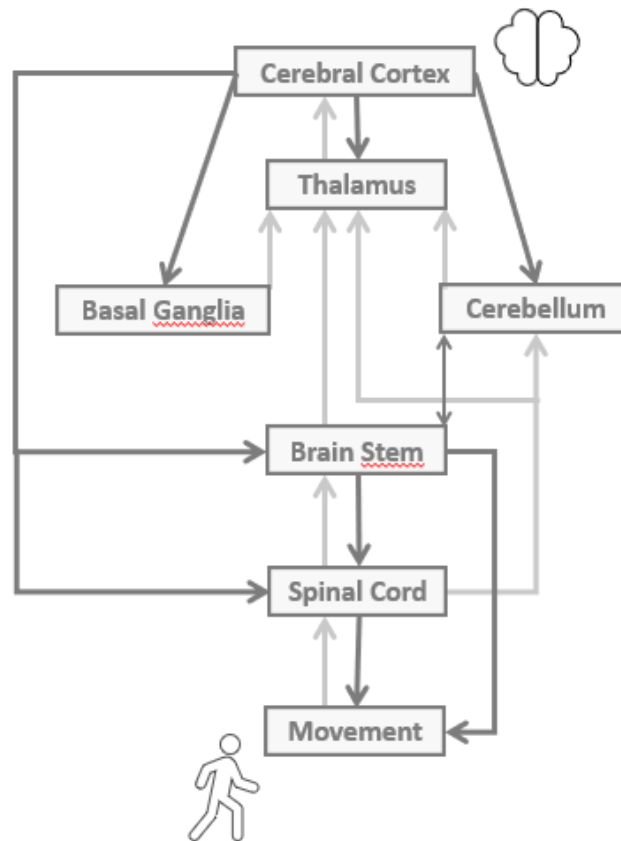


Figure 3: Overview of Generation of Gait

The arrows represent projections from one area brain area to another. The dark arrows represent projections that play a role in motor planning and execution, the light arrows depict feedback mechanisms. Adapted from Pape, Kurtz and Silbernagl, 2019.

Alterations of the gait pattern are known in various diseases. In the case of Parkinson's disease, a lower gait speed, shorter step length with a compensatory increase in cadence, a higher stride length variability and an asymmetrical stride time for both lower limbs can be observed (Blin, Ferrandez and Serratrice, 1990; del Olmo and Cudeiro, 2005). Pathophysiologically it appears that 'the degeneration of dopaminergic neurons of the substantia nigra pars compacta triggers a cascade of functional changes affecting the whole basal ganglia network' (Blandini *et al.*, 2000) including a dopamine deficiency in the basal ganglia respectively the striatum (Mattle and Mumenthaler, 2015). The alterations of the gait pattern are attributed to the changes in the basal ganglia circuit. It is assumed that alterations of the basal ganglia network also play a role in gait alterations in MDD (Bennabi *et al.*, 2013; Lemke *et al.*, 2000; Lohr, May and Caligiuri, 2013; Morris *et al.*, 1994, 1996). These alterations of the basal ganglia circuits in MDD may be due to dopaminergic dysfunction (Nestler and Carlezon, 2006; Sobin and Sackeim, 1997). 90% of the central dopaminergic cells are located in the mesencephalon and project to the basal

ganglia, limbic system and cortex (Chinta and Andersen, 2005). Decreased activity of the dopamine circuit is associated with anxiety, depression, alterations in psychomotor function, motivation and concentration (Dunlop and Nemeroff, 2007; Grace, 2016; Murck *et al.*, 2003; Weintraub *et al.*, 2005). Furthermore, it is hypothesised that MR function and dopaminergic circuits are interrelated. This assumption is based inter alia on the findings that angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors, which reduce MR activity, show dopaminergic effects in the basal ganglia network (Jenkins, 2008; Murck, Schüssler and Steiger, 2012). Thus, it can be presumed that cognitive and motor impairment are manifestations of alterations in MR function and dopamine circuits affecting the basal ganglia network. Overall, neuropathological analogies between MDD and Parkinson's disease (PD) are apparent. Consequently, overlaps in the clinical presentation of motor symptoms can be assumed (Lohr, May and Caligiuri, 2013).

Another neurological condition that manifests itself through motor symptoms is, as already mentioned, the normal pressure hydrocephalus. In patients with iNPH a more broad-based gait a lower gait speed, shorter stride length, increased cadence, increased stride time and stride length variability was detected (Lim *et al.*, 2019; Nikaido *et al.*, 2018; Selge *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2018). However, Souza *et al.* report a decreased cadence in patients with iNPH. The gait disturbance presents itself symmetrically (Mori, 2008). Changes in the basal ganglia as well as in the corpus callosum seem to be causative (Kang *et al.*, 2016; Miyamoto, Imahori and Mineura, 2007).

In MDD, slower gait speed and shorter stride length have already been demonstrated (Brandler *et al.*, 2012; Hausdorff *et al.*, 2004; Lemke *et al.*, 2000). Lemke *et al.* further relate alterations of cadence to gait speed, but not a generally reduced cadence. Moreover, an increased coefficient of variation (CV) of swing time seems to be associated with MDD (Hausdorff *et al.*, 2004; Radovanović *et al.*, 2014). Besides, depressed patients showed greater lateral swaying movements of the upper body (Michalak *et al.*, 2009), which also indicates a greater shift of the body's center of mass.

The neuroimaging-detectable white matter lesions (WML), alterations of the basal ganglia and ventricular volumes that occur in MDD also seem to play a major role in motor symptoms (Bennabi *et al.*, 2013; Murck and Luerweg *et al.*, 2020; Schlegel *et al.*, 1989; Walther *et al.*, 2012). Independently of depression, white matter lesions have been shown to be associated with gait instability in elderly (Bruijn *et al.*, 2014). In particular WML of the brain stem, corpus callosum

and further periventricular regions are associated with gait impairment (Bhadelia *et al.*, 2009; Moretti *et al.*, 2005; Srikanth *et al.*, 2010; Starr *et al.*, 2003). This supports the presumed relationship between the described diagnostic findings in MDD and motor symptoms.

Taken together, all three syndromes, PD, iNPH and MDD, show commonalities in both diagnostic and clinical presentation (see table 1), suggesting overlapping features within the central neuropathological genesis.

Besides the central generation of the gait, peripheral alterations also affect the latter. From the brainstem and cortex, tracts providing motor information descend via the spinal cord. In the anterior horn, these fibres project to motoneurons which pass over the anterior roots, then as peripheral nerves, to the musculature (Trepel and Dalkowski, 2017). For the conduction of stimuli, the membrane potential and its ability to change is of great importance. The membrane potential and thus also the conductivity depend on the electrolytes. Sodium and potassium play the major part here (Pape, Kurtz and Silbernagl, 2019). But also calcium and magnesium have an influence on peripheral nerve conduction (Mert *et al.*, 2003). Alterations within the electrolyte balance can therefore lead to conduction disturbances, which in turn influence locomotion (Arnold *et al.*, 2017; Kiernan *et al.*, 2002; Vandergheynst *et al.*, 2016).

Peripheral MR dysfunction can cause hyponatremia, hyperkalaemia and hypermagnesemia. Under chronic hyponatremia gait impairment was observed (Gankam Kengne *et al.*, 2008; Renneboog *et al.*, 2006; Vandergheynst *et al.*, 2016). In rats, '*larger alternating, lateral trunk movements*', shorter stride length and '*wider-based stance*' were described after induced hyponatremia (Fujisawa *et al.*, 2016). Chronic hyperkalaemia is an important factor in the genesis of neuropathy in chronic kidney disease. A low-potassium diet was found to be neuroprotective.

Beyond this, a low-potassium diet was able to improve gait speed in those patients (Arnold *et al.*, 2017). '*Magnesium can block synaptic transmission of nerve impulses*' and thereby has a neuromuscular toxic effect (Topf and Murray, 2003). Hypermagnesemia can cause gait disturbances (van Laecke, 2019). Randall R.E. *et al.* described '*an ataxic gait, and a tendency to fall sideways while standing erect*' under hypermagnesemia. To the best of our knowledge, more detailed analyses of gait in hypermagnesemia have not yet been carried out.

Electrolyte balance seems to influence nervous function and consequently gait. Disturbances of peripheral MR function, which effect electrolyte levels, might therefore correspond to gait

pattern. Accordingly, the gait pattern seems to reflect both central and peripheral MR function, which is why we will examine the gait pattern as a parameter for both peripheral MR dysfunction and central MR overactivity in our study.

Table 1: Overview of known alterations in gait in INPH, PD and MDD.

Reference is made to sources mentioned in this paper. The alterations mentioned in brackets are presumed findings based on previous studies, for which direct evidence is still lacking.

GAIT PARAMETER	INPH	PD	MDD
GAIT SPEED	↓	↓	↓
STEP LENGTH	↓	↓	↓
CADENCE	↓/↑	↑	(↓)
BILATERAL SYMMETRY	(↔)/↑	↓	(↓)
STRIDE TIME VARIABILITY	↑	↑	↑

1.4 Effect of Glycyrrhiza Glabra on MR Dysfunction

Several studies have been conducted to investigate the efficacy of pharmaceuticals with an effect on the aldosterone balance in depression. Targets include aldosterone release, peripheral MR and central MR. The medication tested mainly includes MR agonists, MR antagonists and ACE inhibitors.

ACE inhibitors (ACEI) seem to have a positive impact on mood (Boal *et al.*, 2016; Braszko *et al.*, 2003; Hertzman *et al.*, 2005). For instance, Luo *et al.* were able to show that lisinopril, an ACEI with high BBB permeability, has a faster onset and longer-lasting antidepressant effect than captopril, an ACEI with lower BBB permeability. However, they were unable to establish a link to central RAAS activity. Links to peripheral RAAS and MR activity were not investigated further.

Studies on MR as a target of pharmacological therapy show more inconsistent results. Otte *et al.* showed an improved speed in treatment response when fludrocortisone, an MR agonist, was added to escitalopram. However, this effect was only seen in responders. In contrast, no positive effect could be shown by additional therapy with the MR antagonist spironolactone. Holsboer even demonstrated an unfavourable effect of spironolactone as an additive to amitriptyline. Other studies, on the other hand, were able to show an anti-depressive effect (Wu *et al.*, 2013) or a reduction of stress-induced symptoms in patients with bipolar disorder (Jurueña and Gama

et al., 2009) through spironolactone administration. In the context of these studies, it was also observed that '*Patients with treatment-resistant depression had a reduction in the conversion of spironolactone to the active metabolite canrenone*' (Jurueña *et al.*, 2013). This may explain the divergent study results in that the treatment response to MR antagonists seems to be subtype-dependent.

One very novel approach in antidepressant therapy is the additional administration of an extract of *Glycyrrhiza glabra* (GG), a plant that is used medicinally. The active ingredient glycyrrhizin is extracted from its root and is better known as an ingredient of the candy 'liquorice' (Dastagir and Rizvi, 2016; Pastorino *et al.*, 2018). Many people are familiar with the frequently described blood pressure-increasing effect of excessive liquorice consumption (van Uum, 2005).

GG is an inhibitor of 11 β -HSD2. The enzyme 11 β -HSD2 catalyses the conversion of biologically active cortisol into its inactive metabolite cortisone (see figure 4). Thereby, non-selective MR are protected from binding cortisol and an aldosterone-specific effect is provided (Diaz, Brown and Seckl, 1998). Through the inhibition of this enzyme by GG, cortisol can bind to the MR (Edwards *et al.*, 1988), as a result of which the desensitised peripheral MRs might be activated (Murck and Lehr *et al.*, 2020). This activation manifests itself, inter alia, in an increase in blood pressure (Wu *et al.*, 1999) and alterations in the electrolyte balance (Epstein *et al.*, 1977). '*A feedback mechanism, via an MR-mediated inhibition of renin release, leads consequentially to a reduced aldosterone secretion [...]*' A positive effect of an additional GG administration to SSRI has been demonstrated compared to placebo (Cao *et al.*, 2020). We assume that additional GG administration in TRD with MR dysfunction could decrease aldosterone levels and central MR function via activation of peripheral MR and thus improve the outcome.

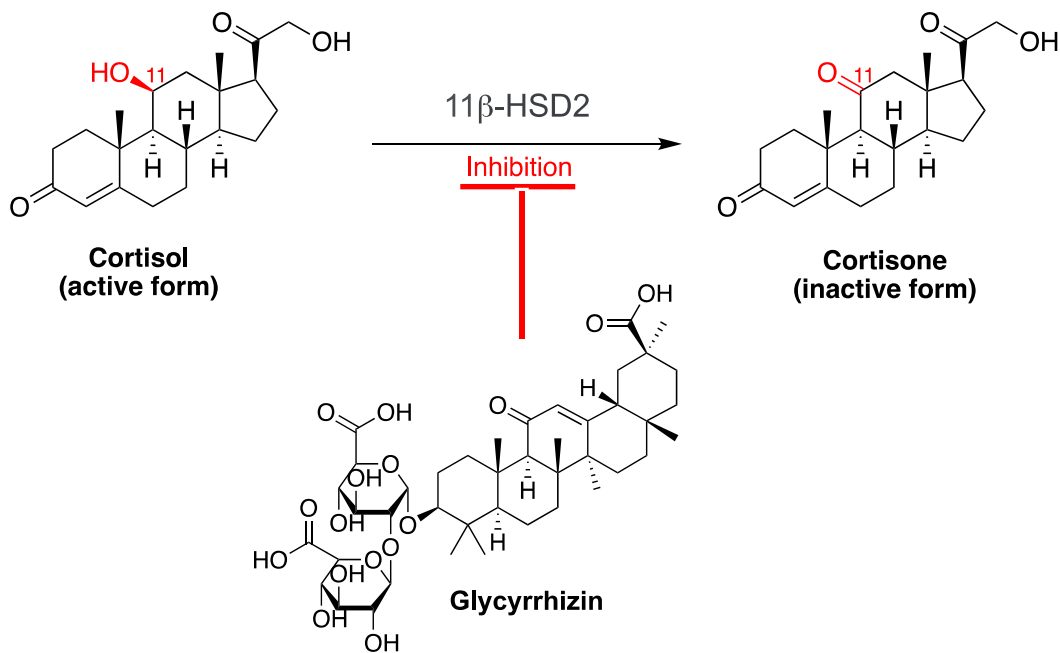


Figure 4: Action of Glycyrrhizin

Glycyrrhizin inhibits the 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11β-HSD2) which catalyses the conversion of biologically active cortisol into its inactive metabolite cortisone.

1.5 Hypothesis and Aim

MDD is a high prevalence disease (Miller and O'Callaghan, 2013) that causes severe limitations in everyday life (James *et al.*, 2018). Although it is a heterogeneous group of diseases, the number of known biomarkers is scarce (Braunisch, 2017; Murck, 2003). A personalised therapy is not yet possible (Holsboer, 2008; Miller and O'Callaghan, 2013).

In the context of this work, possible subtype-dependent biomarkers and further the effect of an additional administration of GG should be investigated. The following four hypotheses were formulated for this purpose:

Hypothesis one:

Background: Aldosterone stimulates CSF production. Due to the increasing amount of CSF, compression of the basal ganglia adjacent to the CSF spaces may result in general changes in gait (gait speed, step length, cadence, coefficient of variation, bilateral symmetry, vertical and lateral centre of mass displacement) and symptomatology similar to normal pressure hydrocephalus.

Explicit Hypothesis:

- a) Increased iNPH grading scale scores (Murck and Luerweg *et al.*, 2020; Nikaido *et al.*, 2018; Sosvorova *et al.*, 2015) correlate with severity and/or therapeutic response to standard therapy.
- b) A high score in the iNPHGS is also an expression of changes in the gait pattern, which are reflected in the gait analysis.
- c) Aldosterone is associated with alterations in gait, which are also reflected in higher iNPHGS scores. Additional GG administration may lead to a reversal of changes in gait pattern.

Hypothesis two:

In addition, aldosterone is an important regulator of the electrolyte balance. Especially K^+ and Mg^{2+} secretion as well as Na^+ uptake are regulated. Electrolytes are instrumental in maintaining the membrane potential of neurons and muscle cells. This suggests that aldosterone also has a peripheral effect on gait via electrolyte levels.

The second hypothesis states that changes in electrolyte levels caused by aldosterone lead to alterations in gait pattern and can be induced by GG.

Hypothesis three:

Low blood pressure and decreased HRV were found to be biomarkers of decreased peripheral MR activity and negative predictive for the outcome in depressed hospitalized patients (Büttner *et al.*, 2015). If a relationship between gait pattern and MR activity is shown, those changes are expected to be associated also with blood pressure and HRV.

GG sensitizes MR function (Murck and Lehr *et al.*, 2020). Thus, it can be assumed that the administration of GG also leads to a change in gait parameters, should these prove to be valid biomarkers.

Hypothesis four:

Central MR activity and higher salivary aldosterone-cortisol-ratios at baseline were found to be predictors of treatment refractoriness (Büttner *et al.*, 2015). With reference to hypothesis one to three, gait parameters and the iNPHGS could be predictive of therapy refractoriness in depression.

2. Methodology

2.1 Subjects

The current investigation involved 24 inpatients from the Department of Psychiatry and Psychotherapy, Philipps-University Marburg, Germany. All patients included had as main diagnosis a single major depressive episode (n=4; F32), a recurrent major depression (n=20; F33) or a dysthymia (n=0, F34.1) according to ICD-10. As secondary diagnosis five patients showed a dysthymia (F34.1), two a social phobia (F40.1), one a phobia not further classified (F40.0), one a somatoform disorder (F45.0), one an alcohol abuse (F10.1), one a nicotine dependence (F17.1), one a withdrawal syndrome of sedatives (F13), one an intoxication with not specified drugs (T50.9), one a specific personality disorder (F60.8) and one a gender identity disorder (F64.9). Schizophrenia, schizotypal disorder, delusional disorder, and psychotic disorder (F20.21) as well as lack of German language skills, previous gait disturbances and severe neurological or internal diseases served as exclusion criteria.

Subjects were divided into two groups. 12 subjects were recruited for an ongoing observational study and were treated with standard antidepressant treatment according to the German guideline (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde, 2015). The other 12 patients received within an open-label study GG additionally to standard antidepressant treatment. All subjects, who took part in the studies were informed verbally and in writing and signed an informed consent before entering the study. The ethics committee of the Philipps-University of Marburg approved both studies.

Four subjects provided insufficient data since one subject was discharged after the first visit. For three patients the examination of the gait was not possible at visit one or two. Four other subjects dropped out after the second visit. Since a small group of 16 subjects completed all three visits, the main emphasis was put on examination 1 (baseline) and 2 (week 2) In total data of 24 patients, 12 treated as usual and 12 treated with GG additionally, were evaluated.

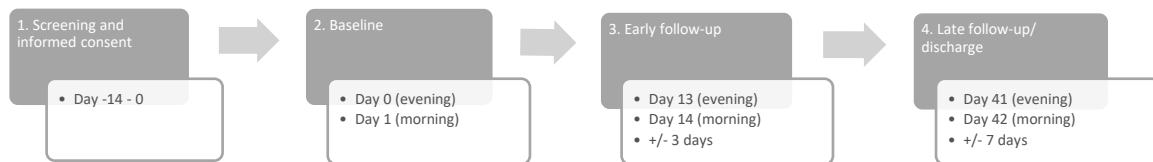


Figure 5: Timeline

2.2 Study Conduct

Both studies were conducted for six weeks. As pre-defined, patients were examined at a screening visit, at baseline (visit 1), Week 2 (visit 2) and week 6 (visit 3). The screening took place at the earliest 14 days before baseline; the early follow-up examination two weeks \pm three days and a late follow-up six weeks \pm seven days after baseline (see figure 5). In case of earlier discharge, the last examination was brought forward. The studies were designed either as a non-interventional follow-up study or an open-label treatment study. The treatment with GG started one day after baseline examination. A capsule of *Glycyrrhiza glabra* (GG, Gall Pharma, Judenburg, Austria) extract contains 7-8 % glycyrrhizin. Subjects received two capsules of 350 mg each in the morning and in the evening to retain a daily dose of 98 - 112 mg. To counteract increased magnesium excretion and improve long term tolerability 200 mg magnesium citrate was ingested twice daily in addition (Murck and Lehr *et al.*, 2020).

After review of inclusion and exclusion criteria, a detailed medical education and consent, the first visit took place. Medical history including pre-existing conditions, family history, course of depression, and onset of current episode was taken, and sociodemographic data was raised. Before every examination, the inclusion and exclusion criteria were checked again, and the current medication was recorded.

Clinical ratings were performed in the evening between 4 and 8 pm after which a sleep monitoring was installed for the night. The next morning right after awakening, saliva samples

were collected, and neurophysiological tests took place. The tests involved measurement of respiratory sinus arrhythmia (heart rate variability due to respiration), blood pressure and gait analysis. Besides, the subjects received the scale of Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS) and the Becks-Depression-Inventory as self-rating questionnaires to fill them in right after the examinations (Büttner *et al.*, 2015). Furthermore, blood samples were taken between 7:15 and 10 am. Subjects had to lie in supine position for 30 minutes before blood sampling to avoid false high values of renin (Hirohara *et al.*, 2001). The GG subjects further had blood drawn weekly between the examinations to monitor electrolytes.

Adverse events, blood pressure and electrolytes were monitored once a week. If patients reported new-onset symptoms, tighter controls were carried out and the dose was reduced until symptoms were resolved. Depending on the reported adverse events, the magnesium or GG dose was reduced first. If diarrhoea occurred, the magnesium dose was first reduced to 200 mg/day, then to 100 mg/day. In case of changes in electrolyte balance (values outside the reference range) or sharp increase in blood pressure, the GG dose was reduced. Here, the 2018 ESC guidelines were consulted as well: Values up to 130/85 mmHg were considered normal. (Williams *et al.*, 2018) In patients with higher blood pressure values at baseline, an increase above 10 mmHg was considered an adverse effect. If adverse effects persisted despite dose reduction, both substrates were discontinued. For an overview of the examinations please see table 2.

Table 2: Overview of the Examinations of Subjects

The screening, baseline and follow-up examinations took place for both groups. In addition, weekly blood samples are taken, and blood pressure was measured. Abbreviations: Hamilton Depression Rating Scale (HDRS-21), Global Assessment of Functioning (GAF), Clinical Global Impression (CGI), idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale (iNPHGS), electroencephalography (EEG), blood pressure (BP), heart rate (HR), heart rate variability (HRV), Quick Inventory of Depressive Symptomatology, self-rating (QIDS-SR-16), Beck Depression Inventory (BDI)

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8
EXAMINATIONS	Screening	Baseline	Early follow-up			Late follow-up		
Study Day	-14-0	0	7 +/- 1	14 +/- 3	21 +/-1	28 +/-1	35 +/-1	42 +/-7
Diagnosis Confirmation	X	X		X				X
Medical History	X							
Sociodemographic Features	X							
Medication	X	X		X				X
Weight		X		X				X
HDRS-21, GAF, CGI		X		X				X
INPHGS		X		X				X
Sleep EEG Device		X		X				X
Saliva Sample		X		X				X
BP, HR		X	X	X	X	X	X	X
HRV		X		X				X
Gait Analysis		X		X				X
QIDS-SR-16, BDI		X		X				X
Blood Sample		X	X	X	X	X	X	X

2.3 Collected Parameter

2.3.1 Saliva Sample

The saliva sample for hormone measurement was obtained by means of Salivette® (Sartstedt, Nümbrecht, Germany) between 6:45 and 7:15 am. Right after awakening and before getting up, subjects had to chew on three Salivettes® Cortisol samplers to gain enough saliva for measurements. ‘Samples were frozen at –20°C up to two weeks and then at –80°C until shipment by mail to the Institute of Experimental Endocrinology (Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia) for analysis. Saliva cortisol concentrations were analyzed using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (IBL International, Hamburg, Germany). Salivary aldosterone concentrations were measured by a modified methodology [(Jezova and Hlavacova,

2008)] using a commercial radioimmunoassay kit (Immunotech, Prague, Czech Republic). To get usable results, saliva was concentrated three times.' (Murck and Lehr et al., 2020). Since levels of aldosterone and cortisol depend strongly on the time of the day and the body position, no physiological reference values existed of the laboratory.

2.3.2 Gait Analysis

The examination of the gait pattern was performed with the application GaitAnalysisPro® (YTA K.K., © 2014 Wataru Yasuda, Japan) linked to a smartphone (iPhone 5). The analysis was performed in the morning after completion of the examinations in supine position. The smartphone was fixed with the help of a strap on the lower back at the level of the third lumbar vertebrae. Patients walked up and down a standardized route for one minute. After determining the walking distance in meters with a tape measure and entering it into the application, calculated these the gait speed, cadence, step length, coefficient of variation (CV), bilateral symmetry, vertical and lateral centre of mass displacement. The gait speed was specified in metres per minute, the cadence in number of steps per minute and the step length in centimetres. Furthermore, the following calculations were performed through the application: *'[To determine the coefficient of variation, the stride time was calculated based on the] change in acceleration due to the heel contact while walking. From this the average and standard deviation of all the gait cycle time obtained and [...] the coefficient of variation (=standard deviation / average value) is calculated. Theoretically if the gait cycle were perfectly matched, the coefficient will be "0". [To define bilateral symmetry] auto-correlation is calculated by cyclic trajectory derived from the second-order integration of anterior-posterior accretion. Bilateral asymmetry is indicated as the ratio of the mean of the 1st and the 3rd peaks to the 2nd peak of auto-correlation. [A] small value indicates larger asymmetry. The value larger than 1 indicates that variability between left and right steps is smaller than that among the same. The COM [centre of mass] trajectory is calculated by the second-order integration of acceleration. [...] The time [was normalized] so that one walking cycle is 100 points. Then, [...] [the] average of trajectory from all the cycles [was obtained] [...]. The vertical and lateral COM displacement indicates the maximum vertical width and maximum lateral width [in centimetres] [...].'* (<https://sites.google.com/site/gaitanalysisenglish/home>, 2021).

2.3.3 Heart Rate Variability and Blood Pressure

Heart rate variability was assessed based on respiratory sinus arrhythmia by *'[...] an easy to use smartphone app [...] connected to two ECG electrodes (iThlete®, HRV Fit Ltd, Hampshire, United Kingdom) [...]. The measurement took place [...] after awakening [and taking the saliva sample]. Heart rate variability was measured twice during a 55 s test interval each. Patients followed the breathing cadence of 7.5 breaths per minute displayed by a lung animation on the smartphone screen. Calculations performed within the iThlete app are based on the time domain HRV index, which is the root mean square of successive R-R-intervals (RMSSD). This measure does not appear to be influenced by breathing rates, unlike spectral indices, making it more suitable for quick clinical use (Penttilä et al., 2001). The RMSSD is respiratory sinus arrhythmia mediated and reflects parasympathetic cardiovascular modulation (Massin, Derkenne and Bernuth, 1999). Its values were automatically modified by taking the natural log transformation and multiplying it by twenty to provide a more intuitive value on a roughly 100 point scale (Flatt and Esco, 2013). External technical validation against standard ECG measures demonstrated satisfactory results. ($r \approx 0.99, p < 0.001$) (Flatt and Esco, 2013).'* (Büttner et al., 2015). After testing twice, the average of both measurements was taken for further data analysis.

An automatic blood pressure cuff (Omron M5 Professional™, Omron Medizintechnik, Mannheim, Germany) was used to measure blood pressure in the morning after awakening. Hypotensive blood pressure was defined by systolic values lower than 100 mmHg, hypertensive blood pressure at values higher than 139 mmHg.

2.3.4 Plasma Parameters

During the three visits with examination, the electrolytes sodium, potassium and magnesium as well as renin and CRP were determined in all patients. In the GG group, blood samples were also taken in the weeks in between to monitor the electrolytes and to detect adverse events.

The analyses were carried out by the Institute of Laboratory Medicine of the Philipps University of Marburg. *'Plasma Na⁺ and K⁺ levels were measured using specific ionic selective electrodes. Mg²⁺ was measured photometrically at 520 nm after complexation with calmagite (3-hydroxy-4-[(2-hydroxy-5-methylphenyl)azo]-1-naphthalenesulfonic acid).'* (Murck and Lehr et al., 2020). Plasma renin levels were determined by chemiluminescence immunoassay. CRP was measured by using a latex-immunturbidimetry.

The Laboratory 'quoted the physiological range of the mentioned electrolytes as follows: Mg²⁺ 0.65 – 1.05 mmol/l, Na⁺ 135.0 – 145.0 mmol/l and K⁺ 3.4 – 4.5 mmol/l.' (Braunisch, 2017). The reference values for renin have been 3.6 – 20.1 pg/ml for patients up to 40 years of age and 1.1 – 20.2 pg/ml for patients over 40 years of age. A limit value of 5 mg/l was specified for CRP.

2.3.5 Clinical Rating Scales

Conventional scales were used to objectify the symptoms of depression. To determine the severity the Hamilton Depression Rating Scale with 21 items (HRDS-21) was used. The Global Assessment of Functioning (GAF) was utilized to determine the general level of functioning. Moreover, the Clinical Global Impression (CGI) was raised for course assessment. These three scales were assessed in the evening.

In addition, the Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS-SR-16) and Beck Depression Inventory (BDI) were used as self-report scales. Patients completed these in the morning after the examinations. The QIDS-SR is particularly useful for dividing patients into clinical subgroups. Analogous to Murck (Murck *et al.*, 2005) and Braunisch (Braunisch, 2017), three subtypes were distinguished in order to elicit possible correlations with biological characteristics: '*[The classification was made,] [...] i.e. [into] melancholic, atypical or non-vegetative depression, according to their QIDS-SR-16 score at baseline. The vegetative features were: early morning awakening versus hypersomnia (item no. 3 and 4), loss of appetite versus increased appetite (item no. 6 or 7) and weight loss versus gain (item no. 8 or 9). In each of these three items zero to three points could be reached. The categorization followed the following steps: in a first step patients with vegetative melancholic features were identified. This was the case if at least one of the QIDS-SR-16 items had a value of ≥ 2 in: either 1) item no. 3, waking up too early; 2) item no. 6, decreased appetite; or 3) item no. 8, weight loss. In a second step depression with atypical features was identified. This was the case if at least one item had a value ≥ 2 in: either 1) item no. 4, sleeping too much; 2) item no. 7, increased appetite; or 3) item no. 9, weight gain. If patients didn't meet neither the criteria for melancholic nor atypical depression they were categorized as patients with non-vegetative depression.*' (Braunisch, 2017). As widely used self-assessment scale, the BDI is used to evaluate the severity of depressive symptomatology.

A symptomatology of normal pressure hydrocephalus was investigated. For this purpose, the idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale (iNPHGS) was used (see table 4).

Cognitive impairment, gait disturbance and urinary disturbance were inquired. ‘The scores are based on observations by the physician and interviews with the patient [...]. The score of each domain ranges from 0 to 4, with higher scores indicating worse symptoms.’ (Kubo et al., 2008).

All clinical ratings were performed by the same rater (L.L.) to avoid inter-rater variability. She was thoroughly instructed and trained before the start of the study.

Table 3: iNPH Grading Scale by Kubo et al., 2008

Grade	Definition
<i>Cognitive impairment</i>	
0	normal
1	complaints of amnesia or inattention but no objective memory and attentional impairment
2	existence of amnesia or inattention but no disorientation of time and place
3	existence of disorientation of time and place but conversation is possible
4	disorientation for the situation or meaningful conversation impossible
<i>Gait disturbance</i>	
0	normal
1	complaints of dizziness of drift and dysbasia but no objective gait disturbance
2	unstable but independent gait
3	walking with any support
4	walking not possible
<i>Urinary disturbance</i>	
0	normal
1	pollakiuria or urinary urgency
2	occasional urinary incontinence (1–3 or more times per week but less than once per day)
3	continuous urinary incontinence (1 or more times per day)
4	bladder function is almost or completely deficient

2.3.6 Statistical Analysis

Primary objective of the study was to investigate changes in gait as an aldosterone-dependent biomarker in patients with depression. Secondly, the effect of GG administration on gait and early response was studied. GG administration was defined as factor.

All data analysis was performed using Statistical Package for the Social Sciences® 21 (SPSS®). A two-sided significance level of $p \leq .05$ was considered significant in the statistical analysis. At a significance level of $p \leq 0.10$ defined trend level significances, which are also mentioned. Independent-samples t-tests were used to compare the baseline characteristics of both groups. Pearson's correlation coefficient (PCC) was used to evaluate the correlation between clinical

presentation and biomarkers. For further analyses, the general linear model with repeated measures was used. For this purpose, the study group (GG vs. TAU) represented the between-subjects factor and the time of measurement (baseline vs. early follow-up or late follow-up) the within-subjects factor in order to describe the potential effect of GG. Since gender-specific differences in the regulation of the HPA axis and the RAAS as well as in depression are described in the literature (Apostolopoulou *et al.*, 2014; Künzel *et al.*, 2012; ter Heegde, Rijk and Vinkers, 2015), gender was included as a covariate in the general linear model in calculations of clinical parameters.

An equal distribution regarding gender and subtype was evaluated with chi-square test. To screen for variations in medication intake, the Mann/Whitney-U-Test was performed.

'The relative change of the [...] [HDRS]-21 from baseline (R- [...] [HDRS]-21) was expressed as a ratio of the [...] [HDRS]-21 at week 2 divided to the baseline [...] [HDRS]-21. For example, a 20% increase would lead to a factor of 1.2, a 20 % reduction to a factor of 0.8. [On the one hand,] This number was then correlated with the baseline parameters.' (Murck and Lehr *et al.*, 2020).

To evaluate changes in aldosterone levels, patients were divided into three groups to differentiate between increasing, constant, and decreasing aldosterone levels. *'A stable aldosterone concentration was assumed when its value stayed in a $\pm 10\%$ range compared to baseline. Below 90% a 'reduction' and above 110% an 'increase' compared to baseline was assumed.'* (Braunisch, 2017).

To determine the relative change of biomarkers, the same procedure was used as for the calculation of the relative change of HDRS-21. For the relative change until early follow-up, the value of week two was divided by its value at baseline. The value of week six was used for late follow-up. Furthermore, the supplementary GG trial was intended to be purely exploratory as part of a pilot study. Therefore, a calculation of sample size was not performed.

3. Results

3.1 Descriptive Data

3.1.1 Patient Characteristics

Reference is made here to all 24 subjects who participated in the study. Table 5 provides an overview of the patient characteristics in total and divided according to adjunct therapy with GG and TAU.

With a BMI of 29.39 ± 7.01 kg/m² (mean \pm standard deviation), the entire group appeared slightly overweight. The group with additional GG therapy included 5 women and 7 men; group with TAU included 4 women and 8 men. There was no significant difference in terms of BMI ($p = 0.7$) and gender ($p = 0.67$) distribution between the two groups.

TAU patients had a mean age of 42.25 ± 15.11 years. GG patients had a mean age of 37.33 ± 10.92 years ($p = 0.37$). Age at onset was 33.00 ± 13.58 years among the TAU patients and 27.33 ± 9.97 years among the GG patients ($p = 0.26$). At baseline, the current episode lasted 23.00 ± 15.66 weeks in TAU patients and 25.08 ± 16.8 weeks in GG patients ($p = 0.76$). Regarding these parameters, there was no significant difference between the two groups. A higher number of episodes was seen in the GG group, which, however, did not prove to be significant ($p = 0.11$).

Overall, mean HDRS-21 score was 27.38 ± 6.83 at baseline, 23.63 ± 8.91 at early follow-up and 19.81 ± 9.52 at late follow-up. Among the GG patients it amounted to 26.5 ± 5.45 ($n = 12$) at baseline, 20.17 ± 8.27 at early follow-up ($n = 12$) and 19.29 ± 7.16 at late follow-up ($n = 7$); among subjects with TAU 28.25 ± 8.13 at baseline ($n = 12$), 27.08 ± 8.47 at early follow-up ($n = 12$) and 20.22 ± 11.44 at late follow-up ($n = 9$). The results regarding the GAF, BDI and QIDS-SR-16 can be seen in Table 5. None of the four clinical ratings showed a significant difference between the treatment groups at baseline. Clinical changes will be discussed in section 3.5.

Within all patients, 29.2 % showed an early response, which was considered as a reduction of $\geq 20\%$ in HDRS-21 from baseline to early follow-up. Among patients with additional GG therapy, it was 41.7 %, and for those with TAU, it was 25 % ($p = 0.19$).

In total 54.2 % were classified with melancholic, 20.8 % with atypical and 25.0 % with non-vegetative depression. In the study group with adjunct GG therapy 41.7 % showed a melancholic, 33.3 % an atypical and 25.0 % a non-vegetative depression. Among patients with

TAU, 66.7 % manifested as melancholic, 8.3 % atypical and 25.0 % non-vegetative depression. The distribution of subtypes between the two groups showed no significant difference ($p = 0.29$).

All study patients were examined at early follow-up. In the GG group, there were 5 dropouts by late follow-up due to discharge for clinical improvement. Within the TAU group, 3 subjects were discharged before late follow-up. On account of the high dropout rate within the GG group, the results for late follow-up are not reliable and can therefore only be interpreted to a limited extent.

Table 4: Patient Characteristics

Values are shown separately for the GG (*Glycyrrhiza glabra*) and TAU (treatment as usual) group and both groups taken together (all). SD = Standard deviation; p-value = significance level with respect to the group differences at baseline, respectively the difference of change from baseline to follow-up between the two groups: for Baseline t-tests and for changes from Baseline to follow-up repeated measurement ANOVA were performed with gender being included as between subject factor.

	GG			TAU			ALL			
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	p-value
AGE (YEARS)	12	37.33	10.92	12	42.25	15.11	24	39.79	13.14	p = 0.37
AGE AT ONSET (YEARS)	12	27.33	9.97	12	33.00	13.58	24	30.17	12.00	p = 0.26
BODY MASS INDEX	12	29.97	7.72	12	28.81	6.52	24	29.39	7.01	p = 0.7
NUMBER OF EPISODES	12	7.42	8.06	11	3.09	23.00	23	5.35	6.45	p = 0.11
DURATION CURRENT EPISODE (WEEKS)	12	25.08	16.8	12	23.00	15.66	24	24.04	15.92	p = 0.76
DEPRESSION SCORES										
HDRS-21										
• BASELINE	12	26.50	5.45	12	28.25	8.13	24	27.38	6.83	p < 0.05 p = 0.691
• EARLY FOLLOW-UP	12	20.17	8.27	12	27.08	8.47	24	23.63	8.91	
• LATE FOLLOW-UP	7	19.29	7.16	9	20.22	11.44	16	19.81	9.52	
GAF										
• BASELINE	12	47.41	8.85	12	48.75	12.08	24	48.08	10.38	p < 0.01 p = 0.817
• EARLY FOLLOW-UP	12	57.5	16.73	10	45.70	10.56	22	52.14	15.19	
• LATE FOLLOW-UP	6	57.83	16.77	9	58.56	19.02	15	58.27	17.53	
QIDS-SR-16										
• BASELINE	12	16.42	5.05	12	14.92	4.72	24	15.67	4.84	p = 0.143 p = 0.494
• EARLY FOLLOW-UP	9	12.44	8.96	9	14.80	4.57	19	13.68	6.9	
• LATE FOLLOW-UP	6	14.83	6.21	8	13.50	6.95	14	14.07	6.43	
BDI										
• BASELINE	12	25.0	7.99	12	24.08	10.73	24	24.54	9.26	p = 0.388 p = 0.758
• EARLY FOLLOW-UP	9	19.22	15.13	10	25.80	10.99	19	22.68	13.17	
• LATE FOLLOW-UP	6	25.0	13.28	8	20.13	12.79	14	22.21	12.74	
GENDER										
GENDER FEMALE/MALE	5/7			4/8			9/15			p = 0.67
SUBTYPE										
• MELANCHOLIC	5	41.7		8	66.7		13	54.2		p = 0.29
• ATYPICAL	4	33.3		1	8.3		5	20.8		
• NON-VEGETATIVE	3	25.0		3	25.0		6	25.0		
HRDS-21: EARLY RESPONSE	5	41.7		3	25.0		8	33.3		p = 0.19

3.1.2 Biomarker Parameter Characteristics

Among all patients, baseline showed a gait speed of 49.79 ± 9.12 metres per minute, an average stride length of 42.11 ± 10.47 centimetres and cadence of 118.94 ± 11.2 steps per minute. The mean coefficient of variation was 0.245 ± 0.06 . The average value of bilateral symmetry was 0.867 ± 0.23 and lateral COMD was 0.457 ± 0.3 . Regarding the gait parameters, between both groups the only significant differences by trend at baseline were in iNPHGS ($p < 0.1$) and vertical COMD ($p < 0.1$). Patients with the additional GG therapy showed a mean iNPHGS of 3.0 ± 1.48 , while those with TAU showed a mean of 2.0 ± 1.05 . The mean value for the vertical COMD amounted to 1.66 ± 0.64 for the GG patients and 1.06 ± 0.52 for the TAU patients. There were no significant baseline differences in gait speed ($p = 0.94$), step length ($p = 0.72$), cadence ($p = 0.47$), coefficient of variation ($p = 0.22$), bilateral symmetry ($p = 0.84$) and lateral COMD ($p = 0.92$).

At baseline, there was a significant difference ($p < 0.05$) in aldosterone levels. The mean value for subjects with additional GG therapy was 14.28 ± 11.75 ; for subjects with TAU 37.88 ± 15.23 . Among patients with TAU, one outlier showed a particularly high aldosterone level of 74.6 pg/ml. However, even after exclusion of this patient, there remained a significant difference ($p < 0.05$) in aldosterone levels between the two groups. The aldosterone value of the outlier was outside the first quartile ± 1.5 * interquartile range. Since the patient was not an extreme outlier and the significant difference to baseline was not caused by him, the patient was included for further calculations. GG patients had a mean cortisol level of 4.23 ± 2.17 and aldosterone-cortisol ratio of 4.3 ± 4.18 ; TAU patients had a mean cortisol level of 3.04 ± 2.07 and aldosterone-cortisol ratio of 51.92 ± 125.88 . There was a significant difference in the aldosterone-cortisol ratio ($p < 0.01$), but not in the cortisol level ($p = 0.19$). At baseline, the TAU group showed an extreme outlier with a renin value outside the first quartile ± 3 * interquartile range, so the patient was excluded for the calculations with renin at baseline. GG patients showed a mean renin level of 19.14 ± 9.01 ; TAU patients 12.22 ± 11.29 . No significant difference was seen between the two groups ($p = 0.208$).

Regarding the electrolytes, no significant difference could be found in sodium ($p = 0.24$) and potassium levels ($p = 0.76$) and sodium-potassium ratio ($p = 0.97$). The mean value for sodium was 139.58 ± 2.38 , for potassium 3.74 ± 0.26 and for the sodium-potassium ratio 37.50 ± 3.08 . The magnesium value at baseline showed a significant difference with a mean of 0.83 ± 0.05 for the GG patients and a mean of 0.89 ± 0.08 for the TAU patients ($p < 0.05$).

Mean systolic blood pressure was 119.42 ± 13.22 , diastolic 74.0 ± 11.65 . Heart rate variability averaged 69.65 ± 14.18 points on the 100-point scale. There were no significant differences between the two groups in HRV ($p = 0.83$), systolic ($p = 0.65$) and diastolic ($p = 0.81$) blood pressure. Further information can be obtained from tables 6 and 7.

Table 5: Biomarker Parameter Characteristics: Saliva and Blood Values

Abbreviations: N = Number of Patients; Mdn = median; SD= Standard deviation; p-value = significance level with respect to the group differences for the change from Baseline to the follow-ups ANOVA was performed; Ald/Cort Ratio = Aldosterone-Cortisol-Ratio; Na⁺/K⁺ Ratio = Sodium-Potassium-Ratio; CRP = C-reactive Protein; * = significant difference between both groups. Note on calculations including baseline renin: In the TAU and the total group, an extreme outlier was excluded in the calculations

	GG			TAU			ALL			
	N	Mdn	Mean ± SD	N	Mdn	Mean ± SD	N	Mdn	Mean ± SD	p-value
HORMONES										
ALDOSTERONE (pg/ml)										
• BASELINE	12	12.05	14.28 ± 11.75	12	37.75	37.88 ± 15.23	24	27.80	26.08 ± 17.95*	p = 0.135 p < 0.1
• EARLY FOLLOW-UP	12	14.25	15.58 ± 7.65	10	32.50	31.71 ± 10.32	22	21.45	22.91 ± 12	
• LATE FOLLOW-UP	7	15.80	13.60 ± 7.46	9	31.10	31.01 ± 11.26	16	24.80	23.39 ± 13.02	
CORTISOL (ng/ml)										
• BASELINE	12	3.50	4.23 ± 2.17	12	2.65	3.04 ± 2.07	24	3.20	3.63 ± 2.16	p = 0.906 p = 0.564
• EARLY FOLLOW-UP	12	5.05	5.38 ± 3.09	10	3.40	4.59 ± 3.61	22	3.95	5.02 ± 3.28	
• LATE FOLLOW-UP	7	4.40	5.01 ± 2.02	9	2.60	3.0 ± 1.05	16	3.45	3.88 ± 1.81	
ALD/CORT RATIO										
• BASELINE	12	2.69	4.3 ± 4.18	12	14.51	51.92 ± 125.9	24	8.04	28.11 ± 90.44	p = 0.247 p = 0.373
• EARLY FOLLOW-UP	12	2.41	4.41 ± 4.56	10	10.45	10.26 ± 6.7	22	5.22	7.07 ± 6.24	
• LATE FOLLOW-UP	7	2.40	2.99 ± 2.11	9	13.19	11.93 ± 5.57	16	6.83	8.02 ± 6.27	
RENIN (pg/ml)										
• BASELINE	11	17.90	19.14 ± 9.01	6	10.90	12.22 ± 11.29	17	15.80	16.98 ± 9.95	p = 0.336 p = 0.587
• EARLY FOLLOW-UP	7	18.70	13.49 ± 8.79	7	15.10	26.74 ± 28.59	14	16.45	20.11 ± 21.45	
• LATE FOLLOW-UP	5	30.10	25.86 ± 11.09	4	16.05	15.70 ± 9.50	9	26.90	21.34 ± 11.14	
		N	%		N	%		N	%	
EARLY CHANGE IN ALD										
• DECREASE		4	33.3		5	50.0		9	40.9	p = 0.15
• CONSTANT		1	8.3		3	30.0		4	18.2	
• INCREASE		7	58.3		2	20.0		9	40.9	
ELECTROLYTES										
MAGNESIUM										
• BASELINE	12	0.80	0.83 ± 0.05	12	0.90	0.89 ± 0.08	24	0.85	0.86 ± 0.07*	p = 0.288 p = 0.859
• EARLY FOLLOW-UP	12	0.90	0.98 ± 0.45	10	0.85	0.88 ± 0.09	22	0.9	0.94 ± 0.34	
• LATE FOLLOW-UP	6	0.85	0.85 ± 0.11	9	0.90	0.87 ± 0.07	15	0.9	0.86 ± 0.83	
SODIUM										
• BASELINE	12	138.5	139.0 ± 1.81	12	139.0	140.17 ± 2.79	24	139.0	139.58 ± 2.38	p = 0.981 p = 0.367
• EARLY FOLLOW-UP	12	138.5	138.92 ± 1.88	10	140.0	140.10 ± 1.97	22	139.5	139.46 ± 1.97	
• LATE FOLLOW-UP	6	139.0	139.33 ± 1.97	9	139.0	139.11 ± 2.15	15	139.0	139.20 ± 1.97	
POTASSIUM										
• BASELINE	12	3.70	3.73 ± 0.28	12	37.08	3.76 ± 0.25	24	3.70	3.74 ± 0.26	p = 0.866 p < 0.05
• EARLY FOLLOW-UP	12	3.70	3.66 ± 0.29	10	36.84	3.69 ± 0.33	22	3.75	3.67 ± 0.30	
• LATE FOLLOW-UP	6	3.40	3.37 ± 0.27	9	36.15	3.74 ± 0.32	15	3.50	3.59 ± 0.35	
NA⁺/K⁺ RATIO										
• BASELINE	12	37.84	37.53 ± 3.16	12	37.08	37.48 ± 3.14	24	37.70	37.50 ± 3.08	p = 0.915 p < 0.05
• EARLY FOLLOW-UP	12	37.30	38.22 ± 3.41	10	36.84	38.26 ± 3.68	22	37.07	38.24 ± 3.45	
• LATE FOLLOW-UP	6	41.03	41.61 ± 3.52	9	36.15	37.41 ± 3.56	15	39.14	39.09 ± 4.02	

Table 6: Biomarker Parameter Characteristics: Gait and Cardiovascular System

Abbreviations: N = Number of Patients; Mdn = median; SD= Standard deviation; p-value = significance level with respect to the group differences, for the change from Baseline to the follow-ups ANOVA was performed; iNPHGS = idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale; COMD = center of mass displacement; BP = blood pressure; HRV = heart rate variability; * = difference by trend between both groups

GAIT PARAMETER	GG			TAU			ALL			p-value
	N	Mdn	Mean ± SD	N	Mdn	Mean ± SD	N	Mdn	Mean ± SD	
iNPHGS										
• BASELINE	12	3.0	3.0 ± 1.48	10	2.0	2.0 ± 1.05	22	2.0	2.55 ± 1.37*	
• EARLY FOLLOW-UP	12	2.0	2.17 ± 1.7	10	3.0	3.0 ± 1.56	22	3.0	2.55 ± 1.65	p < 0.01
• LATE FOLLOW-UP	6	2.5	2.50 ± 1.05	9	2.0	2.22 ± 1.56	15	2.0	2.33 ± 1.35	p = 0.301
GAIT SPEED										
• BASELINE	11	54.0	49.64 ± 9.44	10	49.25	49.95 ± 9.26	21	50.0	49.79 ± 9.12	
• EARLY FOLLOW-UP	11	50.0	50.18 ± 9.47	10	52.50	53.90 ± 5.45	21	51.0	51.95 ± 7.86	p = 0.464
• LATE FOLLOW-UP	6	53.5	53.0 ± 8.0	9	57.0	58.61 ± 8.98	15	54.0	56.37 ± 8.78	p < 0.05
STEP LENGTH										
• BASELINE	11	46.40	42.94 ± 10.05	10	39.05	41.20 ± 11.39	21	41.7	42.11 ± 10.47	
• EARLY FOLLOW-UP	11	46.0	43.45 ± 9.61	10	46.20	45.27 ± 7.30	21	46.0	44.31 ± 8.43	p = 0.535
• LATE FOLLOW-UP	6	46.60	46.77 ± 6.41	8	47.95	50.83 ± 10.50	14	47.2	49.09 ± 8.92	p < 0.1
CADENCE										
• BASELINE	11	114.0	117.21 ± 9.11	10	118.75	120.84 ± 13.38	21	115.3	118.94 ± 11.2	
• EARLY FOLLOW-UP	11	114.60	117.10 ± 10.17	10	122.15	120.51 ± 11.14	21	115.6	118.72 ± 10.52	p = 0.848
• LATE FOLLOW-UP	6	113.0	113.32 ± 6.04	8	116.90	116.75 ± 8.68	14	114.7	115.28 ± 7.59	p = 0.528
COEFFICIENT OF VARIATION										
• BASELINE	11	0.217	0.229 ± 0.070	10	0.263	0.262 ± 0.043	21	0.257	0.245 ± 0.06	
• EARLY FOLLOW-UP	11	0.216	0.214 ± 0.058	10	0.282	0.255 ± 0.065	21	0.246	0.234 ± 0.064	p = 0.844
• LATE FOLLOW-UP	6	0.207	0.207 ± 0.062	8	0.284	0.248 ± 0.073	14	0.252	0.230 ± 0.693	p = 0.618
BILATERAL SYMMETRY										
• BASELINE	11	0.867	0.877 ± 0.14	10	0.918	0.856 ± 0.31	21	0.90	0.867 ± 0.23	
• EARLY FOLLOW-UP	11	0.821	0.786 ± 0.27	10	0.958	0.935 ± 0.08	21	0.919	0.857 ± 0.21	p = 0.359
• LATE FOLLOW-UP	6	0.807	0.734 ± 0.26	8	0.865	0.851 ± 0.1	14	0.853	0.80 ± 0.19	p = 0.693
VERTICAL COMD										
• BASELINE	11	1.60	1.66 ± 0.64	10	1.0	1.06 ± 0.52	21	1.30	1.38 ± 0.75*	
• EARLY FOLLOW-UP	11	1.50	1.64 ± 0.74	10	1.20	1.18 ± 0.46	21	1.40	1.42 ± 0.65	p = 0.423
• LATE FOLLOW-UP	6	1.20	1.43 ± 0.67	8	1.35	1.45 ± 0.65	14	1.35	1.44 ± 0.63	p < 0.1
LATERAL COMD										
• BASELINE	11	0.40	0.464 ± 0.35	10	0.45	0.45 ± 0.24	21	0.40	0.457 ± 0.3	
• EARLY FOLLOW-UP	11	0.40	0.691 ± 0.66	10	0.40	0.55 ± 0.59	21	0.40	0.624 ± 0.62	p = 0.833
• LATE FOLLOW-UP	6	0.65	0.783 ± 0.48	8	0.50	0.963 ± 1.08	14	0.60	0.89 ± 0.85	p = 0.513
CARDIOVASCULAR SYSTEM										
SYSTOLIC BP (mmHg)										
• BASELINE	12	116.5	118.17 ± 14.0	12	119.5	120.67 ± 12.89	24	119.0	119.42 ± 13.22	
• EARLY FOLLOW-UP	12	121.5	119.58 ± 14.27	10	117.0	116.70 ± 11.65	22	120.5	118.27 ± 12.93	p = 0.579
• LATE FOLLOW-UP	6	112.5	115.17 ± 10.34	9	117.0	119.0 ± 15.02	15	116.0	117.47 ± 13.07	p = 0.921
DIASTOLIC BP (mmHg)										
• BASELINE	12	66.0	73.42 ± 15.02	12	74.5	74.58 ± 7.60	24	71.0	74.0 ± 11.65	
• EARLY FOLLOW-UP	12	74.0	75.75 ± 13.74	10	73.5	72.60 ± 8.04	22	73.5	74.32 ± 11.37	p = 0.203
• LATE FOLLOW-UP	6	68.0	72.17 ± 18.92	9	72.0	74.78 ± 12.47	15	72.0	73.73 ± 14.78	p = 0.643
HRV										
• BASELINE	12	67.50	70.29 ± 11.99	12	72.75	69.0 ± 16.61	24	70.75	69.65 ± 14.18	
• EARLY FOLLOW-UP	12	71.75	69.08 ± 11.06	10	69.25	66.85 ± 19.21	22	71.25	68.07 ± 14.95	p = 0.548
• LATE FOLLOW-UP	6	64.0	64.67 ± 15.50	8	69.50	68.88 ± 16.66	14	65.50	67.07 ± 15.70	p = 0.107

3.1.3 Medication

Table 8 gives an overview of the medication at baseline. Among ‘medication affecting the RAAS’ were summarized β -blockers, renin-inhibitors, renin-blockers, ACE-inhibitors, AT-II-blockers and thiazide diuretics. Apart from the magnesium intake of the GG patients within the study, there was no significant difference in the intake of the medication.

Somatic medication summarized under ‘others’ were as follows: L-thyroxine, iron supplement, vitamine B₁₂ and D₃, iodide, calcium-antagonists, pantoprazole, statine, fibrate, phenprocuomon, tamsulosine, trospiumchlorid, salbutamol, movicol, novalgin, ibuprofen and ASS.

Table 7: Medication at Baseline

N = number of patients; % = percentage of patients taking the medication; p-value = significance level with respect to the group differences

	GG		TAU		ALL		
	N	%	N	%	N	%	p-value
CENTRAL NERVOUS SYSTEM AFFECTING MEDICATION							
• SSRI/SNRI	9	75	9	75	18	75	p = 1.0
• TRICYCLIC	1	8.3	1	8.3	2	8.3	p = 1.0
• MIRTAZAPINE	0	-	2	16.7	2	8.3	p = 0.15
• MAO INHIBITORS	0	-	0	-	0	-	p = 1.0
• LITHIUM	1	8.3	2	16.7	3	12.5	p = 0.55
• ATYPICAL NEUROLEPTICS	2	16.7	4	33.3	4	16.7	p = 0.36
• TYPICAL NEUROLEPTICS	3	25	2	16.7	5	20.8	p = 0.62
• NONE	1	8.3	1	8.3	2	8.3	
SOMATIC MEDICATION							
• MEDICATION AFFECTING THE RAAS	5	41.7	7	58.3	12	50	p = 0.61
• ALDOSTERONE ANTAGONISTS	0	-	0	-	0	-	p = 1.0
• MAGNESIUM	1	8.3	0	-	1	4.2	p = 0.33
• GLUCOCORTICOIDS	0	-	0	-	0	-	p = 1.0
• OTHERS	6	50	6	50	12	50	p = 1.0

3.1.4 Course of GG Subjects

At weeks 1 and 2, adverse events were evident in 2 of 12 patients. One patient complained of a feeling of a lump in his throat, which did not bother him further. GG administration was continued under close monitoring of complaints. From the third week onwards, the patient was symptom-free with unchanged Mg^{2+} and GG administration. One other patient reported diarrhoea, which is why the dose of magnesium was then reduced to 200 mg/day at week 2. After dose reduction, the patient was free of adverse events. Two other patients were already receiving 200 mg of magnesium per day from the beginning because they reported suffering from diarrhoea with higher magnesium intake in medical history. These patients did not report any adverse events at week 1. One of those patients reported of diarrhoea at week 2, so the dose was further reduced to 100 mg magnesium per day. Since the diarrhoea persisted and there was an increase in the number of pre-known migraine attacks, the adjunct therapy with magnesium and GG was finally discontinued. Simultaneously with the discontinuation of magnesium and GG, the lithium preparation was changed and a β -blocker was prescribed as migraine prophylaxis. After a one-week symptom-free interval once the adjunct therapy was stopped, diarrhoea and migraine attacks recurred. Therefore, lithium and venlafaxine were dosed out and a new treatment was started. The dosing of the new antidepressant medication took place beyond the end of the study, which is why the occurrence of the above-mentioned symptoms was not followed up. The other patient who received the reduced Mg^{2+} dose from the beginning reported diarrhoea in the second week. The magnesium was first reduced to 100 mg per day and finally discontinued in the third week as symptoms persisted. At this point, the patient also reported nausea, which is why the GG was discontinued along with the magnesium, after which she became symptom-free. In the sixth week, one patient reported a new onset of severe headache and dizziness, for which magnesium and GG were discontinued. At late follow-up, the patient was complain-free. Another patient reported a headache in the fourth week. After discontinuation of magnesium and GG, the patient was pain-free. At early follow-up, all patients received the full GG daily dose. At late follow-up, three of seven patients continued to take GG (see table 9).

The following adverse events were reported: headache, dizziness, diarrhoea, nausea and feeling of lump in the throat. The diarrhoea and nausea are most likely in the context of magnesium supplementation. The headache and dizziness could generally be interpreted as signs of blood pressure changes. However, there was no significant change in blood pressure within the GG

group. Therefore, a change in blood pressure does not seem to be causal for these adverse events. Also, the feeling of lump in the throat cannot be directly related to GG intake. Compared to the TAU group, there were no significant changes in potassium levels or blood pressure, which were presumed to be expected adverse events.

Table 8: Course of GG Subjects

N = number of patients; % = percentage of patients taking the medication

	N/N_{TOTAL GG}	%
ADVERSE EVENTS		
• WEEK 1	2/12	16.7
• WEEK 2	2/12	16.7
• WEEK 6	5/7	71.4
STOP OF GG INTAKE		
• WEEK 1	0	-
• WEEK 2	0	-
• WEEK 6	4/7	57.1
REDUCED MAGNESIUM DOSAGE		
• WEEK 1	2/12	16.7
• WEEK 2	3/12	25.0
• WEEK 6	3/7	42.9

3.2 Results First Hypothesis: Gait Pattern and iNPHGS as Aldosterone-Dependent Biomarker

Through the first hypothesis, correlations between the HPA axis and RAAS, respectively aldosterone levels, and the gait pattern shall be investigated. Furthermore, group specific courses were evaluated. Therefore, the relative change of hormone levels and gait parameter from baseline to follow-up was examined. In addition, correlations between gait parameters and the iNPHGS are described to evaluate the iNPHGS as a tool for assessing gait changes.

3.2.1 Gait Parameter and iNPHGS

At baseline, a negative correlation between iNPHGS-score and CV was evident within the entire group ($p < 0.05$). The higher the iNPHGS the lower the coefficient of variation, which means that the gait cycle time showed lesser variability at higher scores in the iNPHGS (figure 6a). Furthermore, there was a positive correlation of iNPHGS and vertical COMD in the overall group at baseline ($p < 0.1$) (figure 6b). The higher the score in the iNPHGS, the higher the vertical COMD.

Regarding the group-dependent change of the parameters, a significant difference emerges: in the GG group, the score of the iNPHGS decreases to early follow-up while it increases in the TAU group ($p < 0.01$) (figure 6c). A decrease in the score indicates an improvement in iNPH-like symptoms.

In the TAU group, a greater reduction in iNPHGS by early follow-up was associated with a greater increase in step length ($p < 0.1$) (Table 10). In addition, a large vertical COMD was shown to be predictive of an increase in iNPHGS in the TAU group at early follow-up ($p < 0.05$). For further information on the correlations between gait parameters and iNPHGS see table 10.

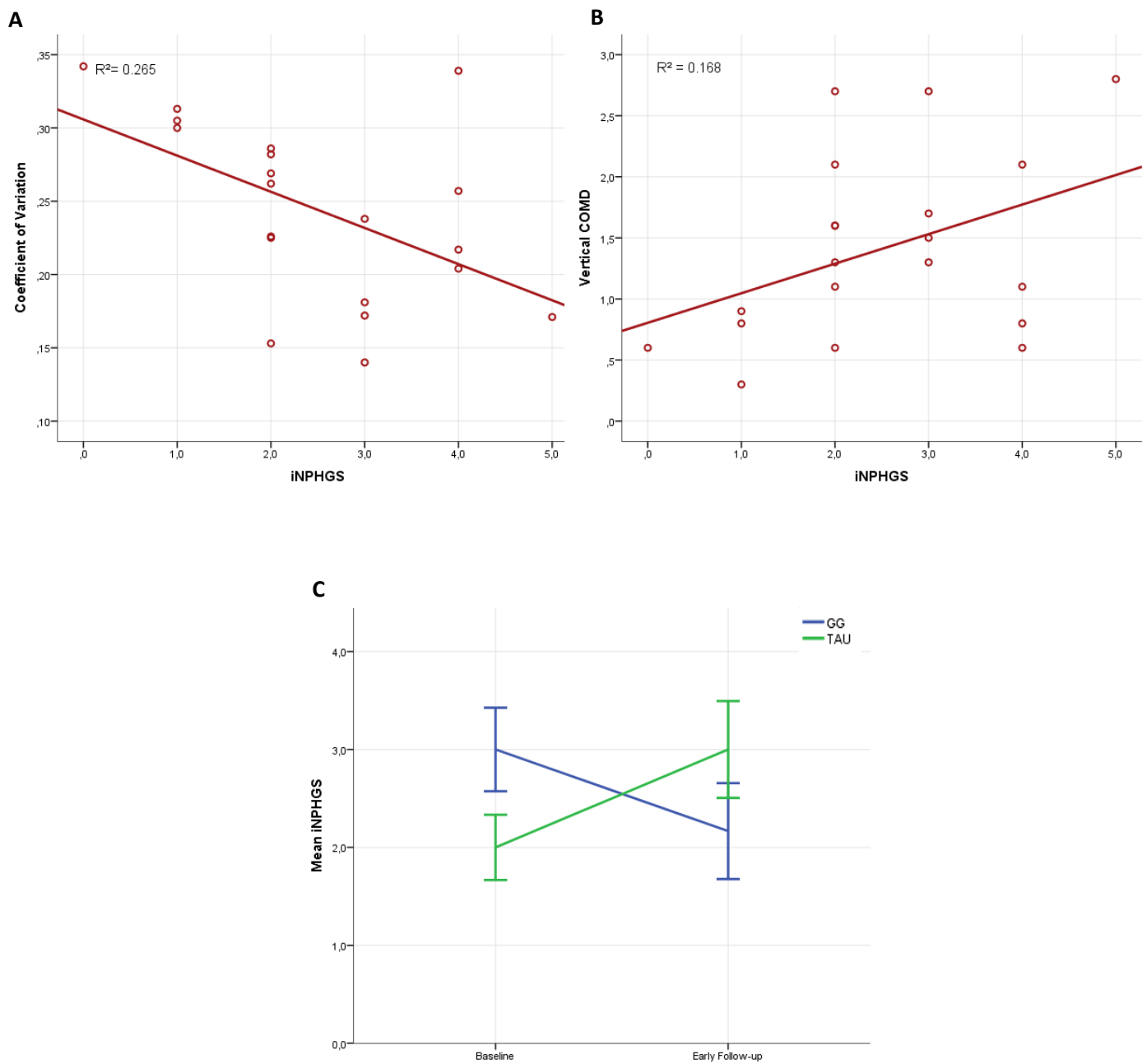


Figure 6: Gait and iNPHGS

A: Correlation at baseline within the whole study group. Higher values in iNPHGS refer to a more pronounced symptomatology, a low Coefficient of variation refers to less variability in gait cycle time. ($n = 20, p < 0.05$)

B: Correlation at baseline within the whole study group. Higher values in vertical COMD refer to a greater center of mass displacement. ($n = 20, p < 0.1$)

C: Comparison of alteration of mean iNPHGS between the GG (blue) and TAU (green) group from baseline to early follow-up (GG: $n = 12$; TAU: $n = 10, p < 0.01$)

Table 9: Overview of the Correlations between Gait Parameters and iNPHGS

i. Correlations of the whole group at baseline

ii. Correlations between the gait parameters at baseline and the relative change in iNPHGS to early follow-up. The latter represent the predictivity of the gait parameters with regard to iNPH-like symptoms in the clinical course.

iii. Correlations between the relative changes of gait parameters and iNPHGS to early and late follow-up.

Abbreviations: center of mass displacement (COMD), Coefficient of variation (CV), idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale (iNPHGS), pearson correlation coefficient (PCC), number of subjects (N), relative change from baseline (Δ)

			iNPHGS Baseline
i.			
ALL			
		PCC	-0.515
	CV	p-value	0.020
		N	20
		PCC	0.410
	Vertical COMD	p-value	0.073
		N	20
ii.			
			Δ iNPHGS Early Follow-up
GG			
		PCC	0.686
	Gait Speed	p-value	0.029
		N	10
		PCC	0.628
	Step Length	p-value	0.052
		N	10
		PCC	-0.366
	CV	p-value	0.298
		N	10
		PCC	0.391
	Vertical COMD	p-value	0.264
		N	10
TAU			
		PCC	0.762
	Gait Speed	p-value	0.017
		N	9
		PCC	0.760
	Step Length	p-value	0.017
		N	9
		PCC	-0.248
	CV	p-value	0.520
		N	9
		PCC	0.739
	Vertical COMD	p-value	0.023
		N	9

iii. Δ iNPHGS		Early Follow-up	Late Follow-up
GG			
Δ Step Length	PCC	-0.482	0.630
	p-value	0.158	0.180
	N	10	6
Δ Vertical COMD	PCC	-0.561	-0.204
	p-value	0.092	0.699
	N	10	6
TAU			
Δ Step Length	PCC	-0.660	0.618
	p-value	0.053	0.139
	N	9	7
Δ Vertical COMD	PCC	-0.415	0.870
	p-value	0.267	0.011
	N	9	7

In summary, the gait analysis defined parameter vertical COMD is associated with higher iNPH symptoms, whereas CV is negatively associated. Parameters related to lower gait speed are predictors of a better response in both treatment groups. The correlation of changes of these parameters is, however, inconsistent.

3.2.2 Aldosterone

Between baseline aldosterone levels and gait parameters no correlations were found.

Regarding the relative change in saliva aldosterone levels to early follow-up, there is no significant difference between the two groups ($p = 0.135$). However, already at baseline there were significant higher aldosterone values within the TAU group ($p < 0.01$), which is why this result can only be interpreted in a limited way (figure 7). The lack of observed change may be caused by the regression to the mean on the one hand and the floor effect on the other.

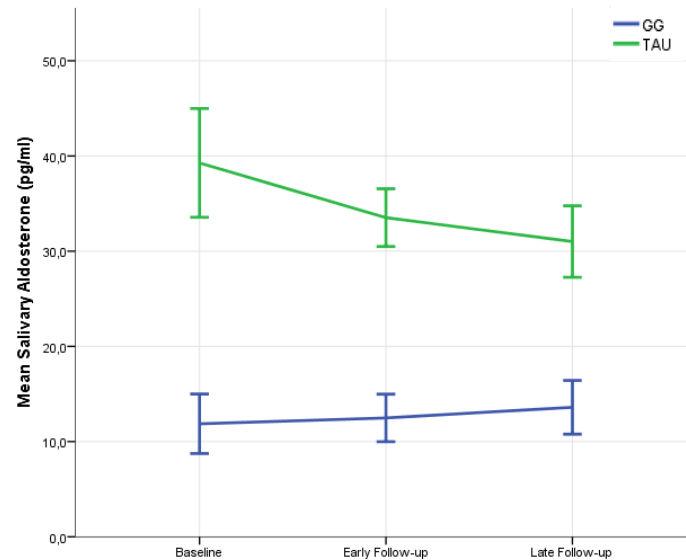


Figure 7: Comparison of alteration of mean salivary aldosterone (pg/ml)
Between the GG and TAU group from baseline to late follow-up (GG: $n = 7$; TAU: $n = 9$, $p < 0.1$)

3.2.3 Aldosterone-Cortisol Ratio

The gait parameters did not show correlations with the ald/cort ratio at baseline. There was no significant difference in the change of ald/cort ratio between the two groups at early follow-up ($p = 0.272$).

Nevertheless, correlations were found between the relative changes of ald/cort ratio and gait parameters: by early follow-up in GG group the gait became more asymmetrical ($p < 0.1$) in relation to a stronger decrease in the ald/cort ratio. In TAU subjects iNPHGS score ($p < 0.05$) increased the more the ald/cort ratio decreased until early follow-up (figure 8).

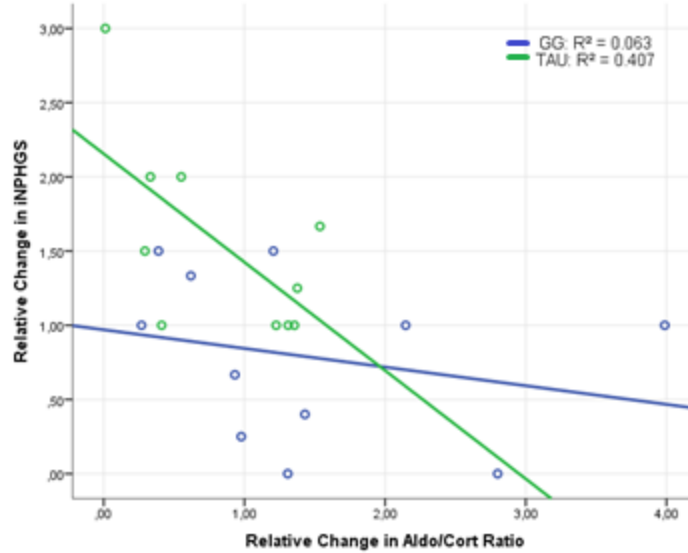


Figure 8: Biomarker changes from baseline to early follow-up.

A value of 1 indicates no change, higher values an increase, lower values a decrease. In this case, a significant correlation was shown for the TAU group: A decrease in the Aldo/Cort ratio was associated with a worsening of iNPH-like symptoms. ($n = 10$, $p < 0.05$)

3.2.4 Renin

At baseline, a more asymmetric gait pattern correlated with lower renin levels ($p < 0.1$) (figure 9).

In the TAU group, a decrease in step length until early follow-up correlates with an increase in renin levels ($p < 0.05$). There were no significant differences in the group-specific changes in renin levels.

However, these results should be interpreted with caution, as the number of patients was particularly small due to the lack of renin measurements. Within the TAU group, the relative change to early follow-up could only be determined in three patients, to late follow-up in two, which is why statements on corresponding correlations are difficult to be made. For further information on the correlations between gait parameters and iNPHGS see table 10.

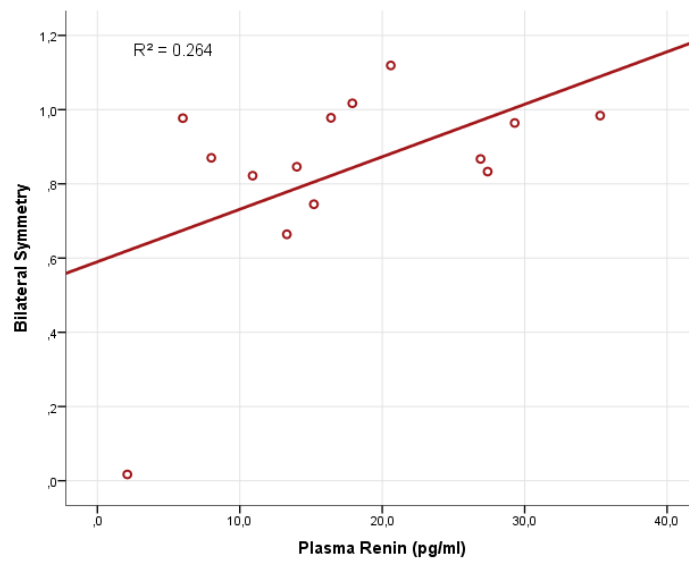


Figure 9: Correlations within the entire group at baseline
Subjects with lower renin levels presented a more asymmetric gait pattern ($n = 14$, $p < 0.1$)

Table 10: Overview of the Correlations between Gait Parameters and Hormone Levels

i. Correlations of the whole group at baseline

ii. Correlations between the relative changes of gait parameters and iNPHGS to early follow-up.

iii. Correlations between the relative changes of gait parameters and iNPHGS to late follow-up.

Abbreviations: Aldosterone (Aldo), Aldosterone-Cortisol ratio (Aldo/Cort), center of mass displacement (COMD), Coefficient of variation (CV), idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale (iNPHGS), pearson correlation coefficient (PCC), number of subjects (N), change from baseline (Δ)

i.		Baseline	Aldo	Aldo/Cort	Renin
Gait Speed	PCC		0.125	0.161	-0.088
	p-value		0.590	0.487	0.766
	N		21	21	14
Step Length	PCC		0.032	-0.016	0.152
	p-value		0.891	0.946	0.604
	N		21	21	14
Cadence	PCC		0.106	0.240	-0.244
	p-value		0.646	0.294	0.400
	N		21	21	14
Coe Var	PCC		0.024	0.233	-0.191
	p-value		0.919	0.310	0.512
	N		21	21	14
Bil Sym	PCC		-0.075	-0.225	0.514
	p-value		0.745	0.326	0.060
	N		21	21	14
Vertical COMD	PCC		-0.250	-0.306	0.158
	p-value		0.274	0.177	0.589
	N		21	21	14
Lateral COMD	PCC		0.134	0.064	0.054
	p-value		0.562	0.782	0.855
	N		21	21	14
iNPHGS	PCC		0.052	-0.258	0.066
	p-value		0.817	0.247	0.816
	N		22	22	15

ii.

			Δ Aldo	Δ Aldo/Cort
GG				
Δ Bil Sym	PCC		0.097	0.579
	p-value		0.778	0.062
	N		11	11
Δ iNPHGS	PCC		-0.348	-0.260
	p-value		0.294	0.468
	N		11	10
TAU				
Δ Bil Sym	PCC		0.159	0.082
	p-value		0.683	0.834
	N		9	9
Δ iNPHGS	PCC		-0.296	-0.638
	p-value		0.407	0.047
	N		10	10

iii.

		Δ Aldo	Δ Aldo/Cort
GG			
Δ Cadence	PCC	-0.312	-0.868
	p-value	0.547	0.025
	N	6	6
Δ Coe Var	PCC	-0.312	-0.868
	p-value	0.547	0.025
	N	6	6
Δ Bil Sym	PCC	-0.479	0.364
	p-value	0.336	0.477
	N	6	6
TAU			
Δ Cadence	PCC	-0.098	0.178
	p-value	0.835	0.703
	N	7	7
Δ Coe Var	PCC	-0.098	0.178
	p-value	0.835	0.703
	N	7	7
Δ Bil Sym	PCC	0.965	0.637
	p-value	0.0004	0.124
	N	7	7

The observed absence of correlations between neuroendocrine and gait parameters makes a direct causal effect unlikely. The correlation of the observed changes appear opposite to the expected ones.

3.3 Results Second Hypothesis: Electrolytes and their Impact on Gait

In this context, relationships between the electrolytes as markers of peripheral MR activity are examined, on their potential impact on gait. In addition, we examined the direct association electrolyte status and gait pattern. Table 11 gives an overview over the results.

3.3.1 Sodium and Potassium

At baseline, high sodium levels were shown to correlate with low vertical ($p < 0.05$) and lateral ($p < 0.1$) COMD (figures 10 a-b). In the TAU group, an increase in sodium level at early follow-up was associated with a decrease in step length ($p < 0.1$)

A high Na^+/K^+ ratio correlated with a low score in iNPHGS at baseline ($p < 0.1$) (figure 10c). In the TAU group, this correlation was also evident at early follow-up ($p < 0.01$). In line with this, in the GG group there was a correlation of the relative change of the parameters until early follow-up ($p < 0.01$): the more the Na^+/K^+ ratio increased, the more the score in iNPHGS decreased (figure 10d). Furthermore, in GG subjects a sodium increase was associated with a greater decrease in iNPHGS by early follow-up ($p < 0.1$). Similarly, at early follow-up in the GG group, a decrease in potassium was associated with a decrease in iNPHGS ($p < 0.1$).

In the TAU group at early follow-up, decreasing potassium levels were associated with increasing cadence ($p < 0.1$) and CV ($p < 0.1$). Analogously, increasing Na^+/K^+ ratio was associated with increasing cadence ($p < 0.05$) and CV ($p < 0.05$).

Regarding bilateral symmetry, in the TAU group an increase in potassium levels to early follow-up correlated with an increase in symmetry ($p < 0.1$). Otherwise, no correlations between bilateral symmetry and electrolytes could be established.

At early follow-up, there were no significant differences in the change in electrolytes between the two groups (Na^+ : $p = 0.981$, K^+ : $p = 0.866$, Na^+/K^+ : $p = 0.915$).

At late follow-up, there was a significant difference in the change in potassium level ($p < 0.05$) and Na^+/K^+ ratio ($p < 0.05$).

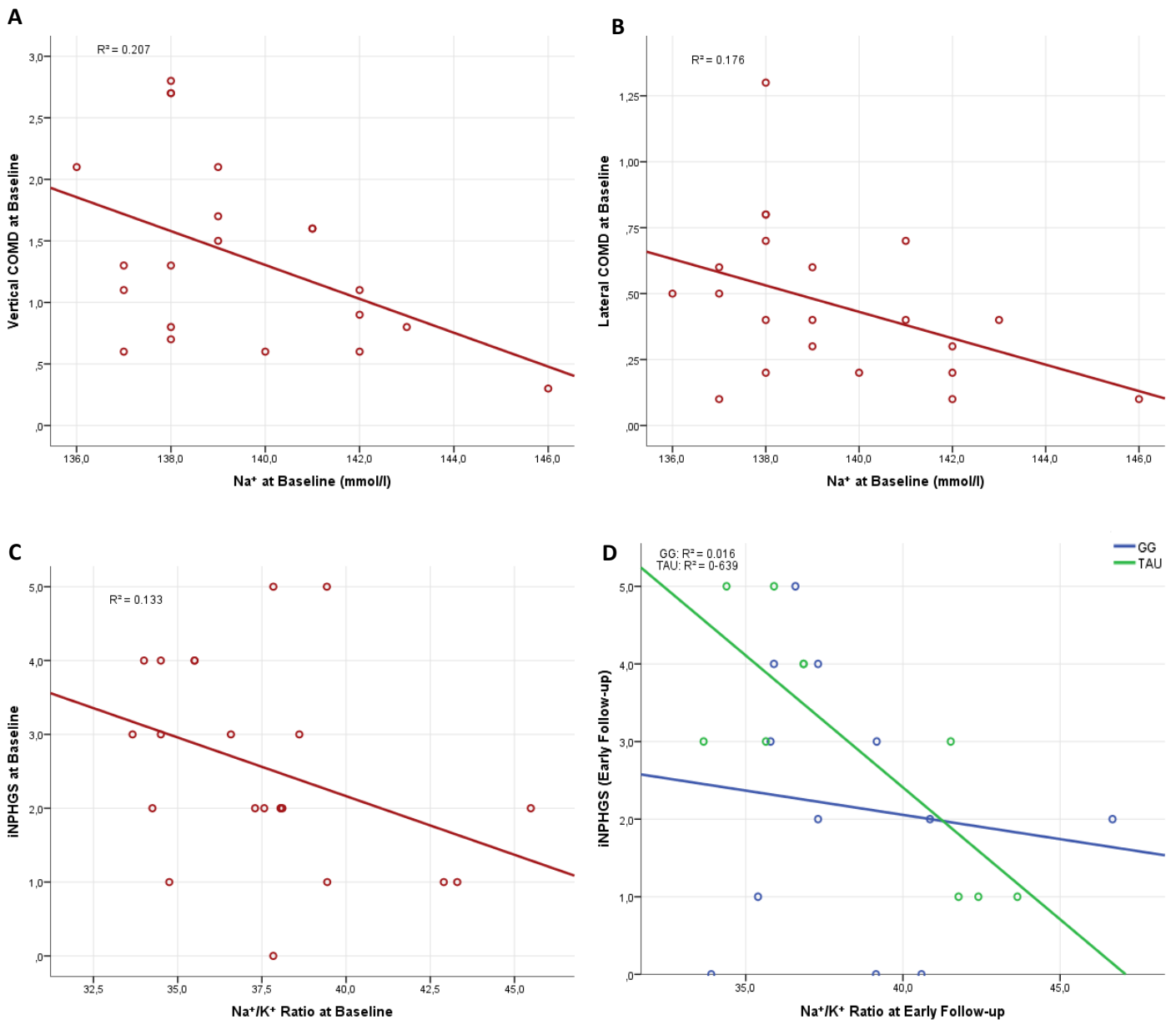


Figure 10: Gait and Electrolytes

A: Correlation at baseline within the entire study group. Higher values in vertical COMD refer to a greater center of mass displacement. ($n = 21$, $p < 0.05$)

B: Correlation at baseline within the entire study group. Higher values in lateral COMD refer to a greater center of mass displacement. ($n = 21$, $p < 0.1$)

C: Correlation at baseline within the entire study group. Higher values in iNPHGS refer to a more pronounced symptomatology. ($n = 22$, $p < 0.1$)

D: Correlation at early follow-up. In this case, a significant correlation was shown for the TAU group: A higher Na⁺/K⁺ ratio was associated with less iNPH-like symptoms. ($n = 10$, $p < 0.01$)

3.3.2 Magnesium

At baseline, there was no correlation between gait parameters and magnesium levels.

Due to the administration of magnesium, the reliability of the Mg^{2+} level within the GG group after baseline as a biomarker for peripheral MR function was no longer given. The increase in Mg^{2+} is to be seen as an effect of administration (figure 11). Within the TAU group, the values of magnesium level at baseline and early follow-up was available in 10 patients. Of these, 9 showed a constant and one showed a decreasing magnesium level. Due to the invariability of the magnesium level, no correlations could be shown with regard to relative changes.

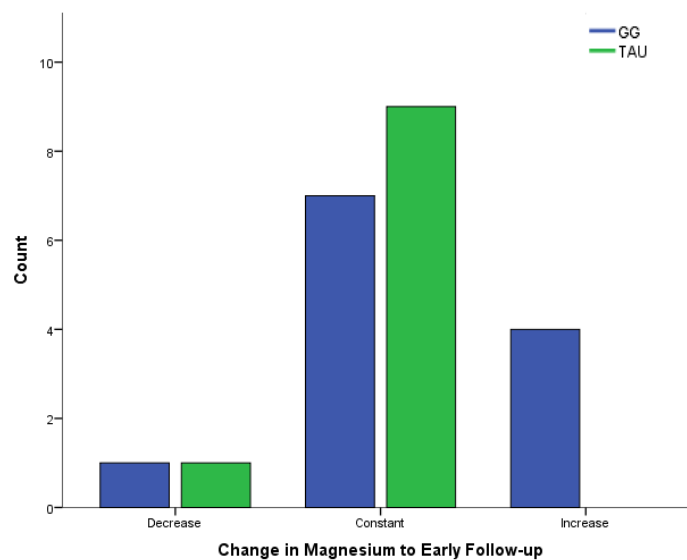


Figure 11: Overview of Changes in Magnesium Level from Baseline to Early Follow-up

Table 11: Overview of the Correlations between Gait Parameters and Electrolytes

i. Correlations of the entire group at baseline

ii. Correlations of the TAU and GG group at early follow-up

iii. Correlations between the relative changes of gait parameters and electrolytes to early follow-up.

iv. Correlations between the relative changes of gait parameters and electrolytes to late follow-up.

Abbreviations: potassium (K^*), magnesium (Mg^*), sodium (Na^*), ratio sodium to potassium (Na^*/K^*), center of mass displacement (COMD), Coefficient of variation (CV), idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale (iNPHGS), pearson correlation coefficient (PCC), number of subjects (N), relative change from baseline (Δ)

i. Baseline		Mg^{2+}	Na^+	K^+	Na^+/K^+
Gait Speed	PCC	0.176	-0.233	0.105	-0.142
	p-value	0.444	0.310	0.650	0.540
	N	21	21	21	21
Step Length	PCC	0.181	-0.269	0.048	-0.098
	p-value	0.433	0.238	0.837	0.673
	N	21	21	21	21
Cadence	PCC	-0.226	0.322	0.013	0.048
	p-value	0.324	0.155	0.955	0.838
	N	21	21	21	21
Coe Var	PCC	-0.023	0.360	-0.192	0.234
	p-value	0.921	0.109	0.405	0.308
	N	21	21	21	21
Bil Sym	PCC	-0.035	0.025	-0.201	0.158
	p-value	0.881	0.914	0.383	0.495
	N	21	21	21	21
Vertical COMD	PCC	-0.052	-0.455	0.068	-0.154
	p-value	0.824	0.038	0.770	0.504
	N	21	21	21	21
Lateral COMD	PCC	-0.116	-0.420	0.237	-0.262
	p-value	0.618	0.058	0.301	0.251
	N	21	21	21	21
iNPHGS	PCC	-0.146	-0.297	0.344	-0.365
	p-value	0.516	0.180	0.117	0.095
	N	22	22	22	22

ii. Early Follow-up		Na^+/K^+	
GG			
iNPHGS	PCC	-0.126	
	p-value	0.697	
	N	12	
TAU			
iNPHGS	PCC	-0.800	
	p-value	0.006	
	N	10	

iii.

		ΔMg^{2+}	ΔNa^+	ΔK^+	$\Delta \text{Na}^+/\text{K}^+$
GG					
Δ Step Length	PCC	-0.322	0.366	-0.341	0.338
	p-value	0.335	0.268	0.305	0.309
	N	11	11	11	11
Δ Cadence	PCC	0.008	0.043	0.331	-0.256
	p-value	0.981	0.900	0.320	0.448
	N	11	11	11	11
Δ Coe Var	PCC	0.008	0.043	0.331	-0.256
	p-value	0.981	0.900	0.320	0.448
	N	11	11	11	11
Δ Bil Sym	PCC	0.187	0.411	0.059	0.007
	p-value	0.582	0.209	0.863	0.983
	N	11	11	11	11
Δ Vertical COMD	PCC	-0.599	0.265	-0.223	0.224
	p-value	0.051	0.430	0.511	0.508
	N	11	11	11	11
Δ Lateral COMD	PCC	-0.204	0.008	-0.345	0.325
	p-value	0.547	0.981	0.299	0.329
	N	11	11	11	11
Δ iNPHGS	PCC	-0.131	-0.595	0.588	-0.642
	p-value	0.700	0.054	0.057	0.033
	N	11	11	11	11
TAU					
Δ Step Length	PCC	-0.575	-0.625	-0.311	0.103
	p-value	0.105	0.072	0.415	0.791
	N	9	9	9	9
Δ Cadence	PCC	0.088	0.469	-0.632	0.718
	p-value	0.822	0.203	0.068	0.029
	N	9	9	9	9
Δ Coe Var	PCC	0.088	0.469	-0.632	0.718*
	p-value	0.822	0.203	0.068	0.029
	N	9	9	9	9
Δ Bil Sym	PCC	-0.038	0.312	0.644	-0.511
	p-value	0.923	0.414	0.061	0.159
	N	9	9	9	9
Δ Vertical COMD	PCC	0.428	-0.236	-0.180	0.091
	p-value	0.251	0.540	0.643	0.815
	N	9	9	9	9
Δ Lateral COMD	PCC	0.092	-0.160	0.363	-0.382
	p-value	0.813	0.680	0.337	0.310
	N	9	9	9	9
Δ iNPHGS	PCC	0.292	0.286	0.358	-0.237
	p-value	0.413	0.423	0.310	0.509
	N	10	10	10	10

iv.

		ΔMg^{2+}	ΔNa^+	ΔK^+	$\Delta \text{Na}^+/\text{K}^+$
GG					
Δ Gait Speed	PCC	-0.820	-0.171	-0.160	0.092
	p-value	0.045	0.747	0.762	0.863
	N	6	6	6	6
Δ Step Length	PCC	-0.767	-0.314	-0.016	-0.066
	p-value	0.075	0.545	0.977	0.901
	N	6	6	6	6
Δ Cadence	PCC	0.328	0.379	-0.234	0.295
	p-value	0.526	0.458	0.655	0.570
	N	6	6	6	6
Δ Coe Var	PCC	0.328	0.379	-0.234	0.295
	p-value	0.526	0.458	0.655	0.570
	N	6	6	6	6
Δ iNPHGS	PCC	-0.432	-0.735	0.404	-0.513
	p-value	0.393	0.096	0.427	0.298
	N	6	6	6	6
TAU					
Δ Gait Speed	PCC	0.482	-0.590	0.311	-0.450
	p-value	0.227	0.124	0.453	0.263
	N	8	8	8	8
Δ Step Length	PCC	0.758	-0.572	0.087	-0.268
	p-value	0.048	0.180	0.853	0.562
	N	7	7	7	7
Δ Cadence	PCC	-0.735	0.424	-0.198	0.296
	p-value	0.060	0.343	0.670	0.520
	N	7	7	7	7
Δ Coe Var	PCC	-0.735	0.424	-0.198	0.296
	p-value	0.060	0.343	0.670	0.520
	N	7	7	7	7
Δ iNPHGS	PCC	0.753	-0.321	0.121	-0.185
	p-value	0.019	0.400	0.757	0.634
	N	9	9	9	9

Overall, higher sodium and lower potassium levels appear to be associated with better gait function. The association of changes of these parameter is consistent with this observation. This electrolyte status is in line with the suggestion of a higher peripheral MR sensitivity with better gait function.

3.4 Results Third Hypothesis: The Mutual Influence of the Cardiovascular System and Gait

The third hypothesis tested for associations between parameters of the cardiovascular system which is also influenced by aldosterone and gait parameters. Whereby blood pressure serves as a biomarker of peripheral and HRV as a biomarker of central MR function. Considering a relationship between gait pattern and MR activity, gait parameters might also be associated with changes in blood pressure and HRV. In addition, changes in these biomarkers due to the administration of GG were examined.

3.4.1 Blood Pressure

At baseline, high systolic ($p < 0.01$) and diastolic ($p < 0.01$) blood pressure correlated with a bigger lateral COMD. Furthermore, there was a correlation between a low systolic blood pressure and a high score on the iNPHGS ($p < 0.1$) (figure 12a) and a more symmetric gait pattern ($p < 0.1$) (figure 12b). No other correlations were found between iNPHGS and blood pressure.

At early follow-up, the GG group showed that an increase in systolic blood pressure correlated with a decrease in cadence ($p < 0.1$) and CV ($p < 0.1$). In both groups, an increase in diastolic blood pressure correlated with a decrease in cadence (GG: $p < 0.05$; TAU: $p < 0.1$) and CV (GG: $p < 0.05$; TAU: $p < 0.1$).

Besides, in the TAU group an increase in systolic blood pressure at late follow-up was associated with a decrease in bilateral symmetry ($p < 0.1$); an increase in diastolic blood pressure was associated with an increase in gait speed ($p < 0.1$).

There was no significant difference in the change of cardiovascular parameters during the course between the two groups. However, although not significant, there was a decrease in systolic ($p = 0.579$) and diastolic ($p = 0.203$) blood pressure in the TAU group, whereas it increased in the GG group at early follow-up (figures 12 c-d).

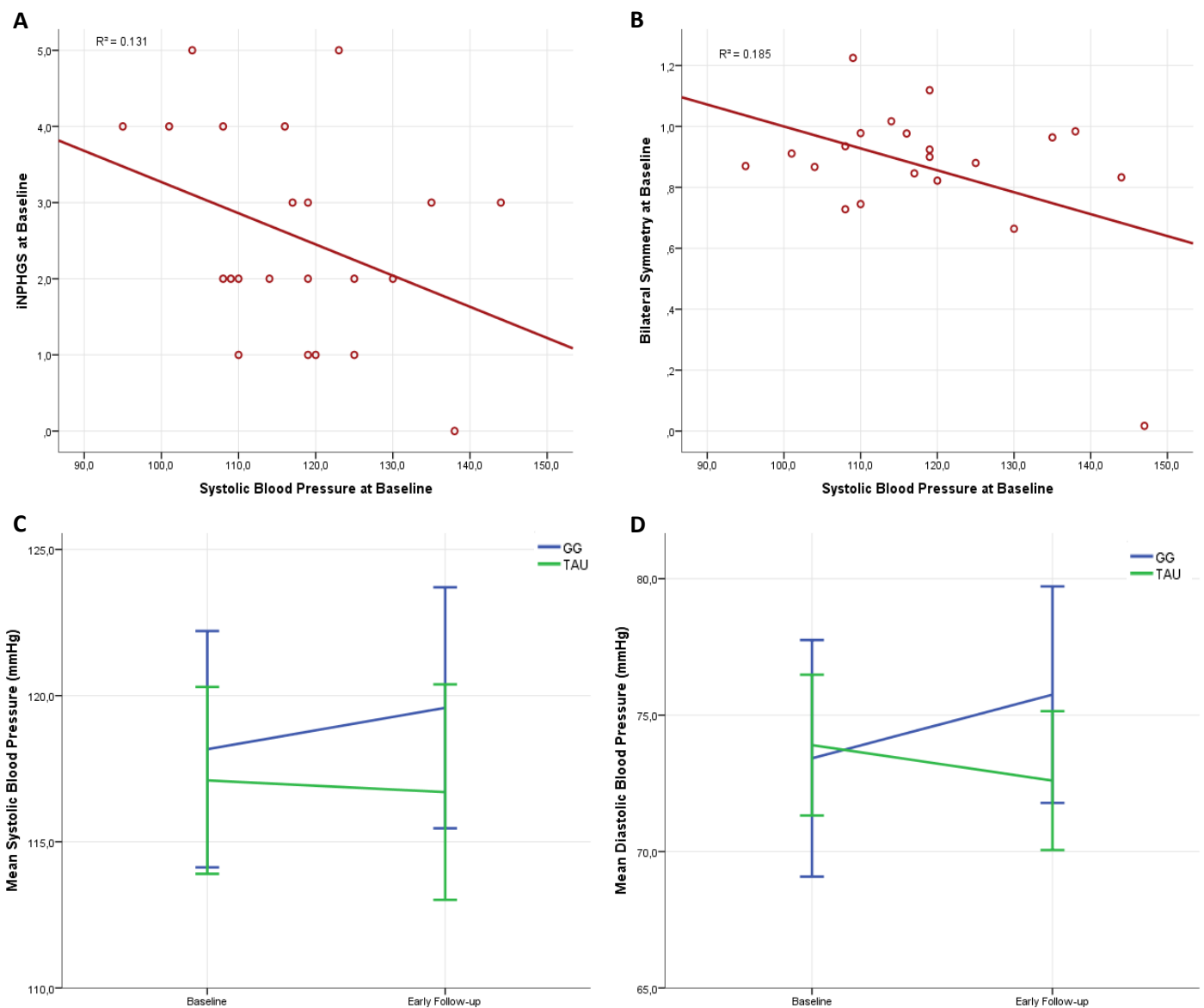


Figure 12: Gait and Blood Pressure

A: Correlation at baseline within the entire study group. Higher systolic blood pressure refers to less iNPH-like symptomatology. ($n = 22$, $p < 0.1$)

B: Correlation at baseline within the entire study group. Higher systolic blood pressure refers to a more asymmetrical gait pattern. ($n = 21$, $p < 0.1$)

C: Comparison of alteration of mean systolic blood pressure between the GG and TAU group from baseline to early follow-up (GG: $n = 12$; TAU: $n = 10$, $p = 0.579$)

D: Comparison of alteration of mean diastolic blood pressure between the GG and TAU group from baseline to early follow-up (GG: $n = 12$; TAU: $n = 10$, $p = 0.203$)

3.4.2 HRV

There were no correlations between HRV and gait parameters at baseline.

In the TAU group, an increase in HRV was associated with a decrease in vertical COMD at early (p < 0.05) and late (p < 0.05) follow-up (figure 13b). Furthermore, a decrease in iNPHGS correlated with a decrease in HRV within the TAU group at early follow-up (p < 0.05) (figure 13a). There were no further significant correlations between iNPHGS and HRV.

The TAU group showed a trend in the relationship between relative change in HRV and cadence (p < 0.1), respectively CV (p < 0.1) at late follow-up. The more the HRV increased, the more also cadence and CV increased.

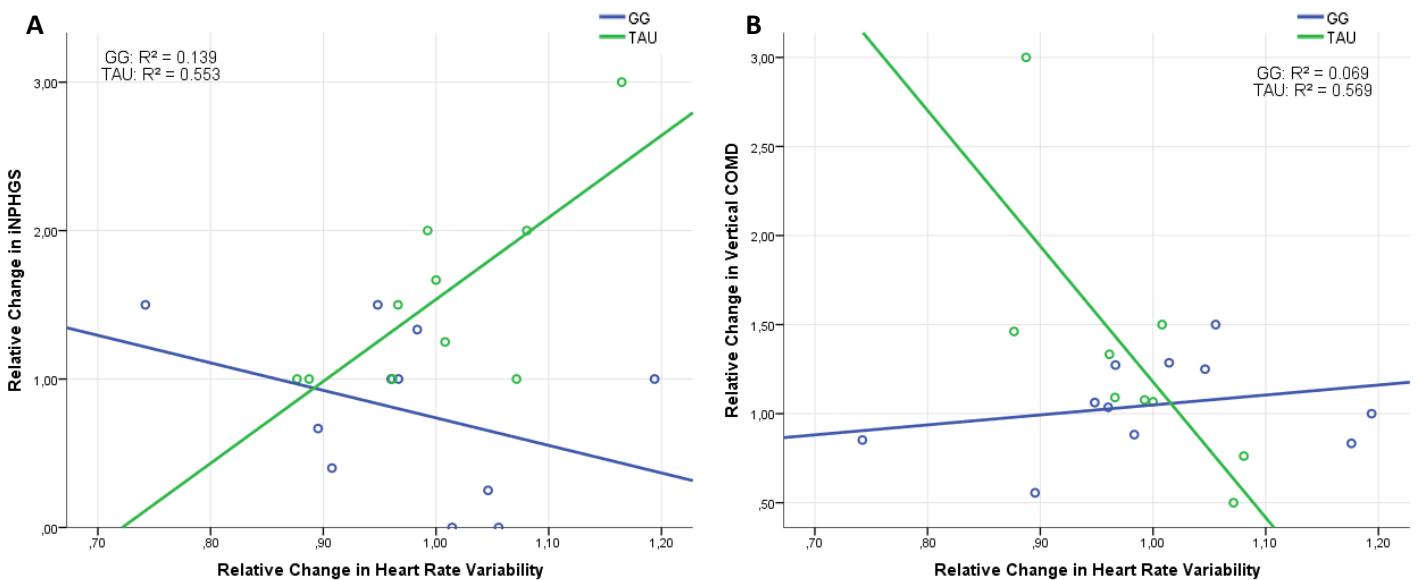


Figure 13: Biomarker changes from Baseline to Early Follow-up.

A value of 1 indicates no change, higher values an increase, lower values a decrease.

A: In this case, a significant correlation was shown for the TAU group: A decrease in HRV was associated with a decrease in iNPH-like symptomatology. (n = 10, p < 0.05)

B: In this case, a significant correlation was shown for the TAU group: An increase in HRV was associated with a decrease in vertical COMD. (n = 9, p < 0.05)

Table 12: Overview of the Correlations between Gait and Cardiovascular System

i. Correlations of the entire group at baseline

ii. Correlations between the relative changes of gait and cardiovascular parameters to early follow-up.

iii. Correlations between the relative changes of gait and cardiovascular parameters to late follow-up.

Abbreviations: systolic blood pressure (RR sys), diastolic blood pressure (RR dias), heart rate variability (HRV), center of mass displacement (COMD), Coefficient of variation (CV), idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale (iNPHGS), pearson correlation coefficient (PCC), number of subjects (N), relative change from baseline (Δ)

i. Baseline		RR SYS	RR DIAS	HRV
Gait Speed	PCC	0.035	0.261	0.101
	p-value	0.880	0.253	0.662
	N	21	21	21
Step Length	PCC	-0.049	0.261	-0.076
	p-value	0.831	0.253	0.745
	N	21	21	21
Cadence	PCC	-0.012	-0.230	0.207
	p-value	0.960	0.317	0.369
	N	21	21	21
Coe Var	PCC	-0.077	-0.334	0.090
	p-value	0.740	0.139	0.699
	N	21	21	21
Bil Sym	PCC	-0.431	-0.228	-0.289
	p-value	0.051	0.320	0.203
	N	21	21	21
Vertical COMD	PCC	-0.036	0.289	0.099
	p-value	0.877	0.205	0.670
	N	21	21	21
Lateral COMD	PCC	0.558	0.661	0.026
	p-value	0.009	0.001	0.910
	N	21	21	21
iNPHGS	PCC	-0.362	-0.203	-0.072
	p-value	0.098	0.366	0.749
	N	22	22	22

ii.

		Δ RR SYS	Δ RR DIAS	Δ HRV
GG				
Δ Cadence	PCC	-0.547	-0.634	0.504
	p-value	0.082	0.036	0.114
	N	11	11	11
Δ Coe Var	PCC	-0.547	-0.634	0.504
	p-value	0.082	0.036	0.114
	N	11	11	11
Δ Vertical COMD	PCC	0.085	0.118	0.263
	p-value	0.804	0.729	0.434
	N	11	11	11
Δ Lateral COMD	PCC	-0.070	-0.499	0.032
	p-value	0.839	0.118	0.925
	N	11	11	11
Δ iNPHGS	PCC	0.279	0.198	-0.373
	p-value	0.406	0.560	0.259
	N	11	11	11
TAU				
Δ Cadence	PCC	-0.457	-0.655	0.078
	p-value	0.216	0.055	0.842
	N	9	9	9
Δ Coe Var	PCC	-0.457	-0.655	0.078
	p-value	0.216	0.055	0.842
	N	9	9	9
Δ Vertical COMD	PCC	0.122	0.412	-0.754
	p-value	0.754	0.270	0.019
	N	9	9	9
Δ Lateral COMD	PCC	0.445	0.302	-0.169
	p-value	0.230	0.429	0.664
	N	9	9	9
Δ iNPHGS	PCC	0.043	0.356	0.743
	p-value	0.907	0.313	0.014
	N	10	10	10

iii.

		Δ RR SYS	Δ RR DIAS	Δ HRV
GG				
Δ Gait Speed	PCC	-0.291	0.207	-0.536
	p-value	0.575	0.695	0.273
	N	6	6	6
Δ Cadence	PCC	-0.606	-0.565	0.764
	p-value	0.202	0.243	0.077
	N	6	6	6
Δ Coe Var	PCC	-0.606	-0.565	0.764
	p-value	0.202	0.243	0.077
	N	6	6	6
Δ Bil Sym	PCC	-0.144	-0.238	-0.833
	p-value	0.785	0.649	0.040
	N	6	6	6
Δ Vertical COMD	PCC	0.400	0.059	-0.158
	p-value	0.432	0.911	0.766
	N	6	6	6
Δ Lateral COMD	PCC	-0.048	-0.344	0.084
	p-value	0.929	0.504	0.874
	N	6	6	6
TAU				
Δ Gait Speed	PCC	0.236	0.645	-0.185
	p-value	0.573	0.084	0.691
	N	8	8	7
Δ Cadence	PCC	-0.493	-0.190	0.756
	p-value	0.260	0.684	0.082
	N	7	7	6
Δ Coe Var	PCC	-0.493	-0.190	0.756
	p-value	0.260	0.684	0.082
	N	7	7	6
Δ Bil Sym	PCC	-0.704	-0.566	-0.238
	p-value	0.078	0.185	0.649
	N	7	7	6
Δ Vertical COMD	PCC	-0.051	-0.109	-0.876
	p-value	0.914	0.816	0.022
	N	7	7	6
Δ Lateral COMD	PCC	0.091	0.504	-0.544
	p-value	0.846	0.249	0.264
	N	7	7	6

3.5 Results Fourth Hypothesis: Gait and the Severity of Depression

The fourth hypothesis examines the suitability of gait parameters and iNPHGS as predictive factors for the course of depression. Furthermore, it will be investigated what effect the administration of GG has on the clinical outcome. Therefore, both the values at baseline and the relative change of the parameters are analysed. Table 13 provides an overview of the results.

3.5.1 Clinical Rating Scales and Gait

At baseline, there was a correlation between low GAF score ($p < 0.05$), respectively high HDRS-21 score ($p < 0.1$), and high score in iNPHGS (figure 14a). A proper consistency is shown as the correlation of GAF and iNPHGS was also evident for both groups at early follow-up (GG: $p < 0.05$; TAU: $p < 0.1$). This means that higher depressiveness was related to increased iNPH-like symptomatology. In the GG group, there was also a correlation between relative change in GAF score and relative change in iNPHGS score at early follow-up: the more the GAF score increased, the more the iNPHGS score decreased ($p < 0.05$) (figure 14b). In the GG group the relative change in HDRS-21 also correlated with the relative change in iNPHGS: The more the HDRS-21 score decreased by early follow-up, the more the iNPHGS score decreased ($p < 0.01$). The same relationship was found for BDI ($p < 0.05$) and QIDS ($p < 0.05$) at early follow-up. In the TAU group, there was no significant correlation between relative change of HDRS-21 ($p = 0.51$), QIDS ($p = 0.90$) or BDI ($p = 0.54$) and iNPHGS at early follow-up.

Furthermore, when looking at the clinical course (figures 16), including gender as between subject factor, it became apparent that the GG group showed a faster clinical improvement by early follow-up when evaluated by HDRS-21 ($p < 0.05$) and GAF ($p < 0.01$). There were no significant differences at late follow-up (figures 15 c-d).

Slow gait speed and small step length were found to be positive predictive markers by early follow-up in the GG group. This was indicated by correlations between gait speed and the relative change in QIDS ($p < 0.01$), GAF ($p < 0.1$) and HDRS-21 ($p < 0.05$) (figure 15a), respectively step length and the relative change in QIDS ($p < 0.01$) (figure 15b). In the TAU group, gait speed and step length were not found to be predictive markers. However, in the TAU group there was a correlation between an increase in GAF, meaning a clinical improvement in depressivity, and

an increase in gait speed ($p < 0.05$) and step length ($p < 0.05$) at early follow-up, which again aligns with our assumptions.

Considering the vertical COMD showed the following results: A low vertical COMD was shown to be positively predictive of clinical outcome as measured by QIDS ($p < 0.1$) in the GG group at early follow-up (figure 14c). Additionally, in the TAU group, clinical improvement as measured by GAF ($p < 0.05$) and QIDS ($p < 0.1$) was associated with a reduction in vertical COMD at late follow-up (figure 14d).

Besides, a lower GAF score, i.e. a correlate of higher depressiveness, was associated with a more symmetrical gait pattern at baseline ($p < 0.1$). In the TAU group, there was a decrease in depressiveness with a decrease in symmetry of gait. This was shown at late follow-up by the BDI ($p < 0.1$) and HDRS-21 ($p < 0.1$) as clinical ratings.

Clinical improvement was also associated with a decrease in lateral COMD. A stronger decrease in lateral COMD correlated with a decrease in HDRS-21, i.e. a clinical improvement in the TAU group at late follow-up ($p < 0.1$) and in the GG group at early follow-up ($p < 0.1$). CV was shown to be a predictive marker of outcome at late follow-up in the TAU group: the lower the CV, the greater the clinical improvement as measured by QIDS ($p < 0.1$).

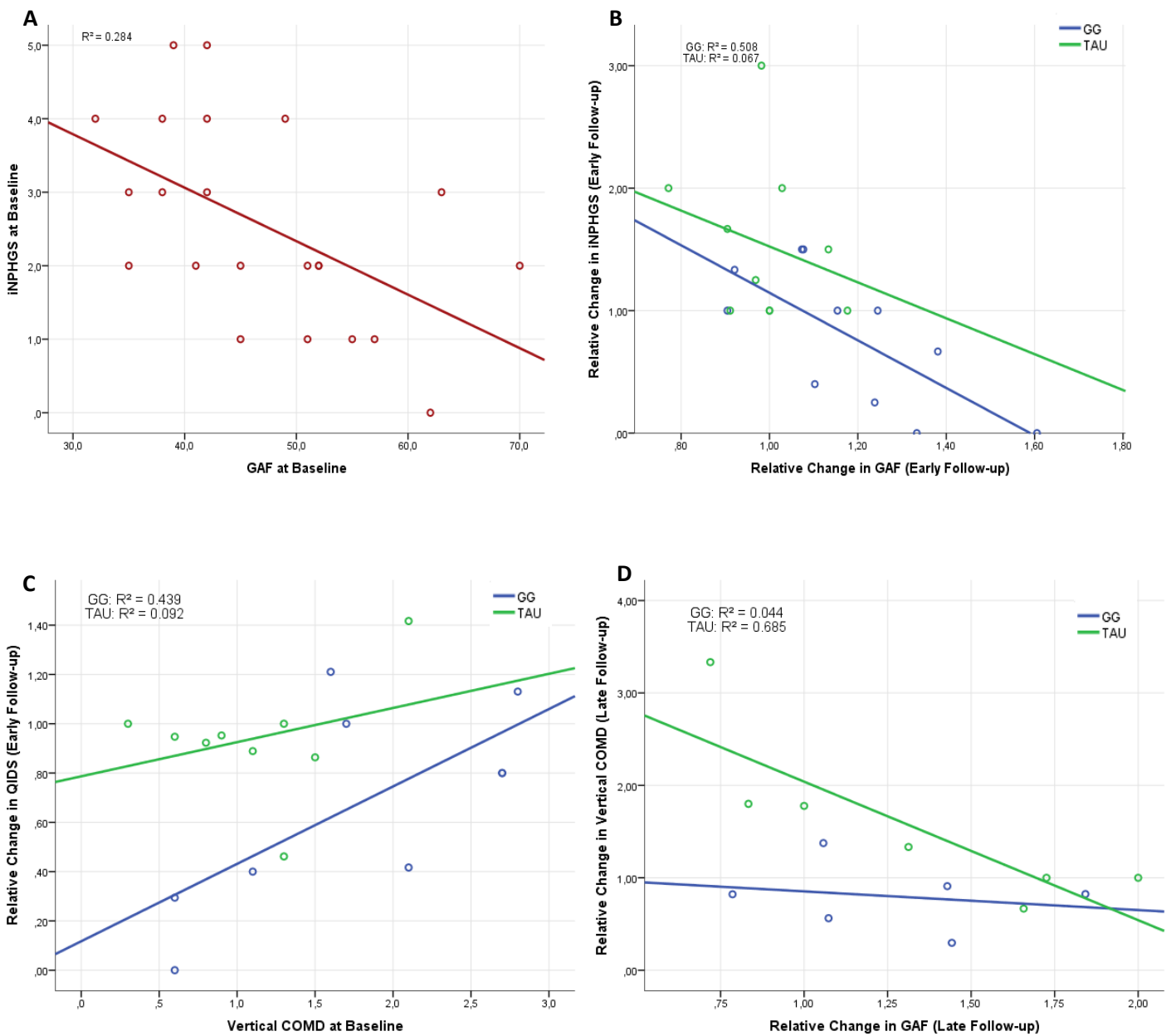


Figure 14: Gait and Clinical Rating Scales I

A: Correlation at baseline within the entire study group. Higher depressivity measured by GAF was associated with a more pronounced iNPH-like symptomatology. ($n = 22$, $p < 0.05$)

B: A significant correlation was shown for the GG group to early follow-up: A clinical improvement measured by the GAF was associated with a decrease in iNPH-like symptomatology. ($n = 11$, $p < 0.05$)

C: A significant correlation was shown for the GG group: Correlations of the predictivity of vertical COMD for clinical improvement measured by QIDS to early follow-up. ($n = 9$, $p < 0.1$)

D: A significant correlation was shown for the TAU group: A clinical improvement measured by the GAF was associated with a decrease in vertical COMD to late follow-up. ($n = 7$, $p < 0.05$)

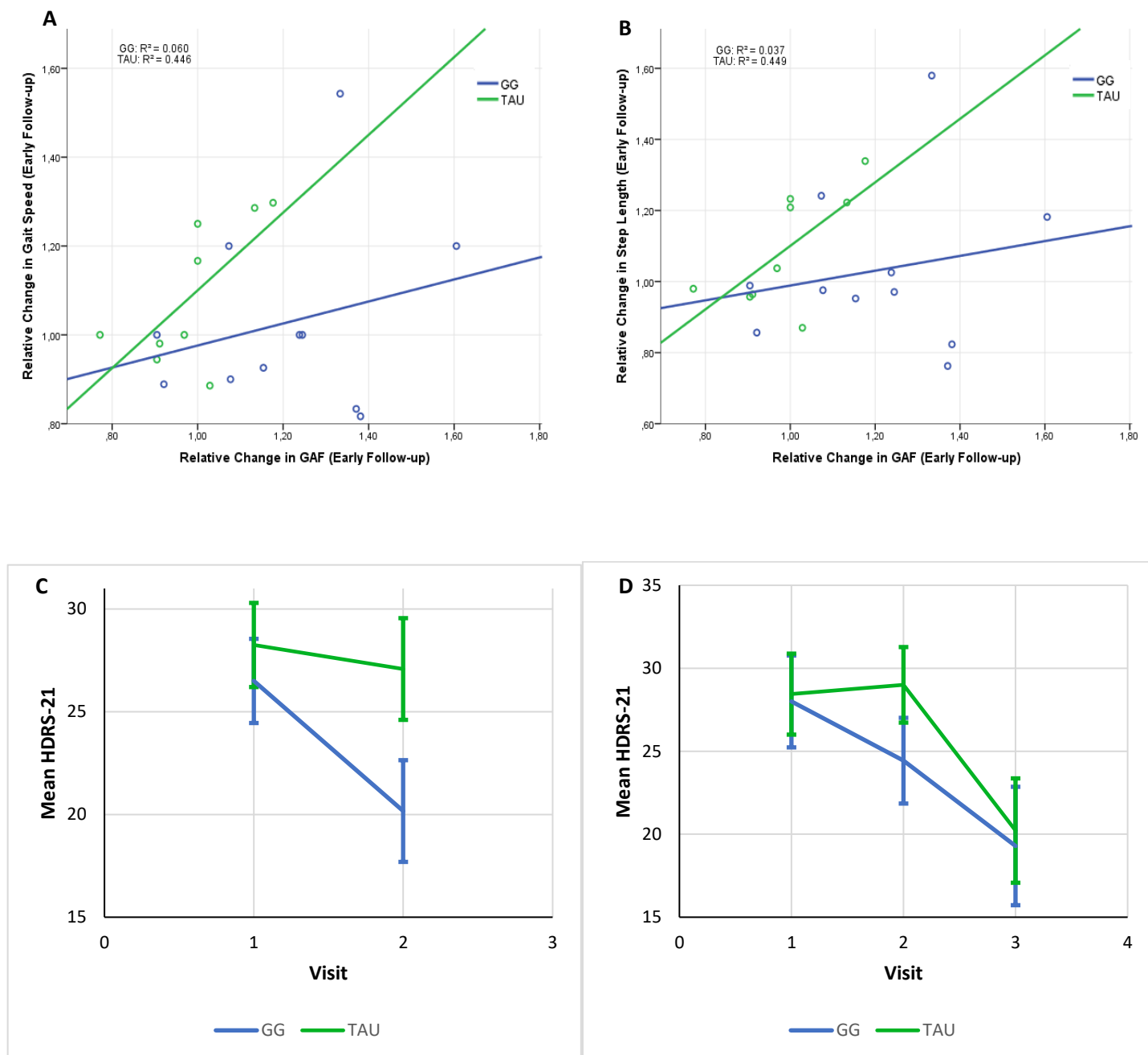


Figure 15: Gait and Clinical Rating Scales II

A: A significant correlation was shown for the TAU group: A clinical improvement measured by the GAF was associated with an increase in gait speed to early follow-up. ($n = 9$, $p < 0.05$)

B: A significant correlation was shown for the TAU group: A clinical improvement measured by the GAF was associated with an increase in step length to early follow-up. ($n = 9$, $p < 0.05$)

C: Comparison of alteration of mean HDRS-21 between the GG and TAU group from baseline to early follow-up (GG: $n = 12$; TAU: $n = 12$, $p < 0.05$)

D: Comparison of alteration of mean HDRS-21 between the GG and TAU group from baseline to late follow-up (GG: $n = 7$; TAU: $n = 9$, $p = 0.691$)

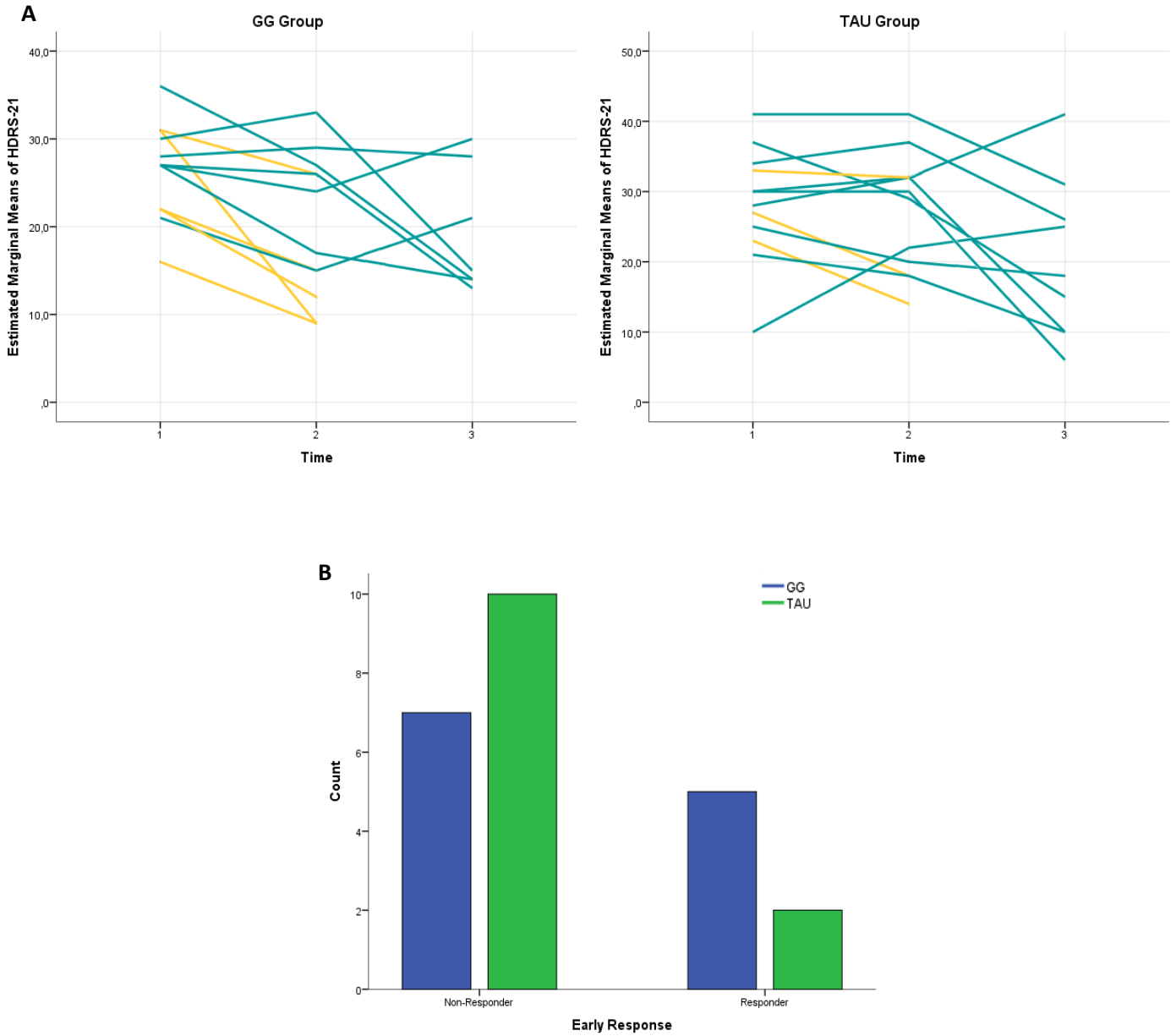


Figure 16: Clinical Course

A: The clinical course of the study patients is illustrated: on the left for the GG group, on the right for the TAU group. Each line shows the course of depression severity for an individual patient as measured by the HDRS-21. Subjects who were discharged after the first follow-up are displayed in orange, subjects who participated in all three examinations in blue.

B: The group-specific early response is shown here. Early response was considered as a reduction of $\geq 20\%$ in HDRS-21 from baseline to early follow-up.

Table 13: Overview of the Correlations between Gait and Clinical Rating Scales

- i. Correlations of the entire group at baseline
 - ii. Correlations at early follow-up
 - iii. Correlations of the predictivity of Gait for clinical improvement to early follow-up
 - iv. Correlations of the predictivity of Gait for clinical improvement to late follow-up
 - v. Correlations between the relative changes of gait parameters and clinical rating scales to early follow-up.
 - vi. Correlations between the relative changes of gait parameters and clinical rating scales to late follow-up.
- Abbreviations: Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS), Becks Depressions Inventar (BDI), Global Assessment of Functioning (GAF), Hamilton Depression Rating Scale (HDRS), center of mass displacement (COMD), Coefficient of variation (CV), idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale (iNPHGS), pearson correlation coefficient (PCC), number of subjects (N), relative change from baseline (Δ)

i. Baseline		QIDS	BDI	GAF	HDRS-21
Gait Speed	PCC	0.092	0.095	-0.128	0.182
	p-value	0.693	0.682	0.582	0.429
	N	21	21	21	21
Step Length	PCC	0.074	0.056	-0.208	0.136
	p-value	0.748	0.809	0.366	0.555
	N	21	21	21	21
Cadence	PCC	0.009	0.202	0.101	0.097
	p-value	0.970	0.379	0.662	0.675
	N	21	21	21	21
Coe Var	PCC	-0.133	0.002	0.159	-0.103
	p-value	0.565	0.994	0.490	0.656
	N	21	21	21	21
Bil Sym	PCC	0.023	0.351	-0.382	0.158
	p-value	0.920	0.119	0.087	0.495
	N	21	21	21	21
Vertical COMD	PCC	0.122	0.050	-0.150	0.068
	p-value	0.599	0.828	0.517	0.771
	N	21	21	21	21
Lateral COMD	PCC	-0.311	-0.358	0.348	-0.258
	p-value	0.170	0.111	0.123	0.258
	N	21	21	21	21
iNPHGS	PCC	0.313	0.317	-0.533	0.422
	p-value	0.156	0.151	0.011	0.051
	N	22	22	22	22

ii. Early Follow-up		GAF	
GG			
iNPHGS	PCC		-0.605
	p-value		0.037
	N		12
TAU			
iNPHGS	PCC		-0.592
	p-value		0.071
	N		10

iii.

		Δ QIDS	Δ BDI	Δ GAF	Δ HDRS-21
GG					
Gait Speed	PCC	0.868	0.543	-0.565	0.615
	p-value	0.002	0.131	0.070	0.044
	N	9	9	11	11
Step Length	PCC	0.834	0.510	-0.484	0.514
	p-value	0.005	0.161	0.132	0.106
	N	9	9	11	11
Vertical COMD	PCC	0.663	0.360	-0.273	0.254
	p-value	0.052	0.342	0.418	0.452
	N	9	9	11	11
Lateral COMD	PCC	0.330	-0.017	0.095	0.044
	p-value	0.385	0.965	0.781	0.898
	N	9	9	11	11
TAU					
Gait Speed	PCC	0.309	0.075	-0.503	0.224
	p-value	0.418	0.849	0.168	0.534
	N	9	9	9	10
Step Length	PCC	0.293	-0.115	-0.412	0.322
	p-value	0.444	0.768	0.270	0.364
	N	9	9	9	10
Vertical COMD	PCC	0.303	-0.117	-0.144	0.225
	p-value	0.428	0.765	0.711	0.531
	N	9	9	9	10
Lateral COMD	PCC	-0.286	-0.331	-0.153	0.166
	p-value	0.455	0.384	0.695	0.646
	N	9	9	9	10

iv.

		Δ QIDS	Δ BDI
GG			
Coe Var	PCC	0.607	0.482
	p-value	0.201	0.333
	N	6	6
Bil Sym	PCC	0.796	0.831
	p-value	0.058	0.041
	N	6	6
TAU			
Coe Var	PCC	0.747	0.650
	p-value	0.054	0.114
	N	7	7
Bil Sym	PCC	-0.289	-0.338
	p-value	0.530	0.459
	N	7	7

V.

		Δ QIDS	Δ BDI	Δ GAF	Δ HDRS-21
GG					
Δ Gait Speed	PCC	-0.140	-0.127	0.245	-0.309
	p-value	0.719	0.744	0.468	0.355
	N	9	9	11	11
Δ Step Length	PCC	-0.054	-0.071	0.191	-0.227
	p-value	0.889	0.856	0.573	0.502
	N	9	9	11	11
Δ Vertical COMD	PCC	-0.302	0.028	0.219	-0.361
	p-value	0.429	0.942	0.518	0.275
	N	9	9	11	11
Δ Lateral COMD	PCC	-0.514	0.029	0.425	-0.566
	p-value	0.157	0.941	0.192	0.070
	N	9	9	11	11
Δ iNPHGS	PCC	0.745	0.773	-0.713	0.783
	p-value	0.034	0.024	0.014	0.004
	N	8	8	11	11
TAU					
Δ Gait Speed	PCC	-0.144	-0.384	0.667	-0.244
	p-value	0.713	0.308	0.049	0.527
	N	9	9	9	9
Δ Step Length	PCC	-0.124	-0.261	0.670	-0.301
	p-value	0.750	0.498	0.048	0.431
	N	9	9	9	9
Δ Vertical COMD	PCC	0.004	-0.249	-0.173	-0.163
	p-value	0.991	0.518	0.657	0.675
	N	9	9	9	9
Δ Lateral COMD	PCC	0.205	0.110	0.034	-0.205
	p-value	0.597	0.779	0.930	0.597
	N	9	9	9	9
Δ iNPHGS	PCC	-0.046	0.219	-0.258	0.239
	p-value	0.899	0.543	0.471	0.506
	N	10	10	10	10

vi.

		Δ QIDS	Δ BDI	Δ GAF	Δ HDRS-21
GG					
Δ Bil Sym	PCC	-0.055	0.233	-0.748	0.473
	p-value	0.918	0.656	0.087	0.344
	N	6	6	6	6
Δ Vertical COMD	PCC	0.314	0.079	-0.209	0.366
	p-value	0.545	0.882	0.690	0.476
	N	6	6	6	6
Δ Lateral COMD	PCC	-0.800	-0.678	0.744	-0.858
	p-value	0.056	0.139	0.090	0.029
	N	6	6	6	6
Δ iNPHGS	PCC	-0.728	-0.957	0.636	-0.782
	p-value	0.101	0.003	0.175	0.066
	N	6	6	6	6
TAU					
Δ Bil Sym	PCC	0.505	0.754	-0.578	0.737
	p-value	0.306	0.083	0.174	0.059
	N	6	6	7	7
Δ Vertical COMD	PCC	0.776	0.547	-0.827	0.403
	p-value	0.070	0.261	0.022	0.370
	N	6	6	7	7
Δ Lateral COMD	PCC	0.371	0.423	-0.454	0.748
	p-value	0.469	0.403	0.306	0.053
	N	6	6	7	7
Δ iNPHGS	PCC	0.315	0.401	-0.632	0.285
	p-value	0.447	0.325	0.068	0.457
	N	8	8	9	9

3.5.2 Clinical Rating Scales and Hormones

Renin

At early follow-up, there was a significant correlation between the relative change in renin level and GAF in both groups (GG: $p < 0.05$; TAU: $p < 0.05$). With decreasing renin level, there was an increase in GAF score, thus clinical improvement. In addition, in the GG group, as the renin level decreased, there was also a decrease in HDRS-21 ($p < 0.01$), also implying clinical improvement (figure 17).

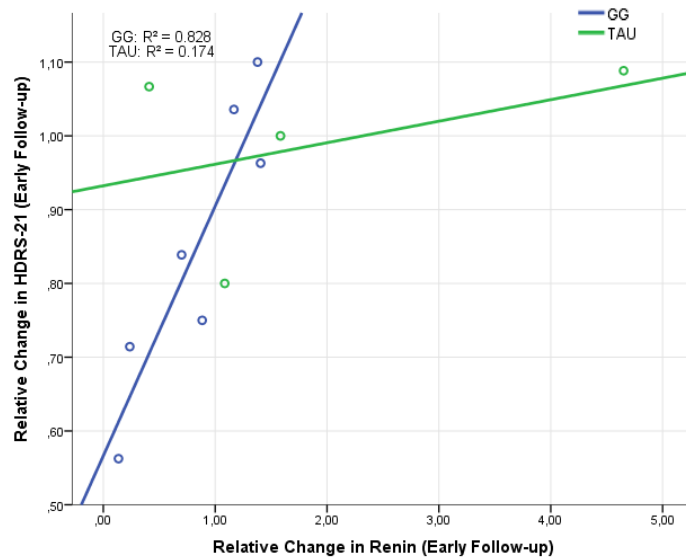


Figure 17: Changes in Renin Level and Clinical Course

A significant correlation was shown for the GG group: A clinical improvement measured by the HDRS-21 was associated with a decrease of the renin level to early follow-up. ($n = 7$, $p < 0.01$)

Aldosterone and Aldo/Cort Ratio

There were no significant correlations at baseline with clinical rating scales and aldosterone, aldo/cort ratio respectively. In the GG group, there was by trend an association between the relative change in salivary aldosterone and QIDS ($p < 0.1$), or BDI ($p < 0.1$) at early follow-up. However, a stronger increase in aldosterone levels was associated with a stronger decrease in depressivity.

At late follow-up, the TAU group showed that a decrease in depressivity, measured by QIDS ($p < 0.05$), GAF ($p < 0.05$) and BDI ($p < 0.05$), was associated with a decrease in aldosterone levels (figure 18).

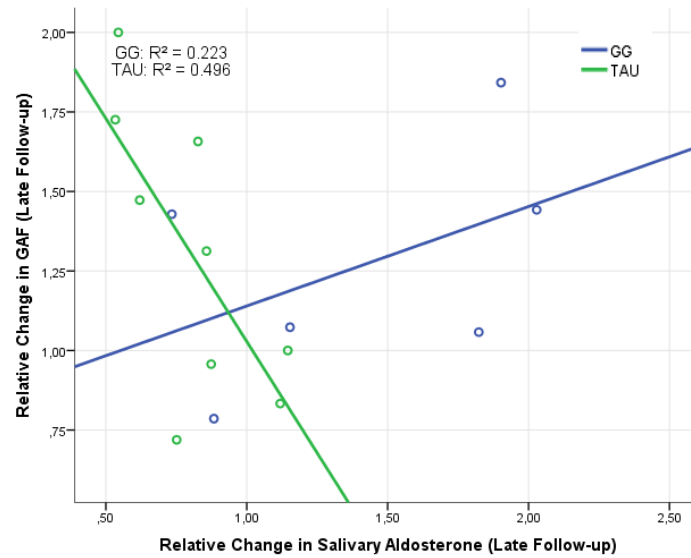


Figure 18: Changes in Salivary Aldosterone and Clinical Course

A significant correlation was shown for the TAU group: A clinical improvement measured by the GAF was associated with a decrease of the salivary aldosterone to late follow-up. ($n = 9, p < 0.05$)

Table 14: Overview of the Correlations between Hormone Levels and Clinical Rating Scales

- i. Correlations of the entire group at baseline
- ii. Correlations between the relative changes of gait parameters and hormone levels to early follow-up.
- iii. Correlations between the relative changes of gait parameters and hormone levels to late follow-up.

Abbreviations: Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS), Becks Depressions Inventor (BDI), Global Assessment of Functioning (GAF), Hamilton Depression Rating Scale (HDRS), aldosterone cortisol ratio (Aldo/Cort Ratio), pearson correlation coefficient (PCC), number of subjects (N), relative change from baseline (Δ)

i. Baseline		QIDS	BDI	GAF	HDRS-21
Renin	PCC	-0.312	-0.313	-0.051	-0.327
	p-value	0.239	0.238	0.851	0.217
	N	16	16	16	16
Aldosterone	PCC	-0.230	0.014	-0.107	0.331
	p-value	0.279	0.948	0.617	0.114
	N	24	24	24	24
Aldo/Cort Ratio	PCC	0.112	0.074	0.188	0.053
	p-value	0.601	0.730	0.378	0.807
	N	24	24	24	24

ii.

		Δ QIDS	Δ BDI	Δ GAF	Δ HDRS-21
GG					
Δ Renin	PCC	0.882	0.853	-0.823	0.910
	p-value	0.118	0.147	0.023	0.004
	N	4	4	7	7
Δ Aldosterone	PCC	-0.594	-0.645	0.202	-0.357
	p-value	0.092	0.061	0.529	0.254
	N	9	9	12	12
Δ Aldo/Cort Ratio	PCC	-0.024	-0.137	-0.160	-0.162
	p-value	0.951	0.725	0.619	0.615
	N	9	9	12	12
TAU					
Δ Renin	PCC	-0.681	0.174	-0.989	0.417
	p-value	0.319	0.826	0.011	0.583
	N	4	4	4	4
Δ Aldosterone	PCC	-0.047	0.406	0.208	-0.001
	p-value	0.897	0.244	0.564	0.997
	N	10	10	10	10
Δ Aldo/Cort Ratio	PCC	0.062	0.167	0.027	-0.169
	p-value	0.865	0.645	0.940	0.642
	N	10	10	10	10

iii.

		Δ QIDS	Δ BDI	Δ GAF	Δ HDRS-21
GG					
Δ Renin	PCC	-0.490	-0.857	0.761	-0.770
	p-value	0.402	0.063	0.135	0.128
	N	5	5	5	5
Δ Aldosterone	PCC	-0.022	-0.534	0.472	-0.075
	p-value	0.968	0.275	0.345	0.872
	N	6	6	6	7
Δ Aldo/Cort Ratio	PCC	0.423	0.242	-0.621	0.708
	p-value	0.404	0.645	0.188	0.075
	N	6	6	6	7
TAU					
Δ Renin	PCC	-1.000	-1.000	1.000	-1.000
	p-value
	N	2	2	2	2
Δ Aldosterone	PCC	0.744	0.817	-0.704	0.485
	p-value	0.034	0.013	0.034	0.186
	N	8	8	9	9
Δ Aldo/Cort Ratio	PCC	0.404	0.076	-0.056	-0.103
	p-value	0.321	0.859	0.886	0.793
	N	8	8	9	9

4. Discussion and Conclusion

The aim of this study was firstly to investigate the value of gait pattern as a potential biomarker of MR function in MDD. Secondly, to investigate the benefit of additional GG therapy in MDD and its influence on MR function and MR related biomarkers.

4.1 Depression and Hormones

In recent years, aldosterone has increasingly emerged as a possible marker for depression (Emanuele *et al.*, 2005; Franklin *et al.*, 2012; Murck *et al.*, 2003). An increase in aldosterone was detected as an early stress response, whereas cortisol increases only at a later point in time (Franklin *et al.*, 2012). MR dysfunction and associated alterations in aldosterone levels are particularly associated with therapy-refractory depression (Pfaff and Joëls, 2017). Furthermore, the administration of aldosterone leads to anxious and depression-like behaviour. In addition, a decrease in renin levels was observed with aldosterone treatment (Hlavacova and Jezova, 2008). Within our study we tried to reproduce these correlations.

4.1.1 Renin

Clinical improvement as measured by GAF was associated with a decrease in renin levels. This was seen in both groups by early follow-up. In the GG group, there was also a correlation with clinical improvement as measured by HDRS-21. A sensitisation of peripheral MR in the context of clinical improvement, leading to an improved effect of aldosterone and a consecutive decrease in renin levels via the feedback mechanism, could be conceivable. The fact that under aldosterone treatment, which leads to an increased activation of peripheral MR, renin levels decrease (Hlavacova and Jezova, 2008), supports this assumption. However, the number of subjects from whom we were able to determine the renin levels is very limited, which is why the interpretation is very restricted.

4.1.2 Aldosterone and Aldo/Cort Ratio

In the GG group, an increase in aldosterone level at early follow-up was associated with a decrease in depressivity as measured by QIDS and BDI. In contrast, in the TAU group, clinical improvement as measured by QIDS, GAF and BDI was linked to a decrease in aldosterone levels at late follow-up. At baseline, there was a significant difference in aldosterone levels between the two groups, with significantly higher aldosterone levels in the TAU group. The increase in aldosterone in the GG group and the decrease in the TAU group may be due to a regression to

the mean on the one hand and due to a floor effect on the other. However clinical improvement has been observed with reduced aldosterone levels in schizophrenia (Jezova *et al.*, 2019) and depression (Otte *et al.*, 2010).

4.2 Gait Parameter and iNPHGS

Prior work has documented changes of gait parameters for patients with MDD (Brandler *et al.*, 2012; Hausdorff *et al.*, 2004; Lemke *et al.*, 2000; Radovanović *et al.*, 2014) or iNPH (Selge *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2016). These two conditions show parallels in the changes of gait, like decreased gait speed and step length. In the case of iNPH, the iNPHGS was established for the assessment of clinical severity. In addition to urinary incontinence and cognitive deficits, changes in gait are assessed (Kubo *et al.*, 2008). Also, the iNPHGS has not yet been performed on patients with MDD. In this study, we tested the iNPHGS as a clinical parameter for gait changes in MDD, as it is quick and easy to perform. We also tested whether it could be a rating tool to identify patients with changes in MR-activity in MDD.

As COMD is considered an index of balance, higher values of COMD are associated with poorer balance (Tesio and Rota, 2019). Patients with iNPH show balance limitations in addition to further gait changes, which both together lead to an increased risk of falls (Nikaido *et al.*, 2019). A more severe symptomatology of iNPH, according to a higher score in iNPHGS, is correspondingly associated with poorer balance. In our study, patients with high iNPHGS scores showed a greater vertical COMD at baseline. This finding is in line with the assumptions derived from preceding work. High scores in the iNPHGS might be seen as an indicator of poorer balance in patients with MDD. It also appeared that high vertical COMD at baseline correlated with an increase in iNPHGS in the TAU group to early follow-up. This indicates consistency in the correlations between the vertical COMD and the iNPHGS and suggests that the vertical COMD may be predictive with respect to iNPH-like symptomatology.

In addition, at baseline our patients showed less variability in stride time (CV) at higher iNPHGS scores. Based on the results of previous studies (Hausdorff *et al.*, 2004; Lim *et al.*, 2019), we would have expected an increased CV, i.e. stride time variability, in patients with high iNPHGS. Hausdorff *et al.* studied changes of gait in patients with MDD and bipolar disorder in comparison to a control group. In their study, an increase in swing time variability, which correlates with stride time variability, was found. No increase in stride time variability itself was reported. They

justify the result with a higher sensitivity of swing than stride time variability. In contrast to the stride time variability, the swing time variability is independent of the gait speed (Frenkel-Toledo *et al.*, 2005). Also within other studies, an increased swing time variability (Radovanović *et al.*, 2014) but no increased stride time variability (Dragašević-Mišković *et al.*, 2021) could be found in MDD. Though, an improvement of stride time variability under antidepressant therapy could be shown (Paleacu *et al.*, 2007). In patients with iNPH an increase in stride time variability has been reported (Lim *et al.*, 2019; Selge *et al.*, 2018). The difference in the findings between MDD and iNPH could be due to the fact that ageing is associated with an increase in stride time variability (Bailey *et al.*, 2020). As iNPH is a disease of the elderly it is therefore not surprising that an increased stride time variability was also found in these patients. With a mean age of 39.8 years, our study patients are younger than the average patient with iNPH. Further, a low reliability of CV must be considered. As far as this is concerned, however, the study results diverge. Poor reliability of CV is reported in some studies (Ryan, Bruno and Barden, 2020), high in others (Choi *et al.*, 2015). A higher CV can be found in patients with iNPH in several independent studies (Lim *et al.*, 2019; Selge *et al.*, 2018). This consistency would tend to indicate good reliability regarding iNPH. However, it should not be forgotten that patients with iNPH may have significantly more pronounced gait disturbances than patients with MDD. The changes in gait pattern in MDD are correspondingly more difficult to capture. Thus, due to more pronounced gait disturbances, the reliability for CV may be good in iNPH, whereas this may not be the case in MDD on account of the less pronounced motor component. Why, however, not only a lack of significance but a significance with an opposite correlation was presented, will be further discussed in following sections.

Patients with iNPH were found to have a reduced step length (Lim *et al.*, 2019; Nikaido *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2016). Through therapy, an improvement, in the sense of an increase in step length, could be achieved (Panciani *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2018). A reduction in step length has also been described in patients with MDD (Hausdorff *et al.*, 2004; Lemke *et al.*, 2000); an improvement under antidepressant therapy was shown by Paleacu *et al.*. In our study, TAU patients showed that a greater reduction in the iNPHGS score was accompanied by a greater increase in step length to early follow-up. This result is compatible with the findings described above.

Overall, an association between the iNPHGS and the gait parameters in patients with MDD could be established and suggests that the iNPHGS could also be well used to detect gait disorders and its severity as a correlate in MDD.

4.3 Gait and Depression

Changes in gait pattern in MDD are shifting further and further into the field of interest of research. In this process, mainly one-time examinations of the gait pattern were carried out. Changes of the gait pattern in the course of clinical improvement have hardly been considered so far. In our study we intended to test the gait parameters as markers of clinical course. In addition, we wanted to investigate its dependence on MR function, which, however, will be discussed further in a subsequent part. Besides correlations between gait parameters calculated by a smartphone app and depressivity, correlations with the iNPHGS were also examined. The iNPHGS survey was conducted firstly to test its suitability as a clinical rating for gait changes in MDD, and secondly to generate a specific rating to capture depression with MR dysfunction. The possible use of the iNPHGS for gait assessment has already been discussed in the previous section. Based on the results available to us, we assumed that it is possible to assess the severity of gait changes using the iNPHGS. In this section, we will further discuss the correlation between gait parameters, including the iNPHGS, and depression.

Firstly, a relation of higher depressiveness and increased iNPH-like symptomatology was observed. This result was consistent as far as this correlation was not only observed in the overall group at baseline, but also at early follow-up within the individual groups. In addition, the GG group also showed that a decrease in depressiveness was accompanied by a decrease in iNPHGS by early follow-up. This raises the assumption that the iNPHGS is a potential rating to assess specific symptoms in MDD which may have an impact on the clinical characteristics related to iNPH.

The vertical COMD, as a measure of balance, was already shown to be a possible correlate regarding iNPH-like symptomatology. Also, it was possible to establish a connection between the vertical COMD and depressivity. Thus, in the GG group, a low vertical COMD was found to be positively predictive of improvement at early follow-up as measured by the QIDS. In the TAU group, clinical improvement as evaluated by GAF and QIDS was associated with a reduction in vertical COMD at late follow-up. The data on COMD in depression is limited so far. Michalak *et*

al. report 'larger lateral swaying movements of the upper body' in depressed and sad subjects. We could not find further studies on vertical or lateral COMD in MDD. But in healthy subjects, it became apparent that measurements of vertical and lateral COMD using a smartphone app showed that it is a reliable gender-independent parameter that can be used for gait analysis (An and Woo, 2017). Increased COMD turned out to be energetically unfavourable and is associated with increased oxygen consumption (Orendurff *et al.*, 2004). In addition, previous studies showed that post-stroke patients present a greater COMD than the control group (do Carmo, Kleiner and Barros, 2015). This indicates that a larger COMD is a rather unfavourable movement. The assumption that increased depressiveness could be associated with a larger vertical COMD is accordingly largely plausible in the context of the preliminary findings.

Additionally, the TAU group at late follow-up showed that greater clinical improvement, as measured by the HDRS-21, was associated with a greater decrease in lateral COMD. Hence, the lateral COMD could be suitable as parameter for clinical course.

Moreover, in the TAU group, clinical improvement by early follow-up, which in this case presented as an increase in GAF, was associated with an increase in gait speed and step length. This suggests that increased depressivity is associated with decreased gait speed and step length and fits with previous study results (Hausdorff *et al.*, 2004; Lemke *et al.*, 2000; Paleacu *et al.*, 2007). Looking at relative change rather than baseline values puts differences in basic speed into perspective and creates better comparability. Accordingly, relative changes of gait speed and step length could be suitable parameters for clinical course.

However, in the GG group, low gait speed and small step length were found to be positively predictive of improvement at early follow-up. This was shown in significant correlations for low gait speed at baseline with an increase of GAF, as well as with a decrease of QIDS and HDRS-21 and for short step length at baseline with a decrease of the QIDS. One possible reason for the result could be that GG intake influences gait and depression differently and accordingly leads to a change in correlations. Kinoshita *et al.* conducted a placebo-controlled study to investigate the effect of licorice flavonoid supplementation on gait, in which the subjects took capsules containing 300 mg of the oil daily for 16 weeks. An improvement in balance was observed, while there was no change in gait speed. This could be explained by the fact that gait speed and gait variability are generated and modulated by different cerebral networks. A study by Lo *et al.* showed that frontoparietal networks with executive function are particularly activated for gait speed. For gait variability, on the other hand, the '*functional connectivity between the dorsal*

attention network and the default network' (Lo et al., 2017) with the function of '*attention over time*' (Lo et al., 2017) is particularly important. Moreover, Starr et al. demonstrated that gait variability is associated with white matter lesions and periventricular lesions. In this respect, they could not find any associations with gait speed. However, gait speed was linked to anxiety and depressivity. This illustrates the complexity of the generation of gait and a necessity to differentiate the interpretation of the individual gait parameters. With regard to the administration of GG and its influence on gait parameters, it can be stated that gait speed and step length are not suitable biomarkers for assessing the success of therapy. Hence, parameters of balance might be better suited for this purpose. The above-mentioned association between the vertical COMD, as a measure of balance, and depressivity, which was found in our study, also corresponds to this. On the other hand, slowed gait speed and shortened stride length represent a stronger manifestation of the symptomatology of psychomotor retardation. '*Psychomotor retardation is also related to depression severity and therapeutic change and could be considered a good criterion for the prediction of therapeutic effect. [...] [M]otor disturbance in depression may indicate an underlying neuropathology and could be relevant in the context of therapeutic interventions*' (Bennabi et al., 2013). The fact that especially patients with pronounced psychomotor retardation who receive additional therapy with GG, show a stronger clinical improvement, indicates that gait speed and stride length could be predictors of response to additional therapy with GG in MR dysfunction.

Moreover, higher depressivity correlated with a more symmetrical gait pattern. There was consistency in the results in that a greater decrease in bilateral symmetry was associated with a greater decrease in depressivity in the TAU group until late follow-up. Only a limited assessment is possible due to the number of subjects. So far, increased gait asymmetry has been observed mainly after stroke (Meijer et al., 2011). Also older people showed a more asymmetrical gait pattern (Kobayashi, Kakihana and Kimura, 2014). Depending on subjects characteristics, age can bias the results accordingly. With a mean age of 39.8 ± 13.1 years, our study group does not have a particularly high age, which is why a bias of the study results by age can be largely excluded. Studies on bilateral symmetry in MDD are so far limited. Yet Paleacu et al., 2007 showed an improvement in symmetry under antidepressant therapy in patients with MDD. Moreover, Nagano et al. showed that higher bilateral symmetry was associated with a better mental state. On the other hand, they report that an asymmetrical gait pattern is not only pathological, but can also occur in healthy individuals (Nagano et al., 2013). Here they refer to Sadeghi's hypothesis, which states that the asymmetry reflects different main functions of both

legs: one leg is primarily responsible for propulsion, the other for stabilisation (Sadeghi *et al.*, 2000). An asymmetry of the gait pattern has already been shown in previous studies even in healthy people (Õunpuu and Winter, 1989; Singh, 1970; Wheelwright *et al.*, 1993). Õunpuu and Winter hypothesised that although the gait pattern is asymmetrical even in healthy people, this asymmetry can be pathologically increased beyond the average level. The fact that the gait pattern can also be more symmetrical than in healthy individuals has not yet been reported but is conceivable. Another study showed a dependence of bilateral symmetry on gait speed. When walking slowly, there was less asymmetry (Kozłowska, Latka and West, 2017). Since patients with MDD have a slower gait speed, it makes sense that a more symmetrical gait pattern would be observed as an indirect marker. If an improvement in depressive symptoms is accompanied by an increase in gait speed, it could be that this increase in speed leads to a more asymmetrical gait pattern. Our TAU patients also showed an increase in gait speed with a decrease in depressivity. This suggests that the increase in asymmetry is due to the increase in gait speed. The inclusion of gait speed when assessing bilateral symmetry seems to be useful for subsequent studies.

There was a further correlation between depressivity and gait pattern, which manifested itself from baseline to late follow-up: In the TAU group, a low CV was shown to be a correlate of depressivity measured by QIDS. This result is analogous to suppositions made in previous studies (Paleacu *et al.*, 2007; Radovanović *et al.*, 2014), but contrary to our observed correlation of low CV and high iNPHGS. However, due to the small number of subjects and the inconsistency of the CV within our results, this significance should be interpreted with caution.

All in all, the iNPHGS seems to be not only an assessment for changes in gait in MDD, but also for depressivity as associated with depression at baseline and in relative change over time. The vertical COMD prevailed as a correlate in GG subjects and as a predictive outcome marker of clinical improvement in TAU subjects. Even if the vertical COMD does not clearly show the exact same correlations in both groups, one can see that correlations between the severity of the depression and the extent of the vertical COMD are probable. The fact that correlations were found between iNPHGS and vertical COMD, iNPHGS and the clinical rating as well as vertical COMD and the clinical rating supports the validity of the results. Furthermore, gait speed and step length could serve as correlates in patients without GG therapy.

Before assessing the usefulness of bilateral symmetry as a biomarker, further studies involving gait speed in the evaluations of bilateral symmetry are advisable. Whether CV could be useful as a predictive parameter also needs further clarification in a larger number of subjects.

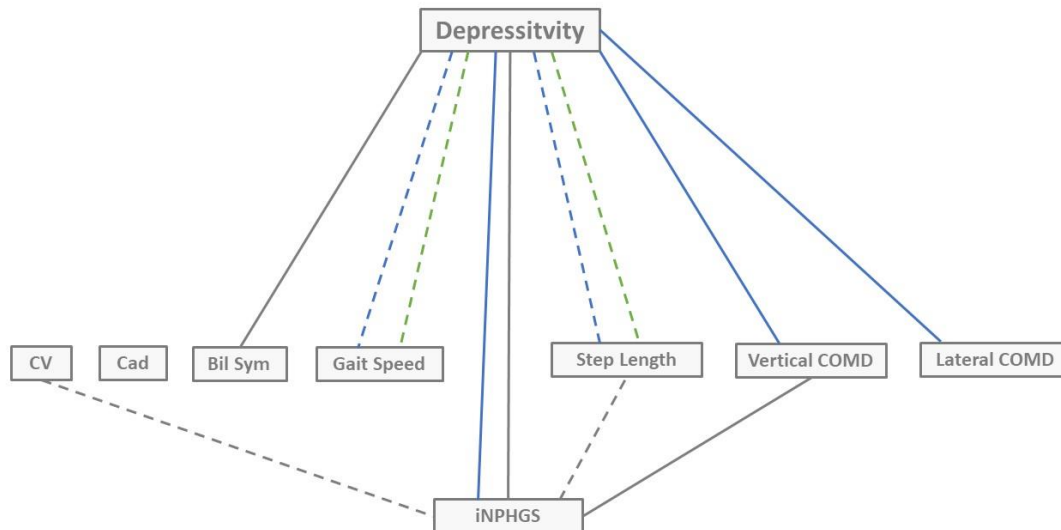


Figure 19: Gait and Depressivity

This figure shows an overview of our study results concerning the correlations between gait and depression. Gray lines represent correlations of the entire study group at baseline. Green lines represent correlations in the TAU group at early follow-up, blue lines represent correlations in the GG group at early follow-up. solid lines indicate positive correlations, dashed lines indicate inverse correlations.

4.4 Gait and Hormones

Several studies have already been conducted on changes in gait in depression (Hausdorff *et al.*, 2004; Lemke *et al.*, 2000) and studies on changes in hormone balance in depression (Emanuele *et al.*, 2005; Franklin *et al.*, 2012; Murck, 2003). In this context, mainly alterations of the cortisol level were examined (Fiksdal *et al.*, 2019; Stroud *et al.*, 2016; Zorn *et al.*, 2017). Aldosterone usually plays a subordinate role in the investigations. However, aldosterone has been shown to be a marker of the early stress response (Franklin *et al.*, 2012). Furthermore, MR dysfunction, which causes increased aldosterone levels and is accompanied by alterations in the activity of the HPA axis (Jurueña and Pariante *et al.*, 2009) and the RAAS (Appleton *et al.*, 2015), is associated with TRD (Murck and Lehr *et al.*, 2020). The aim here was to investigate the relationship between changes in gait and changes in HPA and RAAS in MDD.

In the TAU group, by late follow-up, a greater decrease in aldosterone levels was associated with a greater decrease in bilateral symmetry. In the GG group, early follow-up showed that gait became more asymmetrical in relation to a greater decrease in the ald/cort ratio. Although these observations are contrary to our expectations, they are consistent in that higher depressivity was associated with a more symmetrical gait pattern. Furthermore, it became apparent that high renin levels were also associated with a more symmetrical bilateral gait pattern at baseline. Assuming that in a group of patients, particularly with therapy-refractory MDD, there is an overactivity of the RAAS and consequently an increased aldosterone level, respectively ald/cort ratio (Büttner *et al.*, 2015), the correlations between bilateral symmetry, renin, aldosterone level and depressivity are coherent. In several studies, inhibition of RAAS has been shown to have a positive effect on physical performance on the one hand (Laudisio *et al.*, 2017; Onder *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 2013) and on mood on the (Juruena *et al.*, 2013; Pfaff and Joëls, 2017; Wright and Harding, 2011). This suggests that changes in the RAAS, as can also occur in MDD (Büttner *et al.*, 2015), are associated with poorer physical performance, which should be detectable in terms of a change in gait pattern. We are not aware of any studies that examined the direct influence of RAAS activity on gait. This complicates the interpretation of our results, but there is indication of an influence of aldosterone on gait in MDD. Further studies with a larger number of cases are necessary to obtain definitive conclusions. Here, too, the more symmetrical gait pattern can possibly be explained by a lower gait speed, which is why here, too, it seems to make sense to include gait speed in investigations of symmetry in subsequent studies (Kozłowska, Latka and West, 2017).

Likewise against expectations, the TAU group showed that a stronger decrease in the ald/cort ratio at early follow-up was accompanied by a stronger increase in iNPHGS. CSF aldosterone levels were found to be elevated in patients with NPH compared to controls. Whereas CSF cortisol levels did not show any change, cortisone levels were decreased (Sosvorova *et al.*, 2015). Accordingly, the CSF ald/cort ratio would be increased in patients with iNPH. Due to this, a decrease in the iNPHGS was to be expected in conjunction with a decrease in the ald/cort ratio. It is questionable whether a one-time assessment of the ald/cort ratio is representative as a measure of the CSF ald/cort ratio in total. The long duration between the GG intake and the saliva sampling may have led to capturing an aldosterone rebound after a suggested initial suppression.

Overall, there appeared to be fewer correlations between hormones and gait pattern than expected. Ter Heegde, Rijk and Vinkers described the MR as stress modulators that influence HPA axis activity. The influences of the MR seem to be age- and gender-specific: Higher cortisol levels were seen in older age, which seems to be due to reduced MR expression in the hippocampus resulting in reduced HPA axis inhibition. Furthermore, oestrogen and progesterone modulate MR expression and thus also influence HPA axis activity, which leads to gender-specific differences. Regarding our calculations of correlations between hormone levels and gait, due to the small sample size, we did not further divide the patient group by gender or age and did not consider those subgroups separately. However, it seems reasonable to examine correlations between hormone levels and gait pattern within a larger study group based on gender and age. In our study patients, however, a connection between depressivity and aldosterone levels could only be interpreted to a limited extent. The early follow-up even showed the opposite result. It has been suggested that peripheral MR dysfunction is a pathomechanism especially in atypical depression (Braunisch, 2017). In the study by Braunisch, in which the connection between peripheral MR dysfunction and AD was established, the proportion of patients with AD was 33.3 %. In our study, the overall proportion was only 20.8%, in the GG group 33.3%, in the TAU group only 8.3%. The result may have been influenced by the smaller proportion of patients with AD in that the correlation between depressivity and aldosterone level, respective aldo/cort ratio could not be demonstrated in the current sample. Further limitations can be found in the upcoming section.

4.5 Gait and Electrolytes

Peripheral MR dysfunction results in decreased reabsorption of sodium and secretion of potassium and magnesium. Consequently, plasma sodium levels decrease and potassium and magnesium levels increase, which in turn activates the RAAS and aldosterone levels increase. A low Na^+/K^+ ratio, low sodium levels and high potassium levels should accordingly serve as a marker for peripheral MR dysfunction. Chronic hyponatremia is associated with gait disturbances, cognitive deficits and an enhanced risk of falls (Fujisawa *et al.*, 2016; Giuliani and Peri, 2014). High potassium levels are associated with nervous and muscular dysfunction, which is also reflected in reduced gait speed (Arnold *et al.*, 2014; Arnold *et al.*, 2017; Krishnan *et al.*, 2005; Z'Graggen *et al.*, 2010). Thus, gait analysis could serve as a simple examination of central

MR function, as mentioned above, but also of peripheral MR function. For this purpose, we investigated correlations between the electrolytes and gait pattern.

It became apparent that subjects with high sodium levels showed lower vertical and lateral COMD, i.e. better balance. Previous studies have already shown an association between hyponatremia and gait disturbances, respectively a higher risk of falls (Fujisawa *et al.*, 2016; Renneboog *et al.*, 2006). Vertical COMD in particular emerges as an interesting parameter, as associations were also shown between increased COMD, higher iNPHGS and higher clinical ratings.

Furthermore, a low Na^+/K^+ ratio was associated with a high iNPHGS, thus more pronounced gait disturbances and a more severe cognitive impairment. This became apparent in the overall group at baseline and in the TAU subjects also at early follow-up. In the GG group, a greater increase in both Na^+/K^+ ratio and Na^+ and a greater decrease in K^+ were associated with a greater decrease in iNPHGS.

In the TAU group a decrease in potassium levels to early follow-up was accompanied by a decrease in bilateral symmetry. Patients with MR dysfunction showed high plasma potassium despite high aldosterone levels. As previously discussed, a more symmetrical gait pattern was seen with high aldosterone levels and higher depressivity. A symmetrical gait pattern might be an indicator for MR dysfunction, which is associated with a form of therapy-refractory depression (Büttner *et al.*, 2015; Murck *et al.*, 2018; Murck, Ploch and Montgomery, 2018). Because of the small number of patients and the dependence of bilateral symmetry on gait speed (Kozłowska, Latka and West, 2017), conclusions can be drawn only to a limited extent. Further research including gait speed appears to be essential.

The TAU group showed that a sodium increase until early follow-up was accompanied by a decrease in step length, increasing potassium levels were associated with decreasing cadence and CV. Analogously, increasing Na^+/K^+ ratio was associated with increasing cadence and CV. The change in cadence corresponds to changes partly seen in patients with iNPH (Bugalho, Alves and Miguel, 2013; Nikaido *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2018), whereas we would have expected the opposite correlation for step length and CV (Fujisawa *et al.*, 2016). Ardestani *et al.* describe three different subgroups of subjects adapting gait to higher gait speeds: some increase step length, some increase cadence and some do both. Assuming that an improvement in depressivity is accompanied by an increase in gait speed, the change in the parameters cadence and step length

is dependent on the patient's adaptation mechanism to the faster speed. Depending on which of the adaptive methods is more common among the study patients, different correlations may result. It is therefore questionable to which extent the single parameters are reliable parameters. Other studies show that an increase in cadence is accompanied by a decrease in step length. At self-selected speed, step length and cadence were found to be inconsistent, whereas the relation between step length and cadence was a more reliable age-independent parameter (Egerton *et al.*, 2011). Consideration of the step length-cadence relationship would probably be more reliable, so it may be useful for future studies. The association of a greater reduction in iNPHGS and a greater increase in step length, supports the assumption that stride length might be a biomarker of peripheral MR function.

All in all, it appears that the COMD and bilateral symmetry could be used to assess not only central but also peripheral MR function and, consecutively, electrolyte changes. Here, the results of the changes in COMD are in accordance with our expectations and previous studies. In the case of bilateral symmetry, the correlation is opposite to our expectations. However, with consistent correlations, it is debatable whether the expectations were wrongly set and MR dysfunction in MDD is associated with a more symmetrical gait pattern. Importantly, an increasing cadence would represent a positive parameter for clinical course.

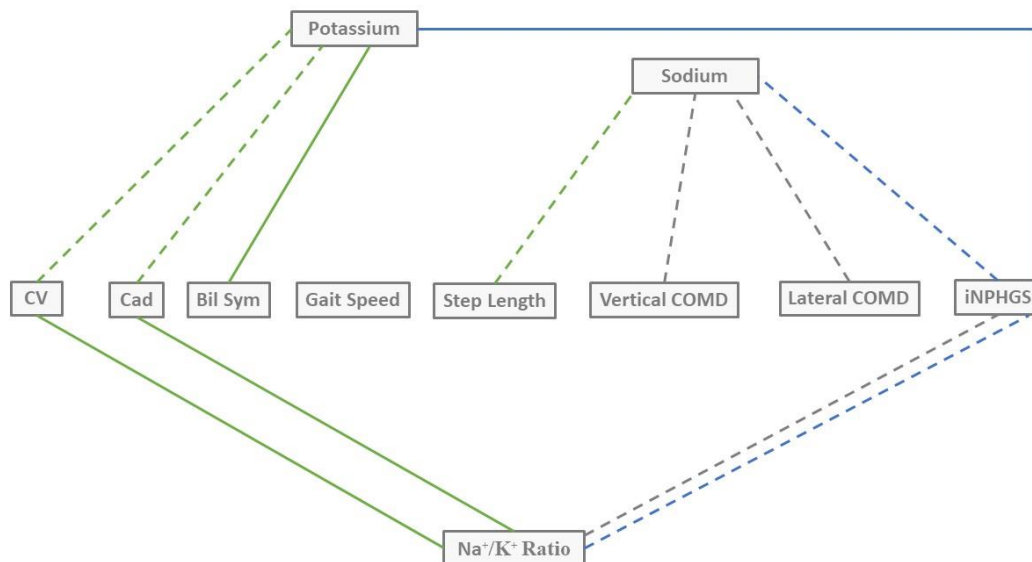


Figure 20: Gait and Electrolytes

This figure shows an overview of our study results concerning the correlations between gait and electrolytes. Gray lines represent correlations of the entire study group at baseline. Green lines represent correlations in the TAU group at early follow-up, blue lines represent correlations in the GG group at early follow-up. Solid lines indicate positive correlations, dashed lines indicate inverse correlation

4.6 Gait and the Cardiovascular System

The co-occurrence of changes in mood, HRV and blood pressure is repeatedly described (Bhat *et al.*, 2017; Lenoir *et al.*, 2008; Schiweck *et al.*, 2019; Scuteri, 2008; Sgoifo *et al.*, 2015). It is assumed that atypical depressions are associated with low blood pressure, whereas melancholic depressions might be accompanied by higher blood pressure (Braunisch, 2017; Gold *et al.*, 2005; Jorm, 2001). Regarding HRV, the results are more homogeneous and reveal an association between MDD and decreased HRV (Schiweck *et al.*, 2019; Sgoifo *et al.*, 2015). Furthermore, low systolic blood pressure and reduced HRV were shown to be negative predictive biomarkers of MR sensitivity in patients with MDD (Büttner *et al.*, 2015). Hajjar *et al.* describe an association between high systolic blood pressure, depression and additionally a slower gait. Thus, the reduction in blood pressure and HRV that seem to occur in atypical depression could also be associated with changes in gait pattern. In this section, we will further discuss possible links between blood pressure, HRV and gait. Based on the assumption that cardiovascular parameters might also be useful biomarkers for assessing MR dysfunction, it can be assumed that there could also be correlations between changes in gait and the cardiovascular system especially in MR dysfunction. Low systolic and diastolic blood pressure are used as markers of peripheral MR dysfunction, whereas a low HRV is used as a marker of central MR overactivity.

4.6.1 Blood Pressure

Low systolic blood pressure was associated with higher iNPHGS. This represents a link between peripheral MR desensitisation, resulting in low systolic blood pressure, and central MR overactivity, resulting in more pronounced iNPH-like symptoms mediated by a reactive increase in aldosterone release. This correlation underlines the fact that peripheral and central MR function are interrelated but have different functional characteristics within the pathomechanism. In our study, we did not find a correlation between aldosterone levels and depressivity, but previous studies with a larger patient population have shown a connection (Büttner *et al.*, 2015; Emanuele *et al.*, 2005; Murck *et al.*, 2003).

Furthermore, there was a correlation between a low systolic blood pressure and a more symmetrical gait pattern. This further confirms the assumption that bilateral symmetry reflects both peripheral and central MR function. In line with this, an increase in blood pressure at late

follow-up was accompanied by a decrease in bilateral symmetry in the TAU subjects. Thus, bilateral symmetry could also be useful as a correlate of peripheral MR function.

Lower systolic and diastolic blood pressure at baseline was associated with smaller lateral COMD. A previous study described an increase in lateral swaying in MDD (Michalak *et al.*, 2009). On the other hand, high blood pressure and higher physical activity occur in conjunction with each other (Kohno *et al.*, 1994). As MR dysfunction in MDD is associated with low blood pressure, it can be assumed that motor activity is reduced as well. The observed smaller lateral COMD might be a result of such. Different subtypes of MDD might be associated with contrasting alterations of the lateral COMD. Due to the lack of data on COMD in depression, these are preliminary findings that should be verified in further studies involving a larger number of subjects. In the TAU group, an increase in diastolic blood pressure was associated with an increase in gait velocity at late follow-up. As reported above, an increase in blood pressure is thought to be a positive parameter for clinical course, as is an increase in gait speed (Brandler *et al.*, 2012; Hausdorff *et al.*, 2004; Lemke *et al.*, 2000). The fact that both parameters are associated with each other suggests a common underlying pathophysiology. The correlation suggests that gait speed could be a possible parameter for clinical course and further for assessing peripheral MR function.

In both groups, an increase in diastolic blood pressure was accompanied with a decrease in cadence and CV. In addition, at early follow-up, an increase in systolic blood pressure was associated with a decrease in cadence and CV in the GG group. The decrease in CV is in line with expectations based on previous studies that detected an association between MDD and higher CV (Hausdorff *et al.*, 2004; Radovanović *et al.*, 2014). However, our study did show inconsistent results regarding CV: Thus, we observed that a low CV was associated with high iNPHGS; on the other hand, a low CV was also found to be positively predictive for the outcome within the TAU group. Therefore, CV as a biomarker for depression and MR dysfunction should be interpreted with caution. Assuming an increase in diastolic and systolic blood pressure is desirable in patients with MR dysfunction, our finding that an increase in blood pressure was associated with a decrease in cadence would imply that a decreasing cadence would be a marker for clinical improvement. This is contrary to our other observations regarding cadence. Both the aldo/cort ratio and the potassium and Na^+/K^+ ratio indicated an increase in cadence as a positive parameter for clinical course. To our knowledge, studies regarding blood pressure and cadence during non-exercise have not yet been conducted. Changes in diastolic blood pressure have

rarely been considered in patients with MDD. So far, in patients with premenstrual syndrome, a decrease in diastolic blood pressure with improvement in depressive symptoms has been described (Ghaffarilaleh *et al.*, 2019). Furthermore, as with changes in systolic blood pressure, it is possible that different subtypes of depression show different changes in diastolic values. Thus, according to the changes in systolic blood pressure, melancholic depression could be associated with higher diastolic values, whereas atypical depression may be accompanied by lower diastolic blood pressure. Especially since an increasing cadence was shown to be a parameter for clinical course in relation to aldo/cort ratio and electrolytes, the validity of the correlation between the increase in blood pressure and the decrease in cadence should be questioned. As noted earlier, cadence already showed strong inconsistency in previous studies (Souza *et al.*, 2018). Also within our study, cadence is found to be a rather inconsistent parameter. As aforementioned, clinical improvement is associated with an increase in gait speed (Paleacu *et al.*, 2007), which can be achieved by an increase in stride length, an increase in cadence or a combination of both (Ardestani *et al.*, 2016). As a result, it is likely that the two parameters show inconsistency in study results, suggesting the step length-cadence relationship as more reliable biomarker (Egerton *et al.*, 2011).

4.6.2 Heart Rate Variability

An increase in HRV was associated with a decrease in vertical COMD in the TAU group both at early and late follow-up. This shows another link between established markers of MR function in MDD and changes in gait pattern. As an increase in HRV is already known to be a positive predictor for clinical improvement in MDD through normalisation of central MR function (Büttner *et al.*, 2015), a decrease in vertical COMD also appears to be a marker of such change. Advantageously, vertical COMD also appears to reflect peripheral MR function to some extent through links with sodium levels.

Contrary to this finding, an increase in iNPHGS was associated with increasing HRV within the TAU group at early follow-up. This is discordant to the observed correlations between iNPHGS and clinic as well as between iNPHGS and vertical COMD in MDD. Kuriyama *et al.* were able to demonstrate increased parasympathetic activity regarding HRV in patients with iNPH compared to a control group. Patients with MDD, on the other hand, show a reduced HRV due to decreased

parasympathetic activity, increased sympathetic activity or a combination of both (Braunisch, 2017). In any case, both syndromes show changes in HRV, which seem to be caused by opposing changes in the balance between the sympathetic and parasympathetic nervous systems. It is surprising, however, why our study patients with MDD do not show an association between decreasing HRV with an increasing iNPHGS. Previous studies have shown a gender difference in HRV (Koenig and Thayer, 2016; Umetani *et al.*, 1998). Generally, HRV is lower in women than in men. Thus, Büttner *et al.* also found the association between central MR overactivity and decreased HRV only in male non-responders with MDD, not in female patients. Furthermore, HRV decreases with age. Here, too, there are gender differences. Men show a greater decrease in HRV compared to women, which causes a decrease in the sex difference with age (Umetani *et al.*, 1998). As we did not include gender or age in our calculations of the correlations regarding HRV, the validity of the correlation between iNPHGS and HRV in MDD is limited.

In both treatment groups, an increase in HRV was associated with an increase in cadence and CV at late follow-up. Between heart rate and cadence correlations have already been established as '*cardiac-locomotor coupling appears to be a normal physiological phenomenon*' (Kirby *et al.*, 1989), which seem to show changes in MDD and iNPH. Referring to a high HRV as a positive biomarker, increasing cadence and CV are supposed to be positive parameters for clinical course. However, as aforementioned, CV and cadence have limited interpretability yet.

The fact that changes in the cardiovascular regulatory circuit, which have already been established as biomarkers of MR function (Büttner *et al.*, 2015; Murck, Ploch and Montgomery, 2018), correlate with changes in gait further suggests a common underlying pathomechanism: MR dysfunction.

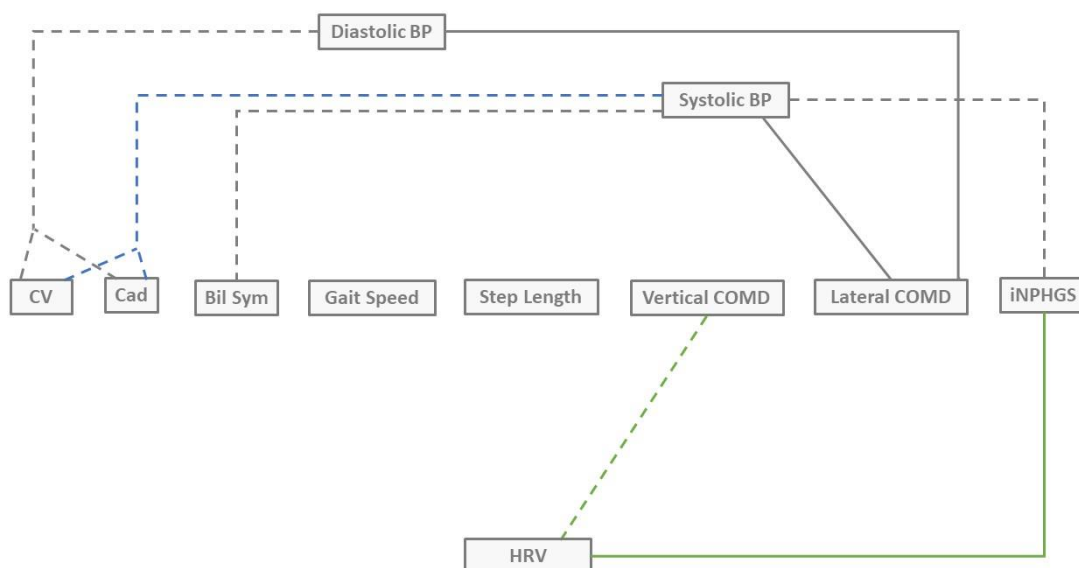


Figure 21: Gait and Cardiovascular System

This figure shows an overview of our study results concerning the correlations between gait and the cardiovascular system. Gray lines represent correlations of the entire study group at baseline. Green lines represent correlations in the TAU group at early follow-up, blue lines represent correlations in the GG group at early follow-up. Solid lines indicate congruent correlates, dashed lines indicate inverse correlates

4.7 Summary Gait and MR Function in MDD

In summary of the results, the vertical COMD in particular turned out to be a reliable parameter. A high vertical COMD was associated with a high iNPHGS and negatively predictive of clinical outcome. Both groups showed correlations with depressiveness and COMD, with vertical COMD being a correlate in depressive symptomatology in the GG group and a correlate for clinical course in the TAU group. Even if the relationship within the two groups are opposite, depressiveness appears to be related to vertical COMD. Further studies are needed to investigate this in more detail. Furthermore, there was an association between low vertical COMD and high sodium levels, i.e. higher peripheral MR sensitivity. With respect to HRV as a central marker, vertical COMD was shown to be a correlate. With increasing HRV, the vertical COMD decreased. Correspondingly, vertical COMD showed associations with both iNPH-like symptoms, depressiveness, peripheral and central established biomarkers of MR function. The biomarker lateral COMD, which is related to vertical COMD, was shown to be a potential parameter for clinical course with respect to depressivity. In addition, low lateral COMD was associated with higher sodium levels. However, lower lateral COMD was associated with lower systolic and diastolic blood pressure which could be a sign of reduced motor activity. If this is

the case, however, lateral COMD would appear to be an inconsistent parameter when also considering its correlation with sodium levels. Thus, especially vertical COMD is an interesting biomarker in MDD, which has received little attention so far. In the context of our investigations, the vertical COMD is particularly relevant, as it could be established as a biomarker for MR dysfunction.

Furthermore, the assessment of iNPHGS can also be considered useful in MDD. Here, correlations with the vertical COMD, CV and stride length showed that the iNPHGS reflects changes in the gait pattern well. Furthermore, iNPHGS was shown to be a possible correlate of depressiveness in MDD. Accordingly, the iNPHGS could be used as a quick and easy-to-perform tool to evaluate gait changes and depressiveness in MDD. However, in the TAU group a contrasting relationship was found between the aldo/cort ratio, respectively HRV, which has been discussed in detail above. In short, these results need further clarification. On the other hand, a higher iNPHGS was related to lower Na^+/K^+ ratio and systolic blood pressure, i.e. peripheral MR dysfunction.

A very interesting result was found regarding bilateral symmetry. Based on previous studies, we had expected reduced symmetry to be associated with increased depressivity and more pronounced MR dysfunction (Nagano *et al.*, 2019). However, our study showed the contrary. Greater symmetry was associated with increased depressivity and lower systolic blood pressure. Furthermore, a decrease in depression, aldosterone and potassium levels were all accompanied by a decrease in bilateral symmetry. Thus, a consistent result emerged, albeit contrary to the original assumptions. Consequently, bilateral symmetry could be suitable as a parameter for assessing depressivity and MR function.

Gait speed and stride length were confirmed as parameter for clinical course of depressiveness according to previous study results in the TAU group. Within the GG group, however, the opposite correlation emerged, which puts the reliability of the parameters under GG therapy into question. Investigations in larger study groups seem advisable. Furthermore, in the TAU group an increase in diastolic blood pressure could be shown, i.e. improvement in peripheral MR function, was accompanied by an increase in gait speed, which highlights gait speed as a possible parameter for clinical course of peripheral MR function. Increasing sodium levels were associated with a decrease in stride length, which is contrary to our expectations. Inclusion of covariates such as age and gender and calculation of the step length-cadence relationship appear to be indicated.

Cadence and CV showed similar behaviour. Both parameters were found to be primarily parameter for clinical course. There were associations between an increase in both gait parameters and a decrease in aldo/cort ratio as well as a decrease in potassium level, an increase in Na^+/K^+ ratio and an increase in HRV. In addition, higher CV was found to be positively predictive of clinical outcome and associated with lower INPHGS. Accordingly, a high increase in CV and cadence, respectively, would be considered positive, corresponding to depression as well as central and peripheral MR function. In contrast, an increase in diastolic and systolic blood pressure, i.e. an improvement in peripheral MR function, was associated with a decrease in CV and cadence. This needs further clarification.

In general, it can be said that the generation of the gait pattern is very complex. There are several influencing factors that should be taken into account for the evaluation. These include gender and age. In addition, the influence of the individual parameters on each other must be considered. More precise results could be achieved, for example, by using the step length-cadence relationship. The lack of a uniformly established method of measuring gait changes makes comparison with previous studies difficult. Furthermore, primarily relative relationships have been described so far, absolute reference values of gait parameters have not yet been established. This still limits the use in clinical everyday life. Furthermore, the fact that not only psychomotor retardation but also agitation can occur in the context of depression needs to be mentioned (Shankman, Mittal and Walther, 2020). A classification of patients based on the severity of psychomotor symptoms and corresponding evaluation of the gait pattern based on these subtypes might prove reasonable.

4.8 Effects of GG

So far, a positive influence of GG on depression, effects on the RAAS and inflammation markers have been demonstrated (Cao *et al.*, 2020; Epstein *et al.*, 1977; Lim, 2016; Murck and Lehr *et al.*, 2020). In this study, we investigated the influence of GG on the clinical course and MR activity. In addition, we tested potential biomarkers for GG therapy that also reflect the influence on MR activity.

4.8.1 ... on Depression

When looking at the clinical course, it became apparent that the GG group showed a faster clinical improvement by early follow-up in comparison to the TAU group regarding the change in HDRS-21 and GAF. This shows that GG could potentially be useful as an additional therapy to achieve a faster clinical improvement. The results are in line with a recent study on the benefit of GG as an additional therapy for depression (Cao *et al.*, 2020), which suggests that our results are representative in this regard despite the small study group.

There was no significant difference between the two groups in the clinical course to late follow-up. On the one hand, this could be due to the fact that the adjunct therapy with GG leads to a faster clinical improvement, but does not influence the clinical outcome. Cao *et al.* were able to prove the positive effect of the additional therapy with GG after four weeks and defined the clinical outcome with this point in time. This would suggest that adjunct therapy with GG provides a benefit to patients for longer than two weeks.

On the other hand, the number of patients for late follow-up was very small, as many were discharged earlier. Importantly, this highlights that the discontinuations in the GG group were not random, but biased to those, who were discharged due to clinical improvement. Thus, GG therapy could also lead to a better outcome, as suggested by Cao *et al.*, even after six weeks, which we could not prove due to the small number of subjects. Further studies with a larger sample would seem to be reasonable.

4.8.2 ... on the Biomarker Gait

Referring to the gait parameters, the most striking result was seen in the change of iNPHGS, since it increased in the TAU group until early follow-up, whereas in subjects receiving additional GG therapy showed a decrease in the score. This might be interpreted as a positive effect of GG on iNPH-like symptomatology and indirectly evidence for improvement of MR function.

Furthermore, by late follow-up there were significant differences in the change of the following gait parameters: in the GG group gait speed, step length and vertical COMD decreased, while in the TAU group gait speed, step length and vertical COMD increased. As mentioned above, the value of gait speed and step length as parameters within the GG group was not reliable due to the small number of patients. The fact that the parameters decreased on average within the GG group and did not increase as in the TAU group further leads to questioning. Gait speed and step length seem to be possible parameters in MDD if no additional therapy with GG is performed.

The change in vertical COMD is potentially a regression to the mean. Again, due to the small number of subjects, definitive conclusions cannot be drawn.

4.8.3 ... on the HPA-Axis and RAAS

Regarding the relative change in saliva aldosterone levels to early follow-up, there is no significant difference between the two groups. The expected stronger drop in aldosterone levels within the GG group was accordingly absent. Significant differences in changes of the ald/cort ratio or renin levels could neither be found at early nor late follow-up. Since the sample was taken 12-13 hours after the last GG administration, GG has a half-life of six hours (Zou *et al.*, 2009) and aldosterone has a half-life of 20-60 minutes (Few *et al.*, 1987; White *et al.*, 1997), it is quite possible that the direct effect of GG on aldosterone levels and consecutive cortisol and renin levels was no longer detectable (Murck and Lehr *et al.*, 2020).

4.8.4 ... on Electrolytes

There were no significant differences until early follow-up in the course of electrolytes. The Na⁺/K⁺ ratio increased in the GG group whereas it decreased in the TAU group. Correspondingly, potassium level decreased in the GG group and remained more or less stable in the TAU group indicating increased peripheral MR function. In addition, although not significant, after an initial drop in sodium levels, the GG group showed a rebound, whereas sodium levels continued to drop in the TAU group. This result could indicate an improvement in peripheral MR function in the sense of an increased sensitivity due to the additional GG therapy, which we could only detect in the later course. This would argue for the benefit of GG, as well as for the electrolytes as a meaningful course parameter regarding the long-term course.

4.8.5 ... on the Cardiovascular System

Although not significant, there was a decrease in systolic and diastolic blood pressure in the TAU group observable, while it increased in the GG group until early follow-up. This might indicate a treatment effect of GG. Besides, blood pressure seems to be a useful parameter for clinical outcome.

4.9 Summary of Effects of GG

The most promising results regarding the additional GG therapy were, firstly, a faster clinical improvement measured by the HDRS-21 and GAF. We were unable to demonstrate an advantage with respect to the late outcome due to the discussed limitations of the early drop out of improving subjects. Besides the improvement in depressiveness, GG therapy also showed an earlier amelioration in iNPH-like symptoms. The expected increase in blood pressure was also observed within the first two weeks, but did not reach statistical significance. After six weeks, the GG subjects showed an improvement in peripheral MR function as detected by electrolytes, especially Na^+/K^+ ratio. Accordingly, iNPHGS and blood pressure could serve as early and Na^+/K^+ ratio as late correlates.

4.10 Limitations

One of the most important limiting factors is the small number of patients. Due to this, no further subdivision for subtype analysis was possible. Influences such as gender were therefore largely disregarded which in turn represented a further limitation for us. As aforementioned, MR function seems to be age- and gender-specific. In subjects with higher age, a reduced MR expression was found. Besides, oestrogen and progesterone modulate MR expression, which leads to gender-specific differences and in addition to cycle-dependent differences among female subjects (ter Heegde, Rijk and Vinkers, 2015). Not only do age and gender affect MR function, but also HRV (Koenig and Thayer, 2016; Umetani *et al.*, 1998) and gait pattern (Bailey *et al.*, 2020; Kobayashi, Kakihana and Kimura, 2014). In addition, the body fat percentage represents an important cofactor, which was not considered further in the context of this study. Adipocytes secrete mineralocorticoid releasing factors, which induce increased MR activity via increased aldosterone and cortisol production (Murck and Luerweg *et al.*, 2020; Salpietro *et al.*, 2014).

The last examination was carried out six weeks after the start of the study. Some patients were discharged before the end of this period, resulting in dropouts, although no patient ended the study at his or her own request. Accordingly, the number of subjects for the late follow-up is even smaller than the already small number at the beginning of the study. The statements regarding late follow-up should therefore be made with caution.

Furthermore, no randomisation was carried out. This is partly due to the fact, that two studies were conducted, which, apart from the administration of GG and the associated examinations, followed the same study design.

Since the GG administration took place within the framework of an open-label study, there was also no blinding; the comparison group did not receive a placebo. The rater/evaluator and patients were therefore aware of group belonging, which is why an influence of systematic bias on the study results cannot be ruled out.

Furthermore, the GG patients received additional magnesium to counteract a potentially increased magnesium excretion through GG. This was to be avoided, as anxiety and depression-like behaviour were associated with hypomagnesemia (Murck and Lehr *et al.*, 2020).

In all patients, saliva was collected in the morning. The patients were woken up for this by the study investigator or waited lying in bed, should they already be awake. Although the subjects were clearly instructed not to get up before taking the saliva sample, absolute compliance cannot be assured.

The HDRS-21 and GAF were collected as clinical ratings by the examiner, the QIDS and BDI as self-ratings by the patients. The entire set of ratings does not always correlate with the parameters. This may be due to the fact, that the different ratings have different emphases in the assessment of depression. For example, the QIDS is particularly suitable for adequately assessing subtypes like atypical depression. The BDI as another self-rating questionnaire refers to the severity of depression, but the assessment of AD is only possible to a limited extent. The clinical rating scales also do not list symptoms such as weight gain and increased sleep with the QIDS as an exception. The GAF is designed to assess the level of functioning, whereas the HDRS assesses the severity of depression in particular. Although one goes hand in hand with the other, the type of assessment differs to a certain extent. All rating scales are established test procedures. Due to the different emphases of rating scales, it seems logical that correlations cannot be shown with all rating scales and therefore does not have to mean a lack of validity of the results. A combined use of all of them seems reasonable until further results are available. In our study, the clinical ratings by the examiner were carried out in the evening and the self-ratings the next morning. *“It is common that in depression mood and depression severity can change over the [...] day. In this study the clinician rating scale was specified prior to study start as the primary one for analysis.” (Büttner et al. 2015: 34). To diminish the differences between*

self and clinician rating, these two should be performed at the same daytime.' (Braunisch, 2017). Since the patients were able to observe their results of the sleep analysis in the morning, this could have influenced the assessment within the self-ratings. Accordingly, a survey of the self-ratings the evening before would appear to be most reasonable (Braunisch, 2017).

The patients did not receive a uniform antidepressant medication. This affects the study result in that certain antidepressants influence the aldosterone level. Ahmed *et al.* showed that this was the case for sertraline and escitalopram, representing the group of SSRIs. In addition, they were able to demonstrate a reduction in the aldosterone-renin ratio. A rise in limbic MR could be demonstrated with amitriptyline administration (Reul *et al.*, 1993). Accordingly, the standard medication may have already influenced the aldosterone level and the MR activity. *'Additionally, there has been some evidence that nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) lead to increased plasma aldosterone concentration (Knights et al., 2006). Due to the frequent use and prescription of NSAIDs this medication could influence a depressive episode.'* (Braunisch, 2017).

Studies on the influence of antidepressants on gait patterns differ. While Lemke *et al.* could not find any significant differences in gait between patients with and without medical therapy in MDD, Hausdorff *et al.* and Paleacu *et al.* were able to demonstrate an influence of antidepressants on gait pattern. Draganich *et al.* found a slowing of gait speed after taking amitriptyline, while there was no change in gait after administering paroxetine and desipramine. However, they only examined the short-term effect after a single administration of the drugs, long-term effects were not examined. Consequently, an effect of antidepressants on gait parameters cannot be excluded.

Furthermore, another *'[...] important observation was that RAAS affecting medication (i.e. β -blockers, renin inhibitors, ACE inhibitors, ARBs) had a significant influence on the clinical outcome [...]. However, gender was an important factor for this effect.'* (Braunisch, 2017). Braunisch also summarized that RAAS affecting medication influenced HRV, aldo/cort ratio, aldosterone, cortisol, K^+ and Na^+/K^+ ratio. As far as the use of RAAS affecting medication is concerned, our study showed no significant difference between the two groups in terms of frequency. Thus, at least in the group comparison, the results should not be influenced. However, the correlations at baseline and within the individual groups could be affected. Stratifying for patients taking RAAS affecting medication would be a useful criterion for subsequent studies.

4.11 Conclusion

In conclusion, vertical COMD, bilateral symmetry and iNPHGS are particularly promising parameters for assessing depressivity associated with MR dysfunction. Gait speed, step length, CV and cadence were also shown to be potential markers. The gait parameters are easy to determine and inexpensive, which makes them suitable for practical use.

Furthermore, a faster clinical improvement was observed with adjunctive GG therapy. In the context of GG therapy, iNPHGS and blood pressure potentially may be early and Na^+/K^+ ratio late markers of clinical improvement. These parameters could be used to evaluate the success of the therapy.

Since our study was a pilot study with a correspondingly small sample, further investigations are necessary before definitive statements can be made.

Reference list

- Ahmed, A.H. *et al.* (2011) 'Effects of two selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants, sertraline and escitalopram, on aldosterone/renin ratio in normotensive depressed male patients', *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(4), pp. 1039–1045. doi: 10.1210/jc.2010-2603
- American Psychiatric Association (2013) *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*: American Psychiatric Association.
- Ames, M.K., Atkins, C.E. and Pitt, B. (2019) 'The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), pp. 363–382. doi: 10.1111/jvim.15454
- An, B. and Woo, Y. (2017) 'Center of mass with the use of smartphone during walking in healthy individuals', *Journal of Physical Therapy Science*, 29(8), pp. 1426–1428. doi: 10.1589/jpts.29.1426
- Andrews, L.E., Liu, G.T. and Ko, M.W. (2014) 'Idiopathic intracranial hypertension and obesity', *Hormone Research in Paediatrics*, 81(4), pp. 217–225. doi: 10.1159/000357730
- Apostolopoulou, K. *et al.* (2014) 'Gender differences in anxiety and depressive symptoms in patients with primary hyperaldosteronism: A cross-sectional study', *The World Journal of Biological Psychiatry : the Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 15(1), pp. 26–35. doi: 10.3109/15622975.2012.665480
- Appleton, K.M. *et al.* (2015) 'Consumption of a high n-3 polyunsaturated fatty acid diet during gradual mild physiological stress in rats', *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 95, pp. 11–18. doi: 10.1016/j.plefa.2014.11.010
- Ardestani, M.M. *et al.* (2016) 'From normal to fast walking: Impact of cadence and stride length on lower extremity joint moments', *Gait & Posture*, 46, pp. 118–125. doi: 10.1016/j.gaitpost.2016.02.005
- Arnold, R. *et al.* (2014) 'Evidence for a causal relationship between hyperkalaemia and axonal dysfunction in end-stage kidney disease', *Clinical Neurophysiology : Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 125(1), pp. 179–185. doi: 10.1016/j.clinph.2013.06.022

- Arnold, R. *et al.* (2017) 'Randomized, Controlled Trial of the Effect of Dietary Potassium Restriction on Nerve Function in CKD', *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 12(10), pp. 1569–1577. doi: 10.2215/CJN.00670117
- Aumüller, G. *et al.* (2020) *Duale Reihe Anatomie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Austin, M.-P. *et al.* (1992) 'Single photon emission tomography with 99mTc-exametazime in major depression and the pattern of brain activity underlying the psychotic/neurotic continuum', *Journal of affective disorders*, 26(1), pp. 31–43. doi: 10.1016/0165-0327(92)90032-2
- Austin, M.P., Mitchell, P. and Goodwin, G.M. (2001) 'Cognitive deficits in depression: Possible implications for functional neuropathology', *The British Journal of Psychiatry : the Journal of Mental Science*, 178, pp. 200–206. doi: 10.1192/bjp.178.3.200
- Avery, S.N., Clauss, J.A. and Blackford, J.U. (2016) 'The Human BNST: Functional Role in Anxiety and Addiction', *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 41(1), pp. 126–141. doi: 10.1038/npp.2015.185
- Aybek, S. *et al.* (2012) 'Fractal temporal organisation of motricity is altered in major depression', *Psychiatry Research*, 200(2-3), pp. 288–293. doi: 10.1016/j.psychres.2012.03.047
- Bailey, C.A. *et al.* (2020) 'Does variability in motor output at individual joints predict stride time variability in gait? Influences of age, sex, and plane of motion', *Journal of Biomechanics*, 99, p. 109574. doi: 10.1016/j.jbiomech.2019.109574
- Barrett-Connor, E. and Palinkas, L.A. (1994) 'Low blood pressure and depression in older men: A population based study', *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 308(6926), pp. 446–449. doi: 10.1136/bmj.308.6926.446
- Beijers, L. *et al.* (2019) 'Data-driven biological subtypes of depression: Systematic review of biological approaches to depression subtyping', *Molecular Psychiatry*, 24(6), pp. 888–900. doi: 10.1038/s41380-019-0385-5
- Bennabi, D. *et al.* (2013) 'Psychomotor retardation in depression: A systematic review of diagnostic, pathophysiologic, and therapeutic implications', *BioMed Research International*, 2013, p. 158746. doi: 10.1155/2013/158746

Bernard, J.A. and Mittal, V.A. (2015) 'Updating the research domain criteria: The utility of a motor dimension', *Psychological Medicine*, 45(13), pp. 2685–2689.

doi: 10.1017/S0033291715000872

Bhadelia, R.A. *et al.* (2009) 'Diffusion tensor imaging, white matter lesions, the corpus callosum, and gait in the elderly', *Stroke*, 40(12), pp. 3816–3820.

doi: 10.1161/STROKEAHA.109.564765

Bhat, S.K. *et al.* (2017) 'Relationships between depression and anxiety symptoms scores and blood pressure in young adults', *Journal of Hypertension*, 35(10), pp. 1983–1991.

doi: 10.1097/HJH.0000000000001410

Blandini, F. *et al.* (2000) 'Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease', *Progress in neurobiology*, 62(1), pp. 63–88. doi: 10.1016/S0301-0082(99)00067-2

Blin, O., Ferrandez, A.M. and Serratrice, G. (1990) 'Quantitative analysis of gait in Parkinson patients: Increased variability of stride length', *Journal of the Neurological Sciences*, 98(1), pp. 91–97. doi: 10.1016/0022-510X(90)90184-O

Boal, A.H. *et al.* (2016) 'Monotherapy With Major Antihypertensive Drug Classes and Risk of Hospital Admissions for Mood Disorders', *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 68(5), pp. 1132–1138. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08188

Brandler, T.C. *et al.* (2012) 'Depressive symptoms and gait dysfunction in the elderly', *The American Journal of Geriatric Psychiatry : Official Journal of the American Association for Geriatric Psychiatry*, 20(5), pp. 425–432. doi: 10.1097/JGP.0b013e31821181c6

Braszko, J.J. *et al.* (2003) 'Captopril and enalapril improve cognition and depressed mood in hypertensive patients', *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 14(4), pp. 323–343. doi: 10.1515/JBCPP.2003.14.4.323

Braunisch, M. (2017) *Salivary Aldosterone, Central and Peripheral Mineralocorticoid Receptor Function and Their Impact on the Course of Depression*. Dissertation. Philipps-Universität Marburg. Available at: <https://archiv.ub.uni-marburg.de/ubfind/Record/urn:nbn:de:hebis:04-z2017-0304> (Accessed: 11 January 2021).

Brock, C. (1951) *Outline for a Study Group on World Health and the Survival of the Human Race: material drawn from articles and speeches*. Edited by World Health Organization.

- Bruijn, S.M. *et al.* (2014) 'White matter microstructural organization and gait stability in older adults', *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6, p. 104. doi: 10.3389/fnagi.2014.00104
- Buchsbaum, M.S. *et al.* (1986) 'Frontal cortex and basal ganglia metabolic rates assessed by positron emission tomography with [18F]2-deoxyglucose in affective illness', *Journal of affective disorders*, 10(2), pp. 137–152. doi: 10.1016/0165-0327(86)90036-4
- Bugalho, P., Alves, L. and Miguel, R. (2013) 'Gait dysfunction in Parkinson's disease and normal pressure hydrocephalus: A comparative study', *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 120(8), pp. 1201–1207. doi: 10.1007/s00702-013-0975-3
- Büttner, M. *et al.* (2015) 'Target-based biomarker selection - Mineralocorticoid receptor-related biomarkers and treatment outcome in major depression', *Journal of Psychiatric Research*, 66-67, pp. 24–37. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.04.012
- Cao, Z.-Y. *et al.* (2020) 'Glycyrrhizic acid as an adjunctive treatment for depression through anti-inflammation: A randomized placebo-controlled clinical trial', *Journal of Affective Disorders*, 265, pp. 247–254. doi: 10.1016/j.jad.2020.01.048
- Cardoner, N. *et al.* (2003) 'Enlargement of Brain Cerebrospinal Fluid Spaces as a Predictor of Poor Clinical Outcome in Melancholia', *The Journal of Clinical Psychiatry*, 64(6), pp. 691–697. doi: 10.4088/JCP.v64n0611
- Cascella, M. and Vaqar, S. (2021) *Hypermagnesemia*. Treasure Island (FL).
- Castaneda, A.E. *et al.* (2008) 'A review on cognitive impairments in depressive and anxiety disorders with a focus on young adults', *Journal of Affective Disorders*, 106(1-2), pp. 1–27. doi: 10.1016/j.jad.2007.06.006
- Chinta, S.J. and Andersen, J.K. (2005) 'Dopaminergic neurons', *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37(5), pp. 942–946. doi: 10.1016/j.biocel.2004.09.009
- Choi, J.-S. *et al.* (2015) 'Reliability of the walking speed and gait dynamics variables while walking on a feedback-controlled treadmill', *Journal of Biomechanics*, 48(7), pp. 1336–1339. doi: 10.1016/j.jbiomech.2015.02.047
- Cohen, B.E., Edmondson, D. and Kronish, I.M. (2015) 'State of the Art Review: Depression, Stress, Anxiety, and Cardiovascular Disease', *American Journal of Hypertension*, 28(11), pp. 1295–1302. doi: 10.1093/ajh/hpv047

- Cohen, D.M. (2016) 'Modeling the Neurologic and Cognitive Effects of Hyponatremia', *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 27(3), pp. 659–661.
doi: 10.1681/ASN.2015060714
- Cole, J. *et al.* (2012) 'White matter abnormalities and illness severity in major depressive disorder', *The British Journal of Psychiatry : the Journal of Mental Science*, 201(1), pp. 33–39.
doi: 10.1192/bjp.bp.111.100594
- Cummings, J.L. (1993) 'The neuroanatomy of depression', *The Journal of Clinical Psychiatry*, 54 Suppl, pp. 14–20.
- Dastagir, G. and Rizvi, M.A. (2016) 'Review - Glycyrrhiza glabra L. (Liquorice)', *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29(5), pp. 1727–1733.
- Davies, E. and MacKenzie, S.M. (2003) 'Extra-adrenal production of corticosteroids', *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 30(7), pp. 437–445. doi: 10.1046/j.1440-1681.2003.03867.x
- del Olmo, M.F. and Cudeiro, J. (2005) 'Temporal variability of gait in Parkinson disease: Effects of a rehabilitation programme based on rhythmic sound cues', *Parkinsonism & Related Disorders*, 11(1), pp. 25–33. doi: 10.1016/j.parkreldis.2004.09.002
- Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde (2015) *S3-Leitlinie/Nationale VersorgungsLeitlinie Unipolare Depression*.
- Diaz, R., Brown, R.W. and Seckl, J.R. (1998) 'Distinct Ontogeny of Glucocorticoid and Mineralocorticoid Receptor and 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Types I and II mRNAs in the Fetal Rat Brain Suggest a Complex Control of Glucocorticoid Actions', *The Journal of Neuroscience*, 18(7), pp. 2570–2580. doi: 10.1523/JNEUROSCI.18-07-02570.1998
- Diego-Adeliño, J. de *et al.* (2014) 'Microstructural white-matter abnormalities associated with treatment resistance, severity and duration of illness in major depression', *Psychological Medicine*, 44(6), pp. 1171–1182. doi: 10.1017/S003329171300158X
- do Carmo, A.A., Kleiner, A.F.R. and Barros, R.M.L. (2015) 'Alteration in the center of mass trajectory of patients after stroke', *Topics in Stroke Rehabilitation*, 22(5), pp. 349–356.
doi: 10.1179/1074935714Z.0000000037

- Draganich, L.F. *et al.* (2001) 'The effects of antidepressants on obstructed and unobstructed gait in healthy elderly people', *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 56(1), M36-41. doi: 10.1093/gerona/56.1.M36
- Dragašević-Mišković, N.T. *et al.* (2021) 'Impact of depression on gait variability in Parkinson's disease', *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 200, p. 106324.
doi: 10.1016/j.clineuro.2020.106324
- Dunlop, B.W. and Nemeroff, C.B. (2007) 'The role of dopamine in the pathophysiology of depression', *Archives of General Psychiatry*, 64(3), pp. 327–337.
doi: 10.1001/archpsyc.64.3.327
- Edwards, C.R.W. *et al.* (1988) 'Localisation of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase - tissue specific protector of the mineralocorticoid receptor', *The Lancet*, 332(8618), pp. 986–989.
doi: 10.1016/S0140-6736(88)90742-8
- Egerton, T. *et al.* (2011) 'Central gait control mechanisms and the stride length - cadence relationship', *Gait & Posture*, 34(2), pp. 178–182. doi: 10.1016/j.gaitpost.2011.04.006
- Emanuele, E. *et al.* (2005) 'Increased plasma aldosterone in patients with clinical depression', *Archives of Medical Research*, 36(5), pp. 544–548. doi: 10.1016/j.arcmed.2005.03.046
- EPMA (2020) *EPMA Mission*. Available at: <http://www.epmanet.eu/mission/epma-mission> (Accessed: 1 April 2021).
- Epstein, M.T. *et al.* (1977) 'Effect of eating liquorice on the renin-angiotensin aldosterone axis in normal subjects', *British Medical Journal*, 1(6059), pp. 488–490.
doi: 10.1136/bmj.1.6059.488
- Few, J.D. *et al.* (1987) 'Diurnal fluctuation in saliva aldosterone concentration', *Journal of Steroid Biochemistry*, 26(2), pp. 265–271. doi: 10.1016/0022-4731(87)90081-1
- Fiksdal, A. *et al.* (2019) 'Associations between symptoms of depression and anxiety and cortisol responses to and recovery from acute stress', *Psychoneuroendocrinology*, 102, pp. 44–52.
doi: 10.1016/j.psyneuen.2018.11.035
- Flatt, A.A. and Esco, M.R. (2013) 'Validity of the ithlete™ Smart Phone Application for Determining Ultra-Short-Term Heart Rate Variability', *Journal of Human Kinetics*, pp. 85–92.
doi: 10.2478/hukin-2013-0071

- Franklin, M. *et al.* (2012) 'Aldosterone increases earlier than corticosterone in new animal models of depression: Is this an early marker?' *Journal of Psychiatric Research*, 46(11), pp. 1394–1397. doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.07.010
- Frenkel-Toledo, S. *et al.* (2005) 'Effect of gait speed on gait rhythmicity in Parkinson's disease: Variability of stride time and swing time respond differently', *Journal of Neuroengineering and Rehabilitation*, 2, p. 23. doi: 10.1186/1743-0003-2-23
- Fujisawa, H. *et al.* (2016) 'Chronic Hyponatremia Causes Neurologic and Psychologic Impairments', *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(3), pp. 766–780. doi: 10.1681/ASN.2014121196
- Gallia, G.L., Rigamonti, D. and Williams, M.A. (2006) 'The diagnosis and treatment of idiopathic normal pressure hydrocephalus', *Nature Clinical Practice. Neurology*, 2(7), pp. 375–381. doi: 10.1038/ncpneuro0237
- Gankam Kengne, F. *et al.* (2008) 'Mild hyponatremia and risk of fracture in the ambulatory elderly', *QJM : Monthly Journal of the Association of Physicians*, 101(7), pp. 583–588. doi: 10.1093/qjmed/hcn061
- Garvey, M.A. and Cuthbert, B.N. (2017) 'Developing a Motor Systems Domain for the NIMH RDoC Program', *Schizophrenia Bulletin*, 43(5), pp. 935–936. doi: 10.1093/schbul/sbx095
- Geerling, J.C. and Loewy, A.D. (2009) 'Aldosterone in the brain', *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 297(3), F559-76. doi: 10.1152/ajprenal.90399.2008
- Ghaffarilaleh, G. *et al.* (2019) 'Yoga positively affected depression and blood pressure in women with premenstrual syndrome in a randomized controlled clinical trial', *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 34, pp. 87–92. doi: 10.1016/j.ctcp.2018.11.007
- Gironacci, M.M. *et al.* (2018) 'The depressor axis of the renin-angiotensin system and brain disorders: A translational approach', *Clinical Science (London, England : 1979)*, 132(10), pp. 1021–1038. doi: 10.1042/CS20180189
- Giuliani, C. and Peri, A. (2014) 'Effects of Hyponatremia on the Brain', *Journal of Clinical Medicine*, 3(4), pp. 1163–1177. doi: 10.3390/jcm3041163
- Gold, P.W. *et al.* (2005) 'Cardiac implications of increased arterial entry and reversible 24-h central and peripheral norepinephrine levels in melancholia', *Proceedings of the National*

Academy of Sciences of the United States of America, 102(23), pp. 8303–8308.

doi: 10.1073/pnas.0503069102

Golden, S.A. *et al.* (2013) 'Epigenetic regulation of RAC1 induces synaptic remodeling in stress disorders and depression', *Nature Medicine*, 19(3), pp. 337–344. doi: 10.1038/nm.3090

Gomez-Sanchez, E.P. (2011) 'Mineralocorticoid receptors in the brain and cardiovascular regulation: Minority rule?' *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 22(5), pp. 179–187.

doi: 10.1016/j.tem.2011.02.001

Gomez-Sanchez, E.P. and Gomez-Sanchez, C.E. (2012) 'Central regulation of blood pressure by the mineralocorticoid receptor', *Molecular and Cellular Endocrinology*, 350(2), pp. 289–298.

doi: 10.1016/j.mce.2011.05.005

Grace, A.A. (2016) 'Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression', *Nature Reviews. Neuroscience*, 17(8), pp. 524–532.

doi: 10.1038/nrn.2016.57

Grippe, A.J. and Johnson, A.K. (2009) 'Stress, depression and cardiovascular dysregulation: A review of neurobiological mechanisms and the integration of research from preclinical disease models', *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 12(1), pp. 1–21. doi: 10.1080/10253890802046281

Gunathilake, R. *et al.* (2013) 'Mild hyponatremia is associated with impaired cognition and falls in community-dwelling older persons', *Journal of the American Geriatrics Society*, 61(10),

pp. 1838–1839. doi: 10.1111/jgs.12468

Guyenet, P.G. (2006) 'The sympathetic control of blood pressure', *Nature Reviews.*

Neuroscience, 7(5), pp. 335–346. doi: 10.1038/nrn1902

Häfner, S. *et al.* (2012) 'To live alone and to be depressed, an alarming combination for the renin-angiotensin-aldosterone-system (RAAS)', *Psychoneuroendocrinology*, 37(2), pp. 230–237.

doi: 10.1016/j.psyneuen.2011.06.007

Hajjar, I. *et al.* (2009) 'A novel aging phenotype of slow gait, impaired executive function, and depressive symptoms: Relationship to blood pressure and other cardiovascular risks', *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 64(9), pp. 994–

1001. doi: 10.1093/gerona/glp075

- Hamilton, J.L. and Alloy, L.B. (2016) 'Atypical reactivity of heart rate variability to stress and depression across development: Systematic review of the literature and directions for future research', *Clinical Psychology Review*, 50, pp. 67–79. doi: 10.1016/j.cpr.2016.09.003
- Hammar, A. and Ardal, G. (2009) 'Cognitive functioning in major depression--a summary', *Frontiers in Human Neuroscience*, 3, p. 26. doi: 10.3389/neuro.09.026.2009
- Hanna, S. and Macintyre, I. (1960) 'The Influence of Aldosterone on Magnesium Metabolism', *The Lancet*, 276(7146), pp. 348–350. doi: 10.1016/s0140-6736(60)91487-2
- Hausdorff, J.M. *et al.* (2004) 'Gait unsteadiness and fall risk in two affective disorders: A preliminary study', *BMC Psychiatry*, 4, p. 39. doi: 10.1186/1471-244X-4-39
- Hertzman, M. *et al.* (2005) 'Lisinopril may augment antidepressant response', *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 25(6), pp. 618–620. doi: 10.1097/01.jcp.0000186736.99523.1d
- Hildrum, B., Romild, U. and Holmen, J. (2011) 'Anxiety and depression lowers blood pressure: 22-year follow-up of the population based HUNT study, Norway', *BMC Public Health*, 11, p. 601. doi: 10.1186/1471-2458-11-601
- Hirohara, D. *et al.* (2001) 'Performance of the basal aldosterone to renin ratio and of the renin stimulation test by furosemide and upright posture in screening for aldosterone-producing adenoma in low renin hypertensives', *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86(9), pp. 4292–4298. doi: 10.1210/jcem.86.9.7867
- Hlavacova, N. and Jezova, D. (2008) 'Chronic treatment with the mineralocorticoid hormone aldosterone results in increased anxiety-like behavior', *Hormones and Behavior*, 54(1), pp. 90–97. doi: 10.1016/j.yhbeh.2008.02.004
- Hlavacova, N. and Jezova, D. (2019) 'View on Aldosterone and the Brain Revisited', in Harvey, B. and Jaisser, F. (eds.) *Aldosterone-Mineralocorticoid Receptor - Cell Biology to Translational Medicine*: IntechOpen.
- Hlavacova, N. *et al.* (2012) 'Subchronic treatment with aldosterone induces depression-like behaviours and gene expression changes relevant to major depressive disorder', *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 15(2), pp. 247–265. doi: 10.1017/S1461145711000368

- Holsboer, F. (1999) 'The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety', *Journal of psychiatric research*, 33(3), pp. 181–214. doi: 10.1016/S0022-3956(98)90056-5
- Holsboer, F. (2008) 'How can we realize the promise of personalized antidepressant medicines?' *Nature Reviews. Neuroscience*, 9(8), pp. 638–646. doi: 10.1038/nrn2453
- Hoogenboom, W.S. *et al.* (2014) 'Limbic system white matter microstructure and long-term treatment outcome in major depressive disorder: A diffusion tensor imaging study using legacy data', *The World Journal of Biological Psychiatry : the Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 15(2), pp. 122–134. doi: 10.3109/15622975.2012.669499
- <https://sites.google.com/site/gaitanalysisenglish/home> (2021) *Gait Analysis for iPhone*. Available at: <https://sites.google.com/site/gaitanalysisenglish/home> (Accessed: 12 September 2021).
- Insel, T. *et al.* (2010) 'Research domain criteria (RDoC): Toward a new classification framework for research on mental disorders', *The American Journal of Psychiatry*, 167(7), pp. 748–751. doi: 10.1176/appi.ajp.2010.09091379
- James, S.L. *et al.* (2018) 'Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017', *The Lancet*, 392(10159), pp. 1789–1858. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32279-7
- Jenkins, T.A. (2008) 'Effect of angiotensin-related antihypertensives on brain neurotransmitter levels in rats', *Neuroscience Letters*, 444(2), pp. 186–189. doi: 10.1016/j.neulet.2008.08.021
- Jezova, D. and Hlavacova, N. (2008) 'Endocrine factors in stress and psychiatric disorders: Focus on anxiety and salivary steroids', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1148, pp. 495–503. doi: 10.1196/annals.1410.050
- Jezova, D. *et al.* (2019) *Classical Steroids in a New Fashion: Focus on Testosterone and Aldosterone*. 20th edn.: Bentham Science Publishers.
- Jorm, A.F. (2001) 'Association of hypotension with positive and negative affect and depressive symptoms in the elderly', *The British Journal of Psychiatry : the Journal of Mental Science*, 178, pp. 553–555. doi: 10.1192/bjp.178.6.553

- Juruena et al. (2013) 'The role of mineralocorticoid receptor function in treatment-resistant depression', *Journal of Psychopharmacology*, (Volume 27 Issue 12), pp. 1169–1179.
doi: 10.1177/0269881113499205
- Juruena, M.F. et al. (2009) 'Improved stress response in bipolar affective disorder with adjunctive spironolactone (mineralocorticoid receptor antagonist): Case series', *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 23(8), pp. 985–987. doi: 10.1177/0269881108092121
- Juruena, M.F. et al. (2009) 'Prednisolone suppression test in depression: Prospective study of the role of HPA axis dysfunction in treatment resistance', *The British Journal of Psychiatry : the Journal of Mental Science*, 194(4), pp. 342–349. doi: 10.1192/bjp.bp.108.050278
- Juster, R.-P., McEwen, B.S. and Lupien, S.J. (2010) 'Allostatic load biomarkers of chronic stress and impact on health and cognition', *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(1), pp. 2–16.
doi: 10.1016/j.neubiorev.2009.10.002
- Kang, K. et al. (2016) 'Abnormal White Matter Integrity in Elderly Patients with Idiopathic Normal-Pressure Hydrocephalus: A Tract-Based Spatial Statistics Study', *European Neurology*, 75(1-2), pp. 96–103. doi: 10.1159/000443206
- Karst, H. et al. (2005) 'Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(52), pp. 19204–19207.
doi: 10.1073/pnas.0507572102
- Kemp, A.H. et al. (2010) 'Impact of depression and antidepressant treatment on heart rate variability: A review and meta-analysis', *Biological Psychiatry*, 67(11), pp. 1067–1074.
doi: 10.1016/j.biopsych.2009.12.012
- Khan, M.U. et al. (2013) 'Idiopathic intracranial hypertension associated with either primary or secondary aldosteronism', *The American Journal of the Medical Sciences*, 346(3), pp. 194–198.
doi: 10.1097/MAJ.0b013e31826e3635
- Kiernan, M.C. et al. (2002) 'Nerve excitability changes in chronic renal failure indicate membrane depolarization due to hyperkalaemia', *Brain : a Journal of Neurology*, 125(Pt 6), pp. 1366–1378. doi: 10.1093/brain/awf123
- Kinoshita, T. et al. (2020) 'The effects of dietary licorice flavonoid oil supplementation on body balance control in healthy middle-aged and older Japanese women undergoing a physical

exercise intervention: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial', *Aging Clinical and Experimental Research*. doi: 10.1007/s40520-020-01513-3

Kirby, R.L. *et al.* (1989) 'Coupling of cardiac and locomotor rhythms', *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 66(1), pp. 323–329. doi: 10.1152/jappl.1989.66.1.323

Klinge, P.M. *et al.* (2003) 'Cerebral hypoperfusion and delayed hippocampal response after induction of adult kaolin hydrocephalus', *Stroke*, 34(1), pp. 193–199.

doi: 10.1161/01.STR.0000048820.17198.15

Kloet, E.R. de and Joëls, M. (2017) 'Brain mineralocorticoid receptor function in control of salt balance and stress-adaptation', *Physiology & Behavior*, 178, pp. 13–20.

doi: 10.1016/j.physbeh.2016.12.045

Kloet, E.R. de *et al.* (2000) 'Brain mineralocorticoid receptors and centrally regulated functions', *Kidney International*, 57(4), pp. 1329–1336. doi: 10.1046/j.1523-1755.2000.00971.x

Kobayashi, H., Kakihana, W. and Kimura, T. (2014) 'Combined effects of age and gender on gait symmetry and regularity assessed by autocorrelation of trunk acceleration', *Journal of Neuroengineering and Rehabilitation*, 11, p. 109. doi: 10.1186/1743-0003-11-109

Koenig, J. and Thayer, J.F. (2016) 'Sex differences in healthy human heart rate variability: A meta-analysis', *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 64, pp. 288–310.

doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.007

Kohno, I. *et al.* (1994) 'Comparison of blood pressure, heart rate and activity between normotensive and spontaneously-hypertensive rats', *Chronobiologia*, 21(1-2), pp. 45–56.

Kondziella, D. *et al.* (2008) 'Brain metabolism in adult chronic hydrocephalus', *Journal of Neurochemistry*, 106(4), pp. 1515–1524. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05422.x

Kondziella, D. *et al.* (2009) 'Gray matter metabolism in acute and chronic hydrocephalus', *Neuroscience*, 159(2), pp. 570–577. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.01.008

Korte, S.M. *et al.* (2015) 'The many different faces of major depression: It is time for personalized medicine', *European Journal of Pharmacology*, 753, pp. 88–104.

doi: 10.1016/j.ejphar.2014.11.045

Kozłowska, K., Latka, M. and West, B.J. (2017) 'Asymmetry of short-term control of spatio-temporal gait parameters during treadmill walking', *Scientific Reports*, 7, p. 44349.

doi: 10.1038/srep44349

- Krishnan, A.V. *et al.* (2005) 'Altered motor nerve excitability in end-stage kidney disease', *Brain : a Journal of Neurology*, 128(Pt 9), pp. 2164–2174. doi: 10.1093/brain/awh558
- Kubo, Y. *et al.* (2008) 'Validation of grading scale for evaluating symptoms of idiopathic normal-pressure hydrocephalus', *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 25(1), pp. 37–45. doi: 10.1159/000111149
- Künzel, H.E. *et al.* (2012) 'Quality of life in patients with primary aldosteronism: Gender differences in untreated and long-term treated patients and associations with treatment and aldosterone', *Journal of Psychiatric Research*, 46(12), pp. 1650–1654. doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.08.025
- Kuriyama, N. *et al.* (2017) 'Nationwide hospital-based survey of idiopathic normal pressure hydrocephalus in Japan: Epidemiological and clinical characteristics', *Brain and Behavior*, 7(3), e00635. doi: 10.1002/brb3.635
- Lacerda, A.L.T. *et al.* (2003) 'Anatomical MRI study of basal ganglia in major depressive disorder', *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 124(3), pp. 129–140. doi: 10.1016/S0925-4927(03)00123-9
- Larsson, A. *et al.* (1994) 'Regional cerebral blood flow in normal pressure hydrocephalus: Diagnostic and prognostic aspects', *European Journal of Nuclear Medicine*, 21(2), pp. 118–123. doi: 10.1007/BF00175758
- Laudisio, A. *et al.* (2017) 'Use of ACE-inhibitors and falls in patients with Parkinson's disease', *Gait & Posture*, pp. 39–44. doi: 10.1016/j.gaitpost.2017.02.007
- Leenen, F.H.H. (2010) 'The central role of the brain aldosterone-"ouabain" pathway in salt-sensitive hypertension', *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1802(12), pp. 1132–1139. doi: 10.1016/j.bbadis.2010.03.004
- Lemke, M.R. *et al.* (2000) 'Spatiotemporal gait patterns during over ground locomotion in major depression compared with healthy controls', *Journal of psychiatric research*, 34(4-5), pp. 277–283. doi: 10.1016/S0022-3956(00)00017-0
- Lenoir, H. *et al.* (2008) 'Relationship between blood pressure and depression in the elderly. The Three-City Study', *Journal of Hypertension*, 26(9), pp. 1765–1772. doi: 10.1097/HJH.0b013e3283088d1f

Lim, T.K. (2016) *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 10, Modified Stems, Roots, Bulbs*. Dordrecht: Springer Netherlands. Available at: <http://gbv.eblib.com/patron/FullRecord.aspx?p=4388676>.

Lim, Y.-H. *et al.* (2019) 'Quantitative Gait Analysis and Cerebrospinal Fluid Tap Test for Idiopathic Normal-pressure Hydrocephalus', *Scientific Reports*, 9(1), p. 16255. doi: 10.1038/s41598-019-52448-3

Little, A. (2009) 'Treatment-resistant depression', *American Family Physician*, 80(2), pp. 167–172.

Lo, O.-Y. *et al.* (2017) 'Gait Speed and Gait Variability Are Associated with Different Functional Brain Networks', *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9, p. 390. doi: 10.3389/fnagi.2017.00390

Lohr, J.B., May, T. and Caligiuri, M.P. (2013) 'Quantitative assessment of motor abnormalities in untreated patients with major depressive disorder', *Journal of Affective Disorders*, 146(1), pp. 84–90. doi: 10.1016/j.jad.2012.08.043

Longstreth, W.T. *et al.* (1996) 'Clinical correlates of white matter findings on cranial magnetic resonance imaging of 3301 elderly people. The Cardiovascular Health Study', *Stroke*, 27(8), pp. 1274–1282. doi: 10.1161/01.STR.27.8.1274

López, J.F. *et al.* (1998) 'Regulation of Serotonin1A, Glucocorticoid, and Mineralocorticoid Receptor in Rat and Human Hippocampus: Implications for the Neurobiology of Depression', *Biological psychiatry*, 43(8), pp. 547–573. doi: 10.1016/S0006-3223(97)00484-8

Luo, H. *et al.* (2020) 'Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Rapidly Ameliorates Depressive-Type Behaviors via Bradykinin-Dependent Activation of Mammalian Target of Rapamycin Complex 1', *Biological Psychiatry*, 88(5), pp. 415–425. doi: 10.1016/j.biopsych.2020.02.005

Lyden, H. *et al.* (2014) 'Electroconvulsive therapy mediates neuroplasticity of white matter microstructure in major depression', *Translational Psychiatry*, 4, e380. doi: 10.1038/tp.2014.21

MacFadyen, R. (1997) 'Aldosterone blockade reduces vascular collagen turnover, improves heart rate variability and reduces early morning rise in heart rate in heart failure patients', *Cardiovascular Research*, 35(1), pp. 30–34. doi: 10.1016/S0008-6363(97)00091-6

MacQueen, G. *et al.* (2017) 'Systematic Review of Clinical Practice Guidelines for Failed Antidepressant Treatment Response in Major Depressive Disorder, Dysthymia, and

- Subthreshold Depression in Adults', *Canadian Journal of Psychiatry. Revue Canadienne De Psychiatrie*, 62(1), pp. 11–23. doi: 10.1177/0706743716664885
- Massicotte, E.M., Buist, R. and Del Bigio, M.R. (2000) 'Altered diffusion and perfusion in hydrocephalic rat brain: A magnetic resonance imaging analysis', *Journal of Neurosurgery*, 92(3), pp. 442–447. doi: 10.3171/jns.2000.92.3.0442
- Massin, M.M., Derkenne, B. and Bernuth, G. von (1999) 'Correlations between indices of heart rate variability in healthy children and children with congenital heart disease', *Cardiology*, 91(2), pp. 109–113. doi: 10.1159/000006889
- Mattle, H. and Mumenthaler, M. (2015) *Kurzlehrbuch Neurologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Mayberg, H.S. *et al.* (1994) 'Paralimbic hypoperfusion in unipolar depression', *Journal of Nuclear Medicine : Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 35(6), pp. 929–934.
- Meijer, R. *et al.* (2011) 'Markedly impaired bilateral coordination of gait in post-stroke patients: Is this deficit distinct from asymmetry? A cohort study', *Journal of Neuroengineering and Rehabilitation*, 8, p. 23. doi: 10.1186/1743-0003-8-23
- Melville, J.L. *et al.* (2009) 'Major depression and urinary incontinence in women: Temporal associations in an epidemiologic sample', *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 201(5), 490.e1-490.e7. doi: 10.1016/j.ajog.2009.05.047
- Ménard, C., Hodes, G.E. and Russo, S.J. (2016) 'Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies', *Neuroscience*, 321, pp. 138–162.
doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.05.053
- Mert, T. *et al.* (2003) 'Effects of calcium and magnesium on peripheral nerve conduction', *Polish Journal of Pharmacology*, 55(1), pp. 25–30.
- Michalak, J. *et al.* (2009) 'Embodiment of sadness and depression--gait patterns associated with dysphoric mood', *Psychosomatic Medicine*, 71(5), pp. 580–587.
doi: 10.1097/PSY.0b013e3181a2515c
- Miller, D.B. and O'Callaghan, J.P. (2013) 'Personalized medicine in major depressive disorder -- opportunities and pitfalls', *Metabolism: Clinical and Experimental*, 62 Suppl 1, S34-9.
doi: 10.1016/j.metabol.2012.08.021

- Miyamoto, J., Imahori, Y. and Mineura, K. (2007) 'Cerebral oxygen metabolism in idiopathic-normal pressure hydrocephalus', *Neurological Research*, 29(8), pp. 830–834.
doi: 10.1179/016164107X181851
- Moretti, M. *et al.* (2005) 'Corpus callosum atrophy is associated with gait disorders in patients with leukoaraiosis', *Neurological Sciences : Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 26(2), pp. 61–66. doi: 10.1007/s10072-005-0437-2
- Mori, E. (2008) 'Gait disturbance in idiopathic normal pressure hydrocephalus', *Brain and nerve = Shinkei kenkyu no shinpo*, 60(3), pp. 219–224.
- Morris, M.E. *et al.* (1994) 'The pathogenesis of gait hypokinesia in Parkinson's disease', *Brain : a Journal of Neurology*, 117 (Pt 5), pp. 1169–1181. doi: 10.1093/brain/117.5.1169
- Morris, M.E. *et al.* (1996) 'Stride length regulation in Parkinson's disease. Normalization strategies and underlying mechanisms', *Brain : a Journal of Neurology*, 119 (Pt 2), pp. 551–568. doi: 10.1093/brain/119.2.551
- Murck, H. (2003) 'Atypical depression spectrum disorder – neurobiology and treatment', *Acta Neuropsychiatrica*, 15(4), pp. 227–241. doi: 10.1034/j.1601-5215.2003.00029.x
- Murck, H. *et al.* (2003) 'The renin-angiotensin-aldosterone system in patients with depression compared to controls--a sleep endocrine study', *BMC Psychiatry*, 3, p. 15. doi: 10.1186/1471-244X-3-15
- Murck, H. *et al.* (2005) 'Hypericum extract in patients with MDD and reversed vegetative signs: Re-analysis from data of a double-blind, randomized trial of hypericum extract, fluoxetine, and placebo', *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, pp. 215–221.
doi: 10.1017/S1461145704004717
- Murck, H. *et al.* (2015) 'Taking Personalized Medicine Seriously: Biomarker Approaches in Phase IIb/III Studies in Major Depression and Schizophrenia', *Innovations in Clinical Neuroscience*, 12(3-4), 265-405.
- Murck, H. *et al.* (2018) 'Markers of mineralocorticoid receptor function: Changes over time and relationship to response in patients with major depression', *International Clinical Psychopharmacology* (9pp). doi: 10.1097/YIC.0000000000000239

Murck, H. *et al.* (2019) 'Markers of therapy refractory depression and gait disturbance: Is there a relationship to normal pressure hydrocephalus?' *Markers of therapy refractory depression and gait disturbance: is there a relationship to normal pressure hydrocephalus?*, Abstracts of the 1st Symposium of the Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie (AGNP) and Deutsche Gesellschaft für Biologische Psychiatrie (DGBP), Seminaris Campus Hotel Berlin, Germany, 6-8 March: Georg Thieme Verlag KG. doi: 10.1055/s-0039-1679143

Murck, H. *et al.* (2020) 'Adjunct Therapy With Glycyrrhiza Glabra Rapidly Improves Outcome in Depression-A Pilot Study to Support 11-Beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 Inhibition as a New Target', *Frontiers in Psychiatry*, 11, p. 605949. doi: 10.3389/fpsy.2020.605949

Murck, H. *et al.* (2020) 'Ventricular volume, white matter alterations and outcome of major depression and their relationship to endocrine parameters – A pilot study', *THE WORLD JOURNAL OF BIOLOGICAL PSYCHIATRY*, pp. 1–15. doi: 10.1080/15622975.2020.1757754

Murck, H. *et al.* (2021) 'Brain Ventricle Morphology as Predictor of Treatment-Response-Findings From the EMBARC-Study', *Biological psychiatry*, 89(9), S367-S368. doi: 10.1016/j.biopsych.2021.02.915

Murck, H., Ploch, M. and Montgomery, S. (2018) 'Mineralocorticoid receptor-related markers and outcome of major depression: Focus on blood pressure and electrolytes', *International Clinical Psychopharmacology*, 33(4), pp. 224–228. doi: 10.1097/YIC.0000000000000212

Murck, H., Schüssler, P. and Steiger, A. (2012) 'Renin-angiotensin-aldosterone system: The forgotten stress hormone system: relationship to depression and sleep', *Pharmacopsychiatry*, 45(3), pp. 83–95. doi: 10.1055/s-0031-1291346

Nagano, H. *et al.* (2013) 'A comparison of treadmill and overground walking effects on step cycle asymmetry in young and older individuals', *Journal of Applied Biomechanics*, 29(2), pp. 188–193. doi: 10.1123/jab.29.2.188

Nagano, H. *et al.* (2019) 'General Mental Health Is Associated with Gait Asymmetry', *Sensors (Basel, Switzerland)*, 19(22). doi: 10.3390/s19224908

National Institute of Mental Health (2021) *Research Domain Criteria (RDoC)*. Available at: <https://www.nimh.nih.gov/research/research-funded-by-nimh/rdoc/index.shtml> (Accessed: 5 April 2021).

- Nestler, E.J. and Carlezon, W.A. (2006) 'The mesolimbic dopamine reward circuit in depression', *Biological Psychiatry*, 59(12), pp. 1151–1159. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.09.018
- Niederlag, W., Lemke, H.U. and Rienhoff, O. (2010) 'Personalisierte Medizin und individuelle Gesundheitsversorgung: Medizin- und informationstechnische Aspekte', *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*, 53(8), pp. 776–782. doi: 10.1007/s00103-010-1098-8
- Nikaido, Y. *et al.* (2018) 'Intermittent gait disturbance in idiopathic normal pressure hydrocephalus', *Acta Neurologica Scandinavica*, 137(2), pp. 238–244. doi: 10.1111/ane.12853
- Nikaido, Y. *et al.* (2019) 'Associations among falls, gait variability, and balance function in idiopathic normal pressure hydrocephalus', *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 183, p. 105385. doi: 10.1016/j.clineuro.2019.105385
- O'Brien, J. *et al.* (2000) 'The association between white matter lesions on magnetic resonance imaging and noncognitive symptoms', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 903, pp. 482–489. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06403.x
- Onder, G. *et al.* (2002) 'Relation between use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and muscle strength and physical function in older women: An observational study', *The Lancet*, 359(9310), pp. 926–930. doi: 10.1016/S0140-6736(02)08024-8
- Orendurff, M.S. *et al.* (2004) 'The effect of walking speed on center of mass displacement', *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 41(6A), pp. 829–834. doi: 10.1682/jrrd.2003.10.0150
- Otte, C. *et al.* (2010) 'Modulation of the mineralocorticoid receptor as add-on treatment in depression: A randomized, double-blind, placebo-controlled proof-of-concept study', *Journal of Psychiatric Research*, 44(6), pp. 339–346. doi: 10.1016/j.jpsychires.2009.10.006
- Öunpuu, S. and Winter, D.A. (1989) 'Bilateral electromyographical analysis of the lower limbs during walking in normal adults', *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 72(5), pp. 429–438. doi: 10.1016/0013-4694(89)90048-5
- Ovaert, P. *et al.* (2010) 'Aldosterone receptor antagonists--how cardiovascular actions may explain their beneficial effects in heart failure', *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 33(2), pp. 109–117. doi: 10.1111/j.1365-2885.2009.01122.x

Owler, B.K. *et al.* (2004) 'Normal pressure hydrocephalus and cerebral blood flow: A PET study of baseline values', *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 24(1), pp. 17–23.

doi: 10.1097/01.WCB.0000093326.88757.49

Paleacu, D. *et al.* (2007) 'Effects of pharmacological therapy on gait and cognitive function in depressed patients', *Clinical Neuropharmacology*, 30(2), pp. 63–71.

doi: 10.1097/01.wnf.0000240949.41691.95

Panciani, P.P. *et al.* (2018) 'Computerized gait analysis with inertial sensor in the management of idiopathic normal pressure hydrocephalus', *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*, 54(5), pp. 724–729. doi: 10.23736/S1973-9087.18.04949-3

Pape, H.-C., Kurtz, A. and Silbernagl, S. (2019) *Physiologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Pastorino, G. *et al.* (2018) 'Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A phytochemical and pharmacological review', *Phytotherapy Research : PTR*, 32(12), pp. 2323–2339. doi: 10.1002/ptr.6178

Penttilä, J. *et al.* (2001) 'Time domain, geometrical and frequency domain analysis of cardiac vagal outflow: Effects of various respiratory patterns', *Clinical Physiology (Oxford, England)*, 21(3), pp. 365–376. doi: 10.1046/j.1365-2281.2001.00337.x.

Pfaff, D.W. and Joëls, M. (2017) *Hormones, brain, and behavior*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

Porges, S.W. (2007) 'The polyvagal perspective', *Biological Psychology*, 74(2), pp. 116–143.

doi: 10.1016/j.biopsycho.2006.06.009

Prager, E.M. *et al.* (2010) 'Localization of mineralocorticoid receptors at mammalian synapses', *PLoS One*, 5(12), e14344. doi: 10.1371/journal.pone.0014344

Prince, M. *et al.* (2007) 'No health without mental health', *The Lancet*, 370(9590), pp. 859–877.

doi: 10.1016/S0140-6736(07)61238-0

R. de Kloet, E. and C. Meijer, O. (2019) 'MR/GR Signaling in the Brain during the Stress Response', in Harvey, B. and Jaisser, F. (eds.) *Aldosterone-Mineralocorticoid Receptor - Cell Biology to Translational Medicine*: IntechOpen.

Radovanović, S. *et al.* (2014) 'Gait characteristics in patients with major depression performing cognitive and motor tasks while walking', *Psychiatry Research*, 217(1-2), pp. 39–46.

doi: 10.1016/j.psychres.2014.02.001

- Randall R.E. *et al.* (1964) 'Hypermagnesemia in Renal Failure. Etiology and Toxic Manifestations', *Annals of Internal Medicine*, 61, pp. 73–88. doi: 10.7326/0003-4819-61-1-73
- Renneboog, B. *et al.* (2006) 'Mild chronic hyponatremia is associated with falls, unsteadiness, and attention deficits', *The American Journal of Medicine*, 119(1), 71.e1-8. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.09.026
- Reul, J.M. *et al.* (1993) 'Chronic treatment of rats with the antidepressant amitriptyline attenuates the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system', *Endocrinology*, 133(1), pp. 312–320. doi: 10.1210/endo.133.1.8391426
- Robson, A.C. *et al.* (1998) '11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in the postnatal and adult rat brain', *Molecular Brain Research*, 61(1-2), pp. 1–10. doi: 10.1016/s0169-328x(98)00161-2
- Rottenberg, J. (2007) 'Cardiac vagal control in depression: A critical analysis', *Biological Psychology*, 74(2), pp. 200–211. doi: 10.1016/j.biopsycho.2005.08.010
- Rush, A.J. (2007) 'The varied clinical presentations of major depressive disorder', *J Clin Psychiatry*, 68 Suppl 8, pp. 4–10.
- Ryan, N.S., Bruno, P.A. and Barden, J.M. (2020) 'Test-Retest Reliability and the Effects of Walking Speed on Stride Time Variability During Continuous, Overground Walking in Healthy Young Adults', *Journal of Applied Biomechanics*, pp. 1–7. doi: 10.1123/jab.2020-0138
- Sadeghi, H. *et al.* (2000) 'Symmetry and limb dominance in able-bodied gait: A review', *Gait & posture*, 12(1), pp. 34–45. doi: 10.1016/s0966-6362(00)00070-9
- Sakai, R.R. *et al.* (1996) 'Intracerebral administration of mineralocorticoid receptor antisense oligonucleotides attenuate adrenal steroid-induced salt appetite in rats', *Neuroendocrinology*, 64(6), pp. 425–429. doi: 10.1159/000127148
- Sakka, L., Coll, G. and Chazal, J. (2011) 'Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid', *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases*, 128(6), pp. 309–316. doi: 10.1016/j.anorl.2011.03.002
- Sakurai, H. *et al.* (2017) 'Predicting relapse with individual residual symptoms in major depressive disorder: A reanalysis of the STAR*D data', *Psychopharmacology*, 234(16), pp. 2453–2461. doi: 10.1007/s00213-017-4634-5

- Salpietro, V. *et al.* (2014) 'Pediatric idiopathic intracranial hypertension and the underlying endocrine-metabolic dysfunction: A pilot study', *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism : JPEM*, 27(1-2), pp. 107–115. doi: 10.1515/jpem-2013-0156
- Schirpenbach, C. and Reincke, M. (2007) 'Primary aldosteronism: Current knowledge and controversies in Conn's syndrome', *Nature Clinical Practice. Endocrinology & Metabolism*, 3(3), pp. 220–227. doi: 10.1038/ncpendmet0430
- Schiweck, C. *et al.* (2019) 'Heart rate and high frequency heart rate variability during stress as biomarker for clinical depression. A systematic review', *Psychological Medicine*, 49(2), pp. 200–211. doi: 10.1017/S0033291718001988
- Schlegel, S. *et al.* (1989) 'Computed tomography in depression: Association between ventricular size and psychopathology', *Psychiatry Research*, 29(2), pp. 221–230.
- Schmidt, B.M.W. (1999) 'Short Term Cardiovascular Effects of Aldosterone in Healthy Male Volunteers', *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(10), pp. 3528–3533. doi: 10.1210/jc.84.10.3528
- Schmidt, B.M.W. (2015) 'Die häufigsten Elektrolytstörungen in der Notaufnahme: Was ist sofort zu tun?' *Der Internist*, 56(7), pp. 753–759. doi: 10.1007/s00108-015-3670-7
- Schweda, F. (2015) 'Salt feedback on the renin-angiotensin-aldosterone system', *Pflugers Archiv : European Journal of Physiology*, 467(3), pp. 565–576. doi: 10.1007/s00424-014-1668-y
- Schwichtenberg, J. *et al.* (2017) 'Late-onset major depression is associated with age-related white matter lesions in the brainstem', *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 32(4), pp. 446–454. doi: 10.1002/gps.4487
- Scuteri, A. (2008) 'Depression and cardiovascular risk: Does blood pressure play a role?' *Journal of Hypertension*, 26(9), pp. 1738–1739. doi: 10.1097/HJH.0b013e32830dfff7
- Seckl, J.R. and Chapman, K.E. (1997) 'Medical and physiological aspects of the 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase system', *European Journal of Biochemistry*, 249(2), pp. 361–364. doi: 10.1111/j.1432-1033.1997.t01-1-00361.x
- Selge, C. *et al.* (2018) 'Gait analysis in PSP and NPH: Dual-task conditions make the difference', *Neurology*, 90(12), e1021-e1028. doi: 10.1212/WNL.0000000000005168
- Selye, H. (1955) 'Stress and disease', *Science (New York, N.Y.)*, 122(3171), pp. 625–631. doi: 10.1126/science.122.3171.625

- Sgoifo, A. *et al.* (2015) 'Autonomic dysfunction and heart rate variability in depression', *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 18(3), pp. 343–352. doi: 10.3109/10253890.2015.1045868
- Shankman, S.A., Mittal, V.A. and Walther, S. (2020) 'An Examination of Psychomotor Disturbance in Current and Remitted MDD: An RDoC Study', *Journal of Psychiatry and Brain Science*, 5. doi: 10.20900/jpbs.20200007
- Sheldon, C.A. *et al.* (2015) 'An integrated mechanism of pediatric pseudotumor cerebri syndrome: Evidence of bioenergetic and hormonal regulation of cerebrospinal fluid dynamics', *Pediatric Research*, 77(2), pp. 282–289. doi: 10.1038/pr.2014.188
- Shin, J.-W., Geerling, J.C. and Loewy, A.D. (2009) 'Vagal innervation of the aldosterone-sensitive HSD2 neurons in the NTS', *Brain Research*, 1249, pp. 135–147. doi: 10.1016/j.brainres.2008.10.058
- Shprecher, D., Schwalb, J. and Kurlan, R. (2008) 'Normal Pressure Hydrocephalus: Diagnosis and Treatment', *Curr Neurol Neurosci Rep.*, 2008(8 (5)), pp. 371–376.
- Simon, G.E. and Perlis, R.H. (2010) 'Personalized medicine for depression: Can we match patients with treatments?' *The American Journal of Psychiatry*, 167(12), pp. 1445–1455. doi: 10.1176/appi.ajp.2010.09111680
- Singh, I. (1970) 'Functional asymmetry in the lower limbs', *Acta Anatomica*, 77(1), pp. 131–138. doi: 10.1159/000143535
- Sobin, C. and Sackeim, H.A. (1997) 'Psychomotor symptoms of depression', *The American Journal of Psychiatry*, 154(1), pp. 4–17. doi: 10.1176/ajp.154.1.4
- Sonino, N., Fallo, F. and Fava, G.A. (2006) 'Psychological aspects of primary aldosteronism', *Psychotherapy and Psychosomatics*, 75(5), pp. 327–330. doi: 10.1159/000093956
- Sosvorova, L. *et al.* (2015) 'Steroid hormones in prediction of normal pressure hydrocephalus', *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, pp. 124–132. doi: 10.1016/j.jsbmb.2015.05.004
- Souza, R.K.M.d. *et al.* (2018) 'Gait in normal pressure hydrocephalus: Characteristics and effects of the CSF tap test', *Arquivos De Neuro-Psiquiatria*, 76(5), pp. 324–331. doi: 10.1590/0004-282x20180037

- Sparrenberger, F. *et al.* (2009) 'Does psychosocial stress cause hypertension? A systematic review of observational studies', *Journal of Human Hypertension*, 23(1), pp. 12–19.
doi: 10.1038/jhh.2008.74
- Srikanth, V. *et al.* (2010) 'The location of white matter lesions and gait--a voxel-based study', *Annals of Neurology*, 67(2), pp. 265–269. doi: 10.1002/ana.21826
- Starr, J.M. *et al.* (2003) 'Brain white matter lesions detected by magnetic resonance correction of resonance imaging are associated with balance and gait speed', *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 74(1), pp. 94–98. doi: 10.1136/jnnp.74.1.94
- Stewart, P.M. (1999) 'Cortisol as a mineralocorticoid in human disease', *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 69(1-6), pp. 403–408. doi: 10.1016/S0960-0760(99)00072-2
- Stroud, L.R. *et al.* (2016) 'Prenatal Major Depressive Disorder, Placenta Glucocorticoid and Serotonergic Signaling, and Infant Cortisol Response', *Psychosomatic Medicine*, 78(9), pp. 979–990. doi: 10.1097/PSY.0000000000000410
- Stroup-Benham, C.A. *et al.* (2000) 'Relationship between low blood pressure and depressive symptomatology in older people', *Journal of the American Geriatrics Society*, 48(3), pp. 250–255. doi: 10.1111/j.1532-5415.2000.tb02642.x
- Swaab, D.F., Bao, A.-M. and Lucassen, P.J. (2005) 'The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration', *Ageing Research Reviews*, 4(2), pp. 141–194.
doi: 10.1016/j.arr.2005.03.003
- ter Heegde, F., Rijk, R.H. de and Vinkers, C.H. (2015) 'The brain mineralocorticoid receptor and stress resilience', *Psychoneuroendocrinology*, 52, pp. 92–110.
doi: 10.1016/j.psyneuen.2014.10.022
- Tesio, L. and Rota, V. (2019) 'The Motion of Body Center of Mass During Walking: A Review Oriented to Clinical Applications', *Frontiers in Neurology*, 10, p. 999.
doi: 10.3389/fneur.2019.00999
- Tettamanti, G. *et al.* (2013) 'Depression, neuroticism, and urinary incontinence in premenopausal women: A nationwide twin study', *Twin Research and Human Genetics : the Official Journal of the International Society for Twin Studies*, 16(5), pp. 977–984.
doi: 10.1017/thg.2013.60

- Topf, J.M. and Murray, P.T. (2003) 'Hypomagnesemia and hypermagnesemia', *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 4(2), pp. 195–206. doi: 10.1023/A:1022950321817
- Trepel, M. and Dalkowski, K. (2017) *Neuroanatomie: Struktur und Funktion*. 7th edn. Philadelphia: Urban & Fischer Verlag GmbH & Co. KG. Available at: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/gbv/detail.action?docID=5553843>.
- Trivedi, M.H. *et al.* (2008) 'Adjunctive aripiprazole in major depressive disorder: Analysis of efficacy and safety in patients with anxious and atypical features', *The Journal of Clinical Psychiatry*, pp. 1928–1936.
- Ulbricht, C.M. *et al.* (2016) 'Changes in depression subtypes for women during treatment with citalopram: A latent transition analysis', *Archives of Women's Mental Health*, 19(5), pp. 769–778. doi: 10.1007/s00737-016-0606-8
- Umetani, K. *et al.* (1998) 'Twenty-Four Hour Time Domain Heart Rate Variability and Heart Rate: Relations to Age and Gender Over Nine Decades', *Journal of the American College of Cardiology*, 31(3), pp. 593–601. doi: 10.1016/s0735-1097(97)00554-8
- van Laecke, S. (2019) 'Hypomagnesemia and hypermagnesemia', *Acta Clinica Belgica*, 74(1), pp. 41–47. doi: 10.1080/17843286.2018.1516173
- van Uum, S.H. (2005) 'Liquorice and hypertension', *The Netherlands Journal of Medicine*, 63(4), pp. 119–120.
- Vandergheynst, F. *et al.* (2016) 'Impact of hyponatremia on nerve conduction and muscle strength', *European Journal of Clinical Investigation*, 46(4), pp. 328–333. doi: 10.1111/eci.12597
- Viengchareun, S. *et al.* (2007) 'The mineralocorticoid receptor: Insights into its molecular and (patho)physiological biology', *Nuclear Receptor Signaling*, 5, e012. doi: 10.1621/nrs.05012
- Walther, S. *et al.* (2012) 'Frontal white matter integrity is related to psychomotor retardation in major depression', *Neurobiology of Disease*, 47(1), pp. 13–19. doi: 10.1016/j.nbd.2012.03.019
- Walther, S. *et al.* (2019) 'The utility of an RDoC motor domain to understand psychomotor symptoms in depression', *Psychological Medicine*, 49(2), pp. 212–216. doi: 10.1017/S0033291718003033

Wang, Y. *et al.* (2021) 'Detecting Depression Through Gait Data: Examining the Contribution of Gait Features in Recognizing Depression', *Frontiers in psychiatry*, 12, p. 1517.

doi: 10.3389/fpsyt.2021.661213

Weintraub, D. *et al.* (2005) 'Striatal dopamine transporter imaging correlates with anxiety and depression symptoms in Parkinson's disease', *Journal of Nuclear Medicine : Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 46(2), pp. 227–232.

Wheelwright, E.F. *et al.* (1993) 'Temporal and spatial parameters of gait in children. I: Normal control data', *Developmental Medicine and Child Neurology*, 35(2), pp. 102–113.

doi: 10.1111/j.1469-8749.1993.tb11612.x

White, P.C. *et al.* (1997) '11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase and its role in the syndrome of apparent mineralocorticoid excess', *Pediatric Research*, 41(1), pp. 25–29.

doi: 10.1203/00006450-199701000-00004

Williams, B. *et al.* (2018) '2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension', *European Heart Journal*, 39(33), pp. 3021–3104. doi: 10.1093/eurheartj/ehy339

Wong, A.K.W. *et al.* (2013) 'Angiotensin system-blocking medications are associated with fewer falls over 12 months in community-dwelling older people', *Journal of the American Geriatrics Society*, 61(5), pp. 776–781. doi: 10.1111/jgs.12205

Wright, J.W. and Harding, J.W. (2011) 'Brain renin-angiotensin--a new look at an old system', *Progress in Neurobiology*, 95(1), pp. 49–67. doi: 10.1016/j.pneurobio.2011.07.001

Wu, P. *et al.* (1999) 'Effects of glycyrrhizin on production of vascular aldosterone and corticosterone', *Hormone Research*, 51(4), pp. 189–192. doi: 10.1159/000023356

Wu, T.-C. *et al.* (2013) 'Mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone prevents chronic corticosterone induced depression-like behavior', *Psychoneuroendocrinology*, 38(6), pp. 871–883. doi: 10.1016/j.psyneuen.2012.09.011

Yang, F. *et al.* (2016) 'Quantitative evaluation of changes in gait after extended cerebrospinal fluid drainage for normal pressure hydrocephalus', *Journal of Clinical Neuroscience : Official Journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 28, pp. 31–37.

doi: 10.1016/j.jocn.2015.11.013

Yuan, Y. *et al.* (2019) 'Reward Inhibits Paraventricular CRH Neurons to Relieve Stress', *Current Biology : CB*, 29(7), 1243-1251.e4. doi: 10.1016/j.cub.2019.02.048

- Z'Graggen, W.J. *et al.* (2010) 'Velocity recovery cycles of human muscle action potentials in chronic renal failure', *Clinical Neurophysiology : Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 121(6), pp. 874–881. doi: 10.1016/j.clinph.2010.01.024
- Zhang, Y. *et al.* (2017) 'Can Magnesium Enhance Exercise Performance?' *Nutrients*, 9(9), p. 946. doi: 10.3390/nu9090946
- Zorn, B.H. *et al.* (1999) 'Urinary incontinence and depression', *The Journal of Urology*, 162(1), pp. 82–84. doi: 10.1097/00005392-199907000-00020
- Zorn, J.V. *et al.* (2017) 'Cortisol stress reactivity across psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis', *Psychoneuroendocrinology*, 77, pp. 25–36. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.11.036
- Zou, Q. *et al.* (2009) 'Simultaneous determination of 18alpha- and 18beta-glycyrrhetic acid in human plasma by LC-ESI-MS and its application to pharmacokinetics', *Biomedical Chromatography : BMC*, 23(1), pp. 54–62. doi: 10.1002/bmc.1082

5. Appendix

5.1 Abbreviations

11 β -HSD2	11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 2
ACC	Anterior cingulate cortex
ACE	Angiotensin-converting enzyme
ACEI	Angiotensin-converting enzyme inhibitor
ACTH	Adrenocorticotrophic hormone
AD	Atypical depression
Aldo/cort	Ratio of aldosterone to cortisol
am	Ante meridiem, lt. before midday
ANOVA	Univariate analysis of variance
ANS	Autonomic nervous system
BBB	Blood-brain barrier
BDI	Beck Depression Inventory
BMI	Body mass index
BNST	Bed nucleus of the stria terminalis
Ca ²⁺	Calcium
CBF	Cerebral blood flow
CGI	Clinical Global Impression
CNS	Central nervous system
COM	Center of mass
COMD	Center of mass displacement
CRH	Corticotropin-releasing hormone
CRP	C-reactive protein
CSF	Cerebrospinal fluid
CV	Coefficient of variation
CVO	Circumventricular organ
DNA	Deoxyribonucleic acid
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV
ECG	Electrocardiography
EEG	Electroencephalography
ENaC	Epithelial Na ⁺ channel
GAF	Global Assessment of Functioning
GG	Glycyrrhiza glabra extract
GR	Glucocorticoid receptor
GTPase	Enzyme that hydrolyzes guanosine triphosphate
HDRS	Hamilton Depression Rating Scale
HPA	Hypothalamus-pituitary-adrenal axis
HRV	Heart rate variability
ICD-10	International Classification of Diseases Related Health Problems, 10th revision
iNPH	Idiopathic normal pressure hydrocephalus
iNPHGS	Idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale
K ⁺	Potassium
LoC	Locus coeruleus
MAO	Monoamine oxidase
MD	Melancholic depression
Mg ²⁺	Magnesium

mMR	membrane-bound MR
MR	Mineralocorticoid receptor
Na ⁺	Sodium
Na ⁺ /K ⁺	Ratio of Na ⁺ to K ⁺
NaCl	Sodium chloride
NSAID	Nonsteroidal anti-inflammatory drugs
NTS	Nucleus of the solitary tract
p-gp	P-glycoprotein
PCC	Pearson's correlation coefficient
PD	Parkinson's disease
PFC	Prefrontal cortex
pm	Post meridiem, lt. after midday
POMC	Proopiomelanocortin
PVN	Paraventricular nucleus
QIDS-SR-16	Quick Inventory of Depressive Symptomatology, self-rating with 16 items
R ²	Coefficients of determination
RAAS	Renin-angiotensin-aldosterone system
RDoC	Research Domain Criteria
RMSSD	Root mean square of successive R-R-intervals
RSA	Respiratory sinus arrhythmia
SBP	Systolic blood pressure
SNRI	Selective norepinephrine reuptake inhibitor
SNS	Sympathetic nervous system
SPSS®	Statistical Package for the Social Sciences®
SSRI	Selective serotonin reuptake inhibitor
SWS	Slow wave sleep
TAU	Treatment as usual
TRD	Treatment-resistant depression
VMN	Ventromedial Cortex
YLD	Years lived with disability

5.2 Index of Figures and Tables

Index of Figures:

Figure 1: Overview of Circuits Involving Aldosterone Action.....	16
Figure 2: Regulation of the Secretion of Cerebrospinal Fluid	23
Figure 3: Overview of Generation of Gait	25
Figure 4: Action of Glycyrrhizin	30
Figure 5: Timeline.....	33
Figure 6: Gait and iNPHGS.....	51
Figure 7: Comparison of alteration of mean salivary aldosterone (pg/ml).....	54
Figure 8: Biomarker changes from baseline to early follow-up.....	55
Figure 9: Correlations within the entire group at baseline	56
Figure 10: Gait and Electrolytes	60
Figure 11: Overview of Changes in Magnesium Level from Baseline to Early Follow-up	61
Figure 12: Gait and Blood Pressure.....	66
Figure 13: Biomarker changes from Baseline to Early Follow-up.	67
Figure 14: Gait and Clinical Rating Scales I.....	73
Figure 15: Gait and Clinical Rating Scales II.....	74
Figure 16: Clinical Course	75
Figure 17: Changes in Renin Level and Clinical Course	80
Figure 18: Changes in Salivary Aldosterone and Clinical Course	81
Figure 19: Gait and Depressivity	90
Figure 20: Gait and Electrolytes	94
Figure 21: Gait and Cardiovascular System.....	99

Index of Tables:

Table 1: Overview of known alterations in gait in iNPH, PD and MDD.....	28
Table 2: Overview of the Examinations of Subjects.....	35
Table 4: iNPH Grading Scale by Kubo et al., 2008	39
Table 5: Patient Characteristics.....	43
Table 6: Biomarker Parameter Characteristics: Saliva and Blood Values	45
Table 7: Biomarker Parameter Characteristics: Gait and Cardiovascular System	46

Table 8: Medication at Baseline	47
Table 9: Course of GG Subjects	49
Table 10: Overview of the Correlations between Gait Parameters and iNPHGS.....	52
Table 10: Overview of the Correlations between Gait Parameters and Hormone Levels	57
Table 11: Overview of the Correlations between Gait Parameters and Electrolytes	62
Table 13: Overview of the Correlations between Gait and Cardiovascular System	68
Table 13: Overview of the Correlations between Gait and Clinical Rating Scales	76
Table 15: Overview of the Correlations between Hormone Levels and Clinical Rating Scales...	81

5.3 Study protocols

Protokoll zur klinischen

Verlaufsbeobachtung:

Veränderungen des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems im Verlauf einer stationären Depressionsbehandlung

Verantwortlicher Leiter des Projektes

PD Dr. med. Harald Murck, Facharzt für Psychiatrie und Psychotherapie, Privatdozent der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg, Email: murck@staff.uni-marburg.de, Tel.: +1 201 294 1195

Leiter des Projektes vor Ort

Dr. med. Maxim Zavorotnyy, Facharzt für Psychiatrie und Psychotherapie, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg, email: Maxim.Zavorotnyy@med.uni-marburg.de, Tel: 06421 5865 200

Durchführende Wissenschaftlerin vor Ort:

Lisa Lehr, cand. med., Doktorandin der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie am Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg, Email: lehr.lis@gmail.com, Frankfurter Straße 19a, 35037 Marburg, Tel.: 0151 21344547.

B. Studien-Rationale

A) Theoretischer Hintergrund:

Depressive Syndrome sind häufig, individuell stark beeinträchtigend und volkswirtschaftlich sehr teuer. Depressive Syndrome treten bei verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen auf, insbesondere bei den affektiven Störungen wie z.B. der unipolaren Depression, der bipolaren Depression oder der Dysthymie. Die unipolare Depression ist die häufigste affektive Störung mit einer Lebenszeitprävalenz von weltweit etwa 16% (Kessler et al., 2003). In der Rangliste der Belastungen durch Erkrankungen (burden of disease) steht die unipolare Depression an erster Stelle aller Erkrankungen (WHO, 2008). Davon verläuft etwa jede 5. Depression chronisch (Kennedy et al., 2003). Von einer chronische Depression spricht man ab einem Andauern der Symptomatik über einen Zeitraum von mindestens zwei Jahren (Keller et al., 1995)(Gelenberg et al., 2006). Für die Behandlung depressiver Syndrome stehen effektive pharmakologische, psychotherapeutische und andere somatische Behandlungen zur Verfügung. Oftmals wirkt jedoch der zuerst gewählte Therapieansatz nicht. So konnte eine große amerikanische Studie (STAR-D) zeigen, dass bei einer Behandlung mit einem SSRI eine Vollremission lediglich bei ca. 30% aller Patienten erreicht wird (Trivedi et al., 2006). Gute Prädiktoren für die Auswahl einer Therapie fehlen, so dass es oftmals erforderlich ist, die Therapieansätze nacheinander oder in Kombination einzusetzen. Wie weiter unten ausgeführt wird ist ein wesentlicher Grund dafür die biologische Heterogenität depressiver Störungen. Parameter zur Differenzierung sind in einzelnen Studien erhoben worden, jedoch wegen der bislang technischen Komplexität auf geringe Fallzahlen und eine limitierte Anzahl von Parametern beschränkt. Dazu gehören insbesondere neuroendokrine Parameter, wie Kortisol-, Oxytocin und Vasopressin-Bestimmungen, Entzündungsparameter, Schlaf- EEG-Parameter sowie Parameter des vegetativen

Nervensystems, wie etwa die Herzratenvariabilität. Alle diese Parameter stehen in enger Verbindung mit der Regulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems, einem bislang eher wenig untersuchten Stress-Hormon-System (Murck et al., 2012).

Durch den Fortschritt im Bereich der Entwicklung analytischer Technik und elektronischer Systeme ist es nun möglich, elektrophysiologische Parameter mit geringen Aufwand und ausreichender Reliabilität zu bestimmen und in Zusammenhang mit neuroendokrinen Parametern zu bestimmen. Genau dieser Ansatz ist Inhalt der vorliegenden Studie.

Zu testende Hypothesen:

Aus tierexperimentellen Untersuchungen kann folgende Arbeitshypothese generiert werden: Eine Stress-Situation löst bei prädisponierten Menschen eine Reaktion aus, die es ermöglichen soll, eine *fight* oder *flight* Reaktion zu beginnen. Diese Reaktion geht mit einer Aktivierung des Sympathischen Nervensystems und insbesondere mit einer vermehrten Aktivierung des RAAS und daraus folgend der Aldosteron Konzentration einher. Dieses ermöglicht einen Blutdruck-Anstieg, der dem Organismus die Verhaltensaktivierung ermöglicht. Dem folgt in kurzem Abstand eine Aktivierung der klassischen Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse mit einem Anstieg von Kortisol. Zum einen wird damit die Stress-Reaktion unterstützt. Wesentlich ist jedoch, dass Kortisol für viele Systeme ein Gegenspieler zu Aldosteron ist und z.B. akut stimmungssteigernd und antiinflammatorisch wirkt. Kortisol führt über Glucokortikoid- Rezeptoren in einer Rückkopplungsschleife zu einer Verminderung von ACTH Freisetzung und damit zu einer Reduktion von sowohl Aldosteron als auch Kortisol. Dieses Rückkopplungssystem erscheint bei einigen Menschen zu wenig reaktiv zu sein, was zu einer verlängerten Stress-Reaktion und schließlich Depression führen kann.

Der neue Gesichtspunkt in dieser Hypothese ist, dass Aktivierung des Mineralokortikoid-Rezeptors (MR) depressiogen wirkt.

Folgende spezifische Hypothese soll dabei untersucht werden:

1. Funktionelle Überaktivität des Mineralokortikoid-Rezeptors (MR) verhindert Besserung der depressiven Symptomatik, insbesondere bei Behandlung mit SSRIs/ SNRIs.
2. Das frühzeitige Auftreten (1-2 Wochen nach Therapiebeginn) von Markern für verminderte MR-Aktivierung ist ein prädiktiver Marker für positive Response.
3. Unveränderte MR-Aktivierung deutet auf Therapie-Refraktärität hin.

Ziel der Studie:

Ziel der Studie ist die Charakterisierung von biologischen Parametern, die als Surrogat- Marker für die Aktivität des Mineralokortikoid-Rezeptors angesehen werden können und deren Auswirkung auf die klinische Besserung bei Patienten mit einer Major Depression bei einer konventionellen antidepressiven Therapie.

Ethische Aspekte:

Heilversuch oder Wissensversuch

Es handelt sich bei unserer Studie um eine biomedizinische, wissenschaftliche Untersuchung. Die Studie dient der Wissenschaft, die Teilnehmer haben keinen direkten persönlichen Nutzen. Es handelt sich nicht um eine Therapiestudie bzw. Interventionsstudie. Es sollen jedoch Kenntnisse über mögliche unterschiedliche Grundlagenelemente der Reaktion des Körpers in Form der oben beschriebenen biologischen Parameter auf eine Therapie mit Antidepressiva untersucht werden.

Über die Untersuchung des Einflusses verschiedener Parameter soll das Verständnis des Zusammenspiels verschiedener physiologischer Mechanismen verstanden werden. Dabei handelt es sich, wie oben beschrieben, um das RAAS im Zusammenspiel mit dem vegetativen

Nervensystem, der Inflammation und der Zusammensetzung von Elektrolyten im Verlauf einer Depression. Die Untersuchung dieser Parameter dient der Feststellung, ob sich Prädiktoren aus dem RAA-System für das Therapieansprechen identifizieren lassen.

Dieses Wissen ist die Grundlage für das Verständnis pathologischer Prozesse, wie sie bei psychiatrischen Erkrankungen auftreten. Insofern dient die Untersuchung letztlich der Behandlung psychiatrischer Erkrankungen, da sie dem Kliniker in Zukunft mögliche biologische Parameter an die Hand geben sollen, die seine Entscheidungsfindung unterstützen können.

Gute Klinische Praxis:

Die Studie wird durchgeführt unter Berücksichtigung von Richtlinien der Guten Klinischen Praxis (Good Clinical Practice, GCP) entsprechend den Definitionen der

Internationalen Konferenz für Harmonisation (ICH) und mit Ethischen Prinzipien der Deklaration von Helsinki.

Die Studie wird entsprechen den Vorschriften des Protokolls durchgeführt. Sowohl das Protokoll, mögliche Ergänzungen, als auch die Patientenaufklärung benötigt die Genehmigung durch die Ethik Kommission der Universität Marburg bevor ein Patient eingeschlossen werden kann.

Verstöße gegen das Protokoll, die eine Gefahr für Patienten darstellen könnten, werden unverzüglich der Ethik Kommission mitgeteilt.

Patientenaufklärung:

Die Untersucher legen Patienten eine Patientenaufklärung vor, die in nicht technischer Sprache abgefasst ist. Dem Patienten wird ausreichend Zeit gegeben, sich über die Details der Studie zu informieren. Die Patientenaufklärung wird vom Patienten eigenhändig unterschrieben und datiert.

Wer informiert?

Die Aufklärung und das Einholen der schriftlichen Einverständniserklärung erfolgt durch einen ärztlichen Mitarbeiter der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie.

Allen Teilnehmern wird in dem Aufklärungsbogen zusätzlich die Möglichkeit angeboten, sich bei Rückfragen telefonisch oder per E-Mail an PD Dr. Harald Murck oder Dr. Maxim Zavorotnyy (Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universitätsklinik Marburg) zu wenden. Telefonnummer und Anschrift bzw. Emailadresse siehe Informationsblatt.

Studienablauf

Formal handelt es sich bei dem vorgelegten Projekt um eine reine Verlaufsbeobachtungsstudie. Therapeutische Interventionen außerhalb der gängigen klinischen Praxis sind nicht vorgesehen.

Studienplan

Bei Aufnahme wird eine Basischarakterisierung durch Diagnose, Erkrankungsdauer, Episodenanzahl, soziodemographischen Status etc. erhoben. Die Zustandsvariablen und die Neurobiologisch-technische Parameter, einschließlich Polysomnographie, Herzraten-Variabilitäts-Analyse, Gang-Analyse sowie spezifische Speichel- und Blutentnahmen finden zur Baseline-Untersuchung, kurz nach der Aufnahme, nach 1-2 Wochen nach Beginn der Studie sowie nach 6-7 Wochen nach dem Baseline-Zeitpunkt statt.

Dabei wird nach Möglichkeit versucht die Blutentnahme zur Bestimmung der Blutelektrolyte und der Entzündungsparameter mit den ohnehin im klinischen Alltag anfallenden Blutentnahmen zu synchronisieren, die normalerweise auf Station im 2-wöchigen Rhythmus stattfinden, sodass für die Studie nach Möglichkeit keine zusätzliche Belastung für die Patienten besteht. In besonderen Fällen können ereignisgetriggerte

Zwischenerfassungen eingeschoben werden, z.B. zu Beginn oder Ende einer besonderen Therapiemaßnahme, die sich aus dem naturalistischen Behandlungsverlauf ergibt. Am üblichen klinischen Behandlungsverlauf wird durch die Studie nichts verändert, nur die Verlaufsbeobachtung kommt hinzu.

Im Folgenden werden die erhobenen klinischen und biologischen Parameter aufgeführt und die Rationale für deren Verwendung dargestellt:

a) *Klinisch-psychiatrische Symptomerfassung*

Der folgende Abschnitt beschreibt alle Parameter die erhoben werden sollen: Die Symptomschwere und Ausprägung des depressiven Syndroms soll erfasst werden durch Fremderfassung:

- Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS; Overall and Gorham, 1962) bestehend aus 18 Items, die zu den fünf Skalen (1) Angst/ Depression, (2) Anergie, (3) Denkstörungen, (4) Aktivierung, (5) Feindseligkeit/ Misstrauen führen.
- Clinical Global Impression Scale (CGI; National Institute of Mental Health, 1985): zur Beurteilung der Symptomschwere und Symptomveränderung über die Zeit.
- Global Assessment of Functioning (GAF; (Saß et al., 2003) bewertet das allgemeine Funktionsniveau in psychischen, sozialen und beruflichen Bereichen.
- Hamilton Depression Rating Scale (HRDS; (HAMILTON, 1960)) Fremdbeurteilungsskala mit 21 Items speziell zur Erfassung depressiver Symptome. Zur Auswertung wird der HDRS-6 Subscore verwendet, dies wird weiter unten noch genauer ausgeführt (Bech, 2006; Lecrubier and Bech, 2007).

und durch Selbsterfassung:

- Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS-SR-16, Rush et al., 2003): Selbstbeurteilungsbogen mit 16 Items, der eine Einteilung in Subtypen der Depression erlaubt. Falls vom Patienten

nicht ausfüllbar, wird ersatzweise der Inventory of Depressive Symptomatology (IDS-C) durch den Untersucher durchgeführt.

Die QIDS-SR hat eine gewisse Schlüsselstellung für die Einteilung der Patienten in klinische Subgruppen, die unterschiedlich auf verschiedene Behandlungsverfahren ansprechen. In Analogie zu (Murck et al., 2005, 2009 und Anlehnung an Trivedi et al., 2008) werden Patienten in drei klinische Gruppen eingeteilt auf der Grundlage von Items der QIDS-SR: Im ersten Schritt wird eine Gruppe mit melancholischen Merkmalen definiert:

1. Melancholische Merkmale: Vorhandensein von einem Score von mindestens 2 von **mindestens** einem der QIDS Items: Item 3, Früherwachen; Item 6, verminderter Appetit; Item 8, Gewichtsabnahme.

Im zweiten Schritt werden Patienten mit atypischen Merkmalen definiert: Vorhandensein von einem Score von mindestens 2 von **mindestens** einem der QIDS items: Item 4, Zu viel Schlaf; Item 7, vermehrter Appetit; Item 9, Gewichtszunahme.

3. Patienten ohne vegetative Merkmale: Restgruppe.

- Beck Depression Inventory (BDI). Das BDI stellt eine vielfach verwendete Selbst- Beurteilungsskala dar.
- Diagnostisches Grading von Symptomen des Normaldruck-Hydrozephalus (Kubo et al., 2008)

Soziodemographische Variable werden ebenfalls anhand eines Fragebogens erfasst. Die Eintragungen in ein zur klinischen Routine gehörendes Zustandsbarometer sollen ebenfalls wissenschaftlich ausgewertet werden und dienen der Kontrolle der Validität der Hauptzielparameter. Des Weiteren wird eine detaillierte Anamnese erhoben, bei der

vor allem die Begleitmedikation (aufgeschlüsselt nach psychiatrischen und nicht- psychiatrischen Medikamenten und solche die das RAAS beeinflussen), Familienanamnese, Alkohol- und Nikotinanamnese, sowie internistische und psychiatrische Diagnosen dokumentiert werden.

Parametern der klinisch-psychiatrischen Symptomerfassung, welche die Schwere und den Behandlungsverlauf determinieren können und eine biologische Grundlage haben, sind: Schweregrad, Dauer der Erkrankung sowie Dauer der depressiven Episode, Alter, Geschlecht. Spezifische klinische Merkmale (Vorhandensein von vegetativen Merkmalen 1. der melancholischen Depression, 2. der atypischen Depression oder 3. die Abwesenheit von vegetativen Parametern) werden mittels der QIDS-SR definiert.

Daneben wird die Medikation der Patienten erfasst. Für die antidepressive Medikation werden differenziert: 1. SSRIs/SNRIs; 2. Mirtazapin; 3. MAO-Inhibitoren und Hypericum Extrakte; 4. Atypische Neuroleptika; 5. Lithium. Für die nicht psychiatrische Medikation werden Substanzen gesondert berücksichtigt, die einen Einfluss auf das RAAS haben:

1. ACE-Inhibitoren und Renin-Release Suppressoren, einschließlich Beta-Blockern; 2. MR-Antagonisten, wie etwa Spironolacton.

b) *Neurobiologische Parameter des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems*

Es sollen funktionelle Systeme untersucht werden, die einen Bezug zur Regulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems haben. Dabei sollen Konstellationen von Parametern charakterisiert werden, die eine Nicht-Antwort (Non-Response) zur antidepressiven Standardtherapie, insbesondere SSRIs und SNRIs, vorhersagen können. Ziel ist es nun, Responder von Non-Respondern frühzeitig zu unterscheiden, um in Zukunft eine für den einzelnen Patienten effizientere Therapie einzuführen. Wichtig ist dabei festzustellen, dass die verwendeten physiologischen und laborchemischen Parameter jeweils indirekte oder Surrogat Parameter für die Aktivität der MR-Funktion sind. In der

Zusammenschau dieser Parameter wird es möglich, den Einfluss des MR auf die zu untersuchenden funktionellen Systeme genauer zu definieren. Im Folgenden wird bei jedem Parameter genauer beleuchtet in welchem Zusammenhang dieser steht und welche Aussagekraft er dadurch haben kann.

Die zu bestimmende physiologische Parameter und deren Zusammenhang mit dem RAAS sind folgende:

- o Messung von Kortisol, Aldosteron, Oxytocin und Vasopressin zum Zeitpunkt des Aufwachens mittels Entnahme einer **Speichelprobe** mit den Salivette® (Sarstedt) sowie von Oxytocin und Vasopressin im Plasma. Damit besteht die Möglichkeit exakte Analyseergebnisse auch bei kleinen Speichelmengen und/oder sehr niedrigen Kortisol, Oxytocin, Vasopressin Spiegeln sowie von Aldosteron zu erhalten.
 - o Die Konzentration von Aldosteron, dem physiologischen Liganden am MR, ist bei Patienten mit depressiven Störungen erhöht (Murck et al., 2003; Emanuele et al., 2005). Es gibt einige Hinweise, dass die erhöhte Aldosteron- Konzentration nicht nur ein Epiphänomen darstellt, sondern kausal in die Genese depressiver Störungen involviert sein könnte. So findet sich bei Patienten mit einem Hyperaldosteronismus (Conn-Syndrom) in gehäufte Weise depressive Störungen (Sonino et al., 2011). Ein weiterer klinischer Hinweis bei Patienten mit depressiven Störungen, der in unserem Zusammenhang besonders relevant ist, ist der Befund, dass Polymorphismen des Angiotensin-Converting Enzyme Genes und des Angiotensin-Rezeptor-Genes einen prädiktiven Effekt auf das Ansprechen auf konventionelle antidepressive Therapie hat: Vorhandensein der aktiveren Varianten, die zu einer erhöhten Aldosteronkonzentration führen sollten, sind mit schlechterem Ansprechen verbunden (Bondy et al., 2005). Bestätigung für diesen Befund kommt aus dem Tiermodell: die subchronische

Gabe von Aldosteron löst depressionsähnliches Verhalten aus. Gleichzeitig konnte festgestellt werden, dass diese subchronische Aldosterongabe im Hippocampus eine Transkriptionsänderung bei Genen hervorruft die mit Inflammation, glutamaterger Aktivität, synaptischem und Neuronen-Remodelling assoziiert sind. Des Weiteren überlappen Aldosteron-regulierende Gene mit solchen Genen, die bei einer Stressreaktion wie der Forced Swim Test reguliert werden (Hlavacova et al., 2011).

- Kortisol und Aldosteron haben teilweise überlappende Regulationssysteme: beide Steroide werden durch ACTH freigesetzt (siehe Murck et al., 2012). Für den Zusammenhang von Kortisol und depressiven Störungen gibt es eine sehr weite Literatur. z.B. Holsboer, 1999. In unserem Zusammenhang ist von besonderem Interesse, dass der Vergleich der Aldosteron/Kortisol Konzentration einen Hinweis auf die Bedeutung des RAAS vs. ACTH bei der Regulation von Aldosteron bei einem gegebenen Patienten spielt: ein niedriger Aldosteron/Kortisol Quotient weist auf einen ausgeprägteren Anteil von ACTH hin, somit einer Erhöhung beider adrenaler Hormone; während ein höherer Aldosteron/Kortisol Quotient auf einen relativ ausgeprägteren Anstieg von Aldosteron und somit einen vermehrten Einfluss des Renin-Angiotensin Systems hindeutet.
- Oxytocin hat eine antidepressive Wirkung und korreliert positiv mit Freude. Außerdem wurde festgestellt, dass die Oxytocin-Konzentration bei depressiven Patienten häufig vermindert ist (Scantamburlo et. al., 2006). Die Sekretion von Oxytocin aus dem Nucleus supraopticus wird über den Natrium-Gehalt des Blutes und die Aktivität des zentralen MRs reguliert. Der aktive MR hemmt die Oxytocin-Sekretion und ein hoher Natrium-Spiegel fördert diese (Pfaff et. al., 2017). Ein hoher Aldosteron/Oxytocin-Quotient spricht daher für eine hohe Aktivität des zentralen MR. Hingegen ein niedriger Aldosteron/Oxytocin-Quotient weist auf eine niedrige Aktivität des zentralen MRs hin und eine vermehrte Sekretion von

Oxytocin.

- Die Vasopressin-Konzentrationen sind bei depressiven Patienten erhöht (Liesbeth von Londen et. al., 1997). Patienten mit erhöhtem Plasma- Vasopressin haben ein schlechteres Outcome und leiden vermehrt an einer ängstlichen Symptomatik (De Winter et. al., 2005). Der Nucleus paraventricularis ist zum einen für die Aktivierung der HPA-Achse und zum anderen für die Produktion von Vasopressin zuständig. Die Vasopressin- Konzentration korreliert mit der von von CRH (Jaap et. al., 2005). Demnach ist bei erhöhter Aldosteron-Konzentration auch die Vasopressin-Konzentration erhöht.

- Die Totale Schlaf-Dauer (TST) und die Slow Wave Sleep Dauer (SWS) werden mit Hilfe eines ambulanten Schlaf-EEGs (Zeo Sleep Manager – Bedside, der Zeo Inc., 320 Nevada Street, Newton, MA 02460) gemessen. Hautelemente sind ein Stirnband mit Elektroden aus leitenden Fasern, die keine Vorbereitung der Haut benötigen, das in kabellosem Kontakt zu eine separaten Monitor neben dem Bett steht. Validierungsstudien mit einer konventionellen Polysomnographie kommen zu dem Ergebnis, dass die TST & SWS des Zeo Gerätes, welches kommerziell im Handel erwerblich ist, mit einem Standard-EEG gut korrelieren (Shambroom et al., 2011).
 - Bei depressiven Patienten sind Schlafstörungen und verminderter SWS mit hohem einem Kortisol Spiegel verbunden. Ein übergeordneter Regulationsmechanismus scheint dafür verantwortlich zu sein. Insbesondere gibt es Hinweise, dass sowohl verminderter Tiefschlaf und vermehrte Kortisol- Konzentration auf eine erhöhte Aktivität am MR zurückzuführen sein könnte (Born et al., 1991, 1997). Des Weiteren besteht eine enger zeitlicher Zusammenhang der Aktivität des Renin-Angiotensin-Aldosteron System mit Schlafprozessen: die Konzentration von Renin und Aldosteron steigt an in Synchronizität mit einem Anstieg von Tiefschlaf

(Charloux et al., 1999). Somit bietet die Dauer von SWS ein Korrelat für die Aktivität des MR.

- o Die **Herzraten-Variabilität (HRV) und die Herzfrequenz** wird mittels eines im kommerziellen Handel befindenden Systems bei vorgegebener Atemfrequenz kurz nach dem Erwachen eine Minute mehrfach gemessen und gemittelt. Dabei wird beim Patient mit Sensoren die Puls-Rate abgeleitet. Der Sensor steht über einen speziellen Funkempfänger mit einem iPhone, den iPod touch oder einem Android Gerät in Verbindung. Eine kommerziell verfügbare Applikation (App) namens ithlete (HRV Fit Ltd, Hants, UK) analysiert die eingegebenen Daten. Das Messvorgehen ist folgendes: Auf Anweisung der App wird der Atem synchronisiert und so die Herzfrequenz und HRV über einen Zeitraum von einer Minute gemessen. Der Vorgang wird wiederholt, um die Variabilität zu reduzieren.
 - o Depression ist mit einem erhöhten Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis assoziiert (Carney et al., 1987; Gonzalez et al., 1996). Selbst bei Depressionen ohne eine kardiovaskuläre Begleiterkrankung besteht eine Korrelation mit einer reduzierten HRV, wobei die HRV mit steigender Depressionsschwere abnimmt (Kemp et al., 2010). Die HRV wird durch das RAA-System beeinflusst (Schmidt et al., 1999; Ovaert et al., 2010): akut erhöht Aldosteron die HRV, während andererseits die chronische Gabe von MR Antagonisten die HRV erhöht. Sowohl das autonome Nervensystem sowie die Aldosteron-Sekretion unterliegen Tagesschwankungen, welche sich in morgendlichen Peaks sowohl des Aldosterons als auch der Sympathovagalen Balance zeigen. Durch diese Befunde liegt es nahe, dass diese beiden Systeme miteinander in Verbindung stehen (Yee et al., 2001). Es zeigt sich vor allem aber auch, dass eine Aldosteronblockade mit einem Aldosteronantagonisten wie Spironolacton eine Erhöhung der morgendlichen Herzfrequenzvariabilität nach sich zieht

(MacFadyen et al., 1997). Daraus schließen wir, dass die HRV als funktioneller Parameter der Aktivität des Mineralokortikoid Rezeptors (MR) interpretiert werden kann.

- Der **Blutdruck (RR)** wird mittels einer elektronischen Blutdruckmanschette oder analog gemessen.
 - Mineralokortikoide wie Aldosteron erhöhen den Blutdruck durch Vasokonstriktion, Natrium- und Wasseraufnahme und erhöhte Natrium Rückresorption in der Niere. Somit ist weitgehend bekannt, dass der MR an der Regulation des Blutdrucks beteiligt ist. Wesentlich ist jedoch festzuhalten, dass der MR nicht nur in der Peripherie, sondern auch in spezifischen Arealen des ZNS vorkommt, die an der Blutdruck-Regulation beteiligt sind. Dabei ist insbesondere der Nucleus tractus solitarius zu erwähnen (Geerling and Loewy, 2009).
- **Gewicht und Größe** der Patienten wird gemessen.
- **Geschmacksprobe** bei einer Konzentration von 0.9%iger **Kochsalzlösung** und Einschätzung mittels visueller Analogskala zur Salzpräferenz (Eigenentwicklung). Dabei werden zwei Parameter erhoben: 1) Einschätzung der Salzigkeit (0; nicht salzig; 10: extrem salzig); b) Einschätzung der Aversion (0: sehr angenehmer Geschmack; 10: extrem unangenehmer Geschmack).
 - Wie der Blutdruck wird auch die Salzaufnahme von Aldosteron und anderen MR-Agonisten erhöht (WOLF, 1965; Wolf and Handal, 1966; Fluharty and Epstein, 1983). Auf der anderen Seite reduzieren MR-Antagonisten den Appetit auf Salziges (Sakai et al., 1986; Francis et al., 2001; Sullivan et al., 2004). Patienten, die an einer Depression erkrankt sind, leiden häufig an Appetitlosigkeit, welche durch eine subjektive Geschmacklosigkeit des

Essens hervorgerufen sein könnte. Das RAAS ist unter anderem dafür verantwortlich, eine Homöostase der Elektrolyte aufrecht zu erhalten. Das Angiotensin II sorgt bei einer Hyponatriämie dafür, Salz aufzunehmen, indem es den Salzappetit anregt. So zeigt sich in einer heterogenen Gruppe von Depressiven, dass eine erhöhte Konzentration von Kortisol im Urin mit einem vermehrten Salz-Appetit zusammenhängt (Casper et al., 1988). Hierbei ist es bei unserer Untersuchung von Wichtigkeit, dass der Salzappetit im ZNS unter Einfluss von Mineralokortikoid-Rezeptoren steht und damit ein einfacher funktioneller Marker für dessen Funktion sein könnte.

Das **Gangbild** wird mittels der iPhone-App GaitAnalysisPro untersucht. Dafür bekommt der Patient das iPhone mithilfe eines Gürtels am Rücken befestigt. Der Patient wird dann eine Minute in seinem eigenen Tempo laufen. Die App ermittelt daraus Geschwindigkeit, Schrittlänge, Laufrhythmus, Symmetrie und die Varianz des Gangbilds.

Bei depressiven Patienten lässt sich ein verändertes Gangbild feststellen. Abweichungen von der Kontrollgruppe sind besonders bei Schrittlänge, Laufrhythmus und Geschwindigkeit zu finden (Lemke et al., 2000). Dies wird zum einen mit vaskuläre Mechanismen (Brandler et al., 2012) und Hyponatriämie (Lange-Asschenfeldt et al., 2013) und zum anderen mit einem verminderten Basalganglien-Volumen (Lacerda et al., 2003) in Verbindung gebracht.

Bei dauerhaft hohem Aldosteronspiegel werden die peripheren MR desensibilisiert. Dadurch sinkt der Natriumspiegel und die Blutdruckregulation wird beeinflusst. (Ovaert et al., 2010, Büttner et al., 2015).

Ebenfalls mittels i-phone App (Memory –Check oder ähnlichem) wird im Anschluss an den Gangtest eine kurzer Test von Gedächtnis und Aufmerksamkeit durchgeführt.

Ergänzend werden, falls vorhanden, MRT-Bilder der Patienten miteinbezogen. Es werden für diese Studie keine weiteren

Aufnahmen gemacht, sondern lediglich vorhandenes Bildmaterial genutzt. Dabei ist von Interesse insbesondere das Volumen der Ventrikel sowie umliegender anatomischer Areale, etwa von Arealen des Corpus Callosum und des Striatums. Das hat in diesem Zusammenhang deshalb Relevanz, da Hormone wie etwa Aldosteron, Kortisol und Vasopressin die Produktion und Absorption von CSF regulieren (Chitalia et al., 2010, Widmayer et al., 2010, Salpietro and Ruggieri, 2014)

Ebenfalls und nur falls vorhanden werden Parameter aus der Analyse von CSF betrachtet. Dabei sind insbesondere Elektrolyte sowie Neurohormone, insbesondere Vasopressin, von Interesse, wie beschrieben.

Folgende Laborparameter werden bestimmt:

- o Es sollen die Blutelektrolyte, insbesondere der Konzentration von Plasma **Magnesium** bestimmt werden. Für die Messung von Plasma Magnesium wird auf die Ermittlung aus klinischen Blutentnahmen zurückgegriffen.
 - o Eine der Hauptaufgaben des Aldosterons ist die Elektrolytregulation. Auch das Magnesium unterliegt einer Regulation von Aldosteron. Im Tiermodell zeigt sich, dass akute (Charlton and Armstrong, 1989) und chronische (HORTON and BIGLIERI, 1962) Gabe von Aldosteron zu einer erhöhten Ausscheidung von Magnesium im Urin führt. Des Weiteren führt die Gabe des MR-Antagonisten Spironolacton zu einer erhöhten Serum Magnesiumkonzentration im Menschen (Barr et al., 1995). Die Erhöhung der Plasma-Konzentration von Magnesium bei Depressiven deutet auf eine Störung in der Magnesiumregulation hin. Diese Störung könnte auf der Ebene einer gestörten MR-Funktion vorliegen. Da der MR der Hauptrezeptor für aldosteronregulierende Effekte in der Niere ist, kann eine reduzierte Magnesiumausscheidung trotz einer erhöhten Aldosteronkonzentration vorliegen. Hierdurch zeigt sich eine

mögliche Verbindung zwischen dem Magnesiumgehalt im Blut und der Aktivität am Mineralokortikoid-Rezeptor.

- Bei depressiven Patienten zeigen sich höhere Plasma und erythrozytäre Magnesium Spiegel als bei Gesunden (Widmer et al., 1993). Des Weiteren scheint eine Normalisierung des Magnesiumspiegels mit einer Besserung der klinisch symptomatischen Depression einherzugehen (Widmer et al., 1992). Auf der anderen Seite gibt es epidemiologische Hinweise, dass eine mangelnde Mg-Zufuhr zu einem Risiko für die Entwicklung von depressiven Störungen führt (Jacka et al., 2009). Auch im Tiermodell wurde gezeigt, dass Magnesiumentzug depressives und ängstliches Verhalten bei Ratten hervorruft, welches sensitiv gegenüber einer Behandlung mit Antidepressiva ist (Singewald et al., 2004). Es konnte in klinischen Einzelbeobachtungen gezeigt werden, dass eine orale Gabe von Magnesium zu einem anti-depressiven Effekt geführt hat, der ähnlich denen starker Antidepressiva war (Eby III and Eby, 2010).
- Es besteht ein Zusammenhang mit anderen erhobenen Parametern: eine Stress induzierte Reaktion der Herzfrequenzvariabilität korreliert mit dem Magnesium Metabolismus (Takase et al., 2004).

Jedoch ist die Datenlage zum Zusammenhang zwischen Plasma-Magnesium und Depression heterogen. Es scheint so, als seien sowohl ein Anstieg als auch ein Abfall von Serum-Magnesium mit depressiven Syndromen verbunden. An diesem Punkt darf man nicht vergessen, dass

depressive Störungen eine heterogene Gruppe von Erkrankungen darstellen. Ein Anliegen dieser Studie ist es diese Heterogenität besser zu charakterisieren.

Zusammengefasst ist Aldosteron über die Aktivierung des MR an der Mg- Ausscheidung beteiligt. Aus diesem Grund kann die Plasma Magnesium Konzentration als Surrogat

Parameter für die MR-Aktivität angesehen werden.

- o **CRP** soll als inflammatorischer Marker bestimmt werden. Dazu wird auf die klinische Routinebestimmung zurückgegriffen.
 - o Bei depressiven Patienten finden sich vermehrt entzündliche Veränderungen. Vor allem zeigt sich diese Veränderung im CRP und IL-6, etwas weniger findet diese Veränderung auch mit dem IL-1 statt (Pace et al., 2006; Howren et al., 2009). Wie oben bereits erwähnt stehen Depressionen in engen Zusammenhang mit koronarer Herzkrankheit, bei denen eine entzündliche Komponente angenommen wird (Carney et al., 1987; Gonzalez et al., 1996). Das Renin-Angiotensin-Aldosteron System (RAAS) weist eine Verbindung zu inflammatorischen Veränderungen auf. So beeinflusst das RAAS Entzündungsparameter im Plasma (Duprez, 2006). Durch eine MR Blockade mittels Spironolacton im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass sich ein reduzierter Plasmaspiegel von TNF- α nach einem Koronararterien-Verschluss in Ratten findet (Francis et al., 2003; Kang et al., 2006). Der Mechanismus mit dem der MR mit dem Inflammatorischen System in Verbindung steht ist noch nicht völlig klar. Jedoch lassen diese Ergebnisse darauf schließen, dass die Konzentration des Plasma CRP mit der Funktion des MR in Verbindung steht. Diese Zusammenhang ist in unserem Kontext insbesondere deshalb relevant, da eine Erhöhung proinflammatorischer Zytokine mit einer Therapierefraktärität bei einer Behandlung mit Escitalopram und möglicherweise auch anderen SSRIs in Verbindung steht (Eller et al., 2008).

Bei der Analyse der Blutelektrolyte und der Inflammatorischen Marker wird versucht, diese an die Routinemäßigen Abnahmen auf Station zu koppeln. Für die Analyse der Blutelektrolyte sowie der inflammatorischen Marker werden 20 ml venöses Blut benötigt.

- *Plasma Renin.*

Die Entnahme von Plasma zur Bestimmung von Renin wird unmittelbar nach der Abnahme von Speichel sowie der HRV-Analyse durchgeführt. Diese zeitliche Abfolge ist vorgesehen, um durch den möglichen Stress der Blutentnahme die genannten Parameter nicht zu beeinflussen.

- Renin ist ein wesentliches Element der Aldosteron Freisetzung (neben ACTH). Die Renin Freisetzung wird über eine negative Rückkopplung mit ATII am juxtaglomerulären Apparat der Niere reguliert. Insofern kann die Renin-Konzentration und insbesondere das Verhältnis der Aldosteron zur Renin Konzentration einen Hinweis auf die Aktivität des RAAS darstellen.

- **Genexpressionsmuster von mononukleären Zellen des peripheren Blutes.** Vollblut wird in spezielle Test-Röhrchen abgenommen und der Gen-Expressions- Analyse zugeführt. Diese Analyse wird von Covance (Princeton, USA) unterstützt und ausgeführt. Dabei soll keine Asservierung der DNA-Proben im Rahmen einer Biomaterialbank stattfinden. Die Blutproben werden nach der Analyse direkt bei Covance vernichtet.

- Wie oben beschrieben zeigen erhöhte inflammatorische Veränderungen eine Korrelation mit Depression und eine Korrelation zu einer Therapierefraktarität bei einer Behandlung mit SSRIs (O'Brien et al., 2007; Eller et al., 2008). Hier soll nun die Frage beantwortet werden, inwieweit Veränderungen der Genexpression, wie sie in Tiermodell unter Stress und unter Aldosteron-Gabe gefunden wurden, sich auch im Menschen widerspiegeln. Interessant ist, dass Stress und Aldosterongabe im Tiermodell zu ähnlichen Veränderung der Genexpression in Hippokampus führt, einem dicht mit MR besetzten Teil des Gehirns, der eng in die Stressregulation miteinbezogen ist. Dabei hat ein großer Teil der beobachteten

Genexpressionsveränderungen Bezug zum inflammatorischen Systems (Hlavacova et al., 2011). Somit könnte die Untersuchung peripherer mononukleärer Zellen und anderer Marker wie das CRP, die an Inflammation beteiligt sind, direkt den Einfluss der Aktivität des MR abbilden, sofern Überlappungen zwischen Veränderungen im ZNS mit denen im Leukozyten angenommen werden (Ahokas et al., 2003; Gerling et al., 2003). Für die Analyse der Genexpression ist eine Entnahme von 5 ml venösem Blut pro Zeitpunkt nötig.

Alle beschriebenen Parameter stehen mit der Aktivität des MR und dem RAAS in Verbindung. Der am direktesten zugängliche Parameter ist die Konzentration von Aldosteron im Speichel. Die Hypothese ist, dass eine hohe Aldosteronkonzentration mit Non-Response auf konventionelle Antidepressiva einhergeht. Alle weiteren Parameter sind, wie beschrieben, indirekt und als Surrogat-Parameter der MR Aktivierung zu betrachten. Aus dem oben beschriebenen lässt sich ableiten, dass eine erhöhte Aktivität des MR mit spezifischen Veränderungen einhergeht und gleichfalls Prädiktoren von Therapie-Non-Response sein sollten.

Diese sind:

1. Hohe Tiefschlaf- und Gesamtschlaf-Dauer
2. Relativ niedrige Kortisol Konzentration, z.B. ein hoher Aldosteron/Kortisol- Quotient.
3. Niedrige Herzraten-Variabilität (HRV)
4. Hoher arterieller Blutdruck
5. Hohes Körpergewicht (relativ zur Körpergröße (body mass index BMI) (durch Wassereinlagerung)
6. Niedrige Plasma Magnesium-Konzentration
7. Hohe CRP Konzentration

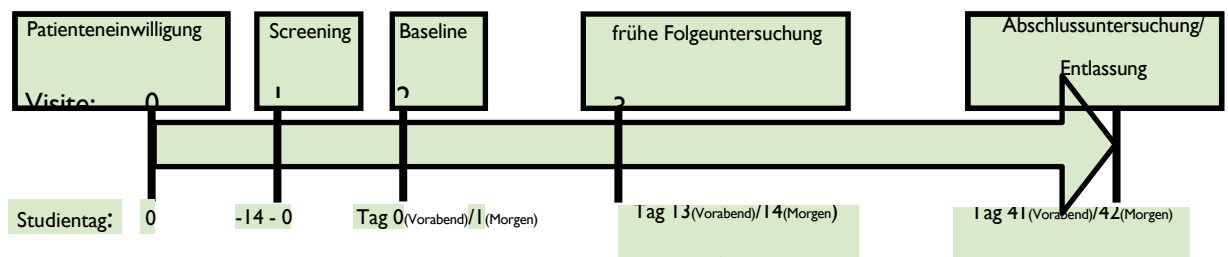
8. Plasma Renin Konzentration: niedrige Renin Konzentration als Marker für ausgeprägte Rückkopplung durch Angiotensin und Aldosteron.
9. Hoher Salzappetit, ausgedrückt durch verminderte Sensitivität für salzigen Geschmack und weniger aversives Rating.
10. Niedrige Oxytocin-Konzentration
11. Hohe Vasopressin-Konzentration
12. Verändertes Gangbild
13. Vergrößerte Ventrikel und vermindertes Volumen umliegender Areale, insbesondere des Corpus Callosum und der Basalganglien.

Neben dem konfirmativen Aspekt, für den die Aldosteron-Konzentration als Zielparameter angesehen wird, wird in explorativer und Hypothesengenerierender Weise geprüft, welcher der genannten Parameter, entweder einzeln oder in Kombination, zu einer Verbesserung der Sensitivität und Spezifität der Vorhersage führen kann.

Außerdem wird getestet, inwieweit diese biologischen Parameter mit klinischen Charakteristika in Zusammenhang stehen. So lässt etwa eine Zusammenschau der genannten negativen Prädiktoren für Therapie-Response vermuten, dass ein starker Zusammenhang mit der sogenannten atypischen Depression besteht (Murck et al., 2012).

Studienablauf

Alle im Folgenden beschriebenen Visiten sind in der Tabelle 1 noch einmal übersichtsweise aufgelistet und auf folgendem Zeitstrahl visualisiert:



1) Screening (Visite 0)

Alle neu aufgenommenen Patienten der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Philipps-Universität Marburg, die den Einschlusskriterien dieser Studie entsprechen bzw. den Ausschlusskriterien nicht widersprechen, werden nach ausführlicher ärztlicher Aufklärung gefragt, ob sie an der Studie teilnehmen möchten. Die Patienten erhalten während dieses Gespräches den Bogen der Patienteninformation sowie die Einwilligungserklärung. Falls Fragen aufkommen, werden diese ausführlich beantwortet. Die Patienten haben so viel Zeit wie sie wünschen, einer Teilnahme zuzustimmen bzw. zu widersprechen.

Erst wenn ein Patient eingewilligt hat, folgt die Visite 1.

2) Screening (Visite 1)

Hat ein Patient eingewilligt, wird bei der nun ersten Visite als erstes überprüft, ob die Diagnosen noch mit den Ein- bzw. Ausschlusskriterien vereinbar sind. In einem Gespräch werden die internistischen Diagnosen sowie die Medikation anamnestisch erhoben. Des Weiteren werden die Soziodemographischen Daten (inkl. Alter, Geschlecht, Größe) mit einem Fragebogen erfasst, eine Nikotin-, Alkohol- sowie Familienanamnese erhoben.

Sind zu diesem Zeitpunkt immer noch alle Ein- bzw. Ausschlusskriterien erfüllt, findet zum nächstmöglichen Zeitpunkt die Visite 2 statt.

3) Baseline (Visite 2)

Zwischen der Visite 2 und der Visite 1 sollten nicht mehr als 14 Tage liegen. Am Beginn des eigentlichen Studienabschnittes, dem,

Vorabend des Baseline (Tag 1) wird der Patient visitiert. Es wird überprüft ob die Ein- und Ausschlusskriterien noch für ihn gültig sind und folgende Fremdbeurteilungsfragebögen mit dem Patienten erhoben: HDRS-21, BPRS, CGI & GAF. Des Weiteren wird einer Änderung der Medikation dokumentiert.

Danach wird dem Patienten noch einmal erklärt, wie die Schlaf-EEG-Untersuchung durchgeführt wird. Im Verlauf der Nacht wird das Schlaf-EEG abgeleitet, wobei der Patient in seiner gewöhnlichen Umgebung auf Station verbleibt. Dazu legt sich der Patient das Stirnband mit den EEG Elektroden selbständig an, ggf. auch mit Hilfe des Pflegepersonals. Dabei wird die Ableitung automatisch aktiviert.

Am Morgen des Folgetages wird der Patient um 7 Uhr visitiert. Als erstes wird Speichel- Aldosteron, -Kortisol, -Oxytocin und -Vasopressin mithilfe der Salivette® von Sarstedt gesammelt. Im Anschluss findet die Analyse der HRV statt. Dazu hält der Patient in der Regel die Ableitelektroden in beiden Händen. Das Puls-Signal wird kabellos an ein entsprechend ausgerüstetes i-Phone (oder äquivalent) weitergeleitet. Eine Ableitung dauert eine Minute, während der der Patient einen vorgegebenen Atemrhythmus einhalten soll. Die Anweisung dazu wird vom Display des i-Phones abgelesen. Die Messung wird 2-fach mit einem Intervall von ca. 1 Minute wiederholt. Es werden der Puls und der Blutdruck gemessen. Danach wird die Geschmacksprobe durchgeführt. Eine definierte Salzlösung (0.9%) wird dem Patienten in den Mund gegeben. Mittels zwei Visual-Analog Skalen (Salzigkeit, Angenehm vs. Unangenehm) wird die Wahrnehmung des Patienten erhoben / erfasst. Nach diesen Erhebungen wird dem Patienten zur Bestimmung von Plasma-Renin Blut abgenommen. Danach werden dem Patienten die Selbstbeurteilungsfragebögen QIDS und BDI vorgelegt und der Patient füllt die Skalen gemäß den Erläuterungen aus. Des Weiteren wird das Gewicht noch vor dem Frühstück gemessen. Es wird das Schlaf-EEG ausgelesen. Zum Abschluss folgt die Testung des Gangbilds. Dafür wird ein iPhone (oder äquivalent) am Patienten angebracht und der Patient instruiert eine Minute lang in seinem Tempo laufen. Für diese Messung wird die App GaitAnalysisPro genutzt. Eine Blutentnahme zur

Bestimmung von klinischen Chemie Parametern, einschließlich Elektrolyten, erfolgt im Verlauf des Vormittages.

4) Frühe Folgeuntersuchung (Visite 3)

Am Tag 13, nach Baseline, dem Vorabend des Tages 14 nach der Visite 2 plus minus 3 Tage wird der Patient besucht. Es werden folgende Fremdbeurteilungsfragebögen mit dem Patienten: HDRS-21, BPRS, CGI & GAF. Des Weiteren wird nach einer Änderung in der Medikation gefragt bzw. im Stationsprotokoll nachgeschlagen. Danach wird dem Patienten noch einmal erklärt, wie das Schlaf-EEG richtig verwendet wird.

Am Morgen des Folgetages wird der Patient um 7 Uhr visitiert. Als erstes wird ihm Speichel zur Bestimmung von Hormonen mithilfe der Salivette® Cortisol von Sarstedt abgenommen. Im Anschluss findet die Analyse der HRV statt. Es werden der Puls und der Blutdruck gemessen. Danach wird die Geschmacksprobe durchgeführt. Im Anschluss wird der QIDS Fragebogen vom Patienten vervollständigt.

Das Gewicht wird noch vor dem Frühstück gemessen. Es wird das Schlaf-EEG ausgelesen. Daraufhin folgt die Untersuchung des Gangbilds. Nach diesen Erhebungen wird dem Patienten Blut zur Bestimmung von klinischen Chemie Parametern, einschließlich Elektrolyten, im Verlauf des Vormittages abgenommen

5) Abschlussuntersuchung (Visite 4)

Die Visite 4 stellt die letzte Visite dar. In der Regel wird er Patient am Tag 41 nach Baseline, dem Vorabend des Tages 42 nach der Visite 2 (Baseline) plus minus 7 Tage besucht. Im Falle einer wesentlichen Umstellung der Medikation/Behandlung oder im Falle einer früher zeitigen Entlassung des Patienten.

Bei der Abschlussuntersuchung findet genau das gleiche Untersuchungsprogramm wie zum Baseline Zeitpunkt (Visite 2) statt.

Tabelle 1 listet die oben beschriebenen Untersuchungen auf und zeigt zu welchen Zeitpunkten sie erhoben werden.

	Screening	Screening	Baseline (vor Umstellung der Medikation an Tag 1)	Folgeuntersuchungen	
Visite	0	1	2	3	4
Studientag		Tag -14-0	Tag 0/1	Tag 13/14 ± 3 Tage	Tag 41/42 ± 7 Tage/Entlassung
Patienten-Einwilligung	X				
Diagnose-Bestätigung (klinisch)		X	X		
Relevante internistische Diagnosen		X			
Psychiatrische Medikations-Anamnese/Erhebung		X	X	X	X
Nicht-psychiatrische Medikations-Anamnese/Erhebung		X	X	X	X
Soziodemographische Daten		X			
Alkohol and Nikotin-Anamnese		X			
Geschlecht, Alter, Gewicht, Größe, RR		X	X (Gewicht & RR)	X (Gewicht & RR)	X (Gewicht & RR)
Familienanamnese		X			
Skalen: HDRS-21; CGI; BPRS; GAF			X, (Tag 0, 16-20h)	X, (Tag 13± 3, 16-20 h)	X (Tag 41± 7, 16-20 h)
Schlaf-EEG-Anlage			X Vorabend (Abend Tag 0)	X (Vorabend)	X (Vorabend)
Aufwach-Speichel Abnahme			X Morgen; (Tag 1)	X (Morgen)	X (Morgen)
Herzraten-Varianz-Analyse			X Morgen; (Tag 1)	X (Morgen)	X (Morgen)
Blutdruck und Herzfrequenz			X Morgen; (Tag 1)	X (Morgen)	X (Morgen)
QIDS-SR16, BDI			X Morgens; (Tag1)	X (Morgens)	X (Morgens)
Geschmack-VAS			X Morgen; (Tag 1)	X (Morgen)	X (Morgen)
Zustandbarometer (3x täglich)			X	X	X
Gangbild und kognitiver Test			X Morgen; (Tag 1)	X (Morgen)	X (Morgen)
Kognitiver Test			X Morgen; (Tag 1)	X (Morgen)	X (Morgen)
Blutentnahme Gen-Expression			X (Morgen)	X (Morgen)	X (Morgen)
Routine-Blutentnahme einschl. Mg2+ und CRP			X	X	X

Neuheit

Gelöste und ungelöste einschlägige Probleme in der Literatur

Das vorherrschende Erklärungsmodell für die mögliche Wirksamkeit von antidepressiver Therapie basiert auf einer Dysfunktion monoaminerger Systeme. Dieses Modell wurde zur Erklärung von Substanzen, die vor mehr als 50 Jahren auf den Markt eingeführt wurden, etabliert. Parallele Erklärungsmodelle fassen depressive Störungen als stressbedingte Erkrankungen auf und fokussierten auf die Modifikation des Stresshormonsystems und dabei insbesondere auf den gut charakterisierten Hyperkortisolismus bei schweren, sogenannten melancholischen depressiven Patienten (Holsboer, 1999). In neuerer Zeit wurde die Bedeutung von inflammatorischen Prozessen (Zorrilla et al., 2001) und Veränderungen der glutamatergen Neurotransmission (Krystal et al., 2002) hervorgehoben. Eine umfassende Theorie, die allgemein anerkannt wäre, besteht bislang nicht.

Ein übergreifendes System mit Verbindung zu monoaminerger und glutamaterger Transmission als auch Verbindungen zu inflammatorischen sowie Stress-regulierenden Systemen ist hingegen das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) (zusammengefasst von Murck et al., 2012). Erst vor wenigen Jahren wurden deutlich, dass Hyperaldosteronismus bei bestimmten Patienten mit depressiven Störungen besteht (Murck et al., 2003)(Emanuele et al., 2005). Eine erhöhte Aktivität des RAAS wurde bei unter Stress stehenden Menschen (Makatsori et al., 2004) und im Tiermodell (Grippe et al., 2005) beschrieben. So führt eine subchronische Aldosteron-Gabe zu depressionsähnlichem Verhalten (Hlavacova et al., 2011). Des Weiteren finden sich Verhaltensauffälligkeiten bei Patienten mit durch ein Adenomen hervorgerufenem Hyperaldosteronismus, welche sich insbesondere in einer depressiven Stimmung sowie Angst äußern (Sonino et al., 2011).

Somit ist plausibel, dass das RAAS für die Pathophysiologie und Behandlung von depressiven Störungen bedeutsam ist. Dieser Ansatz

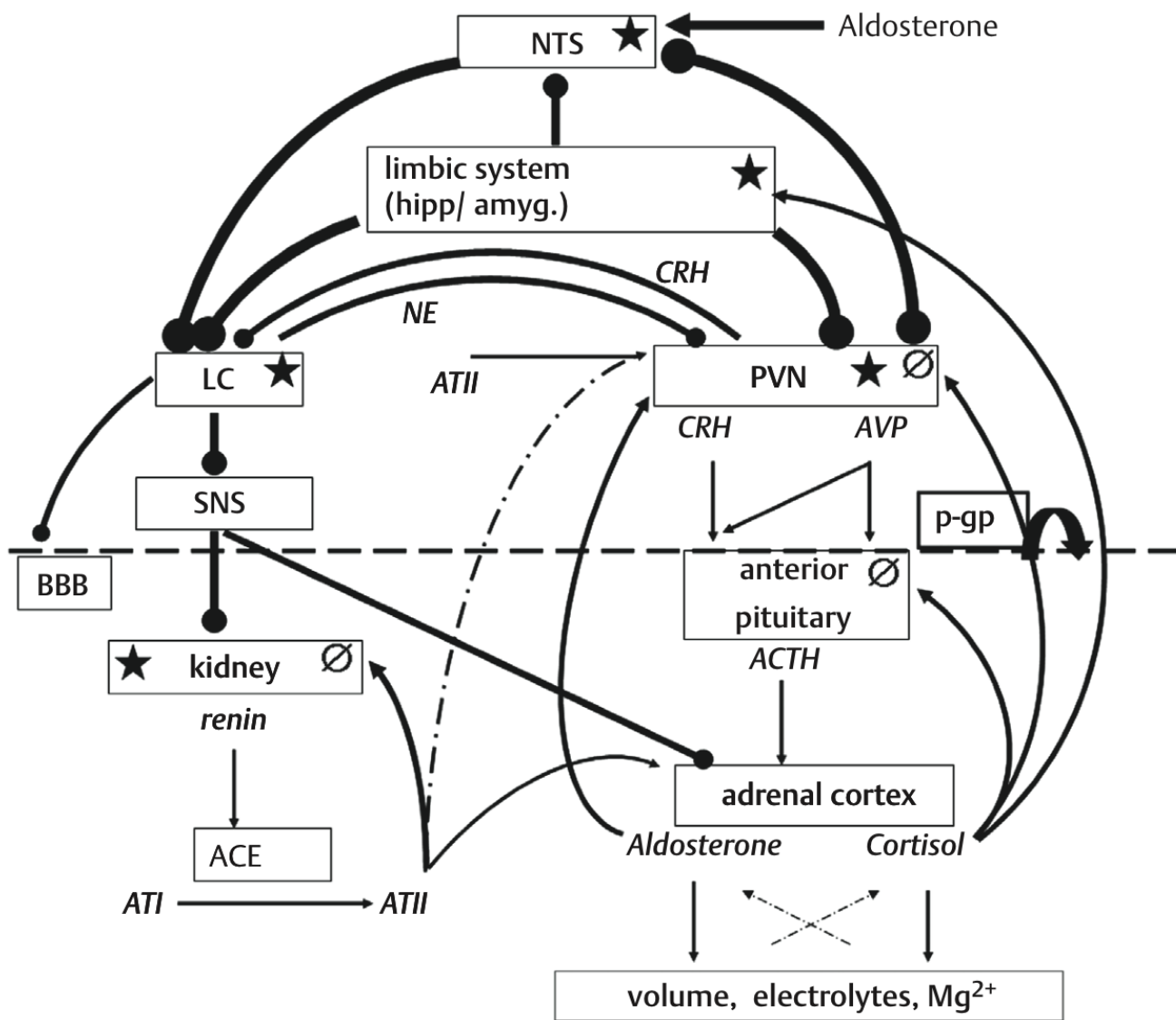
beruht nicht auf Hypothesen, die das klassische monoaminerge System einbeziehen. Insofern besteht die Möglichkeit, dass Patienten, die auf klassische monoaminerge Medikamente ansprechen, sich von Non-Respondern unterscheiden. Hierbei könnte die interindividuelle Reaktion des RAAS eine Rolle spielen. Dieser Sachverhalt soll in dieser Studie untersucht werden.

Abbildung 1 zeigt die komplexe Interaktion der untersuchten Neuroendokrinen Systeme sowie deren Zusammenhang zum vegetativen (sympathischen) Nervensystem.

Aufgrund dieser Komplexität sind vielfältige Parameter und deren Beziehung zueinander notwendig, um das System funktionell beschreiben zu können.

Abbildung 1 (Murck et al., 2012): Die Abbildung zeigt eine Übersicht der Hauptsysteme, welche bei der Pathophysiologie von Depression und dem Renin-Angiotensin-Aldosteron verbunden sind. Die

„drumsticks“ repräsentieren neuronale Verbindungen, wobei diese nicht unbedingt monosynaptische Verbindungen sein müssen; Pfeile stellen endokrine Einflüsse dar und gestrichelte Pfeile zeigen indirekte Mechanismen. PVN: Nucleus Paraventricularis; NTS: Nucleus of the solitary tract; CRH: Corticotropin Releasing Hormone; NE: Norepinephrine; AT II: Angiotensin II; ACTH: Adrenocorticotropin; BBB: Blood Brain Barrier; LC; Locus coeruleus; SNS: Sympathic Nervous System; AVP: Arginine vasopressin; ACE: Angiotensin Converting Enzyme; p-gp: p-glycoprotein



9. *Welches dieser Probleme wird angegangen?*

Konkret wird der neurobiologische Zusammenhang der Symptome mit dem RAAS und der Einfluss der gängigen klinischen Therapieverfahren auf das RAAS untersucht.

Dabei werden die o.g. Parameter gemessen und in Zusammenhang mit den klinisch- psychiatrischen Erfassungen mittels Symptomerfassung in Selbst- und Fremdratings und Lebensqualitätsbögen gesetzt.

Im Einzelnen sollen folgende Hypothesen untersucht werden(siehe auch S. 3):

1. Funktionelle Überaktivität des Mineralokortikoid-Rezeptors (MR) verhindert Besserung der depressiven Symptomatik, insbesondere bei Behandlung mit SSRIs/ SNRIs.
2. Das frühzeitige Auftreten (1-2 Wochen nach Therapiebeginn) von Markern für verminderte MR-Aktivierung ist ein prädiktiver Marker für positive Response.
3. Unveränderte MR-Aktivierung deutet auf Therapie-Refraktärität hin.

Gründe dafür?

Die Erfassung der o.g. klinischen-psychiatrischen Verlaufsparemeter ist notwendig, um die depressive Symptomatik messbar zu machen. Es handelt sich durchweg um in der psychiatrischen Literatur gebräuchliche Standardverfahren.

Die Erfassung o.g. physiologischer und neurobiologischer Parameter ergibt sich aus folgenden Überlegungen:

Depressive Störungen sind eine heterogenen Gruppe von Erkrankungen. Verschiedene biologische Parameter zur Differenzierung sind beschrieben worden. Diese Parameter sollten jedoch nicht getrennt betrachtet werden, da sie in funktionellem Zusammenhang stehen. So sind etwa bei depressiven Patienten Schlafstörungen und verminderter SWS mit hohem Kortisolspiegel verbunden. Ein übergeordneter Regulationsmechanismus scheint dafür verantwortlich zu sein. Bei Gesunden ist vermehrter Tiefschlaf mit Freisetzung von Renin und Aldosteron verbunden. Bei Depressiven erscheint die Regulation dieses

Systems gestört zu sein, da Schlafentzug bei depressiven Patienten im Vergleich zu Gesunden nicht zu einem SWS und Aldosteron (jedoch Renin)- Anstieg führt. Herzraten-Variabilität verändert sich im Verlauf der Nacht in Abhängigkeit von den Schlafstadien (Charloux et al., 1999) & (Viola et al., 2002). Außerdem wird die Herzfrequenz-Variabilität kurzzeitig durch Aldosteron vermehrt (was als klinisch wünschenswert erachtet werden kann), andererseits jedoch auch durch langfristige Blockade des Mineralokortikoid Rezeptors (MR), was auf gegensätzliche Effekte von akuter und chronischer Wirkung hindeutet. Dieser Befund deutet auch auf eine pathogenetische Komponente von chronisch erhöhtem Aldosteron hin.

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron System (RAAS) weist eine Verbindung zu inflammatorischen Veränderungen auf. Auch bei einer Depression verändern sich unter anderem Entzündungsparameter. Es entsteht eine Leukozytose (mit möglicher relativer Neutrophilie & Lymphopenie). Ein geringfügig erhöhter CD4/CD8 Quotient liegt vor. Es findet sich ein erhöhter Spiegel des CRP, dem IL-1 und IL-6, sowie dem PGE₂ welches durch COX-1&2 entsteht. Aldosteron führt eine erhöhte Expression der COX-2 bewirkt und ist somit proinflammatorisch.

Somit dienen alle genannten Parameter zur spezifischen Charakterisierung der neurobiologischen Veränderungen für einen gegebenen Patienten. Als von zentraler Relevanz wird die Aktivität des MR angesehen, der alle genannten Parameter beeinflusst, wie oben ausführlich beschrieben.

Das dargestellte Projekt hat mehrere wesentliche innovative Charakteristika:

- Das Projekt stellt mit einfachen technischen Mitteln biologische Parameter im Verlauf der Behandlung depressiver Patienten dar. Die technische Einfachheit ist ein wesentliches Charakteristikum, das ermöglicht, eine größere Anzahl von Patienten im Verlauf zu untersuchen um damit biologische und klinische Subgruppen differenzieren zu können. Damit soll ein Weg eröffnet werden, dem Kliniker einfache Parameter an die Hand zu geben, die klinisch

relevant sind, und so den Weg zur Benutzung von Biomarkern im klinischen Alltag zu ermöglichen.

- Das Projekt involviert eine Anzahl von Verfahren und Parametern, die in der Zusammenschau deutlich aussagekräftiger sein sollten, als einzelne Parameter. Dieser Netzwerkaspekt fokussiert im Wesentlichen auf die Interaktion verschiedener Systeme im Gegensatz zur Ansicht eines „final common pathways“. Die technische Einfachheit der Marker ermöglicht diesen Netzwerkansatz.
- Im engeren Sinne fokussiert das Projekt auf funktionelle Systeme, die einen Bezug zur Regulation der Herzraten-Variabilität, der Schlaf-Regulation, des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems, der klassischen Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden (HHN)-Achse und dem Inflammatorischen System haben. Damit schließt es an frühere Befunde an. Der theoretische Rahmen ist kürzlich ausführlich dargestellt worden (Murck et al., 2012).

Versuchsplanung – biometrisches Studiendesign

Folgende spezifische Hypothese soll dabei untersucht werden:

Hypothese 1: Funktionelle Überaktivität des Mineralokortikoid-Rezeptors (MR) verhindert Besserung der depressiven Symptomatik, insbesondere bei Behandlung mit SSRIs/ SNRIs.

Hypothese 2: Das frühzeitige Auftreten (1-2 Wochen nach Therapiebeginn) von Markern für verminderte MR-Aktivierung ist ein prädiktiver Marker für positive Response.

Hypothese 3: Unveränderte MR Aktivierung deutet auf Therapie-Refraktärität hin.

Patientenzahl

Durch die Einfachheit der zu erhebenden Parameter soll der Einschluss einer möglichst großen Teilnehmerzahl ermöglicht werden. Es wird mit einem Einschluss von ca. 100 Patienten gerechnet (siehe unten für die Fallzahlberechnung).

Studienkollektiv

Die **Einschlusskriterien** umfassen folgende Diagnosen der ICD-10:

- F 32 (Depressive Episode)
- F 33 (Rezidivierende depressive Störung)
- F 34 (Anhaltende affektive Störungen).

Eine dieser Diagnosen muss der primäre Grund für den aktuellen stationären Aufenthalt in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Marburg sein. Begründung des stationären Aufenthaltes durch eine andere psychiatrische Haupterkrankung mit einer der o.g. komorbiden Erkrankungen führt nicht zum Einschluss in diese Verlaufsbeobachtung.

Ausschlusskriterien:

- ICD-10 F20 bis F23 (Schizophrenie und Wahnhafte Störungen)
- Fehlende deutsche Sprachkenntnisse
- Neurologische Erkrankungen, bei denen eine Beteiligung des zentralen Nervensystems bekannt ist, wie z.B. Epilepsien, Speicherkrankheiten, schwere geistige Behinderung, stellen generell ein Ausschlusskriterium dar.
- Nicht-Einwilligung oder Unfähigkeit zur Einwilligung in die Studie

Statistisches Auswertungsverfahren

Bei dem Studiendesign handelt es sich um eine Kohortenstudie. Dabei wird nur der Verlauf bzw. die Prognose beobachtet. Es findet keine Intervention statt. Es werden drei Gruppen von Parametern bestimmt.

Wir haben im Zusammenhang mit dem Vorhaben eine kostenlose statistische Beratung durch das Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie in Anspruch genommen. Dabei hat uns Dr. rer. nat. Sebastian Irle beraten und sich an der Formulierung des Abschnittes beteiligt.

Die Parameter und die Messzeitpunkte

Bei dem Studiendesign dieser Studie handelt es sich um eine Kohortenstudie. Dabei wird nur der Verlauf bzw. die Prognose beobachtet. Es findet keine Intervention statt. Es werden drei Gruppen von Parametern zu drei Zeitpunkten bestimmt.

1. **Klinische Parameter**, die die Schwere und den Behandlungsverlauf determinieren können und eine biologische Grundlage haben, sind: Schweregrad, Dauer der Erkrankung und Dauer der depressiven Episode, Alter, Geschlecht, Spezifische klinische Merkmale (Vorhandensein von vegetativen Parametern 1. der melancholischen Depression, 2. der atypischen Depression oder 3. die Abwesenheit von vegetativen Parametern). Dabei handelt es sich um nominal gemessene Werte. Die klinischen Parameter dienen zur Einteilung in drei Kohortengruppen.

2. **Biologische Parameter**, die im Verlauf des Projektes als Einflussgrößen metrisch erfasst werden sind:

- a) Speichel-Aldosteron (bei Erwachsenen)
- b) Tiefschlafdauer (SWS)
- c) Morgendliche Herzratenvariabilität (HRV)
- d) Salzpräferenz (VAS)
- e) Gangbild-Parameter
- f) Plasma Magnesium
- g) Arterieller Blutdruck und Pulsfrequenz
- h) Speichel-Kortisol (bei Erwachsenen)

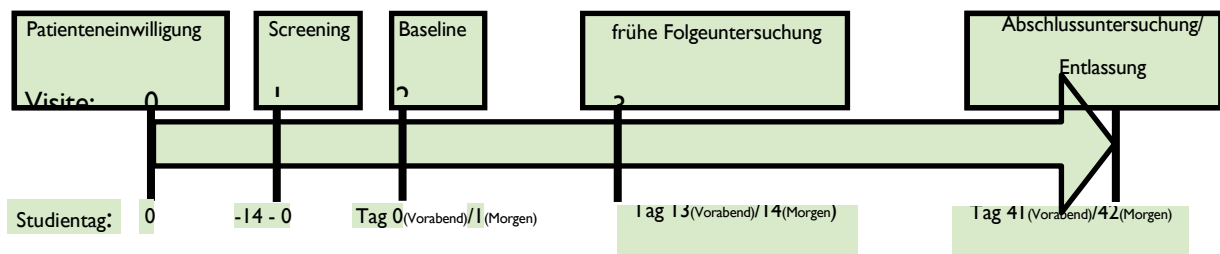
- i) Speichel-Oxytocin (bei Erwachsenen)
- j) Speichel-Vasopressin (bei Erwachsenen)
- k) Plasma-Renin
- l) Inflammatorische Marker, insbes. CRP
- m) Gen-Expressionsmuster der weißen Blutzellen
- n) Hirnanatomische Parameter, einschließlich Ventrikelvolumen, Volumen von Corpus Callosum und der Basalganglien.

3. **Verlaufparameter**, die im Verlauf des Projektes metrisch erfasst werden und das Outcome bestimmen sind:

- a) Veränderung des Hamilton Depression Rating Scale-21 (HDRS-21) sowie dessen Subscore HDRS-6 (Bech, 2006). (Anmerkung: der HDRS-6 Subscore enthält die zentralen Depressiven Symptome, jedoch nicht die vegetativen Symptome. Die Differenzierung in die vegetativen Symptomgruppen macht es notwendig, die vegetativen Symptome aus der Verlaufsanalyse der Besserung der depressiven Symptomatik auszuschließen)
- b) Früher Response (mindestens 20 % Reduktion des HDRS-21 nach 1-2 Wochen).
- c) Response nach 6 Wochen (mindestens 50 % Reduktion der HDRS-21)
- d) In explorativer Weise und als Sensitivitätsanalyse der Hauptzielgrößen (Response und Non-Response) wird der Verlauf mit weiteren Skalen in gleicher Weise bestimmt. Diese sind HDRS-6, HDRS-Item 1, QIDS, Beck, GAF, CGI und die Auswertung des Zustandsbarometers.

4. Die Messzeitpunkte

Wie auf dem Zeitstrahl visualisiert werden die Parameter der Punkte 1.-3. werden zu drei Zeitpunkten (Visite 2,3 und 4) der Studie erhoben. Eine exakte Beschreibung der Messzeitpunkte findet sich weiter oben im Ethikantrag.



15.2 Geplante statistische Analysen:

Hypothese 1

Mit Hilfe eines multivariaten Regressionsmodells soll der Einfluss von Parametern der MR-Aktivität zum Baseline Zeitpunkt auf den klinischen Ausgang getestet werden. Dieser wird in Regelfall als die Veränderung des HDRS-6-Wertes zwischen Baseline und dem Zeitpunkt 6 Wochen nach Baseline definiert. Ausnahmen: Falls innerhalb dieses Beobachtungszeitraumes ein wesentlicher Wechsel des Therapieverfahrens durchgeführt wird, werden die Erhebungen unmittelbar zuvor durchgeführt. Des Weiteren, falls die Entlassung des Patienten in den 6 Wochen Zeitraum fällt, werden die Erhebungen unmittelbar vor Entlassung durchgeführt.

Für die Analyse werden drei Gruppen auf Grundlage des Rankings der Aldosteronkonzentration definiert: hohe Aldosteronkonzentration bei Baseline (HBA); mittlere Aldosteronkonzentration bei Baseline (MBA) und niedrige Aldosteronkonzentration bei Baseline (NBA). Der Einfluss dieser Gruppen-Variable auf die Veränderung der HDRS-6 wird als primäre Analyse getestet.

Für diese und alle weiteren Analysen wird Geschlecht und Depressions-Typ als covariater Faktor einbezogen. Als **Outcome** Variable dient die Reduktion der HDRS-21.

Im Folgenden werden weitere zu analysierende Einflussfaktoren aufgezählt, die als Surrogat Parameter die MR Aktivität darstellen. Die Gruppen werden dazu aufgeteilt in

1. $>$ als der Median; 2. \leq Median. Diese werden nach unten aufgelisteter Priorität hierarchisch ausgewertet werden (1. =höchste Priorität und 15. = niedrigste Priorität):

1. Speichel Aldosteron
2. Tiefschlafdauer (SWS): Hoch vs. Niedrig.
3. Herzratenvariabilität (HRV): Hoch vs. Niedrig.
4. Salzpräferenz: Hoch vs. Niedrig.
5. Plasma Magnesium: Hoch vs. Niedrig.
6. Inflammatorischer Marker CRP: Hoch vs. Niedrig.
7. Speichel-Kortisol: Hoch vs. Niedrig.
8. Arterieller Blutdruck und Pulsfrequenz: Hoch vs. Niedrig.
9. Plasma-Renin: Hoch vs. Niedrig.
10. Speichel-Oxytocin: Hoch vs. Niedrig
11. Speichel-Vasopressin: Hoch vs. Niedrig
12. Gangbild: Auffällig vs. Unauffällig
13. Falls vorhanden: Ventrikel- Corpus Callosum und Basalganglien-Volumen: Groß vs. Klein
14. Falls vorhanden: Elektrolyt-Konzentration im CSF: groß vs. Klein.
15. Falls vorhanden: Vasopressin, Aldosteron und Kortisol-Konzentration in CSF: hoch vs. Niedrig.

Die Parameter 1. bis 15. werden in hierarchisch geordneter Weise ausgewertet. Die Tests gelten als konfirmativ, solange in der Hierarchie zuvor alle Parameter einen signifikante Differenz gezeigt haben. Im anderen Falle gelten die Tests als explorativ.

Der Einfluss von Alter, Dauer der depressiven Episode und Dauer der

Erkrankung auf die einzelnen biologischen Parameter wird korrelativ getestet und gegebenenfalls mit in die Analysen einbezogen Hypothese 2 und 3:

Bei dieser Analyse wird nur die frühzeitige Veränderung (Baseline zu Visite 1 (nach 1-2 Wochen) der Aldosteronkonzentration im Speichel als **Einflussfaktor** auf die Veränderung des HRDS-21 zum Zeitpunkt des Outcome (in der Regel 6 Wochen nach Baseline) getestet. Es werden drei Gruppen auf Grundlage des Rankings der Aldosteronkonzentration definiert: a) AR (Aldosteronreduktion): Reduktion um $\geq 10\%$ der Aldosteronkonzentration; b) Gruppe ANR (Aldosteron Non-Reduktion), keine derartige Reduktion oder Anstieg; c) Gruppe AA (Aldosteronanstieg): Anstieg um $\geq 10\%$ der Aldosteronkonzentration. Dabei wird wie für die Hypothese 1 ein multivariates Regressionsmodell angewendet, in dem Alter, Geschlecht und Depressionstyp mit in die Analyse einbezogen werden.

Im Folgenden werden weitere zu analysierende **Einflussfaktoren** aufgezählt, die Marker der MR-Aktivität darstellen und in der unten stehenden Priorität hierarchisch ausgewertet werden sollen (1. =höchste Priorität und 12. = niedrigste Priorität):

1. Speichel Aldosteron: Abnahme vs. Zunahme.
2. Tiefschlafdauer (SWS): Abnahme vs. Zunahme
3. Herzratenvariabilität (HRV): Abnahme vs. Zunahme.
4. Salzpräferenz: Abnahme vs. Zunahme.
5. Plasma Magnesium: Abnahme vs. Zunahme.
6. Inflammatorischer Marker CRP: Abnahme vs. Zunahme.
7. Speichel-Kortisol: Abnahme vs. Zunahme.
8. Arterieller Blutdruck und Pulsfrequenz: Abnahme vs. Zunahme.
9. Plasma-Renin: Abnahme vs. Zunahme
10. Speichel-Oxytocin: Abnahme vs. Zunahme
11. Speichel-Vasopressin: Abnahme vs. Zunahme
12. Gangbild: Besserung vs. Verschlechterung

Die Parameter 1. bis 12. werden in hierarchisch geordneter Weise ausgewertet. Die Tests gelten als konfirmativ, solange in der Hierarchie zuvor alle Parameter einen signifikante Differenz gezeigt haben. Im anderen Falle gelten die Tests als explorativ. Der Einfluss von Alter, Dauer der depressiven Episode und Dauer der Erkrankung auf die einzelnen biologischen Parameter wird korrelativ getestet und gegebenenfalls mit in die Analysen einbezogen

3. Explorative Analysen:

a) Veränderungen der genannten Parameter der MR-Aktivität zum Zeitpunkt Outcome (6 Wochen nach Baseline, bei Entlassung oder bei wesentlichem Wechsel der Therapie) werden mit denen zu Baseline verglichen. Diese Berechnungen werden in der Gesamtgruppe, in den Aldosteron Gruppen und zusätzlich nach Geschlecht und nach Depressions-Subgruppe getrennt durchgeführt. Dafür wird ein Wilcoxon Test für verbundene Stichproben herangezogen. Diese Berechnungen werden in der Gesamtgruppe, in den Aldosteron-Gruppen und zusätzlich nach Geschlecht und nach Depressions-Subgruppe getrennt durchgeführt.

b) Explorativ werden die Veränderungen der genannten Parameter mittels Pearson's Korrelationskoeffizient berechnet. Diese Berechnungen werden in der Gesamtgruppe, in den Aldosteron-Gruppen und zusätzlich nach Geschlecht und nach Depressions-Subgruppe getrennt durchgeführt.

c) Explorativ werden Gen-Expressionsmuster bei Baseline mit denen beim Ausgang verglichen. Diese Berechnungen werden in der Gesamtgruppe, in den Aldosteron Gruppen und zusätzlich nach Geschlecht und nach Depressions-Subgruppe getrennt durchgeführt. Hierfür wird zunächst ein t-Test für jede mRNA durchgeführt, der untersucht, ob sich die Baseline-Intensitätsrate von der Intensitätsrate nach 6 Wochen unterscheidet. Anschließend werden alle mRNA ausgewählt, die in einem auf dem Chip repräsentierten Pathway

enthalten sind und deren p-Wert im t-Test kleiner als 5% gewesen ist. Schließlich wird pro Pathway der Anteil der signifikant veränderten Gene an allen Genen im Pathway bestimmt und mit Hilfe eines exakten Fisher-Tests untersucht, ob sich diese Anteile signifikant von den erwarteten Anteilen unterscheiden.

Fallzahlberechnung:

Die Fallzahlplanung bezieht sich auf die Hauptfragestellung 1. Als Baseline Wert für den Score der HDRS-6 sowie dessen Standardabweichung kann von einem Wert von 12 ± 2 ausgegangen werden (Lecrubier and Bech, 2007; Tourian et al., 2009; Bech et al., 2012). Im Verlauf des Beobachtungszeitraumes wird eine mittlere Verminderung des Scores um 6 ± 2.5 erwartet. Eine klinisch relevante Differenzierung der Gruppen wird angenommen, falls sich die Verminderung des Scores um ≥ 2 Punkte unterscheidet. Die Annahme, dass eine Differenzierung mit einer Differenz von 2 Punkten möglich sei, ist konsistent mit Befunden des Effektes eines eng verbundenen Befundes, nämlich dem Einfluss eines Polymorphismus des Angiotensin-Rezeptor-Genes sowie des Angiotensin-Converting-Enzym-Genes (Bondy et al., 2005).

Mit diesen Annahmen kann eine Differenzierung der Gruppen mit einem alpha von 0.05 und einer power von 80 % mit einer Fallzahl von 41 pro Gruppe ausgegangen werden (Fallzahlplanung auf Basis des t-Tests). Insgesamt wird also von einer Fallzahl von 82 Patienten ausgegangen.

Belastung und Risiko

Projektbedingte Handlungen am Patienten, Risiken und Komplikationen

Die Teilnahme an der Studie ist mit nahezu keinem Risiko verbunden. Die Blutentnahme wird nach den Regeln der ärztlichen Praxis nur von ausgebildetem medizinischem Personal durchgeführt. Dabei kann es in

selteneren Fällen zu lokalen Hämatomen (Blutergüssen) und/oder Infektionen kommen. In sehr seltenen Fällen kann dabei ein kleiner Hautnerv getroffen werden. Dabei wird nach Möglichkeit versucht die Blutentnahme zur Bestimmung der Blutelektrolyte und der Entzündungsparameter mit den ohnehin im klinischen Alltag anfallenden Blutentnahmen zu synchronisieren, die normalerweise auf Station im 2-wöchigen Rhythmus stattfinden, sodass für die Studie nach Möglichkeit nicht extra Blut entnommen werden muss.

Auch das EEG ist ein praktisch unschädliches Verfahren. Im Rahmen des EEGs werden elektrische Potentiale über ein Stirnband erfasst, wobei keine besondere Vorbereitung der Haut von Nöten ist. Da es sich um eine kabellose Übertragungsform der EEG-Daten an einen Monitor am Bettrand handelt ist es ausgeschlossen, dass die zu untersuchende Person in irgendeiner Form von elektrischen Rückkopplungen durch das Geräte gefährdet sind. Die verwendeten EEG-Geräte sind keine reinen Forschungsgeräte, sondern im kommerziellen Handel erwerbbar und deshalb auch als ungefährlich einzustufen. Die einzige Komplikation, die auftreten kann sind Druckstellen, die durch langes Liegen auf der Elektrode über Nacht zu Stande kommen könnten. Diese Druckstellen sind jedoch ungefährlich und verschwinden kurz nach Abnahme des Elektrodenstirnbandes. Der vorschriftsmäßige Betrieb wird dadurch gewährleistet, dass Personen, die für die Untersuchung verantwortlich sind, zuvor eine intensive Einarbeitung und auch den Patienten im nächtlichen Umgang mit dem Zeo Sleep Manager schulen.

Die Messung des Gangbilds ist ebenso ein Verfahren mit geringem Risiko. Patienten werden aufgefordert in eigenem Rhythmus zu gehen. Das am Körper befestigte i-Phone wird so angebracht, dass keine Behinderung dadurch entsteht.

Umgang mit Zufallsbefunden: Als Zufallsbefunde könnten pathologische Laborwerte, pathologische EEG-Parameter oder Herzrhythmusstörungen entdeckt werden. Die Patienten werden in einer Patienteninformation darüber aufgeklärt, dass es sich nicht um eine klinische Diagnostik handelt: „Die hier durchgeführten Untersuchungen

sind keine diagnostischen Untersuchung, das heißt die Daten werden nicht auf das Vorliegen einer Erkrankung analysiert.“ Zu dem Zeitpunkt, zu dem Zufallsbefunde entdeckt werden, wird der Studienleiter informiert und übernimmt die Verantwortung dafür, dass der Proband sofort kontaktiert wird. Um diesen Fall a priori zu berücksichtigen, enthält die Patienteninformation den Passus: „Sollten uns trotzdem Auffälligkeiten wie z.B. Herzrhythmusstörungen in der Herzratenvariabilitätsmessung, steile Wellen in der EEG-Ableitung oder weit über die Norm veränderte Laborwerte auffallen, werden Sie darüber von einem Arzt informiert.“

Abbruchkriterien

Solange die technische Sicherheit der Geräte gewährleistet ist und sichere Verfahrensweisen bei der Durchführung der Untersuchungen eingehalten werden können, kann der Versuch weitergeführt werden. Abbruchkriterium ist der Rückzug der Einwilligung des Patienten.

Datenschutz

Daten anonymisiert?

Die klinischen und neuropsychologischen, ebenso wie die EEG-Daten werden durch Angabe eines Buchstabens für die Gruppe und einer fortlaufenden dreistelligen Nummerierung kodiert (pseudonymisiert, z.B. A123). Die ärztliche Schweigepflicht bleibt strengstens gewahrt, die Datenschutzbedingungen werden eingehalten.

Speicherung und Übermittlung?

Die wie unter 21 dargestellt pseudonymisierten Daten werden in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg für die Dauer von mindestens 10 Jahren bzw. bis zum Widerruf der Einverständniserklärung ausschließlich auf geschützten Rechnern gespeichert. Mitarbeiter der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Marburg werten die Daten aus. Die Datenübermittlung erfolgt dabei ausschließlich über gesicherte Datenleitungen. Die Schlüsselliste auf der alle Proben der Teilnehmer dieser Studie zurückverfolgt werden können, wird von Frau Sabine

Fischer, Medizinisch Technische Assistentin der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Philipps-Universität Marburg verwaltet und 5 Jahre nach dem Ende dieser Studie vernichtet. Die Schlüsselliste wird in den Räumlichkeiten des Haus-Bethanien (Schützenstraße 49, 35039 Marburg), welches Teil der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie ist, aufbewahrt.

PD Dr. med. Harald Murck

Quellen:

- Ahokas, R.A., Warrington, K.J., Gerling, I.C., Sun, Y., Wodi, L.A., Herring, P.A., Lu, L., Bhattacharya, S.K., Postlethwaite, A.E., Weber, K.T., 2003. Aldosteronism and peripheral blood mononuclear cell activation: a neuroendocrine-immune interface. *Circ. Res.* 93, e124–135.
- Barr, C.S., Lang, C.C., Hanson, J., Arnott, M., Kennedy, N., Struthers, A.D., 1995. Effects of adding spironolactone to an angiotensin-converting enzyme inhibitor in chronic congestive heart failure secondary to coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 76, 1259–1265.
- Bech, P., 2006. Rating scales in depression: limitations and pitfalls. *Dialogues Clin Neurosci* 8, 207–215.
- Bech, P., Stage, K.B., Larsen, J.K., Vestergaard, P., Gram, L.F., 2012. The predictive validity of atypical neurovegetative depressive symptoms identified by the first principal component in the DUAG trial of moclobemide versus clomipramine. *Journal of affective disorders.*
- Bondy, B., Baghai, T.C., Zill, P., Schule, C., Eser, D., Deiml, T., Zwanzger, P., Ella, R., Rupprecht, R., 2005. Genetic variants in the angiotensin I-converting-enzyme (ACE) and angiotensin II receptor (AT1) gene and clinical outcome in depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 29, 1094–1099.
- Born, J., DeKloet, E.R., Wenz, H., Kern, W., Fehm, H.L., 1991. Gluco- and antimineralocorticoid effects on human sleep: a role of central corticosteroid receptors. *Am. J. Physiol.* 260, E183–188.
- Born, J., Steinbach, D., Dodt, C., Fehm, H.L., 1997. Blocking of central nervous mineralocorticoid receptors counteracts inhibition of pituitary-adrenal activity in human sleep. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 1106–1110.
- Brandler, T.C., Wang, C., Oh-Park, M., Holtzer, R., Vergehse, J., 2012. Depressive Symptoms and Gait Dysfunction in the Elderly. *Am J Geriatr Psychiatry* 20(5), 425-432.
- Büttner, M., Jezova, D., Greene, B., Konrad, C., Kircher, T., Murck, H., 2015. Target-based biomarker selection- Mineralocorticoid receptor-related biomarkers and treatment outcome in major depression. *Journal of Psychiatric Research* 66-67, 24-37.

- Carney, R.M., Rich, M.W., Tevelde, A., Saini, J., Clark, K., Jaffe, A.S., 1987. Major depressive disorder in coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 60, 1273–1275.
- Casper, R.C., Kocsis, J., Dysken, M., Stokes, P., Croughan, J., Maas, J., 1988. Cortisol measures in primary major depressive disorder with hypersomnia or appetite increase. *J Affect Disord* 15, 131–140.
- Charloux, A., Gronfier, C., Lonsdorfer-Wolf, E., Piquard, F., Brandenberger, G., 1999. Aldosterone release during the sleep-wake cycle in humans. *Am. J. Physiol.* 276, E43–49.
- Charlton, J.A., Armstrong, D.G., 1989. The effect of an intravenous infusion of aldosterone upon magnesium metabolism in the sheep. *Q J Exp Physiol* 74, 329–337.
- Chitalia, N., N. Weeg, and T. F. Antonios. 2010. Aldosterone-producing adrenal adenoma and idiopathic intracranial hypertension--a pathogenetic link for aldosterone? *QJM* 103(9):699-702.
- De Winter, R.F.P., Zitman, F.G., van Houwelingen, J.C., Wolterbeek, R., Goekoop, J.G., 2005. Anxious-retarded depression: relation to two-year outcome of major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders* 90, 77-81.
- Duprez, D.A., 2006. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in vascular remodeling and inflammation: a clinical review. *J. Hypertens.* 24, 983–991.
- Eby III, G.A., Eby, K.L., 2010. Magnesium for treatment-resistant depression: A review and hypothesis. *Medical hypotheses* 74, 649–660.
- Eller, T., Vasar, V., Shlik, J., Maron, E., 2008. Pro-inflammatory cytokines and treatment response to escitalopram in major depressive disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 32, 445–450.
- Emanuele, E., Geroldi, D., Minoretti, P., Coen, E., Politi, P., 2005. Increased plasma aldosterone in patients with clinical depression. *Arch. Med. Res.* 36, 544–548.
- Fluharty, S.J., Epstein, A.N., 1983. Sodium appetite elicited by intracerebroventricular infusion of angiotensin II in the rat: II. Synergistic interaction with systemic mineralocorticoids. *Behav. Neurosci.* 97, 746–758.
- Francis, J., Weiss, R.M., Johnson, A.K., Felder, R.B., 2003. Central mineralocorticoid receptor blockade decreases plasma TNF-alpha after coronary artery ligation in rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R328–335.
- Francis, J., Weiss, R.M., Wei, S.G., Johnson, A.K., Beltz, T.G., Zimmerman, K., Felder, R.B., 2001. Central mineralocorticoid receptor blockade improves volume regulation and reduces sympathetic drive in heart failure. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 281, H2241–2251.
- Geerling, J.C., Loewy, A.D., 2009. Aldosterone in the brain. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 297, F559–576.
- Gelenberg, A.J., Kocsis, J.H., McCullough, J.P., Ninan, P.T., Thase, M.E., 2006. The State of Knowledge of Chronic Depression. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry* 8, 60–65.
- Gerling, I.C., Sun, Y., Ahokas, R.A., Wodi, L.A., Bhattacharya, S.K., Warrington, K.J., Postlethwaite, A.E., Weber, K.T., 2003. Aldosteronism: an immunostimulatory state precedes proinflammatory/fibrogenic cardiac phenotype. *Am. J. Physiol. Heart*

- Circ. Physiol. 285, H813–821.
- Goekoop, J.G., de Winter, R.P.F., de Rijk, R., Zwinderman, K.H., Frankhuijzen-Sierevogel, A., Wiegant, V.M., 2005. Depression with above-normal plasma vasopressin: Validation by relations with family history of depression and mixed anxiety and retardation. *Psychiatry Research* 141, 123–236.
- Gonzalez, M.B., Snyderman, T.B., Colket, J.T., Arias, R.M., Jiang, J.W., O'Connor, C.M., Krishnan, K.R., 1996. Depression in patients with coronary artery disease. *Depression* 4, 57–62.
- Grippe, A.J., Francis, J., Beltz, T.G., Felder, R.B., Johnson, A.K., 2005. Neuroendocrine and cytokine profile of chronic mild stress-induced anhedonia. *Physiol. Behav.* 84, 697–706.
- HAMILTON, M., 1960. A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 23, 56–62.
- Hlavacova, N., Wes, P.D., Ondrejckova, M., Flynn, M.E., Poundstone, P.K., Babic, S., Murck, H., Jezova, D., 2011. Subchronic treatment with aldosterone induces depression-like behaviours and gene expression changes relevant to major depressive disorder. *The International Journal of Neuropsychopharmacology / Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)* 1–19.
- Holsboer, F., 1999. The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety. *J Psychiatr Res* 33, 181–214.
- HORTON, R., BIGLIERI, E.G., 1962. Effect of aldosterone on the metabolism of magnesium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 22, 1187–1192.
- Howren, M.B., Lamkin, D.M., Suls, J., 2009. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med* 71, 171–186.
- Jacka, F.N., Overland, S., Stewart, R., Tell, G.S., Bjelland, I., Mykletun, A., 2009. Association between magnesium intake and depression and anxiety in community-dwelling adults: the Hordaland Health Study. *Aust N Z J Psychiatry* 43, 45–52.
- Kang, Y.-M., Zhang, Z.-H., Johnson, R.F., Yu, Y., Beltz, T., Johnson, A.K., Weiss, R.M., Felder, R.B., 2006. Novel effect of mineralocorticoid receptor antagonism to reduce proinflammatory cytokines and hypothalamic activation in rats with ischemia-induced heart failure. *Circ. Res.* 99, 758–766.
- Keller, M.B., Klein, D.N., Hirschfeld, R.M., Kocsis, J.H., McCullough, J.P., Miller, I., First, M.B., Holzer, C.P., 3rd, Keitner, G.I., Marin, D.B., 1995. Results of the DSM-IV mood disorders field trial. *Am J Psychiatry* 152, 843–849.
- Kemp, A.H., Quintana, D.S., Gray, M.A., Felmingham, K.L., Brown, K., Gatt, J.M., 2010. Impact of depression and antidepressant treatment on heart rate variability: a review and meta-analysis. *Biol. Psychiatry* 67, 1067–1074.
- Kennedy, N., Abbott, R., Paykel, E.S., 2003. Remission and recurrence of depression in the maintenance era: long-term outcome in a Cambridge cohort. *Psychol Med* 33, 827–838.
- Kessler, R.C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Koretz, D., Merikangas, K.R., Rush, A.J., Walters, E.E., Wang, P.S., 2003. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey

- Replication (NCS-R). *JAMA* 289, 3095–3105.
- Krystal, J.H., Sanacora, G., Blumberg, H., Anand, A., Charney, D.S., Marek, G., Epperson, C.N., Goddard, A., Mason, G.F., 2002. Glutamate and GABA systems as targets for novel antidepressant and mood-stabilizing treatments. *Mol. Psychiatry* 7 Suppl 1, S71–80.
- Lacerda, A.L.T., Nicoletti, M.A., Brambilla, P., Sassi, R.B., Mallinger, A.G., Frank, E., Kupfer, D.J., Keshavan, M.S., Soares, J.C., 2003. Anatomical MRI study of basal ganglia in major depressive disorder. *Neuroimaging* 124, 129-140.
- Lange-Asschenfeldt, C., Kojda, G., Cordes, J., Hellen, F., Gillmann, A., Grohmann, R., Supprian, T., 2013. Epidemiology, Symptoms and Treatment Characteristics of Hyponatremic Psychiatric Inpatients. *Journal of Clinical Psychopharmacology* Vol.33 No.6, 799-805.
- Lecrubier, Y., Bech, P., 2007. The Ham D(6) is more homogenous and as sensitive as the Ham D(17). *Eur. Psychiatry* 22, 252–255.
- Lemke, M.R., Wendorff, T., Mieth, B., Buhl, K., Linnemann, M., 2000. Spatiotemporal gait patterns during over ground locomotion in major depression compared with healthy controls. *Journal of Psychiatric Research* 34, 277-283.
- MacFadyen, R.J., Barr, C.S., Struthers, A.D., 1997. Aldosterone blockade reduces vascular collagen turnover, improves heart rate variability and reduces early morning rise in heart rate in heart failure patients. *Cardiovasc. Res.* 35, 30–34.
- Makatsori, A., Duncko, R., Moncek, F., Loder, I., Katina, S., Jezova, D., 2004. Modulation of neuroendocrine response and non-verbal behavior during psychosocial stress in healthy volunteers by the glutamate release-inhibiting drug lamotrigine. *Neuroendocrinology* 79, 34–42.
- Murck, H., Fava, M., Alpert, J., Nierenberg, A.A., Mischoulon, D., Otto, M.W., Zajecka, J., Mannel, M., Rosenbaum, J.F., 2005. Hypericum extract in patients with MDD and reversed vegetative signs: re-analysis from data of a double-blind, randomized trial of hypericum extract, fluoxetine, and placebo. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 8, 215–221.
- Murck, H., Held, K., Ziegenbein, M., Künzel, H., Koch, K., Steiger, A., 2003. The renin-angiotensin-aldosterone system in patients with depression compared to controls--a sleep endocrine study. *BMC Psychiatry* 3, 15.
- Murck, H., Schubert, M.I., Schmid, D., Schüssler, P., Steiger, A., Auer, D.P., 2009. The glutamatergic system and its relation to the clinical effect of therapeutic-sleep deprivation in depression - an MR spectroscopy study. *J Psychiatr Res* 43, 175–180.
- Murck, H., Schüssler, P., Steiger, A., 2012. Renin-Angiotensin-Aldosterone System: The Forgotten Stress Hormone System: Relationship to Depression and Sleep. *Pharmacopsychiatry*.
- O'Brien, S.M., Scully, P., Fitzgerald, P., Scott, L.V., Dinan, T.G., 2007. Plasma cytokine profiles in depressed patients who fail to respond to selective serotonin reuptake inhibitor therapy. *J Psychiatr Res* 41, 326–331.
- Ovaert, P., Elliott, J., Bernay, F., Guillot, E., Bardon, T., 2010. Aldosterone receptor antagonists-how cardiovascular actions may explain their beneficial effects in heart failure. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 33, 109–117.
- Pace, T.W.W., Mletzko, T.C., Alagbe, O., Musselman, D.L., Nemeroff, C.B.,

- Miller, A.H., Heim, C.M., 2006. Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress. *Am J Psychiatry* 163, 1630–1633.
- Pfaff, D.W., Joels, M., Auger, A.P., Auger, C.J., Balthazart, J., Gonzalez-Mariscal, G., De Kloet, R., Lightman, F., 2017. Hormones, Brain and Behavior, 166-167.
- Rush, A.J., Trivedi, M.H., Ibrahim, H.M., Carmody, T.J., Arnow, B., Klein, D.N., Markowitz, J.C., Ninan, P.T., Kornstein, S., Manber, R., Thase, M.E., Kocsis, J.H., Keller, M.B., 2003. The 16-Item Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS), clinician rating (QIDS-C), and self-report (QIDS-SR): a psychometric evaluation in patients with chronic major depression. *Biol. Psychiatry* 54, 573–583.
- Sakai, R.R., Nicolaïdis, S., Epstein, A.N., 1986. Salt appetite is suppressed by interference with angiotensin II and aldosterone. *Am. J. Physiol.* 251, R762–768.
- Salpietro, V. and M. Ruggieri. 2014. Pseudotumor cerebri pathophysiology: the likely role of aldosterone. *Headache* 54(7):1229.
- Saß, H., Wittchen, H.-U., Zaudig, M., 2003. Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen. (DSM-IV-TR): Textrevision, 1., Aufl. ed. Hogrefe-Verlag.
- Scantamburlo, G., Hansenne, M., Fuchs, S., Pitchot, W., Maréchal, P., Pequex, C., Ansseau, M., Legros, J.J., 2007. Plasma oxytocin levels and anxiety in patients with major depression. *Psychoneuroendocrinology* 32, 407-410
- Schmidt, B.M., Montealegre, A., Janson, C.P., Martin, N., Stein-Kemmesies, C., Scherhag, A., Feuring, M., Christ, M., Wehling, M., 1999. Short term cardiovascular effects of aldosterone in healthy male volunteers. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84, 3528–3533.
- Shambroom, J.R., Fábregas, S.E., Johnstone, J., 2011. Validation of an automated wireless system to monitor sleep in healthy adults. *J Sleep Res.*
- Singewald, N., Sinner, C., Hetzenauer, A., Sartori, S.B., Murck, H., 2004. Magnesium-deficient diet alters depression- and anxiety-related behavior in mice--influence of desipramine and *Hypericum perforatum* extract. *Neuropharmacology* 47, 1189–1197.
- Sonino, N., Tomba, E., Genesia, M.L., Bertello, C., Mulatero, P., Veglio, F., Fava, G.A., Fallo, F., 2011. Psychological assessment of primary aldosteronism: a controlled study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96, E878–883.
- Sullivan, M.J., Hasser, E.M., Moffitt, J.A., Bruno, S.B., Cunningham, J.T., 2004. Rats exhibit aldosterone-dependent sodium appetite during 24 h hindlimb unloading. *J. Physiol. (Lond.)* 557, 661–670.
- Takase, B., Akima, T., Satomura, K., Ohsuzu, F., Mastui, T., Ishihara, M., Kurita, A., 2004. Effects of chronic sleep deprivation on autonomic activity by examining heart rate variability, plasma catecholamine, and intracellular magnesium levels. *Biomed. Pharmacother.* 58 Suppl 1, S35–39.
- Tourian, K.A., Padmanabhan, S.K., Groark, J., Brisard, C., Farrington, D., 2009. Desvenlafaxine 50 and 100 mg/d in the treatment of major depressive disorder: an 8-week, phase III, multicenter, randomized, double-blind,

- placebo-controlled, parallel-group trial and a post hoc pooled analysis of three studies. *Clin Ther* 31 Pt 1, 1405–1423.
- Trivedi, M.H., Rush, A.J., Wisniewski, S.R., Nierenberg, A.A., Warden, D., Ritz, L., Norquist, G., Howland, R.H., Lebowitz, B., McGrath, P.J., Shores-Wilson, K., Biggs, M.M., Balasubramani, G.K., Fava, M., 2006. Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. *Am J Psychiatry* 163, 28–40.
- Trivedi, M.H., Thase, M.E., Fava, M., Nelson, C.J., Yang, H., Qi, Y., Tran, Q.-V., Pikalov, A., Carlson, B.X., Marcus, R.N., Berman, R.M., 2008. Adjunctive aripiprazole in major depressive disorder: analysis of efficacy and safety in patients with anxious and atypical features. *J Clin Psychiatry* 69, 1928–1936.
- Van Londen, L., Goekoop, J.G., van Kempen, G.M.J., Frankhuijzen-Sierevogel, A.C., Wiegant, V.M., van der Velde, E.A., De Wied, D., 1997. Plasma Levels of Arginine Vasopressin elevated in patients with major depression. *Neuropsychopharmacology* 17, 284–292.
- Viola, A.U., Simon, C., Ehrhart, J., Geny, B., Piquard, F., Muzet, A., Brandenberger, G., 2002. Sleep processes exert a predominant influence on the 24-h profile of heart rate variability. *J. Biol. Rhythms* 17, 539–547.
- Widmayer, M. A., J. L. Browning, S. P. Gopinath, C. S. Robertson, and D. S. Baskin. 2010. Increased intracranial pressure is associated with elevated cerebrospinal fluid ADH levels in closed-head injury. *Neurol Res* 32(10):1021-1026.
- Widmer, J., Bovier, P., Karege, F., Raffin, Y., Hilleret, H., Gaillard, J.M., Tissot, R., 1992. Evolution of blood magnesium, sodium and potassium in depressed patients followed for three months. *Neuropsychobiology* 26, 173–179.
- Widmer, J., Stella, N., Raffin, Y., Bovier, P., Gaillard, J.M., Hilleret, H., Tissot, R., 1993. Blood magnesium, potassium, sodium, calcium and cortisol in drug-free depressed patients. *Magnes Res* 6, 33–41.
- WOLF, G., 1965. EFFECT OF DEOXYCORTICOSTERONE ON SODIUM APPETITE OF INTACT AND ADRENALECTOMIZED RATS. *Am. J. Physiol.* 208, 1281–1285.
- Wolf, G., Handal, P.J., 1966. Aldosterone-induced sodium appetite: dose-response and specificity. *Endocrinology* 78, 1120–1124.
- Yee, K.M., Pringle, S.D., Struthers, A.D., 2001. Circadian variation in the effects of aldosterone blockade on heart rate variability and QT dispersion in congestive heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 37, 1800–1807.
- Zorrilla, E.P., Luborsky, L., McKay, J.R., Rosenthal, R., Houldin, A., Tax, A., McCorkle, R., Seligman, D.A., Schmidt, K., 2001. The relationship of depression and stressors to immunological assays: a meta-analytic review. *Brain Behav. Immun.* 15, 199–226.

PROTOKOLL ZUR KLINISCHEN BIOMARKER STUDIE:

VERÄNDERUNGEN DES RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERON SYSTEMS IM VERLAUF EINER STATIONÄREN DEPRESSIONSBEHANDLUNG BEI GLEICHZEITIGER EINNAHME DES 11-B- HYDROXYSTEROID-DEHYDROGENASE TYP 2 INHIBIERENDEN PFLANZENEXTRAKTS (SÜSSHOLZWURZEL, GLYCYRRHIZA GLABRA)

A. Antragssteller

A.1. Verantwortlicher Leiter des Projektes

PD Dr. med. Harald Murck, Facharzt für Psychiatrie und Psychotherapie, Privatdozent der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg, Email: murck@staff.uni-marburg.de, Tel.: +1 201 294 1195

A.2. Leiter des Projektes vor Ort

Dr. med. Maxim Zavorotnyy, Facharzt für Psychiatrie und Psychotherapie, Zusatzbezeichnung Geriatrie, Oberarzt der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg, email: Maxim.Zavorotnyy@med.uni-marburg.de, Tel: 06421 5865 200

A.3. Durchführende Wissenschaftlerin vor Ort

Lisa Lehr, cand. med., Doktorandin der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie am Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg, Email: lehr.lis@gmail.com, Frankfurter Straße 19a, 35037 Marburg, Tel.: 0151 21344547.

B. Studien-Rationale

B.1. Theoretischer Hintergrund

Depressive Syndrome sind häufig, individuell stark beeinträchtigend und volkswirtschaftlich sehr teuer. Depressive Syndrome treten bei verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen auf, insbesondere bei den affektiven Störungen wie z.B. der unipolaren Depression, der bipolaren Depression oder der Dysthymie. Die unipolare Depression ist die häufigste affektive Störung mit einer Lebenszeitprävalenz von weltweit etwa 16% [1]. In der Rangliste der Belastungen durch Erkrankungen (engl. burden of disease) steht die unipolare Depression an erster Stelle aller Erkrankungen (WHO, 2008). Davon verläuft etwa jede 5. Depression chronisch (Kennedy et al., 2003). Von einer chronischen Depression spricht man ab einem Andauern der Symptomatik über einen Zeitraum von mindestens zwei Jahren [2; 3]. Für die Behandlung depressiver Syndrome stehen effektive pharmakologische, psychotherapeutische und andere somatische Behandlungen zur Verfügung. Oftmals wirkt jedoch der zuerst gewählte Therapieansatz nicht. So konnte eine große amerikanische Studie (STAR-D) zeigen, dass bei einer Behandlung mit einem SSRI eine Vollremission lediglich bei ca. 30% aller Patienten erreicht wird [4]. Gute Prädiktoren für die Auswahl einer Therapie fehlen, so dass es oftmals erforderlich ist, die Therapieansätze nacheinander oder in Kombination einzusetzen. Wie weiter unten ausgeführt wird, ist ein wesentlicher Grund hierfür die biologische Heterogenität depressiver Störungen. Parameter zur Differenzierung sind in einzelnen Studien erhoben worden, jedoch wegen der bislang technischen Komplexität auf geringe Fallzahlen und eine limitierte Anzahl von Parametern beschränkt. Dazu gehören insbesondere neuroendokrine Parameter, wie Kortisol-, Oxytocin und Vasopressin-Bestimmungen, Entzündungsparameter, Schlaf-EEG-Parameter sowie Parameter des vegetativen Nervensystems, wie etwa die Herzratenvariabilität. Alle diese Parameter stehen in enger Verbindung mit der Regulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems, einem bislang eher wenig untersuchten Stress-Hormon-System [5].

Durch den Fortschritt im Bereich der Entwicklung analytischer Technik und elektronischer Systeme ist es nun möglich, elektrophysiologische Parameter mit geringem Aufwand und ausreichender Reliabilität zu bestimmen und in Zusammenhang mit neuroendokrinen Parametern zu bestimmen. Genau dieser Ansatz ist Inhalt der vorliegenden Studie.

In einer Verlaufsbeobachtung konnten wir Marker identifizieren, die einen negativen Einfluss auf das Ansprechen einer antidepressiven Therapie haben [6]. Diese Marker weisen auf eine geringe Aktivität von peripheren Mineralokortikoidrezeptor (MR) hin, ausgedrückt als niedriger systolischer Blutdruck sowie geringe Natrium-Konzentration in Plasma, gepaart mit einer hohen Aldosteron-Konzentration in Speichel relativ zur Speichel-Kortisol-Konzentration. Zentral geht dies einher mit einer verminderten

Herzratenvariabilität, vermehrten Tiefschlaf, einer erhöhten Schwelle für salzigen Geschmack und einer erhöhten Präferenz für Salz. Non-Responder wiesen neben einem niedrigeren Blutdruck im Vergleich zu Respondern auch eine sehr viel stärkere Korrelation zwischen der Speichel-Aldosteron-Konzentration und dem systolischen Blutdruck auf, mit anderen Worten Aldosteron erscheint auf den Blutdruck spezifischer bei Non-Respondern als bei Respondern zu wirken. Beide Befunde deuten auf eine höhere periphere Aktivität des Enzyms bei Non-Respondern hin, was für diese Spezifität verantwortlich ist, nämlich die 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenase Typ 2 (HSD2). Damit erscheint ein möglicher Ansatz, die niedrige Aktivität der peripheren MR zu überkommen in der Hemmung dieses Enzyms. Ein Wirkstoff aus einem Extrakt der Süßholzwurzel (*Glycyrrhiza glabra*), Glycyrrhizin (GL), besitzt diese Eigenschaft [7]. Durch GL werden einige der Marker für Non-Response in einer Richtung beeinflusst, die diesen Zusammenhang bestätigen könnte, insbesondere eine verminderte Freisetzung von Aldosteron und Vasopressin sowie eine Erhöhung des arteriellen Blutdrucks [8]. Zudem weisen tierexperimentelle Studien darauf hin, dass GL einen antidepressiven Effekt besitzen könnte [9].

Neben seinem Einfluss auf die Funktion des autonomen Nervensystems (Blutdruck, Tiefschlaf, Salzappetite) beeinflusst Aldosteron (und Vasopressin) auch die Sekretion von zerebrospinalen Liquor (engl. cerebrospinal fluid, CSF) [10; 11]. Wir untersuchten daher in einer Subgruppe der oben erwähnten Studie die Volumina der Hirn-Ventrikel sowie anliegender anatomischer Gebiete und konnten einen statistischen Trend einer positiven Korrelation zwischen dem Volumen der Seitenventrikel und der Speichel-Aldosteron-Konzentration (Murck et al, in Vorbereitung). Vergrößerte Seitenventrikel und eine möglicherweise kompressionsbedingte Verminderung des angrenzenden vorderen Anteils des Corpus callosum waren mit Non-Response assoziiert. Eine Verminderung der Freisetzung von Aldosteron könnte damit auch mit einer Verminderung der Ventrikelgröße im Zusammenhang stehen. Diese Annahme ist konsistent mit früheren Befunden von uns und anderen Arbeitsgruppen: Vergrößerte Ventrikelvolumen sind bereits als Marker für Non-Response beschrieben worden [12]. Daneben wurde eine Vermehrung von Tiefschlaf, den wir als Marker für Non-Response identifiziert haben, mit vergrößerten Ventrikel-Volumina in Verbindung gebracht [13; 14]. Wegen der Nähe dieser Befunde zu denen des Normaldruckhydrozephalus (NPH) ist es interessant zu bemerken, dass die Kardinalzeichen des NPH, nämlich Gangstörungen, kognitive Defizite [15; 16; 17] und Blasenstörungen auch bei einem Anteil von Patienten mit Depression beschrieben wurden [18; 19].

Die Aufweitung der Ventrikel hat Konsequenzen für den Hirnmetabolismus sowie daraus folgend die neurochemische Regulation. Im Tiermodell erscheint Hydrozephalus mit Befunden im Zusammenhang zu stehen, die auch in der Depression beschrieben wurden. Dazu gehört eine Veränderung metabolischer Marker in der spektroskopischen Untersuchung des Hirns, wie etwa N-Acetylaspartat, (NAA) und Glutamin [20; 21], dem Vorläufer von sowohl Glutamat und GABA, sowie der Aktivität des Glutamin generierenden Enzyms Glutamine-Synthetase (GS) [22]. In Hinblick auf NAA und Glutamate

konnten ähnliche Befunde beim Menschen erhoben werden. Der Zusammenhang zwischen der Aktivität der GS, GABA und Glutamat ist wiederholt in der Literatur beschrieben worden [23; 24; 25; 26].

B.2. Hypothesen

Aus tierexperimentellen Untersuchungen kann folgende Arbeitshypothese generiert werden: Eine Stress-Situation löst bei Menschen eine Reaktion aus, die es ermöglichen soll, eine *fight* oder *flight* Reaktion zu beginnen. Diese Reaktion geht mit einer Aktivierung des sympathischen Nervensystems und insbesondere mit einer vermehrten Aktivierung des RAAS und daraus folgend mit der Erhöhung der Aldosteron-Konzentration einher. Dieses ermöglicht einen Blutdruck-Anstieg, der dem Organismus die Verhaltensaktivierung ermöglicht. Dem folgt in kurzem Abstand eine Aktivierung der klassischen Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse mit einem Anstieg von Kortisol. Zum einen wird damit die Stress-Reaktion unterstützt. Wesentlich ist jedoch, dass Kortisol für viele Systeme ein Gegenspieler zu Aldosteron ist und z.B. akut stimmungssteigernd und antiinflammatorisch wirkt. Kortisol führt über Glucokortikoid-Rezeptoren in einer Rückkopplungsschleife zu einer Verminderung der ACTH-Freisetzung und damit zu einer Reduktion von sowohl Aldosteron als auch Kortisol. Dieses Rückkopplungssystem erscheint bei einigen Menschen zu wenig reaktiv zu sein, was zu einer verlängerten Stress-Reaktion und schließlich Depression führen kann.

Der neue Gesichtspunkt in dieser Hypothese ist, dass die Aktivierung von im Zentralnervensystem exprimierten Mineralokortikoidrezeptors (MR) als Folge einer vermehrten Plasma-Aldosteron-Konzentration depressiogen wirkt. Wir konnten diese Hypothese in dem Sinne bestätigen, als Patienten mit hohem Aldosteron/Kortisol-Quotienten in Plasma weniger gut auf antidepressive Therapie ansprechen. Dieses Charakteristikum ging einher mit einer Erhöhung von Markern für zentralnervöse (ZNS) MR-Aktivierung insbesondere bei männlichen Patienten, nämlich einer erhöhten Salz-Präferenz, einer verminderten Herzratenvariabilität (HRV) und von vermehrtem Tiefschlaf (SWS) [6].

Umgekehrt ist zu vermuten, dass Interventionen, die die Plasma-Aldosteron-Konzentration senken, zu einer Verbesserung von depressiver Symptomatik führen. Folgende spezifische Fragen sollen im Rahmen der geplanten Studie daher untersucht werden:

1. Führt die Einnahme eines Glycyrrhizin haltigen Präparates zu der erwarteten Beeinflussung von endokrinen Systemen, insbesondere des Aldosteron/Kortisol-Speichel-Konzentrations-Quotienten (A/K-ratio), sowie der Vasopressin- und der Oxytocin-Speichel und Plasma Konzentration?

2. Werden ZNS Marker der MR Aktivierung beeinflusst, insbesondere Salz-Präferenz, HRV, SWS?
3. Wird das Volumen der Hirn-Seitenventrikel und des Plexus choroideus sowie das Volumen umliegender anatomischer Areale beeinflusst, insbesondere der vordere Anteil des Corpus callosum sowie der Basalganglien?
4. Sind Veränderungen des Hirnmetabolismus, insbesondere von Glutamate und Glutamine im präfrontalen Kortex, in den Basalganglien und im Hippocampus zu beobachten?
5. Stehen Veränderungen dieser Marker mit der Veränderung der klinischen Symptomatik in Zusammenhang? Dabei wird Gewicht auf die Schwere der Depression, sowie von motorischen und Blasen-Störungen gelegt.

B.3. Ziel der Studie

Ziel der Studie ist die Charakterisierung der möglichen Beeinflussung von biologischen Parametern, die als Marker für die Aktivität des Mineralokortikoidrezeptors angesehen werden können, mittels eines Glycyrrhizin haltigen Präparates. Daneben soll die Auswirkung dieser Parameter auf die klinische Besserung bei Patienten mit einer Majoren Depression bei einer konventionellen antidepressiven Therapie beschrieben werden.

B.4. Ethische Aspekte

B.4.1. Heilversuch oder Wissensversuch

Es handelt sich bei unserer Studie um eine biomedizinische, wissenschaftliche Untersuchung. Die Studie dient der Wissenschaft, die Teilnehmer haben keinen direkten persönlichen Nutzen. Es handelt sich nicht um eine Therapiestudie, jedoch wird eine Proof-of-principals-Intervention mittels einer endokrin aktiven Substanz zur Beeinflussung dieser Systeme durchgeführt. Zudem soll über die Untersuchung des Einflusses verschiedener Parameter das Zusammenspiel verschiedener physiologischer Mechanismen verstanden werden. Dabei handelt es sich, wie oben beschrieben, um das RAAS im Zusammenspiel mit dem vegetativen Nervensystem und der Regulierung von Mineralstoffwechsel aktiven Systemen im Verlauf einer Depression. Die Untersuchung dieser Parameter dient der Feststellung, inwiefern sich die Beeinflussung von Parametern der MR-Funktion einen Einfluss auf das Ansprechen auf die antidepressive Standardtherapie (bestehend aus psychopharmakologischen, psychotherapeutischen und psychosozialen Ansätzen) ausübt.

Dieses Wissen ist die Grundlage für das bessere Verständnis pathologischer Prozesse, wie sie bei psychiatrischen Erkrankungen auftreten. Insofern dient die Untersuchung letztlich der Behandlung psychiatrischer Erkrankungen, da sie dem Kliniker in Zukunft mögliche biologische Parameter an die Hand geben sollen, die seine Entscheidungsfindung unterstützen können.

B.4.2. Gute Klinische Praxis

Die Studie wird durchgeführt unter Berücksichtigung von Richtlinien der Guten Klinischen Praxis (Good Clinical Practice, GCP) entsprechend den Definitionen der Internationalen Konferenz für Harmonisation (ICH) und mit Ethischen Prinzipien der Deklaration von Helsinki.

Die Studie wird entsprechend der Vorschriften des Protokolls durchgeführt. Sowohl das Protokoll, mögliche Ergänzungen, als auch die Patientenaufklärung benötigt die Genehmigung durch die Ethische Kommission des Fachbereichs Medizin (FB20) der Universität Marburg bevor ein Patient eingeschlossen werden kann. Verstöße gegen das Protokoll, die eine Gefahr für Patienten darstellen könnten, werden unverzüglich der Ethik Kommission mitgeteilt.

Patientenaufklärung

Die Untersucher legen Patienten eine Patientenaufklärung vor, die in nicht technischer Sprache abgefasst ist. Dem Patienten wird ausreichend Zeit gegeben, sich über die Details der Studie zu informieren. Die Patientenaufklärung wird vom Patienten eigenhändig unterschrieben und datiert.

Wer informiert?

Die Aufklärung und das Einholen der schriftlichen Einverständniserklärung erfolgt durch einen ärztlichen Mitarbeiter der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie. Allen Teilnehmern wird in dem Aufklärungsbogen zusätzlich die Möglichkeit angeboten, sich bei Rückfragen telefonisch oder per E-mail an PD Dr. Harald Murck oder Dr. Maxim Zavorotnyy (Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universitätsklinik Marburg) zu wenden. Telefonnummer und Anschrift bzw. Emailadresse siehe Informationsblatt.

B.5. Studienablauf

Formal handelt es sich bei dem vorgelegten Projekt um eine interventionelle Studie zur Beschreibung der Beeinflussbarkeit von Parametern, die als Prädiktoren für das therapeutische Ansprechen einer Depression identifiziert worden sind. Weitere therapeutische Interventionen außerhalb der gängigen klinischen Praxis sind nicht vorgesehen.

B.5.1. Studienplan

Bei Aufnahme wird eine Basischarakterisierung durch Diagnose, Erkrankungsdauer, Episodenanzahl, soziodemographischen Status etc. erhoben. Die Zustandsvariablen und die neurobiologisch-technische Parameter, einschließlich Polysomnographie, Herzraten-Variabilitäts-Analyse, Gang-Analyse sowie

spezifische Speichel- und Blutentnahmen finden zur Baseline-Untersuchung, kurz nach der Aufnahme, nach 1-2 Wochen nach Beginn der Studie sowie nach 6-7 Wochen nach dem Baseline-Zeitpunkt statt. Des Weiteren werden optional MRT Untersuchungen in den Tagen vor der Baseline- und der Abschlussvisite durchgeführt.

Dabei wird nach Möglichkeit versucht, die Blutentnahme zur Bestimmung der Blutelektrolyte und der Entzündungsparameter mit den ohnehin im klinischen Alltag anfallenden Blutentnahmen zu synchronisieren, die normalerweise auf Station im 2-wöchigen Rhythmus stattfinden, so dass für die Studie nach Möglichkeit eine möglichst geringe zusätzliche Belastung für die Patienten besteht. In besonderen Fällen können ereignisgetriggerte Zwischenerfassungen eingeschoben werden, z.B. zu Beginn oder Ende einer besonderen Therapiemaßnahme, die sich aus dem naturalistischen Behandlungsverlauf ergibt. Am üblichen klinischen Behandlungsverlauf wird durch die Studie nichts verändert, nur die Verlaufsbeobachtung kommt hinzu.

Im Folgenden werden die erhobenen klinischen und biologischen Parameter aufgeführt und die Rationale für deren Verwendung dargestellt:

Klinisch-psychiatrische Symptomerfassung

Der folgende Abschnitt beschreibt alle Parameter die erhoben werden sollen:

Die Symptomschwere und Ausprägung des depressiven Syndroms sollen durch Fremderfassung erfasst werden:

Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS; [27]) bestehend aus 18 Items, die zu den fünf Skalen (1) Angst/ Depression, (2) Anergie, (3) Denkstörungen, (4) Aktivierung, (5) Feindseligkeit/ Misstrauen führen.

Clinical Global Impression Scale (CGI; National Institute of Mental Health, 1985): zur Beurteilung der Symptomschwere und Symptomveränderung über die Zeit.

Global Assessment of Functioning (GAF) [28] bewertet das allgemeine Funktionsniveau in psychischen, sozialen und beruflichen Bereichen.

Hamilton Depression Rating Scale (HRDS)[29]: Fremdbeurteilungsskala mit 21 Items speziell zur Erfassung depressiver Symptome. Neben der 21-Item Skala wird auch die HDRS-6 Subskala verwendet, dies wird weiter unten noch genauer ausgeführt [30].

Diagnostisches Grading von Symptomen des Normaldruck-Hydrozephalus (NPH-Grading) [31].

Ausserdem werden folgende Skalen zur Selbsterfassung benutzt:

Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS-SR-16, [32] Selbstbeurteilungsbogen mit 16 Items, der eine Einteilung in Subtypen der Depression erlaubt. Falls vom Patienten nicht ausfüllbar, wird ersatzweise der Inventory of Depressive Symptomatology (IDS-C) durch den Untersucher durchgeführt.

Die QIDS-SR hat eine gewisse Schlüsselstellung für die Einteilung der Patienten in klinische Subgruppen, die unterschiedlich auf verschiedene Behandlungsverfahren ansprechen. In Analogie zu Murck et al., [33] und Anlehnung an Trivedi et al. [34] werden Patienten in drei klinische Gruppen eingeteilt auf der Grundlage von Items von QIDS-SR: Im ersten Schritt wird eine Gruppe mit melancholischen Merkmalen definiert:

1. Melancholische Merkmale: Vorhandensein von einem Score von mindestens 2 von **mindestens** einem der QIDS Items: Item 3, Früherwachen; Item 6, verminderter Appetit; Item 8, Gewichtsabnahme.
2. Im zweiten Schritt werden Patienten mit atypischen Merkmalen definiert: Vorhandensein von einem Score von mindestens 2 von **mindestens** einem der QIDS Items: Item 4, Zu viel Schlaf; Item 7, vermehrter Appetit; Item 9, Gewichtszunahme.
3. Patienten ohne vegetative Merkmale: Restgruppe.

Beck Depression Inventory (BDI). Das BDI stellt eine vielfach verwendete Selbst-Beurteilungsskala dar.

Soziodemographische Variable werden ebenfalls anhand eines Fragebogens erfasst. Die Eintragungen in ein zur klinischen Routine gehörendes Zustandsbarometer sollen ebenfalls wissenschaftlich ausgewertet werden und dienen der Kontrolle der Validität der Hauptzielparameter. Zudem wird eine detaillierte Anamnese erhoben, bei der vor allem die Begleitmedikation (aufgeschlüsselt nach psychiatrischen und nicht-psychiatrischen Medikamenten und solche die das RAAS beeinflussen), Familienanamnese, Alkohol- und Nikotinanamnese, sowie internistische und psychiatrische Diagnosen dokumentiert werden.

Parameter der klinisch-psychiatrischen Symptomerfassung, welche die Schwere und den Behandlungsverlauf determinieren können und eine biologische Grundlage haben, sind: Schweregrad, Dauer der Erkrankung sowie Dauer der depressiven Episode, Alter, Geschlecht. Spezifische klinische Merkmale (Vorhandensein von vegetativen Merkmalen 1. der melancholischen Depression, 2. der

atypischen Depression oder 3. die Abwesenheit von vegetativen Parametern) werden mittels der QIDS-SR definiert.

Daneben wird die Medikation der Patienten erfasst. Für die antidepressive Medikation werden differenziert: 1. SSRIs/SNRIs; 2. Mirtazapin; 3. MAO-Inhibitoren und Hypericum-Extrakte; 4. atypische Neuroleptika; 5. Lithium. Für die nicht psychiatrische Medikation werden Substanzen gesondert berücksichtigt, die einen Einfluss auf das RAAS haben: 1. ACE-Inhibitoren und Renin-Release Suppressoren, einschließlich Beta-Blockern; 2. MR-Antagonisten, wie etwa Spironolacton.

Neurobiologische Parameter des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems

Es sollen funktionelle Systeme untersucht werden, die einen Bezug zur Regulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems haben. Dabei sollen Konstellationen von Parametern charakterisiert werden, die ein Nicht-Ansprechen (Non-Response) auf eine antidepressive Standardtherapie, insbesondere SSRIs und SNRIs, vorhersagen können. Ziel ist es nun zu untersuchen, ob die Beeinflussung von Parametern, die als Prädiktoren für Non-Response identifiziert wurden, durch die Gabe des Glycyrrhizin-haltigen Präparates beeinflusst werden.

Wichtig ist dabei festzustellen, dass die verwendeten physiologischen und laborchemischen Parameter jeweils indirekte oder Surrogatparameter für die Aktivität der MR-Funktion sind. In der Zusammenschau dieser Parameter wird es möglich, den Einfluss des MR auf die zu untersuchenden funktionellen Systeme genauer zu definieren. Im Folgenden wird bei jedem Parameter genauer beleuchtet in welchem Zusammenhang dieser steht und welche Aussagekraft er dadurch haben kann.

Die zu bestimmenden physiologischen Parameter und deren Zusammenhang mit dem RAAS sind folgende:

Messung von **Kortisol, Aldosteron, Oxytocin und Vasopressin zum Zeitpunkt des Aufwachens mittels Entnahme einer Speichelprobe** mit den Salivette® (Sarstedt). Damit besteht die Möglichkeit exakte Analyseergebnisse auch bei kleinen Speichelmengen und/oder sehr niedrigen Kortisol, Oxytocin, Vasopressin Spiegeln sowie von Aldosteron zu erhalten.

- Die Konzentration von Aldosteron, dem physiologischen Liganden am MR, ist bei Patienten mit depressiven Störungen erhöht [35; 36]. Es gibt einige Hinweise, dass die erhöhte Aldosteron-Konzentration nicht nur ein Epiphänomen darstellt, sondern kausal in die Genese depressiver Störungen involviert sein könnte. So findet sich bei Patienten mit einem Hyperaldosteronismus (Conn-Syndrom) in gehäufte Weise depressive Störungen [37]. Ein weiterer klinischer Hinweis bei Patienten mit depressiven Störungen, der in unserem Zusammenhang besonders relevant ist, ist der Befund, dass

Polymorphismen des Angiotensin-Converting-Enzyme-Genes und des Angiotensin-Rezeptor-Genes einen prädiktiven Effekt auf das Ansprechen auf konventionelle antidepressive Therapie hat: Vorhandensein der aktiveren Varianten, die zu einer erhöhten Aldosteronkonzentration führen sollten, sind mit schlechterem Ansprechen verbunden [38]. Bestätigung für diesen Befund kommt aus dem Tiermodell: die subchronische Gabe von Aldosteron löst depressionsähnliches Verhalten aus. Gleichzeitig konnte festgestellt werden, dass diese subchronische Aldosterongabe im Hippocampus eine Transkriptionsänderung bei Genen hervorruft die mit Inflammation, glutamaterger Aktivität, synaptischem und Neuronen-Remodelling assoziiert sind. Des Weiteren überlappen Aldosteron-regulierende Gene mit solchen Genen, die bei einer Stressreaktion wie der Forced Swim Test reguliert werden [39].

- Kortisol und Aldosteron haben teilweise überlappende Regulationssysteme: beide Steroide werden durch ACTH freigesetzt (siehe Murck et al., 2012). Für den Zusammenhang von Kortisol und depressiven Störungen gibt es eine sehr weite Literatur. z.B. [40]. In unserem Zusammenhang ist von besonderem Interesse, dass der Vergleich der Aldosteron/Kortisol-Konzentration einen Hinweis auf die Bedeutung des RAAS vs. ACTH bei der Regulation von Aldosteron bei einem gegebenen Patienten spielt: ein niedriger Aldosteron/Kortisol-Quotient weist auf einen ausgeprägteren Anteil von ACTH hin, somit einer Erhöhung beider adrenaler Hormone; während ein höherer Aldosteron/Kortisol-Quotient auf einen relativ ausgeprägteren Anstieg von Aldosteron und somit einen vermehrten Einfluss des Renin-Angiotensin Systems hindeutet.
- Oxytocin hat eine antidepressive Wirkung und korreliert positiv mit positiver Stimmung. Außerdem wurde festgestellt, dass die Oxytocin-Konzentration bei depressiven Patienten häufig vermindert ist [41]. Die Sekretion von Oxytocin aus dem Nucleus supraopticus wird über den Natrium-Gehalt des Blutes und die Aktivität des zentralen MR reguliert. Der aktive MR hemmt die Oxytocin-Sekretion und ein hoher Natrium-Spiegel fördert diese see [42]. Ein hoher Aldosteron/Oxytocin-Quotient spricht daher für eine hohe Aktivität des zentralen MR. Hingegen ein niedriger Aldosteron/Oxytocin-Quotient weist auf eine niedrige Aktivität des zentralen MR hin und eine vermehrte Sekretion von Oxytocin.

- Die Vasopressin-Konzentrationen sind bei depressiven Patienten erhöht [43]). Patienten mit erhöhtem Plasma-Vasopressin haben ein schlechterer Outcome und leiden vermehrt an einer ängstlichen Symptomatik [44]. Der Nucleus paraventricularis ist zum einen für die Aktivierung der Hypophysen-Hypothalamus-Nebennierenrinden (HHN)-Achse und zum anderen für die Produktion von Vasopressin zuständig. Die Vasopressin-Konzentration korreliert mit der von Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) [45]. Demnach ist bei erhöhter Aldosteron-Konzentration auch die Vasopressin-Konzentration erhöht.

Die **Totale Schlaf-Dauer (TST)** und die **Slow Wave Sleep Dauer (SWS)** werden mit Hilfe eines ambulanten Schlaf-EEGs (Zeo Sleep Manager – Bedside, der Zeo Inc., 320 Nevada Street, Newton, MA 02460) gemessen. Hauptelemente sind ein Stirnband mit Elektroden aus leitenden Fasern, die keine Vorbereitung der Haut benötigen, das in kabellosem Kontakt zu einem separaten Monitor neben dem Bett steht. Validierungsstudien mit einer konventionellen Polysomnographie kommen zu dem Ergebnis, dass die TST & SWS des Zeo Gerätes, welches kommerziell im Handel erwerblich ist, mit einem Standard-EEG gut korrelieren [46].

- Bei depressiven Patienten sind Schlafstörungen und verminderter SWS mit hohem einem Kortisolspiegel verbunden. Ein übergeordneter Regulationsmechanismus scheint dafür verantwortlich zu sein. Insbesondere gibt es Hinweise, dass sowohl verminderter Tiefschlaf und vermehrte Kortisol-Konzentration auf eine erhöhte Aktivität am MR zurückzuführen sein könnten [47; 48]. Des Weiteren besteht eine enger zeitlicher Zusammenhang der Aktivität des RAAS mit Schlafprozessen: die Konzentration von Renin und Aldosteron steigt an in Synchronizität mit einem Anstieg von Tiefschlaf [49]. Somit bietet die Dauer von SWS ein Korrelat für die Aktivität des MR.

Die **Herzraten-Variabilität (HRV)** und die **Herzfrequenz** wird mittels eines im kommerziellen Handel befindenden Systems bei vorgegebener Atemfrequenz kurz nach dem Erwachen eine Minute mehrfach gemessen und gemittelt. Dabei wird beim Patient mittels Pulsoxymetrie-Sensoren die Pulsfrequenz abgeleitet. Der Sensor steht über einen speziellen Funkempfänger mit einem iPhone, den iPod touch oder einem Android Gerät in Verbindung. Eine kommerziell verfügbare Applikation (App) namens ithlete (HRV Fit Ltd, Hants, UK) analysiert die eingegebenen Daten. Das Messvorgehen ist folgendes: Auf Anweisung der App wird der Atem synchronisiert und so die Herzfrequenz und HRV über einen Zeitraum von einer Minute gemessen. Der Vorgang wird wiederholt, um die Variabilität zu reduzieren.

- Depression ist mit einem erhöhten Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis assoziiert [50; 51; 52]. Selbst bei Depressionen ohne eine kardiovaskuläre Begleiterkrankung besteht eine Korrelation mit einer reduzierten HRV, wobei die HRV mit steigender Depressionsschwere abnimmt [53]. Die HRV wird durch das RAA-System beeinflusst [54; 55], wobei akute und chronische Effekte gegensätzlich zu sein scheinen: akut erhöht Aldosteron die HRV, während andererseits die chronische Gabe von MR Antagonisten die HRV erhöht, chronische MR Aktivierung HRV somit zu vermindern scheint. Sowohl das autonome Nervensystem sowie die Aldosteron-Sekretion unterliegen Tagesschwankungen, welche sich in morgendlichen Peaks sowohl des Aldosterons als auch der sympathovagalen Balance zeigen. Durch diese Befunde liegt es nahe, dass diese beiden Systeme miteinander in Verbindung stehen [56]. Es zeigt sich vor allem aber auch, dass eine Aldosteronblockade mit einem Aldosteronantagonisten wie Spironolacton eine Erhöhung der morgendlichen Herzfrequenz nach sich zieht [57]. Daraus schließen wir, dass die HRV als funktioneller Parameter der Aktivität des MR interpretiert werden kann.

Der **Blutdruck (RR)** wird mittels einer elektronischen Blutdruckmanschette oder analog gemessen.

- Mineralokortikoide wie Aldosteron erhöhen den Blutdruck durch Vasokonstriktion, Natrium- und Wasseraufnahme und erhöhte Natrium Rückresorption in der Niere. Somit ist weitgehend bekannt, dass der MR an der Regulation des Blutdrucks beteiligt ist. Wesentlich ist jedoch festzuhalten, dass der MR nicht nur in der Peripherie, sondern auch in spezifischen Arealen des ZNS vorkommt, die an der Blutdruck-Regulation beteiligt sind. Dabei ist insbesondere der Nucleus tractus solitarius zu erwähnen (Geerling and Loewy, 2009). Des Weiteren ist bekannt, dass Glycyrrhizin in hohen Dosen, die in unserer Studie nicht erreicht werden, zu einer Erhöhung des Blutdruckes führen kann. Dieser mögliche Effekt wird engmaschig kontrolliert.
- **Gewicht** und **Größe** der Patienten werden gemessen.

Geschmacksprobe bei einer Konzentration von 0.9%iger Kochsalzlösung und Einschätzung mittels visueller Analogskala zur Salzpräferenz (Eigenentwicklung). Dabei werden zwei Parameter erhoben: 1) Einschätzung der Salzigkeit (0; nicht salzig; 10: extrem salzig); b) Einschätzung der Aversion (0: sehr angenehmer Geschmack; 10: extrem unangenehmer Geschmack).

- Wie der Blutdruck wird auch die Salzaufnahme von Aldosteron und anderen MR-Agonisten erhöht [58; 59]. Auf der anderen Seite reduzieren MR-Antagonisten den Appetit auf Salzigenes [60; 61]. Patienten, die an einer Depression erkrankt sind, leiden häufig an Appetitlosigkeit, welche durch eine subjektive Geschmacklosigkeit des Essens hervorgerufen sein könnte. Das RAAS ist unter anderem dafür verantwortlich, eine Homöostase der Elektrolyte aufrecht zu erhalten. Das Angiotensin II sorgt bei einer Hyponatriämie dafür, Salz aufzunehmen, indem es den Salzappetit anregt.

Das **Gangbild** wird mittels der iPhone-App GaitAnalysisPro untersucht. Dafür bekommt der Patient das iPhone mithilfe eines Gürtels am Rücken befestigt. Der Patient wird dann eine Minute in seinem eigenen Tempo laufen. Die App ermittelt daraus Geschwindigkeit, Schrittlänge, Laufrhythmus, Symmetrie und die Varianz des Gangbilds.

- Bei depressiven Patienten lässt sich ein verändertes Gangbild feststellen. Abweichungen von der Kontrollgruppe sind besonders bei Schrittlänge, Laufrhythmus und Geschwindigkeit zu finden [62]. Dies wird zum einen mit vaskuläre Mechanismen [63] und Hyponatriämie [64] und zum anderen mit einem verminderten Basalganglien-Volumen [65] in Verbindung gebracht. Bei dauerhaft hohem Aldosteronspiegel werden möglicherweise die peripheren MR desensibilisiert. Dadurch sinkt der Natriumspiegel, und die Blutdruckregulation wird beeinflusst [55].

In weiterem Zusammenhang mit einer möglichen Ventrikelaufweitung können kognitive Störungen einen Hinweis bieten. Wir führen einen kurzen Test (< 5 min Dauer) mittels einer Smart-Phone App durch (MemCheck), die einen gut etablierten Test für Kurzzeitgedächtnis und Aufmerksamkeit mittels 1-back Test durchführt.

Ergänzend werden zerebrale **MR-Bildgebung (Struktur, Diffusion Tensor Imaging)** sowie **MR-Spektroskopie** durchgeführt.

- **Strukturelle Bildgebung:** das Volumen der Ventrikel sowie umliegender anatomischer Areale, etwa von Arealen des Corpus callosum und des Striatums haben besondere Relevanz, da Hormone wie etwa Aldosteron, Kortisol und Vasopressin die Produktion und Absorption von CSF regulieren. Eine Verminderung der Freisetzung von Aldosteron

könnte damit auch mit einer Verminderung der Ventrikelgröße im Zusammenhang stehen. Diese Annahme ist konsistent mit früheren Befunden von uns und anderen: aufgeweitete Ventrikelvolumen sind bereits als Marker für Non-Response beschrieben worden [12]. Daneben wurde eine Vermehrung von Tiefschlaf, den wir als Marker für Non-Response identifiziert haben, mit vergrößerten Ventrikel-Volumina in Verbindung gebracht [13; 14].

- **Diffusion Tensor Imaging:** Ähnlich wie bei Normaldruckhydrocephalus wird bei Depression die Erweiterung der Ventrikel als Folge des leicht erhöhten Hirndruckes vermutet (Murck et al, in Vorbereitung). Es ist demnach denkbar, dass eine solche Hirndrucksteigerung einen Einfluss auf die weiße Hirnsubstanz haben kann. Mittels Diffusion Tensor Imaging (DTI), einer Variante der diffusions-gewichteten MR-Tomographie, ist es möglich, Verläufe zerebraler Faserbahne darzustellen. Mit Depression assoziierte Auffälligkeiten der weißen Substanz und der Faserbahne sind bereits in diversen Hirnarealen [66; 67; 68] aber auch in Corpus callosum [69; 70; 71] bereits beschrieben. Erhebung von DTI-Daten im Rahmen der aktuellen Studie kann helfen, einen denkbar möglichen Zusammenhang zwischen dem RAAS und den Auffälligkeiten der weißen Substanz bei Depression aufzuklären.
- **MR-Spektroskopie:** Die Aufweitung der Ventrikel hat Konsequenzen für den Hirnmetabolismus sowie daraus folgend die neurochemische Regulation. Im Tiermodell erscheint Hydrozephalus mit Befunden im Zusammenhang zu stehen, die auch in der Depression beschrieben wurden. Dazu gehört eine Veränderung metabolischer Marker in der spektroskopischen Untersuchung des Hirns, wie etwa N-Azetlylazetat, (NAA) und Glutamin [20; 21], dem Vorläufer von sowohl Glutamate und GABA, sowie der Aktivität des Glutamine generierenden Enzyms Glutamine-Synthetase (GS) [20; 21; 22]. In Hinblick auf NAA und Glutamate konnten ähnliche Befunde beim Menschen erhoben werden. Der Zusammenhang zwischen der Aktivität der GS, GABA und Glutamat ist wiederholt in der Literatur beschrieben worden [20; 21; 23; 24; 25; 26].

Falls vorhanden werden Parameter aus der Analyse von CSF betrachtet. Dabei sind insbesondere Elektrolyte sowie Neurohormone, insbesondere Vasopressin, von Interesse, wie beschrieben.

Folgende Laborparameter werden bestimmt:

- Es sollen die Blutelektrolyte, insbesondere Plasmakonzentrationen von **Natrium, Kalium** und **Magnesium** bestimmt werden. Alle diese Elektrolyte stehen unter dem Einfluss des RAAS.
- **CRP** soll als inflammatorischer Marker bestimmt werden. Bei depressiven Patienten finden sich vermehrt entzündliche Veränderungen. Vor allem zeigt sich diese Veränderung im CRP und IL-6, etwas weniger findet diese Veränderung auch mit dem IL-1 statt [72; 73]. Wie oben bereits erwähnt stehen Depressionen in engen Zusammenhang mit koronarer Herzkrankheit, bei denen eine entzündliche Komponente angenommen wird [74; 75]. Das RAAS weist eine Verbindung zu inflammatorischen Veränderungen auf und beeinflusst Entzündungsparameter im Plasma [76; 77].

Bei der Analyse der Blutelektrolyte und der inflammatorischen Marker wird versucht, diese an die routinemäßigen Abnahmen auf Station zu koppeln. Für die Analyse der Blutelektrolyte sowie der inflammatorischen Marker werden 20 ml venöses Blut benötigt.

Plasma Renin: Die Entnahme von Plasma zur Bestimmung von Renin wird unmittelbar nach der Abnahme von Speichel sowie der HRV-Analyse durchgeführt. Diese zeitliche Abfolge ist vorgesehen, um durch den möglichen Stress der Blutentnahme die genannten Parameter nicht zu beeinflussen.

- Renin ist ein wesentliches Element der Aldosteron-Freisetzung (neben ACTH). Die Renin-Freisetzung wird über eine negative Rückkopplung mit Angiotensin II (ATII) am juxtaglomerulären Apparat der Niere reguliert. Insofern kann die Renin-Konzentration und insbesondere das Verhältnis der Aldosteron- zur Renin- Konzentration einen Hinweis auf die Aktivität des RAAS darstellen.

Alle beschriebenen Parameter stehen mit der Aktivität des MR und dem RAAS in Verbindung. Der meist zugängliche Parameter ist die Konzentration von Aldosteron im Speichel. Alle weiteren Parameter sind, wie beschrieben, indirekt und als Surrogat-Parameter der MR Aktivierung zu betrachten. Aus dem oben beschriebenen lässt sich ableiten, dass eine erhöhte Aktivität des MR mit spezifischen Veränderungen einhergeht und gleichfalls Prädiktoren von Therapie-Non-Response sein sollten. Inwieweit diese Parameter durch Glycyrrhizin modifizierbar sind wird untersucht. Diese vermuteten Parameter von Therapie-Non-Response sind:

Diese sind:

1. Hohe Tiefschlaf- und Gesamtschlaf-Dauer

2. Relativ niedrige Kortisol Konzentration, z.B. ein hoher Aldosteron/Kortisol-Quotient.
3. Niedrige Herzraten-Variabilität (HRV)
4. Niedriger arterieller Blutdruck
5. Hohes Körpergewicht (relativ zur Körpergröße (body mass index BMI) (durch Wassereinlagerung)
6. Niedrige Plasma Magnesium-Konzentration
7. Hohe CRP-Konzentration
8. Hohe Renin-Konzentration in Plasma
9. Hoher Salzappetit, ausgedrückt durch verminderte Sensitivität für salzigen Geschmack und weniger aversives Rating
10. Niedrige Oxytocin-Konzentration
11. Hohe Vasopressin-Konzentration
12. Verändertes Gangbild
13. Vergrößerte Ventrikel und vermindertes Volumen umliegender Areale, insbesondere des Corpus callosum und der Basalganglien
14. Verminderte fraktionelle Anisotropie (FA-Wert) gemessen mit Diffusion Tension MR Imaging (DTI) in Corpus callosum und anderen Hirnarealen
15. Verminderte Konzentration von NAA und/oder Glutamine in relevanten Hirnarealen

Als **Haupt-Zielparameter** wird der **Quotient von Aldosteron/Kortisol** definiert. Daneben wird in explorativer Weise geprüft, welcher der genannten Parameter, entweder einzeln oder in Kombination, sensitiv für den Einfluss von Glycyrrhizin sind und das Therapie-Ansprechen beeinflussen könnten. Außerdem wird getestet, inwieweit diese biologischen Parameter mit klinischen Charakteristika in Zusammenhang stehen.

B.5.2. Glycyrrhizin Intervention

Wir benutzen zur Intervention ein weit frei verkäufliches Nahrungsergänzungsmittel, nämlich ein Extrakt der Süßholzwurzel (SHW), dessen wirksamer Bestandteil, Glycyrrhizin-Säure, weit verbreitet als Süßstoff Verwendung findet und spezifisch in Lakritz Konfekt vorzufinden ist, SHW wird verabreicht in Kombination mit einem weiteren frei verkäuflichen Nahrungsergänzungsmittel, nämlich Magnesium-Brausetabletten (Altapharma, Hamburg).

SHW wird produziert von GPH-Produktions GmbH, Judenburg, Österreich und hat einen spezifizierten Gehalt von Glycyrrhizin von 6-8 %. Die genaue Spezifikation befindet sich anbei. Eine Kapsel enthält 350 mg des SHW. Es werden 2x2 Kapseln pro Tag verabreicht, mithin 1400 mg. Diese enthalten 84 – 112mg Glycyrrhizin nach oben genannter Spezifikation. Magnesium-Brausetabletten (Mg) enthalten Magnesiumcarbonat (Mg) und Zitronensäure somit Magnesiumcitrat als Form in Lösung, mit einem Anteil von 200 mg Mg^{2+} pro Tablette. Der Gesamt-Magnesium-Dosis erreicht 400 mg täglich. In Folge wird die Kombination als SHW/Magnesium bezeichnet.

Dosis Rationale und Rationale für die Kombination

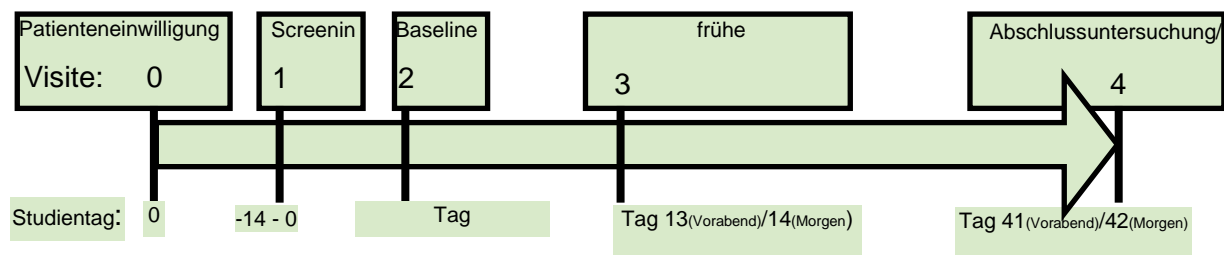
Die empfohlene Tagesdosis des gewählten SHW beträgt 4 Kapseln, mithin ca. 100 mg Glycyrrhizin täglich. Der biologische Effekt und die Sicherheit und toxikologischen Eigenschaften von Glycyrrhizin und Derivaten sind weitreichend untersucht[78]. Glycyrrhizin wird breit als Süßungsmittel verwendet und kommt in einer Konzentration von etwa 0.2% in Lakritz-Konfekt vor. Somit enthalten 100 g Lakritz Konfekt ca 200 mg Glycyrrhizin. Die US Food and Drug Administration (FDA) hat die aktuellste Richtlinie im Jahre 2017 veröffentlicht. Darin werden Glycyrrhizin-haltige Lebensmittel als GRAS (generally regarded as safe) klassifiziert, sofern Konzentrations-Limitationen eingehalten werden [79]. Dieses Limit beträgt z.B, 3.1 % Glycyrrhizin für „soft candy“ (Kaubonbons), d. h. der Verzehr von etwa 100 Gramm des Konfektes würde zu einer Aufnahme von 300 mg führen. Ein Bericht der Europäischen Kommission von 2003 schlägt eine Begrenzung im chronischen Alltagsgebrauch von 100 mg vor. Die wissenschaftliche Literatur beschreibt 200 mg Glycyrrhizin als „no effect dose“ im Kontext von Sicherheitsaspekten[78]. Diese Empfehlung wird z.B. unterstützt durch Originalarbeiten, die den Effekt von Glycyrrhizin auf Blutdruck, Elektrolyte und endokrine Veränderungen darstellen [7; 80]. Wesentlich ist in diesem Zusammenhang festzuhalten, dass mögliche adverse Effekte einfach zu erfassen sind und u.U. zu einer Dosis-Anpassung führen können. Diese sind insbesondere der systolische Blutdruck sowie die Plasma Elektrolyt-Konzentrationen.

Der erwünschte Effekt für diese Studie ist die Reduktion von Plasma-Aldosteron, die als Folge der zu erwartenden Hemmung der HSD2 eintritt. Insgesamt soll mit der verabreichten Dosis der Aldosteron-/Kortisol Plasma Konzentrations-Quotient vermindert werden, ohne dabei jedoch die Aktivität des MR der Niere maßgeblich zu beeinflussen. Mit anderen Worten, bei der gegebenen Dosis sollte sich weder Blutdruck noch Plasma Elektrolyte drastisch ändern. Allerdings wird ein leichter Anstieg des

stolischen Blutdrucks (5 – 10 mm Hg) sowie von Plasma Natrium, innerhalb des physiologischen Bereichs, als positive betrachtet und sollte angestrebt werden [6]. Dabei besteht jedoch langfristig die Möglichkeit der vermehrten Ausscheidung von Magnesium [5; 81]. Durch die zusätzliche Gabe von Magnesium soll diese mögliche Konsequenz vermieden werden. Des Weiteren hat Magnesium einen antagonistischen Effekt am Angiotensin II Rezeptor [82; 83; 84; 85].

B.6. Studienablauf

Alle im Folgenden beschriebenen Visiten sind in der Tabelle 1 noch einmal übersichtweise aufgelistet und auf folgendem Zeitstrahl visualisiert:



B.6.1. Screening (Visite 0)

Alle neu aufgenommenen Patienten der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Philipps-Universität Marburg, die den Einschlusskriterien dieser Studie entsprechen bzw. den Ausschlusskriterien nicht widersprechen, werden nach ausführlicher ärztlicher Aufklärung gefragt, ob sie an der Studie teilnehmen möchten. Die Patienten erhalten während dieses Gesprächs den Bogen der Patienteninformation sowie die Einwilligungserklärung. Falls Fragen aufkommen, werden diese ausführlich beantwortet. Die Patienten haben so viel Zeit wie sie wünschen, einer Teilnahme zuzustimmen bzw. zu widersprechen. Erst wenn ein Patient eingewilligt hat, folgt die Visite 1.

B.6.2. Screening (Visite 1)

Hat ein Patient eingewilligt, wird bei der nun ersten Visite als erstes überprüft, ob die Diagnosen noch mit den Ein- bzw. Ausschlusskriterien vereinbar sind. In einem Gespräch werden die internistischen Diagnosen sowie die Medikation anamnestisch erhoben. Des Weiteren werden die soziodemographischen Daten (inkl. Alter, Geschlecht, Größe) mit einem Fragebogen erfasst, eine Nikotin-, Alkohol- sowie Familienanamnese erhoben.

Sind zu diesem Zeitpunkt immer noch alle Ein- bzw. Ausschlusskriterien erfüllt, findet zum nächstmöglichen Zeitpunkt die Visite 2 statt.

B.6.3. Baseline (Visite 2)

Zwischen der Visite 2 und der Visite 1 sollten nicht mehr als 14 Tage liegen. Innerhalb dieser Zeitspanne sollte die MRT Untersuchung stattfinden. Am Beginn des eigentlichen Studienabschnittes, dem

Vorabend der Baseline (Tag 1) wird der Patient visitiert. Es wird überprüft, ob die Ein- und Ausschlusskriterien noch für ihn gültig sind und folgende Fremdbeurteilungsfragebögen mit dem Patienten erhoben: HDRS-21, BPRS, CGI & GAF. Des Weiteren wird eine Änderung der Medikation dokumentiert. Danach wird dem Patienten noch einmal erklärt, wie die Schlaf-EEG-Untersuchung durchgeführt wird. Im Verlauf der Nacht wird das Schlaf-EEG abgeleitet, wobei der Patient in seiner gewöhnlichen Umgebung auf Station verbleibt. Dazu legt sich der Patient das Stirnband mit den EEG Elektroden selbständig an, ggf. auch mit Hilfe des Pflegepersonals. Dabei wird die Ableitung automatisch aktiviert.

Am Morgen des Folgetages wird der Patient um 7 Uhr visitiert. Als erstes wird Speichel- Aldosteron, -Kortisol, -Oxytocin und -Vasopressin mithilfe der Salivette® von Sarstedt gesammelt. Im Anschluss findet die Analyse der HRV statt. Dazu hält der Patient in der Regel die Ableitelektroden in beiden Händen. Das Puls-Signal wird kabellos an ein entsprechend ausgerüstetes iPhone (oder äquivalent) weitergeleitet. Eine Ableitung dauert eine Minute, während der der Patient einen vorgegebenen Atemrhythmus einhalten soll. Die Anweisung dazu wird vom Display des iPhones abgelesen. Die Messung wird 2-fach mit einem Intervall von ca. 1 Minute wiederholt. Es werden der Puls und der Blutdruck gemessen. Danach wird die Geschmacksprobe durchgeführt. Eine definierte Salzlösung (0.9%) wird dem Patienten in den Mund gegeben. Mittels zwei Visual-Analog Skalen (Salzigkeit, Angenehm vs. Unangenehm) wird die Wahrnehmung des Patienten erhoben / erfasst. Daraufhin folgt die Testung des Gangbilds. Dafür wird ein iPhone (oder Äquivalent) am Patienten angebracht und der Patient instruiert, eine Minute lang in seinem Tempo zu laufen. Für diese Messung wird die App GaitAnalysisPro genutzt. Nach diesen Erhebungen wird dem Patienten zur Bestimmung von Plasma-Renin Blut abgenommen. Zum Schluss werden dem Patienten die Selbstbeurteilungsfragebögen QIDS und BDI vorgelegt und der Patient füllt die Skalen gemäß den Erläuterungen aus. Des Weiteren wird das Gewicht noch vor dem Frühstück gemessen. Es wird das Schlaf-EEG ausgelesen.

SHW-Magnesium-Gabe

Nach Abschluss der Baseline Untersuchung beginnt die Verabreichung der SHW-Magnesium Kombination: Kapsel SGW sowie eine Brausetablette Magnesium (200 mg) werden sowohl morgens als auch abends eingenommen.

Mindestens wöchentlich wird der Blutdruck und die Plasma-Elektrolyte gemessen, um den Effekt der Kombination zu überwachen.

B.6.4. Visite 3 (Safety, 1 Woche nach Baseline):

Arterieller Blutdruck wird gemessen und Bestimmung von Plasma-Elektrolyten wird durchgeführt. Beim einem wiederholten Anstieg (mindestens 3 unabhängige Messungen) des systolischen Blutdrucks von > 150 mm Hg oder des diastolischen Blutdrucks von > 95 mm Hg soll die Dosis des SHW auf 1

Kapsel morgens und 1 Kapsel abends reduziert werden. Das gleiche gilt bei einer klinisch signifikanten Veränderung der Blut-Elektrolyte.

B.6.5. Frühe Folgeuntersuchung (Visite 4, 2 Wochen nach Baseline)

Am Tag 13, nach Baseline, dem Vorabend des Tages 14 nach der Visite 2 plusminus 3 Tage wird der Patient besucht. Es werden folgende Fremdbeurteilungsfragebögen mit dem Patienten durchgeführt: HDRS-21, BPRS, CGI & GAF. Des Weiteren wird nach einer Änderung in der Medikation gefragt bzw. im Stationsprotokoll nachgeschlagen. Danach wird dem Patienten noch einmal erklärt, wie das Schlaf-EEG richtig verwendet wird.

Am Morgen des Folgetages wird der Patient um 7 Uhr visitiert. Als erstes wird ihm das Speichel Aldosteron, Kortisol, Oxytocin und Vasopressin mithilfe der Salivette® Cortisol von Sarstedt abgenommen. Im Anschluss findet die Analyse der HRV statt. Es werden der Puls und der Blutdruck gemessen. Danach wird die Geschmacksprobe durchgeführt. Daraufhin folgt die Untersuchung des Gangbilds. Nach diesen Erhebungen wird dem Patienten Blut abgenommen. Zum Schluss wird der QIDS Fragebogen vom Patienten vervollständigt.

Das Gewicht wird noch vor dem Frühstück gemessen. Es wird das Schlaf-EEG ausgelesen.

B.6.6. Visite 5 (Safety, 3 Wochen nach Baseline)

Arterieller Blutdruck wird gemessen und Bestimmung von Plasma-Elektrolyten wird durchgeführt. Beim einem wiederholten Anstieg (mindestens 3 unabhängige Messungen) des systolischen Blutdrucks von > 150 mm Hg oder des diastolischen Blutdrucks von > 95 mm Hg soll die Dosis des SHW auf 1 Kapsel morgens und 1 Kapsel abends reduziert werden. Das gleiche gilt bei einer klinisch signifikanten Veränderung der Blut-Elektrolyte.

B.6.7. Visite 6 (Safety, 4 Wochen nach Baseline)

Arterieller Blutdruck wird gemessen und Bestimmung von Plasma-Elektrolyten wird durchgeführt. Beim einem wiederholten Anstieg (mindestens 3 unabhängige Messungen) des systolischen Blutdrucks von > 150 mm Hg oder des diastolischen Blutdrucks von > 95 mm Hg soll die Dosis des SHW auf 1 Kapsel morgens und 1 Kapsel abends reduziert werden. Das gleiche gilt bei einer klinisch signifikanten Veränderung der Blut-Elektrolyte.

B.6.8. Visite 7 (Safety, 5 Wochen nach Baseline)

Arterieller Blutdruck wird gemessen und Bestimmung von Plasma-Elektrolyten wird durchgeführt. Beim einem wiederholten Anstieg (mindestens 3 unabhängige Messungen) des systolischen Blutdrucks von > 150 mm Hg oder des diastolischen Blutdrucks von > 95 mm Hg soll die Dosis des SHW auf 1 Kapsel morgens und 1 Kapsel abends reduziert werden. Das gleiche gilt bei einer klinisch signifikanten Veränderung der Blut-Elektrolyte.

B.6.9. Abschlussuntersuchung (Visite 8, 6 Wochen nach Baseline)

Die Visite 8 stellt die letzte Visite dar. In der Regel wird er Patient am Tag 41 nach Baseline, dem Vorabend des Tages 42 nach der Visite 2 (Baseline) plusminus 7 Tage besucht. Im Falle einer wesentlichen Umstellung der Medikation/Behandlung oder im Falle einer früherzeitigen Entlassung des Patienten.

Zwischen Visite 7 und 8 findet die optionale MRT Untersuchung statt. Bei der Abschlussuntersuchung findet genau das gleiche Untersuchungsprogramm wie zum Baseline Zeitpunkt (Visite 2) statt.

	Screening	Screening	Baseline						
Visite	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Studientag		Tag -14- 0	Tag 0/1	Tag 7 ± 1 Tag	Tag 14 ± 3 Tage	Tag 21 ± 1 Tage	Tag 28 ± 1 Tage	Tag 35 ± 1 Tage	Tag 42 ± 7 Tage/Entlassung
Patienten-Einwilligung	X								
Diagnose-Bestätigung (klinisch)		X	X						
Relevante internistische Diagnosen		X							
Medikations-Anamnese/Erhebung		X	X		X				X
Soziodemographische Daten		X							
Alkohol and Nikotin-Anamnese		X							
Geschlecht, Alter, Gewicht, Größe, RR		X	X (Gewicht & RR)		X (Gewicht & RR)				X (Gewicht & RR)
Familienanamnese		X							
Zustandbarometer (3x täglich)			X		X				X
Schlaf-EEG-Anlage			X Vorabend (Abend Tag 0)		X (Vorabend)				X (Vorabend)
MRT-Untersuchung (optional)			X (wenige Tage zuvor)						X (wenige Tage zuvor)
Routine-Blutentnahme einschl. Mg2+ und CRP			X		X				X
Elektrolyte				X		X	X	X	
Aufwach-Speichel Abnahme			X Morgen; (Tag 1)		X (Morgen)				X (Morgen)
Herzraten-Varianz-Analyse			X Morgen; (Tag 1)		X (Morgen)				X (Morgen)
Blutdruck und Herzfrequenz			X Morgen; (Tag 1)	X	X (Morgen)	X	X	X	X (Morgen)
Skalen: HDRS-21; CGI; BPRS; GAF, BDI			X ; (Tag 1)		X				X
QIDS-SR16			X Morgen; (Tag1)		X (Morgen)				X (Morgen)
Geschmack-VAS			X Morgen; (Tag 1)		X (Morgen)				X (Morgen)
Gangbild und Kognition			X Morgen; (Tag 1)		X (Morgen)				X (Morgen)
NNH-Grading		X	X		X				X

Tabelle 1 listet die oben beschriebenen Untersuchungen auf und zeigt zu welchen Zeitpunkten sie erhoben werden.

B.7. Neuheit

B.7.1. Gelöste und ungelöste einschlägige Probleme in der Literatur

Das vorherrschende Erklärungsmodell für die mögliche Wirksamkeit von antidepressiver Therapie basiert auf einer Dysfunktion monoaminerger Systeme. Dieses Model wurde zur Erklärung von Substanzen, die vor mehr als 50 Jahren auf den Markt eingeführt wurden, etabliert. Parallele Erklärungsmodelle fassen depressive Störungen als stressbedingte Erkrankungen auf und fokussierten auf die Modifikation des Stresshormonsystems und dabei insbesondere auf den gut charakterisierten Hyperkortisolismus bei schweren, sogenannten melancholischen depressiven Patienten [40]. In neuerer Zeit wurde die Bedeutung von inflammatorischen Prozessen [86] und Veränderungen der glutamatergen Neurotransmission [87] hervorgehoben. Eine umfassende Theorie, die allgemein anerkannt wäre, besteht bislang nicht.

Ein übergreifendes System mit Verbindung zu monoaminerger und glutamaterger Transmission als auch Verbindungen zu inflammatorischen sowie Stress-regulierenden Systemen ist hingegen das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) (zusammengefasst von Murck et al., 2012). Erst vor wenigen Jahren wurden deutlich, dass Hyperaldosteronismus bei bestimmten Patienten mit depressiven Störungen besteht [35; 36]. Eine erhöhte Aktivität des RAAS wurde bei unter Stress stehenden Menschen [88] und im Tiermodell [89] beschrieben. So führt eine subchronische Aldosteron-Gabe zu depressionsähnlichem Verhalten [39]. Des Weiteren finden sich Verhaltensauffälligkeiten bei Patienten mit durch ein Adenom hervorgerufenem Hyperaldosteronismus, welche sich insbesondere in einer depressiven Stimmung sowie Angst äußern [37].

Somit ist plausibel, dass das RAAS für die Pathophysiologie und Behandlung von depressiven Störungen bedeutsam ist. Dieser Ansatz beruht nicht auf Hypothesen, die das klassische monoaminerge Systeme einbeziehen. Insofern besteht die Möglichkeit, dass Patienten, die auf klassische monoaminerge Medikamente ansprechen, sich von Non-Respondern unterscheiden. Hierbei könnte die interindividuelle Reaktion des RAAS eine Rolle spielen. Dieser Sachverhalt soll in dieser Studie untersucht werden.

Abbildung 1 zeigt die komplexe Interaktion der untersuchten Neuroendokrinen Systeme sowie deren Zusammenhang zum vegetativen (sympathischen) Nervensystem. Aufgrund dieser Komplexität sind vielfältige Parameter und deren Beziehung zueinander notwendig, um das System funktionell beschreiben zu können.

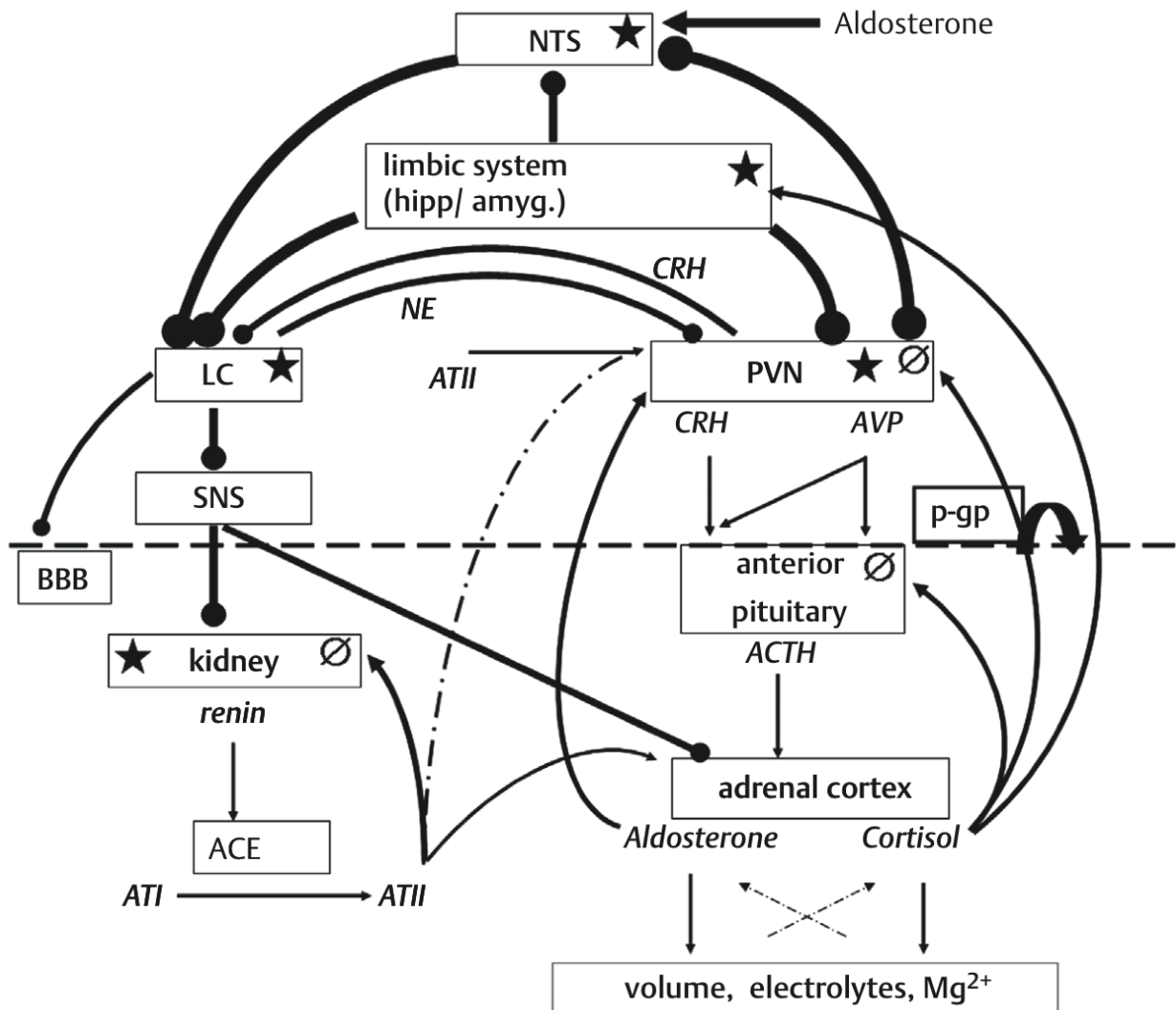


Abbildung 1 (Murck et al., 2012): Die Abbildung zeigt eine Übersicht der Hauptsysteme, welche bei der Pathophysiologie von Depression und dem Renin-Angiotensin-Aldosteron verbunden sind. Die „drumsticks“ repräsentieren neuronale Verbindungen, wobei diese nicht unbedingt monosynaptische Verbindungen sein müssen; Pfeile stellen endokrine Einflüsse dar und gestrichelte Pfeile zeigen indirekte Mechanismen. PVN: Nucleus Paraventricularis; NTS: Nucleus of the solitary tract; CRH: Corticotropin Releasing Hormone; NE: Norepinephrine; AT II: Angiotensin II; ACTH: Adrenocorticotropin; BBB: Blood Brain Barrier; LC; Locus coeruleus; SNS: Sympathic Nervous System; AVP: Arginine vasopressine; ACE: Angiotensin Converting Enzyme; p-gp: p-glycoprotein

B.8. Welches dieser Probleme wird angegangen?

Konkret wird der neurobiologische Zusammenhang der Symptome mit dem RAAS und der Einfluss der gängigen klinischen Therapieverfahren auf das RAAS untersucht. Dabei werden die o.g. Parameter gemessen und in Zusammenhang mit den klinisch-psychiatrischen Erfassungen mittels Symptomerfassung in Selbst- und Fremdratings und Lebensqualitätsbögen gesetzt. Als wesentliche Neuerung wird hier eine Manipulation des RAAS mittels der Gabe einer SHW/Magnesium Kombination, die darauf abzielt, Plasma-Aldosteron zu reduzieren und dabei mögliche adverse Effekte zu vermeiden. Der Zusammenhang zwischen den zu untersuchenden Biomarkern unter Einfluss der

SHW/Magnesium Kombination und der klinischen Charakterisierung der Patienten im Verlauf steht hier im Vordergrund der Untersuchung.

Das dargestellte Projekt hat mehrere wesentliche innovative Charakteristika:

- Das Projekt untersucht, inwieweit Parameter, die als prädiktive für Non-Response für Antidepressiva identifiziert worden sind, mittels einer Beeinflussung der HSD2 beeinflusst werden können.
- Des Weiteren wird untersucht, ob die möglichen Veränderungen der Biomarker Parameter einen Einfluss auf die klinischen Charakteristika haben, insbesondere die Depressionsschwere.
- Ein Teil des Projekts kann als Fortsetzung eines z.T. analysierten Projektes angesehen werden. Dort wurden mit einfachen technischen Mitteln biologische Parameter im Verlauf der Behandlung depressiver Patienten dargestellt, insbesondere der Speichel Hormonkonzentration, des Blutdruckes, der Plasma-Elektrolyte, der Herzraten-Variabilität, des Tiefschlafes sowie der Salz-Präferenz [6]. Die technische Einfachheit ist ein wesentliches Charakteristikum, das ermöglicht, eine größere Anzahl von Patienten im Verlauf zu untersuchen, um damit biologische und klinische Subgruppen differenzieren zu können. Damit soll ein Weg eröffnet werden, dem Kliniker einfache Parameter an die Hand zu geben, die klinisch relevant sind, und so den Weg zur Benutzung von Biomarkern im klinischen Alltag zu ermöglichen.
- Das Projekt involviert eine Anzahl von Verfahren und Parametern, die in der Zusammenschau deutlich aussagekräftiger sein sollten, als einzelne Parameter. Dieser Netzwerkaspekt fokussiert im Wesentlichen auf die Interaktion verschiedener Systeme im Gegensatz zur Ansicht eines „final common pathways“. Die technische Einfachheit der Marker ermöglicht diesen Netzwerkansatz.
- Befunden des vorangehenden Projektes folgend wurden hier neben der Manipulation des RAAS mittels SHW/Magnesium komplexere mechanistische Untersuchungen eingeführt, die der Klärung der zugrundeliegenden Pathophysiologie nachgehen. Dabei handelt es sich um Magnetresonanz-Tomographische Verfahren, nämlich der

Charakterisierung der Volumina der Hirn-Seitenventrikel, der Plexi choroidei sowie umliegender Regionen, insbesondere des vorderen Anteils des Corpus callosums sowie der Basalganglien. Daneben werden DTI und MR-spektroskopische Verfahren benutzt, um mögliche biochemisch/metabolische Veränderungen und der Auffälligkeiten der weißen Substanz darzustellen.

Diese Zusammenschau von Parametern auf der Grundlage einer klar definierten Hypothese ist bislang nicht erfolgt. Die Befunde dieser Studie könnten dazu beitragen, eine bislang wenig beachtete pathophysiologische Grundlage, insbesondere von Therapie-Refraktarität, zu bestätigen.

B.9. Versuchsplanung – biometrisches Studiendesign

Folgende spezifische Hypothese soll dabei untersucht werden:

Hypothese 1: Die funktionelle Sensitivierung peripherer MR mittels Inhibition von HSD2 und die nachfolgende Reduzierung der Aldosteron-Freisetzung ist mit einer verminderten Aktivierung zentralnervöser MR verbunden. Dies spiegelt sich in den genannten Biomarken wider.

Hypothese 2: Die verminderte Freisetzung von Aldosteron führt zu einer Verkleinerung der Ventrikelvolumina und der Kompression umliegender anatomischer Areale. Dieser Befund steht in Zusammenhang mit einer Veränderung von FA-Wert, gemessen mit DTI-MRT und magnetresonanzspektroskopisch nachweisbaren Parametern, insbesondere Glutamine, Glutamat und N-Acetyl-Aspartate, sowie einem erhöhten Ansprechen auf antidepressive Therapie.

B.10. Patientenzahl

Eine formale Fallzahlberechnung wird nicht vorgenommen, da es sich hier um eine Pilotstudie handelt. Folgend der vorangehenden Studie sind 30-40 Patienten vorgesehen. Die Befunde dieser Studie werden genutzt, um eine randomisierte Placebo-kontrollierte Studie zu planen.

Studienkollektiv

Die **Einschlusskriterien** umfassen folgende Diagnosen der ICD-10:

- F 32 (Depressive Episode)
- F 33 (Rezidivierende depressive Störung)
- F 34 (Anhaltende affektive Störungen).

Eine dieser Diagnosen muss der primäre Grund für den aktuellen stationären Aufenthalt in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Marburg sein. Begründung des stationären Aufenthaltes durch eine andere psychiatrische Haupterkrankung mit einer der o.g. komorbiden Erkrankungen führt nicht zum Einschluss in diese Verlaufsbeobachtung.

Ausschlusskriterien sind folgende:

- ICD-10 F20 bis F23 (Schizophrenie und wahnhaftige Störungen)
- Fehlende deutsche Sprachkenntnisse
- Neurologische Erkrankungen, bei denen eine Beteiligung des zentralen Nervensystems bekannt ist, wie z.B. Epilepsien, Speicherkrankheiten, schwere geistige Behinderung
- Nicht-Einwilligung oder Unfähigkeit zur Einwilligung in die Studie

Ausschlusskriterien für MRT-Untersuchungen

Der Ein- und Ausschluss in die MRT-Untersuchung erfolgt unter Zuhilfenahme eines etablierten Screenings-Bogens unserer Klinik, der insbesondere die MR-relevanten Bereiche wie Metalle im Körper, Platzangst etc. erfasst (liegt der Aufklärung bei). Für die Teilnahme an einer MRT Untersuchung sind folgende Ausschlusskriterien zu beachten:

- nicht abnehmbare ferromagnetische Metalle am oder im Körper, oder biomedizinische Implantate die ferromagnetischen Eigenschaften besitzen bzw. elektrisch oder magnetisch aktiviert und deaktiviert werden (z.B. Spirale, Endoprothesen, Infusionspumpen, Intraport, künstliche Herzklappen, Implantierter Herzschrittmacher, Gefäßclips, Gelenkprothese, Metallstifte, Zahnspange, Granatsplitter, Akupunkturnadel, etc.)
- Metallhaltiges Make-up oder großflächige Tätowierungen in Kopfnähe, Piercings
- Weibliche Teilnehmer: Bestehende Schwangerschaft

B.11. Statistisches Auswertungsverfahren

B.11.1. Die Parameter und die Messzeitpunkte

Bei dem Studiendesign dieser Studie handelt es sich um eine Kohortenstudien. Es werden drei Gruppen von Parametern zu drei Zeitpunkten bestimmt, mit Ausnahme der MRT Untersuchungen, die lediglich am Beginn (vor Baseline) und am Ende (vor der Abschlussuntersuchung) durchgeführt werden.

1. **Klinische Parameter**, die die Schwere und den Behandlungsverlauf determinieren können und eine biologische Grundlage haben, sind: Schweregrad, Dauer der Erkrankung und Dauer der depressiven Episode, Alter, Geschlecht, Spezifische klinische Merkmale (Vorhandensein von vegetativen Parametern 1. der melancholischen Depression, 2. der atypischen Depression oder 3. die Abwesenheit von vegetativen Parametern). Dabei handelt es sich um nominal gemessene Werte. Die klinischen Parameter dienen zur Einteilung in drei Kohortengruppen.

2. **Biologische Parameter**, die im Verlauf des Projektes als Einflussgrößen metrisch erfasst werden sind:
 - Speichel-Aldosteron (bei Erwachsenen)
 - Tiefschlafdauer (SWS)
 - Morgendliche Herzratenvariabilität (HRV)
 - Salzpräferenz (VAS)
 - Gangbild-Parameter und Kognition
 - Plasma Magnesium
 - Arterieller Blutdruck und Pulsfrequenz
 - Speichel-Kortisol (bei Erwachsenen)
 - Speichel-Oxytocin (bei Erwachsenen)
 - Speichel-Vasopressin (bei Erwachsenen)
 - Plasma-Renin, Vasopressin und Oxytocin
 - Inflammatorische Marker, insbes. CRP
 - Hirnanatomische Parameter, einschliesslich Ventrikelvolumen, Volumen von Corpus callosum und der Basalganglien

- FA-Wert gemessen mit DTI-MRT
 - Magnetresonanz-Spektroskopische Parameter.
3. **Verlaufparameter**, die im Verlauf des Projektes metrisch erfasst werden und das Outcome bestimmen sind:
- Veränderung der Hamilton Depression Rating Scale-21 (HDRS-21) sowie dessen Subscore HDRS-6. (Anmerkung: der HDRS-6 Subscore enthält die zentralen Depressiven Symptome, jedoch nicht die vegetativen Symptome. Die Differenzierung in die vegetativen Symptomgruppen macht es notwendig, die vegetativen Symptome aus der Verlaufsanalyse der Besserung der depressiven Symptomatik auszuschließen)
 - Früher Response (mindestens 20 % Reduktion des HDRS-21 nach 1-2 Wochen).
 - Response nach 6 Wochen (mindestens 50 % Reduktion der HDRS-21)
 - In explorativer Weise und als Sensitivitätsanalyse der Hauptzielgrößen (Response und Non-Response) wird der Verlauf mit weiteren Skalen in gleicher Weise bestimmt. Diese sind HDRS-6, HDRS-Item 1, QIDS, Beck, GAF, CGI und die Auswertung des Zustandsbarometers.

B.12. Geplante statistische Analysen

Korrelative Analyse

Der Einfluss von SHW/Magnesium im Verlauf der Zeit wird mittels einer Messwiederholungs-ANOVA dargestellt, wobei Geschlecht und weiter unten zu definierende Biomarker-Subgruppen als Faktoren getestet werden. Die Aldosteron/Kortisol Plasma Konzentration-Ratio (AKR) gilt als primärer Zielparameter.

Subgruppen Analysen

Subgruppen werden definiert anhand der Ausprägung von Biomarkern zum Baseline-Zeitpunkt. Die Gruppen werden aufgeteilt in eine $>$ als der Median und \leq als der Median.

Des Weiteren soll mit Hilfe eines multivariaten Regressionsmodells der Einfluss von Parametern der MR-Aktivität zum Baseline Zeitpunkt auf den klinischen Ausgang getestet werden. Dieser wird im Regelfall als die Veränderung des HDRS-21-Wertes zwischen Baseline und dem Zeitpunkt 6 Wochen

nach Baseline definiert. Ausnahmen: Falls innerhalb dieses Beobachtungszeitraumes ein wesentlicher Wechsel des Therapieverfahrens durchgeführt wird, werden die Erhebungen unmittelbar zuvor durchgeführt. Des Weiteren, falls die Entlassung des Patienten in den 6 Wochen Zeitraum fällt, werden die Erhebungen unmittelbar vor Entlassung durchgeführt.

Für die primäre Analyse werden zwei Gruppen auf Grundlage der Aldosteron/Kortisol Plasma Konzentration-Ratio (AKR) definiert: hohe AKR vs. niedrige AKR, nach Aufspaltung am Median. Der Einfluss dieser Gruppen-Variable auf die Veränderung der HDRS-21 wird als primäre Analyse getestet.

Für diese und alle weiteren Analysen wird Geschlecht und Depressions-Typ als co-variabler Faktor einbezogen. Als Outcome Variabel dient die HDRS-21.

Im Folgenden werden weitere zu analysierende Einflussfaktoren aufgezählt, die als Surrogatparameter die MR Aktivität darstellen. Die Gruppen werden dazu aufgeteilt wie oben am Median. Diese werden nach unten aufgelisteter Priorität hierarchisch ausgewertet werden (1.=höchste Priorität und 15.=niedrigste Priorität):

1. Speichel Aldosteron
2. Arterieller Blutdruck und Pulsfrequenz: Hoch vs. Niedrig.
3. Tiefschlafdauer (SWS): Hoch vs. Niedrig.
4. Herzratenvariabilität (HRV): Hoch vs. Niedrig.
5. Salzpräferenz: Hoch vs. Niedrig.
6. Plasma Magnesium: Hoch vs. Niedrig.
7. Inflammatorischer Marker CRP: Hoch vs. Niedrig.
8. Speichel-Kortisol: Hoch vs. Niedrig.
9. Plasma-Renin: Hoch vs. Niedrig.
10. Speichel-Oxytocin: Hoch vs. Niedrig
11. Speichel-Vasopressin: Hoch vs. Niedrig
12. Gangbild: Auffällig vs. Unauffällig

13. Falls vorhanden: Ventrikel- Corpus Callosum und Basalganglien-Volumen: Groß vs. Klein
14. Falls vorhanden: Die Konzentration von Glutamine, Glutamate und NAA im präfrontalen Kortex, den Basalganglien und dem Hippocampus.
15. Falls vorhanden: FA-Wert (DTI-MRT)
16. Falls vorhanden: Elektrolyt-Konzentration im CSF: groß vs. klein.
17. Falls vorhanden: Vasopression, Aldosteron und Kortisol-Konzentration in CSF: hoch vs. niedrig.

Die Parameter 1. bis 17. werden in hierarchisch geordneter Weise ausgewertet. Die Tests gelten als konfirmativ, solange in der Hierarchie zuvor alle Parameter eine signifikante Differenz gezeigt haben. Im anderen Falle gelten die Tests als explorativ.

Der Einfluss von Alter, Dauer der depressiven Episode und Dauer der Erkrankung auf die einzelnen biologischen Parameter wird korrelativ getestet und gegebenenfalls mit in die Analysen einbezogen.

Explorative Analysen

a) Veränderungen der genannten Parameter der MR-Aktivität zum Zeitpunkt Outcome (6 Wochen nach Baseline, bei Entlassung oder bei wesentlichem Wechsel der Therapie) werden mit denen zu Baseline verglichen. Diese Berechnungen werden in der Gesamtgruppe, in den Aldosteron-Gruppen und zusätzlich nach Geschlecht und nach Depressions-Subgruppe getrennt durchgeführt. Dafür wird ein Wilcoxon Test für verbundene Stichproben herangezogen. Diese Berechnungen werden in der Gesamtgruppe, in den Aldosteron-Gruppen und zusätzlich nach Geschlecht und nach Depressions-Subgruppe getrennt durchgeführt.

b) Explorativ werden die Veränderungen der genannten Parameter mittels Pearson's Korrelationskoeffizient berechnet. Diese Berechnungen werden in der Gesamtgruppe, in den Aldosteron-Gruppen und zusätzlich nach Geschlecht und nach Depressions-Subgruppe getrennt durchgeführt.

C. Belastung und Risiko

C.1. Projektbedingte Handlungen am Patienten, Risiken und Komplikationen

Die Teilnahme an der Studie ist mit nahezu keinem Risiko verbunden. Die Einnahme von SHW/Magnesium liegt mit ihrer Dosis in einem Bereich, der als nicht problematisch (generally regarded as safe, GRAS), angesehen werden kann. Parameter, die durch SHW/Magnesium beeinflusst werden, werden engmaschig kontrolliert (Blutdruck, Elektrolyte).

Die Blutentnahme wird nach den Regeln der ärztlichen Praxis nur von ausgebildetem medizinischem Personal durchgeführt. Dabei kann es in seltenen Fällen zu lokalen Hämatomen (Blutergüssen) und/oder Infektionen kommen. In sehr seltenen Fällen kann dabei ein kleiner Hautnerv getroffen werden. Dabei wird nach Möglichkeit versucht, die Blutentnahme zur Bestimmung der Blutelektrolyte und der Entzündungsparameter mit den ohnehin im klinischen Alltag anfallenden Blutentnahmen zu synchronisieren, die normalerweise auf den Stationen im 2-wöchigen Rhythmus stattfinden, sodass für die Studie nach Möglichkeit nicht extra Blut entnommen werden muss.

Auch das EEG ist ein praktisch unschädliches Verfahren. Im Rahmen des EEGs werden elektrische Potentiale über ein Stirnband erfasst, wobei keine besondere Vorbereitung der Haut von Nöten ist. Da es sich um eine kabellose Übertragungsform der EEG-Daten an einen Monitor am Bettrand handelt ist es ausgeschlossen, dass die zu untersuchende Person in irgendeiner Form von elektrischen Rückkopplungen durch das Gerät gefährdet ist. Die verwendeten EEG-Geräte sind keine reinen Forschungsgeräte, sondern im kommerziellen Handel erwerbbar und deshalb auch als ungefährlich einzustufen. Die einzige Komplikation, die auftreten kann sind Druckstellen, die durch langes Liegen auf der Elektrode über Nacht zu Stande kommen könnten. Diese Druckstellen sind jedoch ungefährlich und verschwinden kurz nach Abnahme des Elektrodenstirnbandes. Der vorschriftsmäßige Betrieb wird dadurch gewährleistet, dass Personen, die für die Untersuchung verantwortlich sind, zuvor eine intensive Einarbeitung und auch den Patienten im nächtlichen Umgang mit dem Zeo Sleep Manager schulen.

Die Messung des Gangbilds ist ebenso ein Verfahren mit geringem Risiko. Patienten werden aufgefordert in eigenem Rhythmus zu gehen. Das am Körper befestigte i-Phone wird so angebracht, dass keine Behinderung dadurch entsteht.

Die Untersuchungen mittels MRT sind etablierte Verfahren. Patienten werden auf spezifische Ausschlusskriterien hin untersucht (Metall im Körper, Tätowierungen, Klaustrophobie). Sofern keine MRT-Ausschlusskriterien (siehe Kapitel 0) vorliegen, bestehen für Teilnehmer der Studie keine Risiken in Verbindung mit den MR-Untersuchungen.

Umgang mit Zufallsbefunden: Als Zufallsbefunde könnten pathologische Laborwerte, pathologische EEG-Parameter, hirnstrukturelle Auffälligkeiten oder Herzrhythmusstörungen entdeckt werden. Die Patienten werden in einer Patienteninformation darüber aufgeklärt, dass es sich nicht um eine klinische Diagnostik handelt: „Die hier durchgeführten Untersuchungen sind keine diagnostischen Untersuchungen, das heißt die Daten werden nicht auf das Vorliegen einer Erkrankung analysiert.“ Zu dem Zeitpunkt, zu dem Zufallsbefunde entdeckt werden, wird der Studienleiter informiert und übernimmt die Verantwortung dafür, dass der Proband sofort kontaktiert wird. Um diesen Fall a priori zu berücksichtigen, enthält die Patienteninformation den Passus: „Sollten uns trotzdem Auffälligkeiten wie z.B. Herzrhythmusstörungen in der Herzratenvariabilitätsmessung, steile Wellen in der EEG-Ableitung oder weit über die Norm veränderte Laborwerte auffallen, werden Sie darüber von einem Arzt informiert.“

C.2. Abbruchkriterien

Solange die technische Sicherheit der Geräte gewährleistet ist und sichere Verfahrensweisen bei der Durchführung der Untersuchungen eingehalten werden können, kann der Versuch weitergeführt werden. Abbruchkriterium ist der Rückzug der Einwilligung des Patienten.

Während der Messungen im MRT haben die Probanden jederzeit die Möglichkeit, durch Betätigung eines Notfallknopfes das Experiment zu beenden. Zusätzlich wird, wenn möglich (z.B. in kleinen Messpausen), der Proband immer wieder gefragt, wie er sich fühlt, um Zwischenfällen vorzugreifen. Falls ein Abbruch der Untersuchung aufgrund von Erschöpfung oder anderen Faktoren geschieht, können die Untersuchungen zu einem späteren Zeitpunkt fortgeführt werden, sofern der Teilnehmer dies wünscht. Es erfolgt keine erneute Kontaktaufnahme bei Nichtteilnahme.

C.3. Datenschutz

C.3.1. Daten anonymisiert?

Die klinischen und neuropsychologischen, ebenso wie die EEG-Daten werden durch Angabe eines Buchstabens für die Gruppe und einer fortlaufenden dreistelligen Nummerierung kodiert (pseudonymisiert, z.B. A123). Die ärztliche Schweigepflicht bleibt strengstens gewahrt, die Datenschutzbedingungen werden eingehalten.

C.3.2. Speicherung und Übermittlung?

Die wie unter 21 dargestellt pseudonymisierten Daten werden in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg für die Dauer von mindestens 10 Jahren bzw. bis zum Widerruf der Einverständniserklärung ausschließlich auf geschützten Rechnern gespeichert. Mitarbeiter der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums

Marburg werten die Daten aus. Die Datenübermittlung erfolgt dabei ausschließlich über gesicherte Datenleitungen.

Die Schlüsselliste auf der alle Proben der Teilnehmer dieser Studie zurückverfolgt werden können, wird von Medizinisch Technischer Assistentin der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Philipps-Universität Marburg verwaltet und 5 Jahre nach dem Ende dieser Studie vernichtet.

Dr. med. Harald Murck

Dr. med. Maxim Zavorotnyy

Cand.med. Lisa Lehr

Literatur:

- [1] R.C. Kessler, P. Berglund, O. Demler, R. Jin, D. Koretz, K.R. Merikangas, A.J. Rush, E.E. Walters, P.S. Wang, and R. National Comorbidity Survey, The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA* 289 (2003) 3095-105.
- [2] M.B. Keller, D.N. Klein, R.M. Hirschfeld, J.H. Kocsis, J.P. McCullough, I. Miller, M.B. First, C.P. Holzer, 3rd, G.I. Keitner, D.B. Marin, and et al., Results of the DSM-IV mood disorders field trial. *Am J Psychiatry* 152 (1995) 843-9.
- [3] A.J. Gelenberg, J.H. Kocsis, J.P. McCullough, Jr., P.T. Ninan, and M.E. Thase, The state of knowledge of chronic depression. *J Clin Psychiatry* 67 (2006) 179-84.
- [4] M.H. Trivedi, A.J. Rush, S.R. Wisniewski, A.A. Nierenberg, D. Warden, L. Ritz, G. Norquist, R.H. Howland, B. Lebowitz, P.J. McGrath, K. Shores-Wilson, M.M. Biggs, G.K. Balasubramani, and M. Fava, Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. *Am J Psychiatry* 163 (2006) 28-40.
- [5] H. Murck, P. Schussler, and A. Steiger, Renin-angiotensin-aldosterone system: the forgotten stress hormone system: relationship to depression and sleep. *Pharmacopsychiatry* 45 (2012) 83-95.
- [6] M. Buttner, D. Jezova, B. Greene, C. Konrad, T. Kircher, and H. Murck, Target-based biomarker selection - Mineralocorticoid receptor-related biomarkers and treatment outcome in major depression. *J Psychiatr Res* 66-67 (2015) 24-37.
- [7] H.A. Sigurjonsdottir, L. Franzson, K. Manhem, J. Ragnarsson, G. Sigurdsson, and S. Wallerstedt, Licorice-induced rise in blood pressure: a linear dose-response relationship. *J Hum Hypertens* 15 (2001) 549-52.
- [8] T. Forslund, F. Fyhrquist, B. Froseth, and I. Tikkanen, Effects of licorice on plasma atrial natriuretic peptide in healthy volunteers. *J Intern Med* 225 (1989) 95-9.
- [9] O. Ainsah, B.M. Nabishah, C.B. Osman, and B.A. Khalid, Short- and long-term effects of glycyrrhizic acid in repetitive stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 26 (1999) 444-8.
- [10] C.A. Sheldon, Y.J. Kwon, G.T. Liu, and S.E. McCormack, An integrated mechanism of pediatric pseudotumor cerebri syndrome: evidence of bioenergetic and hormonal regulation of cerebrospinal fluid dynamics. *Pediatr Res* 77 (2015) 282-9.
- [11] K.T. Weber, Aldosteronism revisited: perspectives on less well-recognized actions of aldosterone. *J Lab Clin Med* 142 (2003) 71-82.
- [12] N. Cardoner, J. Pujol, J. Vallejo, M. Urretavizcaya, J. Deus, A. Lopez-Sala, L. Benlloch, and J.M. Menchon, Enlargement of brain cerebrospinal fluid spaces as a predictor of poor clinical outcome in melancholia. *J Clin Psychiatry* 64 (2003) 691-7.
- [13] C.J. Lauer, and J.C. Krieg, Slow-wave sleep and ventricular size: a comparative study in schizophrenia and major depression. *Biol Psychiatry* 44 (1998) 121-8.
- [14] C.J. Lauer, M. Wiegand, and J.C. Krieg, All-night electroencephalographic sleep and cranial computed tomography in depression. A study of unipolar and bipolar patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 242 (1992) 59-68.
- [15] J.M. Hausdorff, C.K. Peng, A.L. Goldberger, and A.L. Stoll, Gait unsteadiness and fall risk in two affective disorders: a preliminary study. *BMC Psychiatry* 4 (2004) 39.

- [16] D. Paleacu, A. Shutzman, N. Giladi, T. Herman, E.S. Simon, and J.M. Hausdorff, Effects of pharmacological therapy on gait and cognitive function in depressed patients. *Clinical neuropharmacology* 30 (2007) 63-71.
- [17] S. Walther, S. Hugli, O. Hofle, A. Federspiel, H. Horn, T. Bracht, R. Wiest, W. Strik, and T.J. Muller, Frontal white matter integrity is related to psychomotor retardation in major depression. *Neurobiol Dis* 47 (2012) 13-9.
- [18] W.D. Steers, and K.S. Lee, Depression and incontinence. *World J Urol* 19 (2001) 351-7.
- [19] D. Vrijens, J. Drossaerts, G. van Koeveringe, P. Van Kerrebroeck, J. van Os, and C. Leue, Affective symptoms and the overactive bladder - a systematic review. *J Psychosom Res* 78 (2015) 95-108.
- [20] T.M. Melo, A.K. Haberg, O. Risa, D. Kondziella, P.G. Henry, and U. Sonnewald, Tricarboxylic acid cycle activity measured by ¹³C magnetic resonance spectroscopy in rats subjected to the kaolin model of obstructed hydrocephalus. *Neurochem Res* 36 (2011) 1801-8.
- [21] D. Kondziella, W. Ludemann, T. Brinker, O. Sletvold, and U. Sonnewald, Alterations in brain metabolism, CNS morphology and CSF dynamics in adult rats with kaolin-induced hydrocephalus. *Brain Res* 927 (2002) 35-41.
- [22] Y. Yamada, H. Ito, and Y. Watanabe, Changes in brain glutamine synthetase activity in congenital hydrocephalic rats (LEW-HYR) after ventriculoperitoneal shunt. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 37 (1997) 663-7; discussion 667-8.
- [23] D.P. Auer, B. Putz, E. Kraft, B. Lipinski, J. Schill, and F. Holsboer, Reduced glutamate in the anterior cingulate cortex in depression: An in vivo proton magnetic resonance spectroscopy study. *Biological Psychiatry* 47 (2000) 305-313.
- [24] P.V. Choudary, M. Molnar, S.J. Evans, H. Tomita, J.Z. Li, M.P. Vawter, R.M. Myers, W.E. Bunney, Jr., H. Akil, S.J. Watson, and E.G. Jones, Altered cortical glutamatergic and GABAergic signal transmission with glial involvement in depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102 (2005) 15653-8.
- [25] G. Hasler, J.W. van der Veen, T. Tumonis, N. Meyers, J. Shen, and W.C. Drevets, Reduced prefrontal glutamate/glutamine and gamma-aminobutyric acid levels in major depression determined using proton magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry* 64 (2007) 193-200.
- [26] H. Murck, M.I. Schubert, D. Schmid, P. Schussler, A. Steiger, and D.P. Auer, The glutamatergic system and its relation to the clinical effect of therapeutic-sleep deprivation in depression - an MR spectroscopy study. *J Psychiatr Res* 43 (2009) 175-80.
- [27] J.E. Overall, and S.A. Beller, The Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) in geropsychiatric research: I. Factor structure on an inpatient unit. *J Gerontol* 39 (1984) 187-93.
- [28] H. Saß, H.-U. Wittchen, and M. Zaudig, Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen. (DSM-IV-TR): Textrevision, 1., . Aufl. ed. Hogrefe-Verlag (2003).
- [29] M. Hamilton, A rating scale for depression. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiat.* 23 (1960) 56-62.
- [30] P. Bech, Rating scales in depression: limitations and pitfalls. *Dialogues in clinical neuroscience* 8 (2006) 207-15.
- [31] Y. Kubo, H. Kazui, T. Yoshida, Y. Kito, N. Kimura, H. Tokunaga, A. Ogino, H. Miyake, M. Ishikawa, and M. Takeda, Validation of grading scale for evaluating

- symptoms of idiopathic normal-pressure hydrocephalus. *Dement Geriatr Cogn Disord* 25 (2008) 37-45.
- [32] A.J. Rush, M.H. Trivedi, H.M. Ibrahim, T.J. Carmody, B. Arnow, D.N. Klein, J.C. Markowitz, P.T. Ninan, S. Kornstein, R. Manber, M.E. Thase, J.H. Kocsis, and M.B. Keller, The 16-Item Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS), clinician rating (QIDS-C), and self-report (QIDS-SR): a psychometric evaluation in patients with chronic major depression. *Biol Psychiatry* 54 (2003) 573-83.
 - [33] H. Murck, M. Fava, J. Alpert, A.A. Nierenberg, D. Mischoulon, M.W. Otto, J. Zajecka, M. Mannel, and J.F. Rosenbaum, Hypericum extract in patients with MDD and reversed vegetative signs: re-analysis from data of a double-blind, randomized trial of hypericum extract, fluoxetine, and placebo. *Int J Neuropsychopharmacol* 8 (2005) 215-21.
 - [34] M.H. Trivedi, M.E. Thase, M. Fava, C.J. Nelson, H. Yang, Y. Qi, Q.V. Tran, A. Pikalov, B.X. Carlson, R.N. Marcus, and R.M. Berman, Adjunctive aripiprazole in major depressive disorder: analysis of efficacy and safety in patients with anxious and atypical features. *J Clin Psychiatry* 69 (2008) 1928-36.
 - [35] H. Murck, K. Held, M. Ziegenbein, H. Kunzel, K. Koch, and A. Steiger, The renin-angiotensin-aldosterone system in patients with depression compared to controls--a sleep endocrine study. *BMC Psychiatry* 3 (2003) 15.
 - [36] E. Emanuele, D. Geroldi, P. Minoretti, E. Coen, and P. Politi, Increased plasma aldosterone in patients with clinical depression. *Arch Med Res* 36 (2005) 544-8.
 - [37] N. Sonino, E. Tomba, M.L. Genesio, C. Bertello, P. Mulatero, F. Veglio, G.A. Fava, and F. Fallo, Psychological assessment of primary aldosteronism: a controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 96 (2011) E878-83.
 - [38] B. Bondy, T.C. Baghai, P. Zill, C. Schule, D. Eser, T. Deiml, P. Zwanzger, R. Ella, and R. Rupprecht, Genetic variants in the angiotensin I-converting-enzyme (ACE) and angiotensin II receptor (AT1) gene and clinical outcome in depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29 (2005) 1094-9.
 - [39] N. Hlavacova, P.D. Wes, M. Ondrejckova, M.E. Flynn, P.K. Poundstone, S. Babic, H. Murck, and D. Jezova, Subchronic treatment with aldosterone induces depression-like behaviours and gene expression changes relevant to major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 15 (2012) 247-65.
 - [40] F. Holsboer, The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety. *Journal of Psychiatric Research* 33 (1999) 181-214.
 - [41] G. Scantamburlo, M. Hansenne, S. Fuchs, W. Pitchot, P. Marechal, C. Pequeux, M. Ansseau, and J.J. Legros, Plasma oxytocin levels and anxiety in patients with major depression. *Psychoneuroendocrinology* 32 (2007) 407-10.
 - [42] H. Murck, Aldosterone Action on Brain and Behavior. in: D.W. Pfaff, and M. Joëls, (Eds.), *Hormones, Brain, and Behavior* 3rd edition Oxford: Academic Press, 2017, pp. 159–179.
 - [43] L. Van Londen, J.G. Goekoop, A.H. Zwinderman, J.B. Lanser, V.M. Wiegant, and D. De Wied, Neuropsychological performance and plasma cortisol, arginine vasopressin and oxytocin in patients with major depression. *Psychological Medicine* 28 (1998) 275-284.
 - [44] R.F. de Winter, A.M. van Hemert, R.H. DeRijk, K.H. Zwinderman, A.C. Frankhuijzen-Sierevogel, V.M. Wiegant, and J.G. Goekoop, Anxious-retarded depression: relation with plasma vasopressin and cortisol. *Neuropsychopharmacology* 28 (2003) 140-7.

- [45] J.G. Goekoop, R.P. de Winter, R. de Rijk, K.H. Zwinderman, A. Frankhuijzen-Sierevogel, and V.M. Wiegant, Depression with above-normal plasma vasopressin: validation by relations with family history of depression and mixed anxiety and retardation. *Psychiatry Res* 141 (2006) 201-11.
- [46] J.R. Shambroom, S.E. Fabregas, and J. Johnstone, Validation of an automated wireless system to monitor sleep in healthy adults. *J Sleep Res* (2011).
- [47] J. Born, E.R. De Kloet, H. Wenz, W. Kern, and H.L. Fehm, Gluco- and antiminerolocorticoid effects on human sleep: a role of central corticosteroid receptors. *Am.J.Physiol.* 260 (1991) E183-E188.
- [48] J. Born, D. Steinbach, C. Dodt, and H.L. Fehm, Blocking of central nervous mineralocorticoid receptors counteracts inhibition of pituitary-adrenal activity in human sleep. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 82 (1997) 1106-1110.
- [49] A. Charloux, C. Gronfier, E. Lonsdorfer-Wolf, F. Piquard, and G. Brandenberger, Aldosterone release during the sleep-wake cycle in humans. *Am J Physiol* 276 (1999) E43-E49.
- [50] R.M. Carney, J.A. Blumenthal, D. Catellier, K.E. Freedland, L.F. Berkman, L.L. Watkins, S.M. Czajkowski, J. Hayano, and A.S. Jaffe, Depression as a risk factor for mortality after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 92 (2003) 1277-81.
- [51] R.M. Carney, and K.E. Freedland, Does treating depression improve survival after acute coronary syndrome? Invited commentary on... Effects of antidepressant treatment following myocardial infarction. *Br J Psychiatry* 190 (2007) 467-8.
- [52] M.B. Gonzalez, T.B. Snyderman, J.T. Colket, R.M. Arias, J.W. Jiang, C.M. O'Connor, and K.R. Krishnan, Depression in patients with coronary artery disease. *Depression* 4 (1996) 57-62.
- [53] A.H. Kemp, D.S. Quintana, M.A. Gray, K.L. Felmingham, K. Brown, and J.M. Gatt, Impact of depression and antidepressant treatment on heart rate variability: a review and meta-analysis. *Biol Psychiatry* 67 (2010) 1067-74.
- [54] B.M. Schmidt, A. Montealegre, C.P. Janson, N. Martin, C. Stein-Kemmesies, A. Scherhag, M. Feuring, M. Christ, and M. Wehling, Short term cardiovascular effects of aldosterone in healthy male volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 84 (1999) 3528-33.
- [55] P. Ovaert, J. Elliott, F. Bernay, E. Guillot, and T. Bardou, Aldosterone receptor antagonists--how cardiovascular actions may explain their beneficial effects in heart failure. *J Vet Pharmacol Ther* 33 (2010) 109-17.
- [56] K.M. Yee, S.D. Pringle, and A.D. Struthers, Circadian variation in the effects of aldosterone blockade on heart rate variability and QT dispersion in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 37 (2001) 1800-7.
- [57] R.J. MacFadyen, C.S. Barr, and A.D. Struthers, Aldosterone blockade reduces vascular collagen turnover, improves heart rate variability and reduces early morning rise in heart rate in heart failure patients. *Cardiovasc Res* 35 (1997) 30-4.
- [58] S.J. Fluharty, and A.N. Epstein, Sodium appetite elicited by intracerebroventricular infusion of angiotensin II in the rat: II. Synergistic interaction with systemic mineralocorticoids. *Behav Neurosci* 97 (1983) 746-58.
- [59] G. Wolf, and P.J. Handal, Aldosterone-induced sodium appetite: dose-response and specificity. *Endocrinology* 78 (1966) 1120-4.
- [60] R.R. Sakai, B.S. McEwen, S.J. Fluharty, and L.Y. Ma, The amygdala: site of genomic and nongenomic arousal of aldosterone-induced sodium intake. *Kidney Int* 57 (2000) 1337-45.
- [61] R.R. Sakai, S. Nicolaidis, and A.N. Epstein, Salt appetite is suppressed by interference with angiotensin II and aldosterone. *Am J Physiol* 251 (1986) R762-8.

- [62] M.R. Lemke, T. Wendorff, B. Mieth, K. Buhl, and M. Linnemann, Spatiotemporal gait patterns during over ground locomotion in major depression compared with healthy controls. *J Psychiatr Res* 34 (2000) 277-83.
- [63] T.C. Brandler, C. Wang, M. Oh-Park, R. Holtzer, and J. Verghese, Depressive symptoms and gait dysfunction in the elderly. *Am J Geriatr Psychiatry* 20 (2012) 425-32.
- [64] C. Lange-Asschenfeldt, G. Kojda, J. Cordes, F. Hellen, A. Gillmann, R. Grohmann, and T. Supprian, Epidemiology, symptoms, and treatment characteristics of hyponatremic psychiatric inpatients. *J Clin Psychopharmacol* 33 (2013) 799-805.
- [65] A.L. Lacerda, M.A. Nicoletti, P. Brambilla, R.B. Sassi, A.G. Mallinger, E. Frank, D.J. Kupfer, M.S. Keshavan, and J.C. Soares, Anatomical MRI study of basal ganglia in major depressive disorder. *Psychiatry Res* 124 (2003) 129-40.
- [66] J. Repple, S. Meinert, D. Grotegerd, H. Kugel, R. Redlich, K. Dohm, D. Zaremba, N. Opel, C. Buerger, K. Forster, T. Nick, V. Arolt, W. Heindel, M. Deppe, and U. Dannlowski, A voxel-based diffusion tensor imaging study in unipolar and bipolar depression. *Bipolar Disord* 19 (2017) 23-31.
- [67] M. Hermesdorf, B. Sundermann, S. Feder, W. Schwindt, J. Minnerup, V. Arolt, K. Berger, B. Pfeleiderer, and H. Wersching, Major depressive disorder: Findings of reduced homotopic connectivity and investigation of underlying structural mechanisms. *Hum Brain Mapp* 37 (2016) 1209-17.
- [68] Y. Liao, X. Huang, Q. Wu, C. Yang, W. Kuang, M. Du, S. Lui, Q. Yue, R.C. Chan, G.J. Kemp, and Q. Gong, Is depression a disconnection syndrome? Meta-analysis of diffusion tensor imaging studies in patients with MDD. *J Psychiatry Neurosci* 38 (2013) 49-56.
- [69] D.G. Dillon, A. Gonenc, E. Belleau, and D.A. Pizzagalli, Depression is associated with dimensional and categorical effects on white matter pathways. *Depression and anxiety* (2018).
- [70] J. Jiang, Y.J. Zhao, X.Y. Hu, M.Y. Du, Z.Q. Chen, M. Wu, K.M. Li, H.Y. Zhu, P. Kumar, and Q.Y. Gong, Microstructural brain abnormalities in medication-free patients with major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis of diffusion tensor imaging. *J Psychiatry Neurosci* 42 (2017) 150-163.
- [71] E. Won, S. Choi, J. Kang, A. Kim, K.M. Han, H.S. Chang, W.S. Tae, K.R. Son, S.H. Joe, M.S. Lee, and B.J. Ham, Association between reduced white matter integrity in the corpus callosum and serotonin transporter gene DNA methylation in medication-naive patients with major depressive disorder. *Transl Psychiatry* 6 (2016) e866.
- [72] M.B. Howren, D.M. Lamkin, and J. Suls, Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med* 71 (2009) 171-86.
- [73] T.W. Pace, T.C. Mletzko, O. Alagbe, D.L. Musselman, C.B. Nemeroff, A.H. Miller, and C.M. Heim, Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress. *Am J Psychiatry* 163 (2006) 1630-3.
- [74] G.E. Miller, K.E. Freedland, R.M. Carney, C.A. Stetler, and W.A. Banks, Cynical hostility, depressive symptoms, and the expression of inflammatory risk markers for coronary heart disease. *Journal of behavioral medicine* 26 (2003) 501-15.
- [75] A. Gonzalez, B. Lopez, and J. Diez, Fibrosis in hypertensive heart disease: role of the renin-angiotensin-aldosterone system. *Med Clin North Am* 88 (2004) 83-97.
- [76] M. Pacurari, R. Kafoury, P.B. Tchounwou, and K. Ndebele, The Renin-Angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling. *Int J Inflamm* 2014 (2014) 689360.

- [77] D.A. Duprez, Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in vascular remodeling and inflammation: a clinical review. *J Hypertens* 24 (2006) 983-91.
- [78] P. Cosmetic Ingredient Review Expert, Final report on the safety assessment of Glycyrrhetic Acid, Potassium Glycyrrhetinate, Disodium Succinoyl Glycyrrhetinate, Glyceryl Glycyrrhetinate, Glycyrrhetinyl Stearate, Stearyl Glycyrrhetinate, Glycyrrhizic Acid, Ammonium Glycyrrhizate, Dipotassium Glycyrrhizate, Disodium Glycyrrhizate, Trisodium Glycyrrhizate, Methyl Glycyrrhizate, and Potassium Glycyrrhizinate. *Int J Toxicol* 26 Suppl 2 (2007) 79-112.
- [79] FDA. Administration, CFR - Code of Federal Regulations Title 21 - SUBCHAPTER B--FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION - Subpart B--Listing of Specific Substances Affirmed as GRAS- Sec. 184.1408 Licorice and licorice derivatives. (2017).
- [80] C.E. van Gelderen, J.A. Bijlsma, W. van Dokkum, and T.J. Savelkoul, Glycyrrhizic acid: the assessment of a no effect level. *Hum Exp Toxicol* 19 (2000) 434-9.
- [81] R. Horton, and E.G. Biglieri, Effect of Aldosterone on the Metabolism of Magnesium. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 22 (1962) 1187-1192.
- [82] H. Murck, Magnesium and affective disorders. *Nutritional Neuroscience* 5 (2002) 375-389.
- [83] A. Ichihara, H. Suzuki, and T. Saruta, Effects of magnesium on the renin-angiotensin-aldosterone system in human subjects. *J.Lab.Clin.Med.* 122 (1993) 432-440.
- [84] P.A. Kemp, S.M. Gardiner, T. Bennett, and P.C. Rubin, Magnesium sulphate reverses the carotid vasoconstriction caused by endothelin-I, angiotensin II and neuropeptide-Y, but not that caused by NG-nitro-L-arginine methyl ester, in conscious rats. *Clin Sci (Colch)* 85 (1993) 175-181.
- [85] P. Laurant, M. Dalle, A. Berthelot, and Y. Rayssiguier, Time-course of the change in blood pressure level in magnesium-deficient Wistar rats. *Br J Nutr* 82 (1999) 243-51.
- [86] E.P. Zorrilla, L. Luborsky, J.R. McKay, R. Rosenthal, A. Houldin, A. Tax, R. McCorkle, D.A. Seligman, and K. Schmidt, The relationship of depression and stressors to immunological assays: a meta-analytic review. *Brain Behav Immun* 15 (2001) 199-226.
- [87] J.H. Krystal, G. Sanacora, H. Blumberg, A. Anand, D.S. Charney, G. Marek, C.N. Epperson, A. Goddard, and G.F. Mason, Glutamate and GABA systems as targets for novel antidepressant and mood-stabilizing treatments. *Mol Psychiatry* 7 Suppl 1 (2002) S71-S80.
- [88] A. Makatsori, R. Duncko, F. Moncek, I. Loder, S. Katina, and D. Jezova, Modulation of neuroendocrine response and non-verbal behavior during psychosocial stress in healthy volunteers by the glutamate release-inhibiting drug lamotrigine. *Neuroendocrinology* 79 (2004) 34-42.
- [89] A.J. Grippo, J. Francis, T.G. Beltz, R.B. Felder, and A.K. Johnson, Neuroendocrine and cytokine profile of chronic mild stress-induced anhedonia. *Physiol Behav* 84 (2005) 697-706.

5.4 Patient Education and Consent

FACHBEREICH HUMANMEDIZIN



KLINIKUM
der Philipps-Universität
Marburg

Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Direktor: Prof. Dr. T. Kircher

Projektleiter: PD Dr. H Murck
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Philipps-Universität Marburg
Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg
Tel: +1 201 294 1195

Informationsblatt

für die Patientinnen und Patienten zur Studie

„Veränderungen des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems im Verlauf einer stationären Depressionsbehandlung“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

In diesem Schreiben werden Sie darüber aufgeklärt, um was es in dem Projekt „Veränderungen des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems im Verlauf einer stationären Depressionsbehandlung“ geht und welche Untersuchungen im Einzelnen durchgeführt werden. Wir bitten Sie um Teilnahme an diesem Projekt.

Ziel der Untersuchung

Sie werden um Teilnahme an dieser Studie gebeten, da Sie unter einem depressiven Syndrom leiden. Ein depressives Syndrom wird durch viele Faktoren beeinflusst, u.a. stressvolle Erfahrungen, eine Veranlagung zu erhöhter Sensibilität auf Stress und weiteren

körperlichen Einflussfaktoren, wie hormonelle Veränderungen, Veränderungen des Immunsystems sowie Stoffwechsel-Störungen. Es sind eine Reihe wirksamer Verfahren bekannt, Depressionen zu behandeln. Dazu gehören psychotherapeutische Verfahren und medikamentöse Therapien. Dennoch ist das Ansprechen auf eine gegebene Therapie für viele Patienten nicht befriedigend, d.h. es dauert oft zu lange, das richtige Verfahren für einen individuellen Patienten zu finden. Das liegt vermutlich daran, dass das Zusammenspiel von therapeutischen Verfahren mit der Vielzahl der biologischen und persönlichen Faktoren eines einzelnen Patienten nicht gut bekannt ist. Unser Ziel ist es hier, mit einfachen Verfahren wichtige biologische Merkmale zu untersuchen, die den Behandlungserfolg bestimmen können.

Durch Ihre Teilnahme erzielen Sie keinen unmittelbaren Nutzen für sich, es wird auch keine Aufwandsentschädigung gezahlt.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Sie können jeder Zeit und ohne Angabe von Gründen Ihre Einwilligung zurückziehen, ohne dass Ihnen daraus Nachteile entstehen.

Beschreibung und Ablauf der Untersuchung

Um Ihren Zustand zu erfassen, werden zu verschiedenen Zeitpunkten verschiedene Aspekte Ihrer Depression in Interviews erhoben und mit Skalen erfasst. Einige der Skalen sind sogenannte Selbsterfassungs-Skalen, die Sie selber ausfüllen sollen. Zeitpunkte der Erfassungen sind vor Beginn Ihrer neuen Behandlung (Baseline), nach ca. 2 Wochen der Behandlung, sowie zum Studienabschluss, in der Regel also nach ca. 6 Wochen der Behandlung, oder, alternative, bei Umstellung der Therapie oder Entlassung. Es werden nicht immer alle Fragebögen genutzt. Die Bearbeitung dauert ca. 60-90 min.

Daneben sollen biologische Parameter bestimmt werden, die mit einfachen Mitteln eine bessere Beschreibung Ihres körperlichen Zustandes ermöglichen. Diese erfolgen zum Zeitpunkt vor der neuen Behandlung (Baseline), ca. 2 Wochen danach sowie in der Regel nach ca. 6 Wochen. Im Falle einer wesentlichen Umstellung der Therapie oder Ihrer Entlassung wird diese Untersuchung zum Zeitpunkt dieser Ereignisse erfolgen. In besonderen Fällen können mit Ihrer Zustimmung Zwischenerfassungen erhoben werden z.B. zu Beginn oder Ende einer besonderen Therapiemaßnahme.

Die folgenden Parameter werden morgens um 7 Uhr bei Ihnen erhoben, nachdem Sie aufgewacht sind.

- Dafür wird ein Schlaf-EEG abgeleitet, für das Sie lediglich ein Stirnband über Nacht tragen, in dem Elektroden aus leitenden Fasern enthalten sind. Dabei ist in aller Regel keine Vorbereitung der Haut notwendig. Die Elektroden haben einen kabellosen Kontakt zu einem separaten Monitor, der neben dem Bett steht. Die Anlage des Stirnbandes ist nicht schwierig, jedoch kann Ihnen Pflegepersonal helfen, falls Sie dabei Fragen haben. Innerhalb von 2 Minuten können Sie einen komfortablen Sitz davon erreichen. Am Morgen kann es nach dem Erwachen mühelos abgenommen werden.
- Die Herzraten-Variabilität (HRV) wird mittels einer kurzen Messung nach dem Erwachen (je eine Minute) mehrfach gemessen. Dabei werden Sie gebeten, je eine Elektrode in jeder Hand zu halten. Alternativ können Ableitungen vom Brustkorb oder mit einem Finger-Sensor oder Ohr-Sensor benutzt werden. Auf Anweisung, die auf dem Gerät zu sehen ist, wird der Atem synchronisiert und so die HRV über einen Zeitraum von einer Minute gemessen. Dieser Vorgang wird zweifach wiederholt und die gesamte Messung dauert ca. 5 Minuten.
- Der Blutdruck wird mittels einer elektronischen Blutdruckmanschette oder analog gemessen. Diese Messung dauert ca. 2 Minuten.
- Außerdem sollen Speichel und Blut gesammelt werden. Speichelproben (2 ml) werden morgens unmittelbar nach Aufwachen gewonnen, um Stresshormone zu bestimmen. Die Blutentnahmen werden nach Möglichkeit mit den ohnehin im klinischen Alltag anfallenden Blutentnahmen synchronisiert, die bei uns normalerweise im 2-wöchentlichen Rhythmus stattfinden, so dass für die Studie nach Möglichkeit nicht extra gestochen werden muss. Es werden dafür etwa 20 ml Blut entnommen, um z.B. Konzentration von Blutsalzen oder von Entzündungsmarkern zu bestimmen.
- Außerdem soll das Genexpressionsmuster von Leukozyten bestimmt werden. Wichtig ist hierbei zu verstehen, dass es sich **nicht** um eine Analyse Ihres genetischen Kodes, also Ihres Erbmusters handelt, mit dem persönliche Merkmale bestimmt werden könnten. Auch eine persönliche Identifikation ist aus diesen Daten nicht

möglich. Vielmehr soll die Veränderung der Aktivität der weißen Blutkörperchen durch Ihre Depression sowie die Veränderung der Aktivität im Verlauf der Behandlung beobachtet werden.

- Des Weiteren sollen Sie an einer Geschmacksprobe teilnehmen. Wie Sie möglicherweise festgestellt haben, kann der Geschmackssinn während der Depression verändert sein. Für die Geschmacksprobe wird eine Kochsalzlösung verwendet. Ein Wattebausch wird mit der Lösung getränkt und Sie sollen die Salzigkeit und Angenehmheit einschätzen und auf jeweils einer Skala markieren (Visuelle Analog Skala). Dieser Test dauert ca. 10 min.
- Im Anschluss wird ein Test mittels einer Smart-Phone APP durchgeführt, bei dem Ihre Konzentrationsfähigkeit und Reaktionsgeschwindigkeit ermittelt wird. Dieser Test dauert ca. 5 min.
- Daraufhin wird ein Test zur Untersuchung des Gangbilds durchgeführt. Für diesen Test wird ein Smart-Phone (iPhone) mit Hilfe eines Gürtels, Pflasters oder ähnlichem an Ihrem Rücken befestigt. Sie werden dann aufgefordert, für eine Minute in Ihrer normalen Geschwindigkeit zu gehen. Dieser Test dauert ca. 2 min.
- Als letztes sollten Sie am Ende des Tests mittels Fragebogen zwei Fragen zu Ihrer aktuellen Befindlichkeit beantworten. Diesen Test wiederholen Sie noch zweimal an diesem Untersuchungstag

Insgesamt sollte die Erhebung der beschriebenen Parameter nicht länger als eine halbe Stunde nach dem Erwachen dauern. Im Anschluss wird Ihnen ein Fragebogen zu Ihren depressiven Symptomen vorgelegt (QIDS-SR und BDI). Sie werden 10-15 min benötigen, um ihn auszufüllen. Im Anschluss danach können Sie frühstücken. Bereits am Vortag werden Sie ein Interview zu Ihren Symptomen durchführen. Dieses Interview umfasst die Nutzung von klinischen Fragebögen durch den Untersucher und dauert ca. 45 min.

Neben den Daten, die speziell für diese Studie erhoben werden, werden während Ihres stationären Aufenthalts möglicherweise auch bildgebende Untersuchungen mittels Magnetresonanztomographie (MRT) durchgeführt. Wir planen, diese Daten in unsere Analyse einzubeziehen. Des Weiteren, falls aus diagnostischen Gründen eine Untersuchung des Hirnwassers (Liquor cerebrospinalis) erfolgt, können Analysen des Liquors wichtige Hinweise auf Ihren Zustand liefern. Wir planen daher, diese Daten in die Analyse einzubeziehen.

Umgang mit Zufallsbefunden

Die hier durchgeführten Untersuchungen sind keine diagnostischen Untersuchungen, das heißt die Daten werden nicht auf das Vorliegen einer Erkrankung analysiert. Sollten uns trotzdem Auffälligkeiten wie z.B. Herzrhythmusstörungen in der Herzratenvariabilitätsmessung, steile Wellen in der EEG-Ableitung oder weit über die Norm veränderte Laborwerte auffallen, werden Sie darüber von einem Arzt informiert.

Datenschutz

Ihre personenbezogenen Daten werden maschinell gespeichert und weiterverarbeitet. Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser studienbezogenen Daten erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen ohne Namensnennung mit Codes (z.B. A123) und setzt vor Teilnahme an der Studie Ihre freiwillige Einwilligung voraus. Einige Laboruntersuchungen werden bei auswärtigen Kooperationspartnern durchgeführt, denen die Zuordnung ihres Namens zu den Untersuchungsmaterialien aber nicht möglich ist.

Wenn weitere Fragen bestehen, werden diese gerne vom Untersuchungsleiter oder dem Projektleiter beantwortet. Bei Ihrer Bereitschaft zur Teilnahme bitten wir Sie, vor der Untersuchung die „Einwilligungserklärung“ vollständig auszufüllen und zu unterschreiben.

PD Dr. med. Harald Murck



Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Direktor: Prof. Dr. T. Kircher

Projektleiter:
PD Dr. H Murck

Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Philipps-Universität
Marburg

Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg

Tel: +1 201 294 1195

Einwilligungserklärung

für die Patientinnen und Patienten zur Studie

„Veränderungen des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems im Verlauf einer stationären Depressionsbehandlung“

Ich bestätige hiermit, dass ich durch den Untersucher Herrn/Frau
mündlich über Wesen, Bedeutung, Risiken und Tragweite der beabsichtigten
wissenschaftlichen Untersuchung aufgeklärt wurde und für meine Entscheidung genügend
Bedenkzeit hatte.

Ich habe das Informationsblatt gelesen und fühle mich ausreichend informiert und habe
verstanden, worum es geht. Der Untersucher hat mir ausreichend Gelegenheit gegeben,
Fragen zu stellen, die alle für mich ausreichend beantwortet wurden. Ich hatte genügend
Zeit mich zu entscheiden.

Ich habe verstanden, dass bei wissenschaftlichen Studien persönliche Daten und
medizinische Befunde erhoben werden. Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung
dieser studienbezogenen Daten erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor
Teilnahme an der Studie meine freiwillige Einwilligung voraus:

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie erhobene Daten/Krankheitsdaten auf Fragebögen und elektronische Datenträger pseudonymisiert aufgezeichnet und ohne Namensnennung an der Klinik für Psychiatrie der Philipps-Universität Marburg, Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg ausgewertet oder an eine von dieser beauftragte Stelle zum Zwecke wissenschaftlicher Auswertung weitergegeben und im Rahmen der Studienergebnisse pseudonymisiert publiziert werden.

Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und dieser unterschriebenen Einwilligungserklärung erhalten.

Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie auf die Ergebnisse von MRT- und Liquor-Untersuchungen (welche im Rahmen weiterer Studien oder der klinischen Untersuchungen erhoben wurden bzw. werden) und diese Daten für Zwecke wissenschaftlicher Arbeit nutzen dürfen.

Meine Einwilligung, an diesem Forschungsvorhaben als Patient teilzunehmen, erfolgt ganz und gar freiwillig. Ich wurde darauf hingewiesen, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir daraus Nachteile entstehen.

Ich willige hiermit ein, als Patient / Patientin an dem Forschungsvorhaben teilzunehmen.

Name:

Geburtsdatum:

Datum und Uhrzeit:

Unterschrift des Patienten:

Ich habe den Patienten mündlich über Wesen, Bedeutung, Reichweite und Risiken des Forschungsvorhabens aufgeklärt.

Name:

Datum und Uhrzeit:

Ort:

Unterschrift des Untersuchers:

FACHBEREICH HUMANMEDIZIN



KLINIKUM
der Philipps-Universität
Marburg

Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Direktor: Prof. Dr. T. Kircher

Projektleiter: PD Dr. H Murck
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Philipps-Universität Marburg
Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg
Tel: +1 201 294 1195

Informationsblatt

für die Patientinnen und Patienten zur Studie

„Veränderungen des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems im Verlauf einer stationären Depressionsbehandlung bei gleichzeitiger Einnahme des 11- β -hydroxysteroid-dehydrogenase Typ 2 inhibierenden Pflanzenextrakts (Süßholzwurzel, *Glycyrrhiza glabra*)“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

In diesem Schreiben werden Sie darüber aufgeklärt, um was es in dem Projekt „Veränderungen des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems im Verlauf einer stationären Depressionsbehandlung bei gleichzeitiger Einnahme des 11- β -hydroxysteroid-dehydrogenase Typ 2 inhibierenden Pflanzenextrakts (Süßholzwurzel, Glycyrrhiza glabra)“ geht und welche Untersuchungen im Einzelnen durchgeführt werden. Wir bitten Sie um Teilnahme an diesem Projekt.

Ziel der Untersuchung

Sie werden um Teilnahme an dieser Studie gebeten, da Sie unter einem depressiven Syndrom leiden. Ein depressives Syndrom wird durch viele Faktoren beeinflusst, u.a. stressvolle Erfahrungen, eine Veranlagung zu erhöhter Sensibilität auf Stress und weiteren körperlichen Einflussfaktoren, wie hormonelle Veränderungen, Veränderungen des Immunsystems sowie Stoffwechsel-Störungen. Es sind eine Reihe wirksamer Verfahren bekannt, Depressionen zu behandeln. Dazu gehören psychotherapeutische Verfahren und medikamentöse Therapien. Dennoch ist das Ansprechen auf eine gegebene Therapie für viele Patienten nicht befriedigend, d.h. es dauert oft zu lange, das richtige Verfahren für einen individuellen Patienten zu finden. Das liegt vermutlich daran, dass das Zusammenspiel von therapeutischen Verfahren mit der Vielzahl der biologischen und persönlichen Faktoren eines einzelnen Patienten nicht gut bekannt ist. In einer vorausgehenden Studie haben wir wichtige biologische Merkmale untersucht, die den Behandlungserfolg bestimmen können. Unser jetziges Ziel ist es, herauszufinden, ob die Gabe von Süßholzwurzel und Magnesium diese Marker beeinflussen kann. Beim Süßholzwurzel-Extrakt (verabreicht als 2 Kapseln am Morgen und 2 Kapseln am Abend) handelt es sich um eine Substanz die in niedriger Dosis auch in Lakritz vorkommt. Durch Ihre Teilnahme erzielen Sie keinen unmittelbaren Nutzen für sich, es wird auch keine Aufwandsentschädigung gezahlt.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Sie können jeder Zeit und ohne Angabe von Gründen Ihre Einwilligung zurückziehen, ohne dass Ihnen daraus Nachteile entstehen.

Beschreibung und Ablauf der Untersuchung

Um Ihren Zustand zu erfassen, werden zu verschiedenen Zeitpunkten verschiedene Aspekte Ihrer Depression in Interviews erhoben und mit Skalen erfasst. Einige der Skalen sind sogenannte Selbsterfassungs-Skalen, die Sie selber ausfüllen sollen. Zeitpunkte der Erfassungen sind vor Beginn Ihrer neuen Behandlung (Baseline), nach ca. 2 Wochen der Behandlung, sowie zum Studienabschluss, in der Regel also nach ca. 6 Wochen der Behandlung, oder, alternative, bei Umstellung der Therapie oder Entlassung. Es werden nicht immer alle Fragebögen genutzt. Die Bearbeitung dauert ca. 60-90 min.

Daneben sollen biologische Parameter bestimmt werden, die mit einfachen Mitteln eine bessere Beschreibung Ihres körperlichen Zustandes ermöglichen. Diese erfolgen zum Zeitpunkt vor der neuen Behandlung (Baseline), ca. 2 Wochen danach sowie in der Regel nach ca. 6 Wochen. Im Falle einer wesentlichen Umstellung der Therapie oder Ihrer Entlassung wird diese Untersuchung zum Zeitpunkt dieser Ereignisse erfolgen. In besonderen Fällen können mit Ihrer Zustimmung Zwischenerfassungen erhoben werden z.B. zu Beginn oder Ende einer besonderen Therapiemaßnahme.

Die folgenden Parameter werden morgens um 7 Uhr bei Ihnen erhoben, nachdem Sie aufgewacht sind.

- Dafür wird ein Schlaf-EEG abgeleitet, für das Sie lediglich ein Stirnband über Nacht tragen, in dem Elektroden aus leitenden Fasern enthalten sind. Dabei ist in aller Regel keine Vorbereitung der Haut notwendig. Die Elektroden haben einen kabellosen Kontakt zu einem separaten Monitor, der neben dem Bett steht. Die Anlage des Stirnbandes ist nicht schwierig, jedoch kann Ihnen Pflegepersonal helfen, falls Sie dabei Fragen haben. Innerhalb von 2 Minuten können Sie einen komfortablen Sitz davon erreichen. Am Morgen kann es nach dem Erwachen mühelos abgenommen werden.
- Die Herzraten-Variabilität (HRV) wird mittels einer kurzen Messung nach dem Erwachen (je eine Minute) mehrfach gemessen. Dabei werden Sie gebeten, je eine Elektrode in jeder Hand zu halten. Alternativ können Ableitungen vom Brustkorb oder mit einem Finger-Sensor oder Ohr-Sensor benutzt werden. Auf Anweisung, die auf dem Gerät zu sehen ist, wird der Atem synchronisiert und so die HRV über einen

- Zeitraum von einer Minute gemessen. Dieser Vorgang wird zweifach wiederholt und die gesamte Messung dauert ca. 5 Minuten.
- Der Blutdruck wird mittels einer elektronischen Blutdruckmanschette oder analog gemessen. Diese Messung dauert ca. 2 Minuten.
 - Außerdem sollen Speichel und Blut gesammelt werden. Speichelproben (2 ml) werden morgens unmittelbar nach Aufwachen gewonnen, um Stresshormone zu bestimmen. Die Blutentnahmen werden nach Möglichkeit mit den ohnehin im klinischen Alltag anfallenden Blutentnahmen synchronisiert, die bei uns normalerweise im 2-wöchentlichen Rhythmus stattfinden, so dass für die Studie nach Möglichkeit nicht extra gestochen werden muss. Es werden dafür etwa 20 ml Blut entnommen, um z.B. Konzentration von Blutsalzen oder von Entzündungsmarkern zu bestimmen. Bei der Blutentnahme kann es zur Hämatombildung, der Verletzung von Blutgefäßen und in sehr seltenen Fällen zur dauerhaften Nervenschädigung kommen.
 - Des Weiteren sollen Sie an einer Geschmacksprobe teilnehmen. Wie Sie möglicherweise festgestellt haben, kann der Geschmackssinn während der Depression verändert sein. Für die Geschmacksprobe wird eine Kochsalzlösung verwendet. Ein Wattebausch wird mit der Lösung getränkt und Sie sollen die Salzigkeit und Angenehmheit einschätzen und auf jeweils einer Skala markieren (Visuelle Analog Skala). Dieser Test dauert ca. 10 min.
 - Im Anschluss wird ein Test mittels einer Smart-Phone APP durchgeführt, bei dem Ihre Konzentrationsfähigkeit und Reaktionsgeschwindigkeit ermittelt wird. Dieser Test dauert ca. 5 min.
 - Daraufhin wird ein Test zur Untersuchung des Gangbilds durchgeführt. Für diesen Test wird ein Smart-Phone (iPhone) mit Hilfe eines Gürtels, Pflasters oder ähnlichem an Ihrem Rücken befestigt. Sie werden dann aufgefordert, für eine Minute in Ihrer normalen Geschwindigkeit zu gehen. Dieser Test dauert ca. 2 min.
 - Als letztes sollten Sie am Ende des Tests mittels Fragebogen zwei Fragen zu Ihrer aktuellen Befindlichkeit beantworten. Diesen Test wiederholen Sie noch zweimal an diesem Untersuchungstag

Insgesamt sollte die Erhebung der beschriebenen Parameter am Morgen nicht länger als eine halbe Stunde nach dem Erwachen dauern. Im Anschluss wird Ihnen ein Fragebogen zu Ihren depressiven Symptomen vorgelegt (QIDS-SR und BDI). Sie werden 10-15 min benötigen, um ihn auszufüllen. Im Anschluss danach können Sie Frühstücken. Bereits am Vortag werden Sie ein Interview zu Ihren Symptomen durchführen. Dieses Interview umfasst die Nutzung von klinischen Fragebögen durch den Untersucher und dauert ca. 45 min.

Ab dem ersten Untersuchungstag, bekommen Sie zusätzlich zu Ihrer regulären Medikation morgens und abends zwei Süßholzwurzel-Kapseln und eine Magnesium-Brausetablette. Ihr Blutdruck und Ihre Blutelektrolyte werden ab diesem Zeitpunkt wöchentlich überprüft, um den Effekt der Substrate zu kontrollieren und, falls notwendig, Dosisanpassungen durchzuführen. Mögliche Nebenwirkungen der Süßholzwurzel sind Wassereinlagerungen und Veränderungen im Elektrolythaushalt. Nach Dosisreduktion bzw. Absetzen des Präparates, klingen die Nebenwirkungen wieder ab. Bei einer zu hohen Magnesium-Einnahme, kann es zu weichem Stuhl und Durchfällen kommen. Auch diese Nebenwirkung kann durch eine Dosisreduktion oder Absetzen des Präparates wieder beseitigt werden.

Außerdem sollen zwei Untersuchungen im Kernspintomographen erfolgen. Im folgenden Abschnitt erläutern wir Ihnen genaueres:

Funktionsweise: Das menschliche Gehirn besteht aus einer Vielzahl von Molekülen, die jeweils spezifische magnetische Eigenschaften aufweisen (sog. Kernspinresonanz). Bei Anwendung von starken Magnetfeldern können diese gemessen und im Anschluss daran die Konzentration von Molekülen im Gehirn festgestellt werden. Auf diese Weise lassen sich Aussagen über die Struktur und die Durchblutung des Gehirns ermitteln.

Durchführung: Sie liegen während der Untersuchung auf einem Tisch, der Sie mit dem Oberkörper in die Öffnung des MR-Tomographen hineinführt. Zusätzlich wird ein Magnetspulenrahmen, ähnlich einem Helm, um Ihren Kopf gelegt. Während der Messung entstehen unterschiedlich laute Geräusche des MR-Tomographen, die von elektrischen Umschaltvorgängen der Magnetfelder herrühren. Um die Geräusche zu dämpfen, tragen Sie einen Kopfhörer. Sie haben während der Untersuchung jederzeit die Möglichkeit, mit den Untersuchern über eine Wechselsprechanlage in Kontakt zu treten. Zusätzlich bekommen Sie

einen gesonderten Alarmknopf für Notfälle, so dass sie auf Ihren Wunsch hin jederzeit aus dem MR-Tomographen herausgefahren werden können.

Mögliche Gefahren: Die MRT-Technologie ist für den Körper nach heutigem Erkenntnisstand unschädlich. Sie basiert auf mehr als 25 Jahren Erfahrung und wird täglich in allen größeren Kliniken eingesetzt. Bekannte Risiken ergeben sich ausschließlich durch metallische Gegenständen oder Stoffe mit magnetischen Eigenschaften, die sich am oder im Körper befinden. Diese können sich erhitzen und zu Verbrennungen führen. Lose Metallteile (z.B. Ohringe, Münzen, Schlüssel) können durch das Magnetfeld beschleunigt werden und dann zu Verletzungen führen. Daher sind Personen von der Teilnahme an der Untersuchung im Kernspintomographen ausgeschlossen, die elektrische Geräte (z.B. Herzschrittmacher, Medikamentenpumpen) oder Metallteile (z.B. Schrauben nach Knochenbruch) im oder am Körper haben. Personen mit Epilepsie oder mit einem Herzschrittmacher dürfen nicht an der MRT-Untersuchung teilnehmen, auch nicht Personen mit schweren körperlichen Erkrankungen, Zustand nach Schädel-Hirn-Trauma oder Operation von Hirntumoren. Schwangere Patientinnen dürfen ebenfalls während der Schwangerschaft an dieser Untersuchung nicht teilnehmen. Risiken unabhängig von den Genannten sind bislang nicht bekannt.

Die häufigste Nebenwirkung ist die als unangenehm empfundene lokale Muskelanspannung in der Kopfhaut unter der Spule. Diese ist völlig harmlos, aber gewöhnungsbedürftig. Weiterhin kann das beim Aufbau des Magnetfeldes entstehende Geräusch störend sein. Sie erhalten deshalb bei Bedarf einen Ohrenschutz.

Eine sehr seltene Komplikation ist die Auslösung eines Krampfanfalles bei Stimulationswerten, die deutlich über den von uns verwendeten liegen. Das Risiko liegt jedoch lediglich bei 0,5%. Für diesen Fall haben wir alle Vorkehrungen getroffen. Selten können Kopfschmerzen auftreten, diese sprechen auf normale Kopfschmerzmittel an. Folgeschäden der Stimulation sind nicht beschrieben.

Sollten Sie während der Stimulation unangenehme Begleiterscheinungen haben, bitten wir Sie, uns dies mitzuteilen. Sollten nach der Stimulation Störungen auftreten, informieren Sie uns bitte immer auch bei scheinbar unwesentlichen Beschwerden.

Abgesehen von möglichen Unbequemlichkeiten, die vom stillen Liegen in der engen MRT-Röhre resultieren, und der Lautstärke des Tomographen, sollten keine Beschwerden während der Untersuchung auftreten. Wir möchten Sie allerdings darauf hinweisen, dass über mögliche langfristige Risiken bei wiederholten MRT-Messungen bisher keine wissenschaftlich abgesicherten Ergebnisse vorliegen.

Die kernspintomographischen Untersuchungen dauern jeweils ca. 60 Minuten. Vor Beginn der neuen Behandlung (Baseline) soll die erste, in der Woche der Abschlussuntersuchung (circa sechs Wochen später) soll die zweite kernspintomographische Untersuchung stattfinden.

Neben den Daten, die speziell für diese Studie erhoben werden, werden während Ihres stationären Aufenthalts möglicherweise auch bildgebende Untersuchungen mittels Magnetresonanztomographie (MRT) durchgeführt. Wir planen, diese Daten in unsere Analyse einzubeziehen. Des Weiteren, falls aus diagnostischen Gründen eine Untersuchung des Hirnwassers (Liquor cerebrospinalis) erfolgt, können Analysen des Liquors wichtige Hinweise auf Ihren Zustand liefern. Wir planen daher, diese Daten in die Analyse einzubeziehen.

Umgang mit Zufallsbefunden

Bei der Studie handelt es sich um eine Forschungsstudie. Das heißt, dass die hier durchgeführten Untersuchungen keine diagnostischen Untersuchungen sind. Die Daten werden nicht auf das Vorliegen einer Erkrankung analysiert. Es findet keine neurologische Befundung der MR-Bilder im Sinne einer klinisch orientierten Diagnostik statt. Dennoch kann es vorkommen, dass in den MR-Bildern Signalauffälligkeiten entdeckt werden, die eine mögliche klinische Relevanz haben („Zufallsbefund“). Falls sich bei der Untersuchung Anhaltspunkte für einen Zufallsbefund ergeben, die eine fachärztliche neuro-radiologische Diagnostik empfehlenswert erscheinen lassen, würde Sie der Versuchsleiter persönlich darüber informieren. Außerdem findet keine Befundung der Herzratenvariabilität, der EEG-Ableitung und der Laborwerte statt. Sollten wir Auffälligkeiten entdecken, die eine mögliche klinische Relevanz haben, wird Sie auch hierüber der Versuchsleiter persönlich informieren. Falls Sie über einen Zufallsbefund nicht informiert werden wollen, stellt dies ein Ausschlusskriterium für die Teilnahme an der Studie dar.

Datenschutz

Ihre personenbezogenen Daten werden maschinell gespeichert und weiterverarbeitet. Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser studienbezogenen Daten erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen ohne Namensnennung mit Codes (z.B. A123) und setzt vor Teilnahme an der Studie Ihre freiwillige Einwilligung voraus. Einige Laboruntersuchungen werden bei auswärtigen Kooperationspartnern durchgeführt, denen die Zuordnung ihres Namens zu den Untersuchungsmaterialien aber nicht möglich ist.

Wenn weitere Fragen bestehen, werden diese gerne vom Untersuchungsleiter oder dem Projektleiter beantwortet. Bei Ihrer Bereitschaft zur Teilnahme bitten wir Sie, vor der Untersuchung die „Einwilligungserklärung“ vollständig auszufüllen und zu unterschreiben.

PD Dr. med. Harald Murck



Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Direktor: Prof. Dr. T. Kircher

Projektleiter: PD Dr. H Murck
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Philipps-Universität Marburg
Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg
Tel: +1 201 294 1195

Einwilligungserklärung

für die Patientinnen und Patienten zur Studie

„Veränderungen des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems im Verlauf einer stationären Depressionsbehandlung bei gleichzeitiger Einnahme des 11- β -hydroxysteroid-dehydrogenase Typ 2 inhibierenden Pflanzenextrakts (Süßholzwurzel, *Glycyrrhiza glabra*)“

Ich bestätige hiermit, dass ich durch den Untersucher Herrn/Frau
mündlich über Wesen, Bedeutung, Risiken und Tragweite der beabsichtigten
wissenschaftlichen Untersuchung aufgeklärt wurde und für meine Entscheidung genügend
Bedenkzeit hatte.

Ich habe das Informationsblatt gelesen und fühle mich ausreichend informiert und habe
verstanden, worum es geht. Der Untersucher hat mir ausreichend Gelegenheit gegeben,
Fragen zu stellen, die alle für mich ausreichend beantwortet wurden. Ich hatte genügend
Zeit mich zu entscheiden.

Über mögliche Nebenwirkungen und die Wirkungsweise wurde ich ausreichend aufgeklärt.
Mir ist bekannt, dass die zusätzliche Gabe von Süßholzwurzel und Magnesium keine
Behandlung darstellt, sondern der wissenschaftlichen Erforschung der Depression dient. Die
Risiken der Nebenwirkungen, sind mir bekannt.

Ich habe verstanden, dass bei wissenschaftlichen Studien persönliche Daten und medizinische Befunde erhoben werden. Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser studienbezogenen Daten erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor Teilnahme an der Studie meine freiwillige Einwilligung voraus: Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie erhobene Daten/Krankheitsdaten auf Fragebögen und elektronische Datenträger pseudonymisiert aufgezeichnet und ohne Namensnennung an der Klinik für Psychiatrie der Philipps-Universität Marburg, Rudolf-Bultmann-Straße 8, 35039 Marburg ausgewertet oder an eine von dieser beauftragte Stelle zum Zwecke wissenschaftlicher Auswertung weitergegeben und im Rahmen der Studienergebnisse pseudonymisiert publiziert werden.

dieser unterschriebenen Einwilligungserklärung erhalten.

Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie zwei Untersuchungen im Kernspintomographen stattfinden dürfen, solange ich keines der Ausschlusskriterien erfülle. Ich bin ausreichend über den Ablauf dieser Untersuchung aufgeklärt worden. Auf die Ergebnisse von MRT- und Liquor-Untersuchungen, welche im Rahmen weiterer Studien oder der klinischen Untersuchungen erhoben wurden bzw. werden, darf die Forschungsgruppe dieser Studie zugreifen und diese Daten für Zwecke wissenschaftlicher Arbeit nutzen.

Bitte hier Initialen, wenn mit der MRT-Untersuchung einverstanden:

Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und

Meine Einwilligung, an diesem Forschungsvorhaben als Patient teilzunehmen, erfolgt ganz und gar freiwillig. Ich wurde darauf hingewiesen, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir daraus Nachteile entstehen.

Ich willige hiermit ein, als Patient / Patientin an dem Forschungsvorhaben teilzunehmen.

Name:

Geburtsdatum:

Datum und Uhrzeit:

Unterschrift des Patienten:

—

Ich habe die Patientin bzw. den Patienten mündlich und schriftlich über Wirkweise, Verträglichkeit und mögliche Risiken der Gabe von Süßholzwurzel-Extrakt und Magnesium aufgeklärt.

Ich habe die Studienteilnehmerin bzw. den Studienteilnehmer mündlich und schriftlich über Wesen, Bedeutung, Reichweite und Risiken des Forschungsvorhabens aufgeklärt.

.

Name:

Datum und Uhrzeit:

Ort:

Unterschrift des Untersuchers:

6. Formalia

6.1 Lebenslauf

2012	Allgemeine Hochschulreife, Marienschule Münster
2012-2013	Freiwilliges soziales Jahr, St. Franziskus Hospital Münster
2013-2020	Studium der Humanmedizin, Philipps-Universität Marburg
Seit Januar 2021	Verfassen der Doktorarbeit und Arbeit im Impfzentrum Marburg
Juli bis Dezember 2021	Assistenzärztin in der Schön Klinik München Schwabing, Neurologie
Seit Januar 2022	Assistenzärztin im Klinikum rechts der Isar, Nephrologie

6.2 Verzeichnis der akademischen Lehrenden

Meine akademischen Lehrenden waren in Marburg:

Vorklinischer Studienabschnitt:

Adamkiewicz, Basler, Baranovski, Bauer, Bette, Bertoune, Braun, Brehm, Bonaterra, Cetin, Daut, Decher, del Rey, Eickmann, Feuser, Grundmann, Hildebrandt, Hobiger, Koolman, Lill, Löffler, Mey, Milani, Mueller, Neumüller, Oberwinkler, Oliver, Preisig-Müller, Reese, Rost, Röhm, Rust, Schütz, Schwarz, Seitz, Steiniger, Schratt, Suske, Thieme, Weihe, Wertenbruch, Westermann, Wilhelm, Wrocklage

Klinischer Studienabschnitt:

Peter Alter, Detlef Bartsch, Erika Baum, Klaus Baumann, Anette Becker, Stephan Becker, Katja Becker, Christoph Best, Siegfried Bien, Richard Birk, Christopher Bliemel, Stefan Bohlander, Andreas Burchert, Frank Czubayko, Carsten Denkert, Ulrike Denzer, Norbert Donner-Banzhoff, Volker Duda, Leopold Eberhart, Karla Eggert, Rüdiger Eming, Rita Engenhardt-Cabillic, Dapjne-Asimenia Eschbach, Michael Frink, Susanne Fuchs-Winkelmann, Urban Geisthoff, Josef Geks, Geraedts, Christian Görg, Thomas Gress, Ivica Grigic, Frank Günther, Christian Haas, Achim Hellinger, Martin Hessmann, Michael Hertl, Stephan Hoch, Rainer Hofmann, Katharina Holzer, Joachim Hoyer, Andreas Jerrentrup, Dennis Josephs, Matthias Kalder, Inge Kamp-Becker, Peter Herbert Kann, Clemens Kill, Tilo Kircher, Andreas Kirschbaum, Andreas Klemmer, Ina Kluge, Susanne Knake, Michael Knipper, Rembert Koczulla, Ulrich Köhler, Martin Kömhoff, Arne König, Johannes Kruse, Maritta Kühnert, Michael Lohoff, Markus Luster, A. Mahnken, Rolf-Felix Maier, Andrea Maisner, Robert Mandic, Hans-Dieter Mennel, Katja Menzler, Nikolas Mirow, Roland Moll, Ulrich Müller, Harald Murck, Reiner Mutters, Igor Nenadić, Andreas Neubauer, Christopher Nimsky, Ludwig Oberkircher, Wolfgang Herrmann Oertel, Egbert Opitz, Axel Pagenstecher, Sabine Pankuweit, Mariana Parahuleva, David Pedrosa, Wolfgang Pfützner, Irene Portig, Timothy David Plant, Ardawan Rastan, Harald Renz, Reinald Repp, Gerd Richter, Jorge Riera-Knorrenschild, Anja Rinke, Steffen Ruchholtz, Jürgen Schäfer, Bernhard Schieffer, Bernhard Schmeck, Ulrich Schu, Maximilian Schulze, Stephan Schulze, Johannes Schumacher, Carola Seifert, Guido Seitz, Walter Sekundo, Frank Sommer, Boris Stuck, Björn Tackenberg, Lars Timmermann, Claus Franz Vogelmeier, Sebastian Vogt, Uwe Wagner, Stefanie Weber, Jochen Alfred Werner, Thomas Wiesmann, Till Wissniowski, Hinnerk Wulf, Maxim Zavorotny

6.3 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich zunächst bei allen Patient*innen bedanken, die an dieser Studie teilgenommen haben für ihre Mitarbeit bedanken.

Dann gilt mein besonderer Dank Herrn PD Dr. med. Harald Murck, der mich zu jeder Zeit während der Studie unterstützte, motivierte und mir die Forschung näherbrachte.

Vielen Dank auch an Frau Sabine Fischer, die mit großer Zuverlässigkeit und Sorgfalt sich um meine Proben kümmerte. Ebenso möchte ich mich bei dem Team der Schwerpunktstation Depression bedanken für die gute Zusammenarbeit.

Meiner Familie und meinen Freund*innen in Marburg danke ich herzlichst für ihre liebevolle und motivierende Unterstützung.

6.4 Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie unter Leitung von ... mit Unterstützung durch ... ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Ich versichere, dass ich sämtliche wörtlichen oder sinngemäßen Übernahmen und Zitate kenntlich gemacht habe.

Mit dem Einsatz von Software zur Erkennung von Plagiaten bin ich einverstanden.

Vorliegende Arbeit wurde (oder wird) in folgenden Publikationsorganen

Murck H, Lehr L, Hahn J, Braunisch MC, Jezova D, Zavorotnyy M. Adjunct Therapy With Glycyrrhiza Glabra Rapidly Improves Outcome in Depression-A Pilot Study to Support 11-Beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 Inhibition as a New Target. Front Psychiatry. 2020 Dec 10;11:605949. doi: 10.3389/fpsy.2020.605949. PMID: 33362613 ; PMCID: PMC7758437.

Murck, Harald et al. "Biomarker Guided Treatment Optimization in Major Depression – Focus on Mineralocorticoid Receptor Function." *Biological Psychiatry* 87 (2020): n. pag.

Murck, H.; Lehr, L.; Zavorotnyy, M.; Jezova, D.; Kircher, T. (Hg.) (2019): Markers of therapy refractory depression and gait disturbance: is there a relationship to normal pressure hydrocephalus? Abstracts of the 1st Symposium of the Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie (AGNP) and Deutsche Gesellschaft für Biologische Psychiatrie (DGBP). Seminaris Campus Hotel Berlin, Germany, 06.03.2019 - 08.03.2019: Georg Thieme Verlag KG (Pharmacopsychiatri).

veröffentlicht.“

Ort, Datum, Unterschrift Doktorandin/Doktorand

Die Hinweise zur Erkennung von Plagiaten habe ich zur Kenntnis genommen.

Ort, Datum, Unterschrift Referentin/Referent

*¹ Hier sind Publikationen/Abstracts aufzuführen, die aus der Dissertation entstanden sind bzw. eingereicht oder angenommen wurden. Für jedes DIN A4 Exemplar ist eine Kopie beizufügen.



Adjunct Therapy With Glycyrrhiza Glabra Rapidly Improves Outcome in Depression—A Pilot Study to Support 11-Beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 Inhibition as a New Target

OPEN ACCESS

Edited by:

Colin T. Dourish,

P1vital Limited, United Kingdom

Reviewed by:

Hamish McAllister-Williams,

Newcastle University, United Kingdom

Kabirullah Lutfy,

Western University of Health Sciences, United States

*Correspondence:

Harald Murck

murck@staff.uni-marburg.de

†These authors have contributed equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to

Psychopharmacology,

a section of the journal

Frontiers in Psychiatry

Received: 14 September 2020

Accepted: 10 November 2020

Published: 10 December 2020

Citation:

Murck H, Lehr L, Hahn J,

Braunisch MC, Jezova D and

Zavorotnyy M (2020) Adjunct Therapy

With Glycyrrhiza Glabra Rapidly

Improves Outcome in Depression—A

Pilot Study to Support

11-Beta-Hydroxysteroid

Dehydrogenase Type 2 Inhibition as a

New Target.

Front. Psychiatry 11:605949.

doi: 10.3389/fpsy.2020.605949

Harald Murck^{1,2*}, Lisa Lehr¹, Johannes Hahn¹, Matthias C. Braunisch³, Daniela Jezova^{4†} and Maxim Zavorotnyy^{1,5,6†}

¹ Department of Psychiatry and Psychotherapy, Philipps-University Marburg, Marburg, Germany, ² Murck-Neuroscience, Westfield, NJ, United States, ³ Department of Nephrology, Klinikum Rechts der Isar, School of Medicine, Technical University Munich, Munich, Germany, ⁴ Institute of Experimental Endocrinology, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia, ⁵ Department of Psychiatry and Psychotherapy, Psychiatric Services Aargau, Academic Hospital of the University of Zurich, Brugg, Switzerland, ⁶ Marburg Center for Mind, Brain and Behavior—MCMBB, University of Marburg, Marburg, Germany

Mineralocorticoid-receptor (MR) dysfunction as expressed by low systolic blood pressure and a high salivary aldosterone/cortisol ratio predicts less favorable antidepressant treatment outcome. Inhibition of peripheral 11-beta-hydroxysteroid-dehydrogenase type 2 (11betaHSD2) reverses these markers. We therefore tested the hypothesis that the 11betaHSD2 inhibitor glycyrrhizin affects treatment outcome via this mechanism. We administered Glycyrrhiza glabra (GG) extract containing 7–8 % of glycyrrhizin at a dose of 2 × 700 mg daily adjunct to standard antidepressants in hospitalized patients with major depression. These subjects were compared in an open-label fashion with patients, who did not receive GG (treatment as usual, TAU). Assessments were done at baseline and approximately 2 weeks after. Twelve subjects were treated with GG and compared to 55 subjects with TAU. At week 2, the Hamilton Depression Rating Scale (HAMD-21) change from baseline as well as the CGI-S change showed a significant time × treatment interaction ($p < 0.03$), indicating a possible therapeutic benefit of GG. Clinical benefit seems to be more pronounced in subjects with lower systolic blood pressure and significantly correlated with reduced sleep duration in the GG group. Our preliminary data show that treatment with the 11betaHSD2 inhibitor glycyrrhizin may possess a beneficial effect on antidepressant response, which may be specific to a defined depression subtype.

Keywords: major depression, aldosterone, mineralocorticoid receptor, inflammation, depression subtypes, toll like receptor 4 (TLR4), cortisol

INTRODUCTION

Major depressive disorder (MDD) is a very common mental condition with a lifetime prevalence of around 15%. According to the largest prospective trial (Star*D), approximately only one third of all subjects achieved remission within 6 weeks of standard treatment (1). In previous reports, neuroendocrine changes in major depressive disorder (MDD) have been widely described, which mainly focused on the stress hormone cortisol. Besides cortisol, the involvement of aldosterone in the stress response became increasingly evident in recent years. It was, however, already stated by the founder of the stress concept Hans Selye (2). More recently, aldosterone has been recognized as a potential biomarker of the depressive state as supported by clinical (3–5) and preclinical data (6–10). Of importance is that markers of increased aldosterone action via central mineralocorticoid receptors appear to be associated with therapy resistance to standard antidepressants (11, 12). Proposed mechanisms include an interaction with aldosterone specific brain areas, including the nucleus of the solitary tract (see below) (13, 14) and of aldosterone-induced inflammation (9, 15, 16). The increased aldosterone concentration in treatment refractory patients is associated with a *reduced* systolic blood pressure, which points to a reduced peripheral sensitivity of the mineralocorticoid receptor (MR) to aldosterone (11). Thus, reduced peripheral MR sensitivity may be related to treatment refractoriness in MDD, as independently described (17, 18).

A recent study demonstrated in a placebo-controlled randomized trial the added benefit of glycyrrhizin as an adjunct treatment to SSRI (19). Interestingly, glycyrrhizin targets exactly the biological pattern, which we identified in our bottom up approach to define therapy refractory depression (TRD): it reduces circulating aldosterone (and vasopressin) levels (20–23) and also increases blood pressure (24) in a dose-dependent manner. A demonstrated molecular mechanism is the inhibition of the enzyme 11-beta hydroxysteroid-dehydrogenase type 2 (11betaHSD2) in the periphery (24, 25). The inhibition of 11betaHSD2 allows cortisol to reach the intracellular MR (26), which is otherwise metabolized by the enzyme. This is crucial for aldosterone's specificity, as aldosterone and cortisol have a similar affinity at the MR, but cortisol has an ~500-fold higher plasma concentration. An inhibition of this enzyme therefore allows cortisol to act as a mineralocorticoid (27). A feedback mechanism, via an MR-mediated inhibition of renin release, leads consequentially to a reduced aldosterone secretion in combination with an increased blood pressure. Furthermore, glycyrrhizin has anti-inflammatory effects not only by reducing plasma aldosterone but also by direct antagonistic effects at the toll-like receptor 4 (TLR4), which is a crucial trigger for innate immunity (28–30). The fact that polymorphisms of the 11betaHSD2 gene exist and are involved in blood pressure regulation (27) provides a potential basis for interindividual differences, which might become the basis for a future personalized treatment approach.

With regard to the central action of aldosterone, it should be noted that aldosterone binds only to specific binding locations within the brain, despite the wide distribution of the MR.

Most brain MRs, for example the classical intracellular MRs in the hippocampus, are not readily accessible to aldosterone. As stated above, this is due to the fact that cortisol and aldosterone have a similar affinity to the MR, but cortisol is present in an ~500-fold higher concentration in the blood stream (31). MR-selective tissue in the brain requires the intracellular presence of 11betaHSD2, similarly to the situation in the periphery (31). This is not the case in the hippocampus. Instead, the nucleus tractus solitarii (NTS), which expresses both the MR and the 11betaHSD2, is the primary anatomical target of aldosterone in the brain (32).

Taken together, there is a growing body of evidence demonstrating an association of peripheral MR dysfunction, increased aldosterone levels, and TRD. Also, an inhibition of peripheral 11betaHSD2 appears to activate peripheral MR and reduce aldosterone release. Therefore, we hypothesize that add-on glycyrrhizin, which is provided in the form of a glycyrrhizin-containing extract from *Glycyrrhiza glabra* (GG), inhibits peripheral 11betaHSD2 and as a consequence may expand the effectiveness of antidepressant drugs. Our current study compared a group of patients, who received GG adjunct to standard antidepressant treatment with a group, which only received treatment as usual (TAU). We were further interested in potential predictors and moderators of the response to glycyrrhizin, based on earlier identified biomarkers and in particular its action to increase peripheral MR activity, to reduce aldosterone secretion and therefore central MR activation.

METHODS

The studied patients were hospitalized at the Department for Psychiatry and Psychotherapy of the Philipps University Marburg. Subjects were recruited for an ongoing observational study [renin-angiotensin aldosterone system (RAAS) study], in which patients were treated with standard antidepressant treatment only, and a second study to examine the effects of GG on biomarkers and clinical characteristics of patients, who were treated with standard antidepressants and in addition received twice daily GG (GG study). Both studies were approved by the ethics committee of the Philipps-University Marburg. Participating patients, who met inclusion/exclusion criteria, signed an informed consent.

Study Conduct

Before a new treatment regime was started (in one of the GG subjects, this consisted of a non-pharmacological treatment), a baseline assessment took place. Two days after the baseline examination, the open-label treatment with GG was started at a dose of 2×2 capsules of a standardized GG extract in the form of capsules from *Glycyrrhiza glabra* (GG) in the GG group. The extract contained 7–8 % of glycyrrhizin (Gall Pharma, Austria) and was administered at a dose of 2×700 mg daily adjunct to standard treatment to hospitalized patients with major depression. In addition, 2×150 mg magnesium in the form of magnesium citrate was administered in order to overcome potential long-term tolerability issues, which could occur due to the MR-mediated increased magnesium depletion.

TABLE 1 | Demographic and medication characteristics.

	GG			TAU		
	N	Mean	Std. deviation	N	Mean	Std. deviation
Age (years)	12	37.3	10.9	55	44.6	15.7
Age of onset (years)	12	27.3	10.0	54	36.4	16.1
Number of episodes	12	7.4	8.1	51	3.4	4.0
Duration current episode (weeks)	12	25.1	16.9	51	23.5	39.4
BMI kg/m ²	12	29.9	7.7	51	27.8	5.5
	Number/(%)			Number/(%)		
Gender m/f	7/5			23/32		
SSRI/SNRI	12	9 (75%)		55	44 (80.0%)	
Tricyclic	12	1 (8.3%)		55	4 (7.2%)	
Mirtazapin	12	0		55	12 (21.8%)	
MAO inhibitors	12	1 (8.3%)		55	3 (5.4%)	
Lithium	12	1 (8.3%)		55	8 (14.5%)	
Atypical neuroleptics	12	4 (25.0%)		55	24 (43.6%)	
Low dose typical neuroleptics	12	3 (25.0%)		55	16 (29.0%)	
None	12	1 (8.3%)		55	0	

Capsules were taken in the morning and evening. Clinical and neurophysiological parameters were determined at baseline and 2 weeks after baseline. The changes from baseline in clinical and biomarker parameters were compared to the group receiving TAU.

Patient Population

For inclusion, patients had to meet ICD-10 diagnostic criteria for major unipolar depressive disorder. Patients with psychosis or with severe personality disorders were excluded. For further information, the criteria are described more precisely in previous works (11). Demographic and medication use data are presented in **Table 1**. Despite the difference in the number of subjects, most of the patient characteristics are fairly balanced. Two notable exceptions are the numerically higher number of depressive episodes and lower frequency of the use of atypical neuroleptics. These differences are not expected to favorably bias the GG treatment group.

Collected Parameters

Three trained raters conducted all clinician ratings to reduce interrater variability. All ratings for a given subject were performed by the same rater. Clinician rating consisted of the Clinical Global Impression Scale for severity (CGI-S) (33) and Hamilton Depression Rating Scale with 21 items (HDRS-21) (34). In addition, scores for item 1 of the HAMD-21 (depressiveness) is reported.

Saliva for the measurement of cortisol and aldosterone was collected immediately after awakening. Patients had to consecutively chew on two Salivettes® Cortisol samplers

(Sartstedt, Nümbrecht, Germany) in order to gain enough saliva. Samples were frozen at -20°C up to two weeks and then at -80°C until shipment by mail to the Institute of Experimental Endocrinology (Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia) for analysis. Saliva cortisol concentrations were analyzed using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (IBL International, Hamburg, Germany). Salivary aldosterone concentrations were measured by a modified methodology (35) using a commercial radioimmunoassay kit (Immunotech, Prague, Czech Republic). To get usable results, saliva was concentrated three times.

- Blood pressure was measured using an automatic blood pressure monitor (Omron M5 Professional™, Omron Medizintechnik, Mannheim, Germany) mounted on the patient's upper right arm.
- Heart rate variability was determined as respiratory sinus arrhythmia (RSA) two times with a device and corresponding app (iThlete®, HRV Fit Ltd, Hampshire, United Kingdom) linked to a smartphone (iPhone), as described in detail before (11). The measurement took place 5–10 min after awakening. Heart rate variability was measured twice for a 55-s test interval each. Patients followed the breathing cadence of 7.5 breaths per minute displayed by a lung animation on the smartphone screen. Calculations performed within the iThlete app are based on the time domain HRV index, which is the root mean square of successive R–R intervals (RMSSD). The mean of two sequential measurements is reported here.
- Sleep monitoring was carried out by a simplified polysomnographic system (Zeo™, Inc., Newton, MA, USA) that used only three proprietary sensors in a headband that transferred sleeping data wirelessly to a bedside monitor. The electrodes of the headband were placed at the forehead below Fp1, Fpz, and Fp2. Scoring took place in 30-s epochs each night using four sleep stages (wake, light sleep, deep sleep, and rapid eye movement sleep). The advantage of this monitoring system is that assessments are carried out in the usual sleeping environment, thus avoiding the common problems of sleep laboratory settings. Validity, as determined by correlation with an expert system, has been demonstrated for SWS and sleep duration.
- Blood draws for plasma electrolytes, including sodium, potassium, and magnesium, were conducted before noon. Plasma Na^+ and K^+ levels were measured using specific ionic selective electrodes. Mg^{2+} was measured photometrically at 520 nm after complexation with calmagite (3-hydroxy-4-[(2-hydroxy-5-methylphenyl)azo]-1-naphthalenesulfonic acid).

Procedures at Assessment Days

The examinations were performed in the following sequence: In the evening at approximately 7 p.m., HDRS-21 and CGI were performed. This was followed by the adjustment of a headband which contained electrodes for a sleep EEG device. Immediately after awakening, saliva for the analysis of aldosterone and cortisol was collected. The sampling occurred before patients got out of bed. Immediately after that, the HRV assessment and a salt taste test were performed. The morning assessments were concluded

TABLE 2 | Comparison of changes of laboratory and clinical parameters from baseline to week 2 between treatment groups.

	GG baseline			GG week 2			TAU baseline			TAU week 2			Δ GG	Δ TAU	Interaction
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD			
Age, years	12	37.3	10.9	12	37.3	10.9	55	44.6	15.7	55	44.6	15.7			
BMI, kg/m ²	12	29.9	7.7	12	30.0	7.7	51	27.8	5.5	51	27.8	5.5			
TST, min	12	409.9	81.5	11	344.2	96.8	53	392.8	72.0	48	391.1	80.1	$p < 0.08$		$p < 0.05$
Heart rate variability	12	70.3	12.0	12	69.1	11.1	51	67.1	14.1	50	64.2	15.3		$p < 0.05$	
Systolic BP, mmHg	12	118.1	14.0	12	119.6	14.3	55	127.2	20.3	53	123.8	18.5		$p < 0.05$	
Mg ²⁺ , mmol/l	12	0.83	0.05	12	0.98	0.45	53	0.85	0.07	52	0.85	0.07			$p < 0.05$
Na ⁺ /K ⁺ ratio	12	37.5	3.2	12	38.2	3.4	53	37.6	3.1	51	37.1	3.3			
Aldosterone, pg/ml	12	14.3	11.7	11	14.8	7.5	51	22.4	21.8	46	16.3	12.7			
Cortisol, ng/ml	12	4.23	2.17	12	5.38	3.09	54	5.9	3.66	52	6.10	3.92			
HAMD-21	12	26.5	5.4	12	20.2	8.3	55	23.2	7.0	55	18.9	8.3	$p < 0.01$	$p < 0.01$	$p < 0.03$
HAMD (item 1)	12	3.5	0.8	12	2.5	1.6	55	2.9	1.0	55	2.4	1.2	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.03$
CGI severity	12	4.75	0.75	12	3.83	1.27	54	4.83	0.97	53	4.32	1.22	$p < 0.02$	$p < 0.01$	$p < 0.05$

Δ GG and Δ TAU, significant difference from baseline (*t*-test); Interaction, significant interaction of treatment, corrected for gender and rater. TST, total sleep time; BMI, body mass index, BP, blood pressure; HAMD, Hamilton Depression Rating Scale; CGI, clinical global impression.

by the determination of blood pressure and the self-rating scales BDI and QIDS (not reported here). Blood samples for the determination of electrolytes were taken on this day before noon, after at least 10 min of bedrest.

Statistical Analysis

As a proof-of-concept analysis, we compared the change of the HAMD-21 score from baseline to week 2 in subjects, who took an adjunct treatment with GG to the TAU group. We used a repeated-measurement general linear model, using SPSS, version 25, with treatment, gender, and rater as factors. The same approach was used for the exploratory analysis of the biochemical, endocrine, and physiological parameters.

In order to characterize the potential relationship (1) between baseline parameters and clinical change and further (2) the change in biomarker parameters and clinical change, we used correlational analysis, utilizing Spearman correlation coefficients. For this analysis, the relative change of the HAMD-21 from baseline (R-HAMD-21) was expressed as a ratio of the HAMD-21 at week 2 divided to the baseline HAMD-21. For example, a 20% increase would lead to a factor of 1.2, a 20% reduction to a factor of 0.8. This number was then correlated with the baseline parameters. A similar approach for the change of biomarkers was used. The *p*-values of the statistical tests are provided on the basis of a two-sided assessment. A $p \leq 0.05$ is regarded as statistically significant.

Power Calculation

A statistical power calculation for this study, based on our previous data (11), assumes a difference in that study between biomarker positive vs. negative groups of 4 points on the HAMD-21. Given a standard deviation of 6 and the given number of subjects, the current design has a power of ~70% to detect a difference between the treatment groups with a one-sided alpha of 0.05, as appropriate for a proof-of-concept study.

RESULTS

Twelve subjects were treated with GG and compared to 55 subjects, who were treated with standard of care only (TAU group), in an open label design. After two weeks of treatment the primary outcome variable, the Hamilton-Depression Rating Scale change from baseline showed a significant difference for all groups ($p < 0.05$) and demonstrated a time x treatment interaction ($p < 0.05$), indicating a therapeutic benefit of GG. This was consistent with the item 1 of the HAMD-21 scale-based change. In addition, the CGI-S showed a significant interaction ($p < 0.05$) (Table 2).

In the GG group, blood pressure increased slightly, but not significantly, whereas it dropped in the TAU (RAAS sample) group ($p < 0.05$). Furthermore, HRV declined in the TAU group ($p < 0.05$), but not in the GG group. Heart rate increased in the GG group, but not the standard group. Total sleep time (TST) showed a significant interaction between the groups with a trend to a reduction in the GG group ($p < 0.08$). [Mg²⁺] showed a significant interaction between the groups, most likely as a consequence of Mg²⁺ administration, in the active group. We did not find the expected change in salivary aldosterone or cortisol concentration (Table 2).

We calculated correlations in a descriptive way to (1) compare the association of baseline parameters with outcome (Figure 1) and (2) explore changes in biomarkers with that of the HAMD-21 from baseline (R-HAMD-21), all expressed as relative values compared to baseline, as markers of functional target engagement. In the TAU group, but not the GG group, baseline systolic blood pressure was inversely correlated with the relative outcome, meaning that higher blood pressure leads to a more favorable outcome. The correlation lines cross at ~140 mm Hg, which indicates that GG shows descriptively a favorable clinical improvement in comparison to standard treatment below this value (Figure 1).

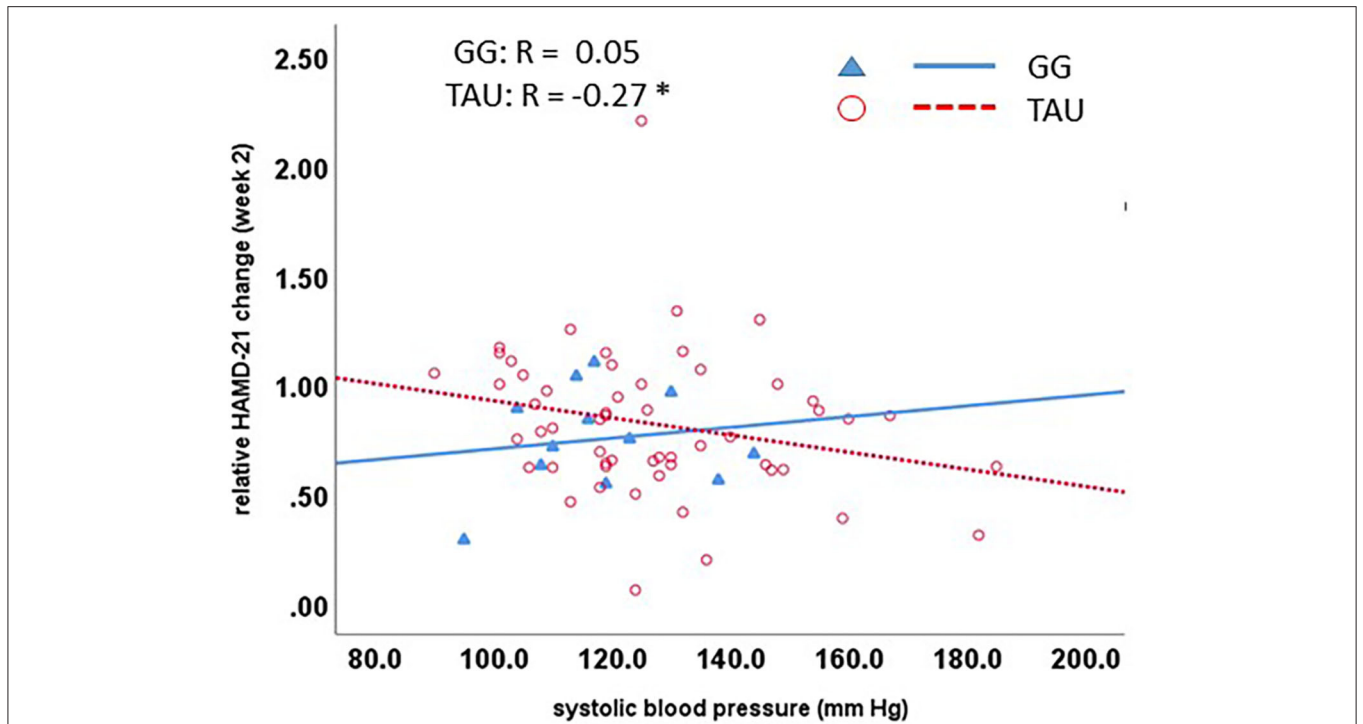


FIGURE 1 | Qualitative patterns for the biomarker-dependent differentiation of clinical outcome between GG-treated and not GG-treated (TAU) subjects. The treatment effect is determined by the ratio of the HAMD-21 at week 2 to that at baseline. A value of 1 refers to no change in HAMD-21; higher values to worsening; and lower values to improvement. Lower systolic blood pressure is related to lesser improvement in the TAU group, but larger improvement in the GG, which leads to a larger differentiation between the groups with lower systolic blood pressure. GG, Glycyrrhiza glabra add-on; TAU, treatment as usual.

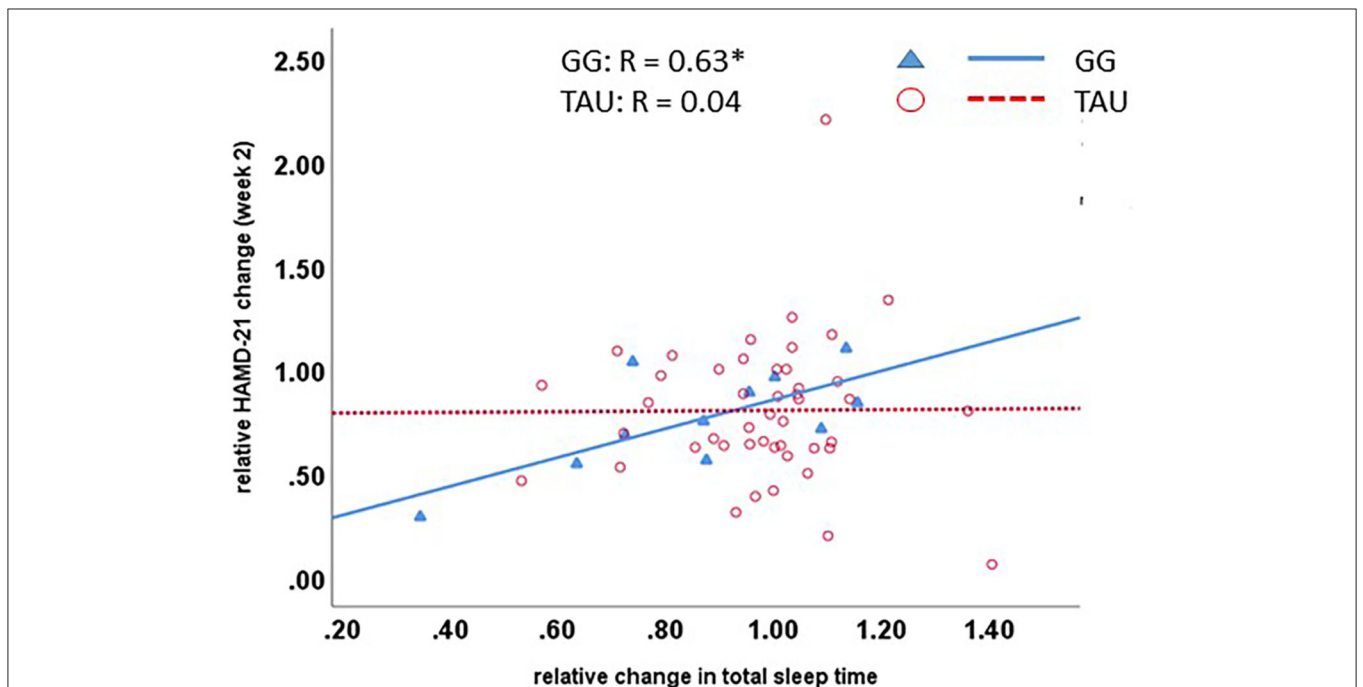


FIGURE 2 | GG-induced biomarker changes are correlated with clinical change. A clinically better outcome, as determined by the HAMD-21 ratio, is significantly correlated with a reduced total sleep time in the GG group. GG, Glycyrrhiza glabra add-on; TAU, treatment as usual.

Furthermore, the relative change in total sleep time was significantly correlated with the clinical change in the GG group, but not the TAU group, in a way that reduction in total sleep time points to clinical improvement (**Figure 2**).

DISCUSSION

Alterations in autonomic and neuroendocrine control affect treatment response in patients with depression. Glycyrrhizin is a compound, which was selected to reverse this biomarker pattern and the underlying biology. We could confirm the previously described clinical efficacy of glycyrrhizin in an open label comparison. We could also generate more evidence for the differential relationship between clinical response and systolic blood pressure, which was one prespecified predictor of outcome, but not with the salivary aldosterone/cortisol ratio. We also describe an association of the overall clinical benefit in the GG group with a reduction of total sleep time. This may point to a specific clinically defined sensitive subgroup, i.e., patients with hypersomnia.

In detail, we have described previously that a high ratio of salivary aldosterone/cortisol and low blood pressure may indicate a risk for antidepressant treatment resistance, potentially based on a low peripheral MR activity (11). In an independent population, we found evidence that a low ratio of plasma Na^+/K^+ is linked to worse treatment outcome (36). Some of these markers appear to be trait or resilience markers, as they are stable over the treatment interval (12). A trait like reduced sensitivity of the MR has been demonstrated with an endocrine challenge test (17, 18). It was hypothesized that by targeting a mechanism, related to this biomarker pattern, i.e., peripheral MR activation, as regulated partially by 11 β HSD2, may reverse treatment refractoriness. A reduction of plasma aldosterone via inhibition of 11 β HSD2 activity (see Introduction) is regarded as the mediator of this action. As already mentioned in the introduction, the antagonist of 11 β HSD2 and of TLR4, glycyrrhizin, was therefore hypothesized to overcome treatment refractoriness. Indeed, the results of a recent double-blind placebo-controlled study are consistent with our hypothesis, as it demonstrated a superior outcome of glycyrrhizin adjunct to citalopram in comparison to citalopram alone (19). A preferential benefit of patients with higher levels of inflammation, as expressed by C-reactive protein levels > 3 mg/l, was observed in that study. Interestingly, the anti-inflammatory effect of glycyrrhizin and its active metabolite glycyrrhetic acid is mediated via antagonism at toll-like receptor 4 (TLR4) (29), i.e., the receptor for endotoxin (lipopolysaccharide, LPS). LPS acts synergistically with aldosterone (16) to induce an inflammatory response and depression-like behavior in an animal model. This points to a pro-inflammatory action of aldosterone and, conversely, an anti-inflammatory effect of aldosterone reduction. However, the exact mechanism of glycyrrhizin's anti-inflammatory action and the involvement of aldosterone *in vivo* needs further clarification.

Changes in aldosterone or cortisol were unexpectedly not directly observed in this study. As the salivary collection was performed 12–13 h after the last administration of study medication, the direct effect on the concentration of aldosterone may have disappeared. The observed mentioned functional

consequences, i.e., changes in total sleep time and its correlation with clinical improvement, are in line with a suppressed TLR4 activity in subjects with a beneficial outcome (37). Furthermore, a wake promoting effects of NTS stimulation, i.e., of the primary target for aldosterone, has been observed in animal models (38).

Mechanistically, this pattern of changes induced by GG is in line with an increase in peripheral MR activation, leading to an increased blood pressure (relative to the nontreated subjects), and a reduction in activity of the renin–angiotensin aldosterone system. These findings are consistent with an inhibition of the enzyme 11 β HSD2: 11 β HSD2 inhibition leads to a higher access of cortisol to MR, which leads to a suppression of the release of renin and aldosterone (20, 39) without reducing blood pressure. According to our current working hypothesis, lowering aldosterone levels act to modulate the activity of the NTS, which is a key nucleus in autonomic and affect regulation (40). In addition, an increase in cortisol/cortisone ratio can be expected with an inhibition of 11 β HSD2, which, however, appears to be mainly due to a reduction in cortisone concentration along an unchanged cortisol concentration (41).

Interventions, which reduce the activity of the renin–angiotensin aldosterone system, have been demonstrated to influence major depression. Acute treatment with the ACE-inhibitor captopril appears to improve depression in an open-label trial (42) and of lisinopril in a case series (43). In addition, beneficial effects of the angiotensin receptor blocker candesartan have been reported (44). However, direct MR blockade with spironolactone in a placebo-controlled trial did not induce an effect on clinical outcome as an adjunct treatment in depressed patients (45). For the latter finding, it is important to keep in mind that MR blockade is not the same as aldosterone reduction, which is attempted here. In fact, spironolactone leads to an increase in plasma aldosterone in the study by Otte et al. (45). Interestingly, fludrocortisone, which is a mineralocorticoid used to treat postural tachycardia syndrome, induced a more rapid antidepressive response in comparison to placebo-treated subjects in antidepressant treatment responders (45). This is in line with our hypothesis as fludrocortisone leads to a reduction of peripheral plasma aldosterone concentration and is expected to cross the blood brain barrier to only a negligible extent (46).

Genetic and endocrinological findings support the RAAS as a target for antidepressant interventions. We mentioned in the introduction that the gene for the target enzyme 11 β HSD2 shows variability on both genetic and epigenetic levels. Furthermore, polymorphisms within the aldosterone-regulating system have been demonstrated including the genes for angiotensin converting enzyme (ACE) (47), the angiotensin II receptor (ATII) (47, 48), and MR (49, 50), most of which have been linked to stress response or MDD. The gene for 11 β HSD2 itself received attention in the area of blood pressure control, but not yet in psychiatric disorders. However, a number of endocrinological studies, which looked at the putative activity of the 11 β HSD2 enzyme, have been reported. In hospitalized patients with depression, the cortisone/cortisol ratio in plasma was utilized to determine the activity of this enzyme (51). No difference was observed in the population studied. However, the absence of specificity of this test for the 11 β HSD2 vs. 11 β HSD1 limits the interpretation of mentioned results. In

addition, the subjects in the Weber et al. study (51) did show marked hypercortisolism, which is not a general finding in major depression, but only observed in about one third of depressed subjects, and mostly related to melancholic features, i.e., those with more severe sleep disturbances. A further study reported a urinary steroid profile in outpatients with depression in line with a reduced activity of the 11 β HSD1 (52) in depressed patients vs. controls. Given that 11 β HSD1 and 11 β HSD2 catalyze opposite reactions, the mentioned results could be regarded as evidence of an overactivity of the 11 β HSD2. A higher activity of this enzyme blocks cortisol from accessing the MR more completely by its more rapid metabolism into the inactive cortisone, which does not activate the MR. This is expected to lead to lower cortisol and higher aldosterone and cortisone levels.

Regarding the specificity of the observed effects, a large cross-sectional study demonstrated important differences in clinically defined subtypes of depression, i.e., atypical depression vs. melancholic depression (53). Atypical MDD is associated with increased inflammation, as expressed by a higher CRP level and an increased activation of the RAAS, as expressed by an increase in the plasma concentration of angiotensin-converting enzyme (ACE). This form also shows higher rates of the metabolic syndrome and a higher BMI (54) and is defined by hyperphagia and hypersomnia. It is interesting to note that reduced sleep duration in our study was associated with the clinical improvement in the GG group, but not the TAU group. This may point to an improvement of a specific symptom of atypical depression and therefore an overlap between the atypical depression subtype and the one, which we characterized on the basis of the here described biomarker pattern.

Important limitations of the study have to be mentioned: we describe the effects on patients treated with GG in an open-label design and compared it to a group of subjects from a different study, but with a very similar design. No randomization into the treatment arms occurred. Overall, the sample of the GG groups is considerably smaller than that of the TAU group. This makes the GG group vulnerable to variability. The comparison of demographic and medication intake data, however, does not indicate a bias toward less therapy resistance in the GG group. Nevertheless, the potential imbalance of the effect of concomitant treatment cannot completely be ruled out. One difference regarding administered substances apart from GG concerns magnesium citrate, which was administered due to the fact that MR activation leads to an increase in excretion of magnesium. We wanted to avoid this, as it had been demonstrated that depletion of magnesium may lead to anxiety and depression-like behavior (55). Clear evidence for the role of magnesium in placebo-controlled trials, however, is missing. Nevertheless, we cannot rule out that the administration of magnesium contributes to the clinical effect. Generally, we would recommend a combination of glycyrrhizin and magnesium compounds. Furthermore, the small sample of the GG-treated subjects made it not meaningful to analyze the influence of gender, which previously had been reported regarding the influence of aldosterone on depression (56). Regarding predictive

markers, we could confirm the relationship of blood pressure to clinical outcome in the TAU group, but not its relationship of the saliva aldosterone/cortisol ratio. This needs further clarification. Due to the limited sample size, additional factors, including gender and menopausal status, could not be addressed, which may be of relevance, as atypical depression has a high prevalence in young women.

In conclusion, our current data support the recent hypothesis that the activity of the RAAS and related autonomic characteristics may serve to define a form of depression, which can be targeted with an inhibitor of 11 β HSD2. Our preliminary findings demonstrate that GG expands the effectiveness of antidepressant drugs to a group, which appears to be less sensitive to TAU. However, this hypothesis needs to be confirmed in further randomized double-blind placebo-controlled clinical trials. As the primary action of the GG constituent glycyrrhizin is to inhibit 11 β HSD2 and (directly or indirectly) TLR4, this principal may emerge as a new target for a definable subgroup of patients with depression, if confirmed in future research. A double-blind placebo-controlled study is the next step for further elucidating this new mechanism of action.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Ethics committee of the Philipps University Marburg/Germany. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

HM: conceptualization, formal analysis, writing original draft, writing review and editing, funding acquisition. LL: conceptualization, investigation, data curation, formal analysis, writing review and editing. JH: investigation, data curation, writing review and editing. MB: investigation, data curation, validation, writing review and editing. DJ: investigation, writing review and editing, funding acquisition. MZ: investigation, writing review and editing, supervision. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency (grant number APVV-18-0283) and partially by VEGA 2/0022/19.

ACKNOWLEDGMENTS

We also would like to thank Gall-Pharma, Judenburg, Austria, for providing the glycyrrhizin extract capsules.

REFERENCES

- Trivedi MH, Rush AJ, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Warden D, Ritz L, et al. Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. *Am J Psychiatry*. (2006) 163:28–40. doi: 10.1176/appi.ajp.163.1.28
- Selye H. Stress and disease. *Laryngoscope*. (1955) 65:500–14. doi: 10.1288/00005537-195507000-00002
- Emanuele E, Geroldi D, Minoretta P, Coen E, Politi P. Increased plasma aldosterone in patients with clinical depression. *Arch Med Res*. (2005) 36:544–8. doi: 10.1016/j.arcmed.2005.03.046
- Izakova L, Hlavacova N, Segeda V, Kapsdorfer D, Morovicsova E, Jezova D. Salivary aldosterone, cortisol and their morning to evening slopes in patients with depressive disorder and healthy subjects: acute episode and follow up six months after reaching remission. *Neuroendocrinology*. (2020) 110:1001–09. doi: 10.1159/000505921
- Nowacki J, Wingenfeld K, Kaczmarczyk M, Chae WR, Salchow P, Abu-Tir I, et al. Cardiovascular risk and steroid hormone secretion after stimulation of mineralocorticoid and NMDA receptors in depressed patients. *Transl Psychiatry*. (2020). doi: 10.1038/s41398-020-0789-7
- Hlavacova N, Jezova D. Chronic treatment with the mineralocorticoid hormone aldosterone results in increased anxiety-like behavior. *Horm Behav*. (2008) 54:90–7. doi: 10.1016/j.yhbeh.2008.02.004
- Franklin M, Bermudez I, Hlavacova N, Babic S, Murck H, Schmuckermair C, et al. Aldosterone increases earlier than corticosterone in new animal models of depression: is this an early marker? *J Psychiatr Res*. (2012) 46:1394–7. doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.07.010
- Franklin M, Bermudez I, Murck H, Singewald N, Gaburro S. Sub-chronic dietary tryptophan depletion—an animal model of depression with improved face and good construct validity. *J Psychiatr Res*. (2012) 46:239–47. doi: 10.1016/j.jpsychires.2011.10.003
- Hlavacova N, Wes PD, Ondrejckova M, Flynn ME, Poundstone PK, Babic S, et al. Subchronic treatment with aldosterone induces depression-like behaviours and gene expression changes relevant to major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*. (2012) 15:247–65. doi: 10.1017/S1461145711000368
- Franklin M, Hlavacova N, Babic S, Pokusa M, Bermudez I, Jezova D. Aldosterone signals the onset of depressive behaviour in a female rat model of depression along with SSRI treatment resistance. *Neuroendocrinology*. (2015) 102:274–87. doi: 10.1159/000431152
- Buttner M, Jezova D, Greene B, Konrad C, Kircher T, Murck H. Target-based biomarker selection - mineralocorticoid receptor-related biomarkers and treatment outcome in major depression. *J Psychiatr Res*. (2015) 66-67:24–37. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.04.012
- Murck H, Braunschweig MC, Konrad C, Jezova D, Kircher T. Markers of mineralocorticoid receptor function: changes over time and relationship to response in patients with major depression. *Int Clin Psychopharmacol*. (2019) 34:18–26. doi: 10.1097/YIC.0000000000000239
- Murck H, Buttner M, Kircher T, Konrad C. Genetic, molecular and clinical determinants for the involvement of aldosterone and its receptors in major depression. *Nephron Physiol*. (2014) 128:17–25. doi: 10.1159/000368265
- Murck H. Aldosterone action on brain and behavior. In: Pfaff DW, Joëls M, editors. *Hormones, Brain, and Behavior 3rd edition*. Oxford: Academic Press. (2017). p. 159–79. doi: 10.1016/B978-0-12-803592-4.00052-3
- Felder RB. Mineralocorticoid receptors, inflammation and sympathetic drive in a rat model of systolic heart failure. *Exp Physiol*. (2010) 95:19–25. doi: 10.1113/expphysiol.2008.045948
- Bay-Richter C, Hallberg L, Ventorp F, Janelidze S, Brundin L. Aldosterone synergizes with peripheral inflammation to induce brain IL-1 β expression and depressive-like effects. *Cytokine*. (2012) 60:749–54. doi: 10.1016/j.cyt.2012.08.016
- Juruena MF, Cleare AJ, Papadopoulos AS, Poon L, Lightman S, Pariante CM. The prednisolone suppression test in depression: dose-response and changes with antidepressant treatment. *Psychoneuroendocrinology*. (2010) 35:1486–91. doi: 10.1016/j.psyneuen.2010.04.016
- Juruena MF, Pariante CM, Papadopoulos AS, Poon L, Lightman S, Cleare AJ. The role of mineralocorticoid receptor function in treatment-resistant depression. *J Psychopharmacol*. (2013) 27:1169–79. doi: 10.1177/0269881113499205
- Cao ZY, Liu YZ, Li JM, Ruan YM, Yan WJ, Zhong SY, et al. Glycyrrhizic acid as an adjunctive treatment for depression through anti-inflammation: A randomized placebo-controlled clinical trial. *J Affect Disord*. (2020) 265:247–54. doi: 10.1016/j.jad.2020.01.048
- Epstein MT, Espiner EA, Donald RA, Hughes H. Effect of eating liquorice on the renin-angiotensin aldosterone axis in normal subjects. *Br Med J*. (1977) 1:488–90. doi: 10.1136/bmj.1.6059.488
- Forslund T, Fyhrquist F, Froseth B, Tikkanen I. Effects of licorice on plasma atrial natriuretic peptide in healthy volunteers. *J Intern Med*. (1989) 225:95–9. doi: 10.1111/j.1365-2796.1989.tb00046.x
- Armanini D, De Palo CB, Mattarello MJ, Spinella P, Zaccaria M, Ermolao A, et al. Effect of licorice on the reduction of body fat mass in healthy subjects. *J Endocrinol Invest*. (2003) 26:646–50. doi: 10.1007/BF03347023
- Mattarello MJ, Benedini S, Fiore C, Camozzi V, Sartorato P, Luisetto G, et al. Effect of licorice on PTH levels in healthy women. *Steroids*. (2006) 71:403–8. doi: 10.1016/j.steroids.2006.01.005
- Cosmetic Ingredient Expert P. Final report on the safety assessment of glycyrrhetic acid, potassium glycyrrhetinate, disodium succinoyl glycyrrhetinate, glyceryl glycyrrhetinate, glycyrrhetinyl stearate, stearyl glycyrrhetinate, glycyrrhizic acid, ammonium glycyrrhizate, dipotassium glycyrrhizate, disodium glycyrrhizate, trisodium glycyrrhizate, methyl glycyrrhizate, potassium glycyrrhizate. *Int J Toxicol*. (2007) 2(26 Suppl.):79–112. doi: 10.1080/10915810701351228
- Wu P, Zhang Y, Liu Y, Wang X, Guo Z, Liang X, et al. Effects of glycyrrhizin on production of vascular aldosterone and corticosterone. *Horm Res*. (1999) 51:189–92. doi: 10.1159/000023356
- Edwards CR, Stewart PM, Burt D, Brett L, McIntyre MA, Sutanto WS, et al. Localisation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase—tissue specific protector of the mineralocorticoid receptor. *Lancet*. (1988) 2:986–9. doi: 10.1016/S0140-6736(88)90742-8
- Stewart PM. Cortisol as a mineralocorticoid in human disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*. (1999) 69:403–8. doi: 10.1016/S0960-0760(99)00072-2
- Schrofelbauer B, Raffetseder J, Hauner M, Wolkerstorfer A, Ernst W, Szolar OH. Glycyrrhizin, the main active compound in liquorice, attenuates pro-inflammatory responses by interfering with membrane-dependent receptor signalling. *Biochem J*. (2009) 421:473–82. doi: 10.1042/BJ20082416
- Fu Y, Zhou E, Wei Z, Song X, Liu Z, Wang T, et al. Glycyrrhizin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response by reducing TLR4 recruitment into lipid rafts in RAW264.7 cells. *Biochim Biophys Acta*. (2014) 1840:1755–64. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.01.024
- Seo EH, Song GY, Kwak BO, Oh CS, Lee SH, Kim SH. Effects of glycyrrhizin on the differentiation of myeloid cells of the heart and lungs in lipopolysaccharide-induced septic mice. *Shock*. (2017) 48:371–6. doi: 10.1097/SHK.0000000000000850
- De Kloet ER, Van Acker SA, Sibug RM, Oitzl MS, Meijer OC, Rahmouni K, et al. Brain mineralocorticoid receptors and centrally regulated functions. *Kidney Int*. (2000) 57:1329–36. doi: 10.1046/j.1523-1755.2000.00971.x
- Geerling JC, Loewy AD. Aldosterone in the brain. *Am J Physiol Renal Physiol*. (2009) 297:F559–76. doi: 10.1152/ajprenal.90399.2008
- Guy W, editor. Clinical global impressions CGI. In: *ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, Revised*. Rockville, MA: National Institute of Mental Health. (1976). doi: 10.1037/e591322011-001
- Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. (1960) 23:56–62. doi: 10.1136/jnnp.23.1.56
- Jezova D, Hlavacova N. Endocrine factors in stress and psychiatric disorders: focus on anxiety and salivary steroids. *Ann NY Acad Sci*. (2008) 1148:495–503. doi: 10.1196/annals.1410.050
- Murck H, Ploch M, Montgomery S. Mineralocorticoid receptor-related markers and outcome of major depression: focus on blood pressure and electrolytes. *Int Clin Psychopharmacol*. (2018) 33:224–28. doi: 10.1097/YIC.0000000000000212
- Wisor JP, Clegern WC, Schmidt MA. Toll-like receptor 4 is a regulator of monocyte and electroencephalographic responses to sleep loss. *Sleep*. (2011) 34:1335–45. doi: 10.5665/SLEEP.1274

38. Martinez-Vargas D, Valdes-Cruz A, Magdaleno-Madrigal VM, Fernandez-Mas R, Almazan-Alvarado S. Effect of electrical stimulation of the nucleus of the solitary tract on electroencephalographic spectral power and the sleep-wake cycle in freely moving cats. *Brain Stimul.* (2017) 10:116–25. doi: 10.1016/j.brs.2016.08.012
39. Armanini D, Lewicka S, Pratesi C, Scali M, Zennaro MC, Zovato S, et al. Further studies on the mechanism of the mineralocorticoid action of licorice in humans. *J Endocrinol Invest.* (1996) 19:624–9. doi: 10.1007/BF03349029
40. Damasio A, Carvalho GB. The nature of feelings: evolutionary and neurobiological origins. *Nat Rev Neurosci.* (2013) 14:143–52. doi: 10.1038/nrn3403
41. Isbrucker RA, Burdock GA. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regul Toxicol Pharmacol.* (2006) 46:167–92. doi: 10.1016/j.yrtph.2006.06.002
42. Zubenko GS, Nixon RA. Mood-elevating effect of captopril in depressed patients. *Am J Psychiatry.* (1984) 141:110–1. doi: 10.1176/ajp.141.1.110
43. Hertzman M, Adler LW, Arling B, Kern M. Lisinopril may augment antidepressant response. *J Clin Psychopharmacol.* (2005) 25:618–20. doi: 10.1097/01.jcp.0000186736.99523.1d
44. Pavlatou MG, Mastorakos G, Lekakis I, Liatis S, Vamvakou G, Zoumakis E, et al. Chronic administration of an angiotensin II receptor antagonist resets the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and improves the affect of patients with diabetes mellitus type 2: preliminary results. *Stress.* (2008) 11:62–72. doi: 10.1080/10253890701476621
45. Otte C, Hinkelmann K, Moritz S, Yassouridis A, Jahn H, Wiedemann K, et al. Modulation of the mineralocorticoid receptor as add-on treatment in depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled proof-of-concept study. *J Psychiatr Res.* (2010) 44:339–46. doi: 10.1016/j.jpsychires.2009.10.006
46. Vogt W, Fischer I, Ebenroth S, Appel S, Knedel M, Lucker PW, et al. [Pharmacokinetics of 9-fluorhydrocortisone]. *Arzneimittelforschung.* (1971) 21: Suppl:1133–43.
47. Bondy B, Baghai TC, Zill P, Schule C, Eser D, Deiml T, et al. Genetic variants in the angiotensin I-converting-enzyme (ACE) and angiotensin II receptor (AT1) gene and clinical outcome in depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* (2005) 29:1094–9. doi: 10.1016/j.pnpbp.2005.03.015
48. Saab YB, Gard PR, Yeoman MS, Mfarrej B, El-Moalem H, Ingram MJ. Renin-angiotensin-system gene polymorphisms and depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* (2007) 31:1113–8. doi: 10.1016/j.pnpbp.2007.04.002
49. Derijk RH, Wust S, Meijer OC, Zennaro MC, Federenko IS, Hellhammer DH, et al. A common polymorphism in the mineralocorticoid receptor modulates stress responsiveness. *J Clin Endocrinol Metab.* (2006) 91:5083–9. doi: 10.1210/jc.2006-0915
50. Vogel S, Gerritsen L, Van Oostrom I, Arias-Vasquez A, Rijpkema M, Joels M, et al. Linking genetic variants of the mineralocorticoid receptor and negative memory bias: interaction with prior life adversity. *Psychoneuroendocrinology.* (2014) 40:181–90. doi: 10.1016/j.psycheneu.2013.11.010
51. Weber B, Lewicka S, Deuschle M, Colla M, Vecsei P, Heuser I. Increased diurnal plasma concentrations of cortisone in depressed patients. *J Clin Endocrinol Metab.* (2000) 85:1133–6. doi: 10.1210/jcem.85.3.6469
52. Poor V, Juricskay S, Gati A, Osvath P, Tenyi T. Urinary steroid metabolites and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in patients with unipolar recurrent major depression. *J Affect Disord.* (2004) 81:55–9. doi: 10.1016/S0165-0327(03)00199-X
53. Lamers F, Bot M, Jansen R, Chan MK, Cooper JD, Bahn S, et al. Serum proteomic profiles of depressive subtypes. *Transl Psychiatry.* (2016) 6:e851. doi: 10.1038/tp.2016.115
54. Lamers F, Vogelzangs N, Merikangas KR, De Jonge P, Beekman AT, Penninx BW. Evidence for a differential role of HPA-axis function, inflammation and metabolic syndrome in melancholic versus atypical depression. *Mol Psychiatry.* (2013) 18:692–9. doi: 10.1038/mp.2012.144
55. Singewald N, Sinner C, Hetzenauer A, Sartori SB, Murck H. Magnesium-deficient diet alters depression- and anxiety-related behavior in mice—influence of desipramine and *Hypericum perforatum* extract. *Neuropharmacology.* (2004) 47:1189–97. doi: 10.1016/j.neuropharm.2004.08.010
56. Murck H, Schlageter L, Schneider A, Adolf C, Heinrich D, Quinkler M, et al. The potential pathophysiological role of aldosterone and the mineralocorticoid receptor in anxiety and depression - lessons from primary aldosteronism. *J Psychiatr Res.* (2020) 130:82–8. doi: 10.1016/j.jpsychires.2020.07.006

Conflict of Interest: HM worked in the past for several pharmaceutical companies, including Acorda Therapeutics and Axovant. He is currently the owner of the consulting company Murck-Neuroscience LLC and holds a patent for the use of glycyrrhizin in the area of depression treatment.

The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2020 Murck, Lehr, Hahn, Braunisch, Jezova and Zavorotnyy. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/341211813>

Biomarker Guided Treatment Optimization in Major Depression – Focus on Mineralocorticoid Receptor Function

Article in *Biological Psychiatry* · May 2020

DOI: 10.1016/j.biopsych.2020.02.948

CITATIONS

0

READS

26

3 authors:



Harald Murck

Philipps University of Marburg

173 PUBLICATIONS 4,450 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Lisa Lehr

4 PUBLICATIONS 4 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Maxim Zavorotnyy

Psychiatrische Dienste Aargau AG

45 PUBLICATIONS 715 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Non-invasive Brainstimulation (ECT, rTMS, tDCS) in depression and anxiety [View project](#)



Aldosterone in Depression [View project](#)

Better Baseline Neurocognitive Performance is Associated With Greater Clinical Improvement to Deep Transcranial Magnetic Stimulation in Adolescents With Treatment Resistant Depression

Michelle Thai¹, Michelle Corkrum¹, Nathan Horek¹, C. Sophia Albott², Bonnie Klimes-Dougan¹, Kelvin Lim³, and Kathryn Cullen¹

¹University of Minnesota, ²University of Minnesota, Minneapolis VA Health Care System, ³University of Minnesota, Minneapolis VA Health Care System, Defense Veterans Brain Injury Center

Background: Deep transcranial magnetic stimulation (dTMS) is a treatment for treatment-resistant depression (TRD) that can modulate cortical regions and deeper limbic structures implicated in depression. Up to 40% of adolescents do not respond to standard treatments. Failure to respond to initial treatments is associated with poorer outcomes. Accordingly, it is important to develop predictors of treatment response for different types of treatment. In this pilot study, we evaluated neurocognitive predictors of treatment response to dTMS in adolescents with TRD.

Methods: 10 adolescents with TRD (Age: M=15.60, SD=1.70) completed a 6-week daily dTMS protocol targeting the left DLPFC (10 Hz, 3.6s train duration, 20s inter-train interval, 55 trains for a total of 1980 pulses per session) using the BrainSway H1 coil. A baseline neurocognitive battery assessed attention, executive functioning, learning, memory, and processing speed. Clinical Assessments included CDRS-R, BDI-II, TEPS and SHAPS.

Results: Faster number sequencing ($r=-.66$, $p=.04$), faster letter sequencing ($r=-.65$, $p=.04$), faster number-letter switching ($r=-.59$, $p=.10$) and greater short- and long-term memory ($r: .68$ to $.77$, $p: .01$ to $.05$) were associated with greater increases in pleasure. Fewer number-letter switching errors trended toward being associated with a greater reduction in depression ($r=-.61$, $p=.09$) and increase in pleasure ($r=-.61$, $p=.08$).

Conclusions: This pilot study provides preliminary evidence of the utility of neurocognitive assessments for predicting clinical response to dTMS. Adolescents with intact cognitive abilities may benefit more from dTMS because dTMS can upregulate corticolimbic connections. Poorer cognitive abilities may indicate more pervasive neural dysfunction that TMS may not adequately address.

Supported By: MnDRIVE Brain Innovations Grant, MnDRIVE Fellowship

Keywords: Adolescent Depression, Treatment Resistant Depression, Deep TMS, Neurocognitive Predictors, Treatment Response

Biomarker Guided Treatment Optimization in Major Depression – Focus on Mineralocorticoid Receptor Function

Harald Murck¹, Lisa Lehr², and Maxim Zavorotny¹

¹University of Marburg, ²Philipps-University Marburg

Background: Markers of mineralocorticoid (MR) function appear to predict treatment outcome of patients with depression. These include low systolic blood pressure and high salivary aldosterone/cortisol ratio, which may imply peripheral MR dysfunction and a reactive increase in aldosterone secretion. Aldosterone appears to act specifically on selected brain areas, including the nucleus of the solitary tract. Reversal of these markers may reverse therapy refractoriness.

Methods: We identified a molecular target, the 11-beta-hydroxysteroid-dehydrogenase-type 2 (11-beta-HSD-2), and an enzyme inhibitor, i.e. glycyrrhizic acid, with the envisioned property. Capsules with an extract of *Glycyrrhiza glabra* (GG) containing 7-8 % of glycyrrhizic acid in a dose of 2 x 700 mg daily, was administered adjunct and open label to standard treatment. An open label standard treatment group with 56 subjects served as control. Assessments were done at baseline and approximately 2 weeks and 6 weeks after baseline.

Results: 12 subjects were treated with GG and compared to 56 patients, who were treated with standard of care. In the GG group, blood pressure increased slightly, whereas it dropped in the standard group, indication target engagement. After two weeks of treatment the primary outcome variable, the Hamilton-Depression Rating Scale (HAMD-21) change from baseline differed significantly between the groups ($p < 0.05$), indicating a therapeutic benefit of GG.

Conclusions: Alterations in autonomic and neuroendocrine control appears to affect treatment response in patients with depression. The combination of high aldosterone and low blood pressure values appears to indicate such a risk. The enzyme 11-beta-HSD-2 appears to be a target to overcome this.

Supported By: The hormone analyses were supported by APVV-15-0388

Keywords: Mineralocorticoid Receptor, Aldosterone, Blood Pressure, Major Depression

CRP is Not a Biomarker for Adolescent Depression

Qi Liu¹, Benjamin Ely¹, Sherry Simkovic¹, Rachel Wolchok¹, Yael Kufert¹, Carmen M. Alonso¹, and Vilma Gabbay²

¹Icahn School of Medicine at Mount Sinai, ²Albert Einstein College of Medicine

Background: C-reactive Protein (CRP), a common inflammatory marker has been repeatedly documented in adults with depression. Since CRP has been associated with aging related illness, we sought to examine whether CRP is associated with depression in adolescents.

Methods: Subjects were 122 psychotropic medication-free adolescents (75 females; 12-20 y.o.); 81 presented with depression, 11 behavioral disorders and 30 healthy controls (HC). Severity of depression, anxiety, anhedonia and suicidality were quantified. All had CRP blood levels analyzed. As CRP level is not normal distributed, nonparametric analysis were performed. BMI, age and sex were included as covariates when significantly correlated with CRP.

Results: In current sample, 21 adolescents (17.21%) presented high CRP level with a large range between 3 to 25 mg/L. No group differences were documented in CRP levels

Be the first to read new content
on Thieme E-Journals!



Just log in and click the alert icon to sign up.

(https://adfarm1.adition.com/redi?lid=7123711007155424263&gdpr=1&gdpr_co

3f3_p3--e_V_99zfn9_9nP_9v-

9_3BGsAkW1biALsyxwZNowihRAjCsJDqBOAUUAwtEVhA6uCnZXAT6ghYAIBUhbOBECEFGDAIABBIkIiAkAPBAIgcIBAACABUAhAARsAqsALAwCAAUA0LECKAIQJCDIgjIMCAgRIKCeysOSg

Pharmacopsychiatry 2019; 52(02): 96

DOI: 10.1055/s-0039-1679143

P2 Biomarker

Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York

Markers of therapy refractory depression and gait disturbance: is there a relationship to normal pressure hydrocephalus?

H Murck

¹ Universität Marburg, Psychiatrie und Psychotherapie, Germany

L Lehr

¹ Universität Marburg, Psychiatrie und Psychotherapie, Germany

M Zavorotnyy

¹ Universität Marburg, Psychiatrie und Psychotherapie, Germany

D Jezova

¹ Universität Marburg, Psychiatrie und Psychotherapie, Germany

T Kircher

¹ Universität Marburg, Psychiatrie und Psychotherapie, Germany

> [Institutsangaben](#)

Weitere Informationen

Auch verfügbar auf **eRef** (<https://eref.thieme.de/10.1055/s-0039-1679143>)

Publikationsverlauf / ejournals/abstract/10.1055/s-0039-1679143

Volltext

Publikationsdatum:

21. Februar 2019 (online)

Introduction:

Increased aldosterone levels cause central mineralocorticoid receptor (MR) overactivity and is associated with therapy refractoriness in patients with major depression. Heart-rate-variability, changes in slow-wave sleep and an increased salt appetite have recently been demonstrated to be predictive biomarkers for such a condition. Those patients also show increased volume of the cerebral ventricular system, potentially related to MR activation of cerebrospinal fluid secretion. This resembles mild forms of idiopathic normal pressure hydrocephalus (iNPH). Therefore, the present study was conducted to investigate possible relationships between the MR overactivity and gait disturbances, which are typical symptoms of iNPH.

Methods:

Ten inpatients with major depression were observed for six weeks. They were examined at the baseline and, after two weeks and 6 weeks of entering the observational study. MR-related biomarkers and clinical outcome were determined (saliva aldosterone and cortisol, HAMD-21, GAF). Furthermore, the gait of the patients was analyzed by measuring gait speed, cadence, step length, its coefficient of variation, with the smartphone app GaitAnalysisPro Application, which analyzes gait after mounting the device to the subject. To explore the symptoms of normal pressure hydrocephalus the idiopathic normal pressure hydrocephalus grading scale (iNPHGS) was used. A correlative analysis of the pooled dataset, combining data from all visits, was performed.

Results:

High aldosterone levels correlated to a lower gait speed ($p = 0.031$; Pearson Correlations Coefficient $R = -0.45$). Also, a low cortisol-aldosterone-ratio correlated with low gait speed ($p = 0.036$; $R = 0.44$) and a shorter step length ($p = 0.022$; $R = 0.485$). A low coefficient of variation of gait cycle correlated with higher scores in iNPHGS ($p = 0.026$; $R = -0.453$). Higher scores in iNPHGS also correlated by trend with higher scores in HAMD-21 ($p = 0.062$; $R = 0.372$) and significantly with lower scores in GAF ($p = 0.021$) as well as with lower HRV ($p = 0.050$; $R = -0.396$). No relationship to sleep parameters were detected.

Conclusion:

Low gait speed, a low coefficient of variation and a low step length seem to be marker for increased aldosterone levels, which previously have been linked to therapy refractoriness of depression as well as increased cerebral ventricular volume. If confirmed, gait disturbances in MDE may reflect iNPH like symptoms and point to therapy refractoriness.

