



# LUND UNIVERSITY

## Betydelsen av inflammation och reninangiotensin- aldosteron-systemet vid ångest och depression

Hallberg, Ludvig

2016

[Link to publication](#)

*Citation for published version (APA):*

Hallberg, L. (2016). *Betydelsen av inflammation och reninangiotensin- aldosteron-systemet vid ångest och depression*. [Doktorsavhandling (sammanläggning), Psykiatri, Lund]. Faculty of Medicine, Lund University.

*Total number of authors:*

1

### General rights

Unless other specific re-use rights are stated the following general rights apply:

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Read more about Creative commons licenses: <https://creativecommons.org/licenses/>

### Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

LUND UNIVERSITY

PO Box 117  
221 00 Lund  
+46 46-222 00 00



# Betydelsen av inflammation och renin-angiotensin-aldosteron-systemet vid ångest och depression

LUDVIG HALLBERG

MEDICINSKA FAKULTETEN | LUNDS UNIVERSITET 2016







# Betydelsen av inflammation och renin-angiotensin-aldosteron-systemet vid ångest och depression





# Betydelsen av inflammation och renin- angiotensin-aldosteron-systemet vid ångest och depression

Ludvig Hallberg MD



**LUNDS**  
UNIVERSITET

DOCTORAL DISSERTATION

by due permission of the Faculty of Medicine, Lund University, Sweden.

To be defended at Anshelmsalen, May 20, 2016, 13:00

***Faculty opponent***

Prof. Jussi Jokinen MD, PhD

Umeå University

Supervisor: Åsa Westrin, MD, PhD

Co-supervisor: Lena Brundin, MD, PhD

Co-supervisor: Shorena Janelidze, PhD

Co-supervisor: Cecilie Bay-Richter, PhD

Organization LUND UNIVERSITY	Document name	
	Date of issue 160520	
	Sponsoring organization	
Author: Ludvig Hallberg		
Title: The significance of inflammation and the renin angiotensin aldosterone system in anxiety and depression		
<p><b>Abstract</b></p> <p>A number of biological systems have been studied in the past in an attempt to find the underlying cause of anxiety and depression. The main aim of the work described in this thesis was to investigate the importance of inflammation and the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) in relation to anxiety and depression.</p> <p>The methods used ranged from studying patients to preclinical animal experiments. In <b>Study I</b> the RAAS was investigated in depressed patients who had recently attempted suicide, in depressed patients without a history of attempted suicide, and in healthy controls. Psychiatric symptoms were evaluated with the Comprehensive Psychopathological Rating Scale (CPRS). <b>Study II</b> investigated the change in plasma cytokines in depressed patients and healthy controls during an exercise test. In <b>Study III</b>, the behavioural changes of rats treated with the systemic inflammation inducer lipopolysaccharide (LPS) in combination with aldosterone were investigated. Cytokine and cytokine mRNA concentrations were measured in blood, cerebrospinal fluid (CSF) and the prefrontal cortex. Depressive-like behaviour in the animals was assessed using the forced swim test. <b>Study IV</b> investigated depression and anxiety disorders, using the Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.), in patients with suspected renal artery stenosis (RAS) in which the RAAS is overactive.</p> <p><b>The main findings</b> of this work were:</p> <p>Depressed patients who had recently attempted suicide had significantly lower levels of aldosterone than depressed patients without a history of suicide attempts and healthy controls. In the depressed patients who had recently attempted suicide, a significant, negative correlation was found between aldosterone level and the reported CPRS score.</p> <p>The baseline levels of cytokines did not differ significantly between the depressed patients and the healthy controls. The cytokines IL-6, IL-8 and TNF-<math>\alpha</math> increased during the exercise test in both the depressed patients and the healthy controls. The initial decrease in IL-6 was significantly smaller in the depressed patients than in the healthy controls.</p> <p>The treatment of rats with LPS increased the level of mRNA for IL-1<math>\beta</math> in the prefrontal cortex. Both treatment with aldosterone and LPS increased the concentration of IL-1<math>\beta</math> in CSF. Aldosterone treatment also increased the concentration of IL-6 in serum, and depressive-like behaviour. A positive correlation was found between depressive-like behaviour and IL-1<math>\beta</math>, TNF-<math>\alpha</math> and CINC-1 levels in CSF.</p> <p>Eighteen of the 59 patients invited to participate in the research study at the vascular centre agreed to undergo a psychiatric examination. Fifty-six per cent of the examined patients met the DSM-IV criteria for a current anxiety disorder, 11 % met the DSM-IV criteria for current episode of depression, and 16.6 % had attempted suicide at least once in the past.</p> <p><b>Conclusions:</b> The findings presented in this thesis support the hypotheses that dysregulation of the RAAS may be involved in the underlying cause of depression and possible also anxiety. Furthermore, it appears that RAAS induces inflammation which, in itself, appears to induce symptoms of depression.</p>		
Key words: depression, anxiety, suicide, renin, aldosterone, inflammation, exercise		
Classification system and/or index terms (if any)		
Supplementary bibliographical information		Language: Swedish
ISSN and key title 1652-8220		ISBN 978-91-7619-289-4
Recipient's notes	Number of pages	Price
	Security classification	

I, the undersigned, being the copyright owner of the abstract of the above-mentioned dissertation, hereby grant to all reference sources permission to publish and disseminate the abstract of the above-mentioned dissertation.

Signature 

Date 160414



# Betydelsen av inflammation och renin- angiotensin-aldosteron-systemet vid ångest och depression

Ludvig Hallberg MD



**LUNDS**  
UNIVERSITET

Omslagsfoto av Johan Persson

Copyright Ludvig Hallberg

Medicinska fakulteten | Lunds universitet  
Doctoral Dissertation Series 2016:63

ISBN 978-91-7619-289-4  
ISSN 1652-8220

Tryckt i Sverige av Media-Tryck, Lunds universitet  
Lund 2016



*Till mina föräldrar som alltid uppmuntrat min nyfikenhet*



# Innehåll

Originalarbeten	10
Förkortningar	11
Introduktion	15
Epidemiologi	15
Suicid och suicidförsök	15
Förekomst av depression och ångest.	15
Depression, ångest och suicidrisk	16
Samsjuklighet mellan depression, ångest och hjärt- kärlsjukdom	16
Diagnoskriterier depression och ångest	17
Biologiska system involverade i depression och ångest	18
Monoaminer	18
Stresssystemet	19
Inflammationssystemet	22
Renin-angiotensin-aldosteron systemet	23
Fysisk aktivitet och depression	28
Målsättning	29
Metoder	31
Allmänna metoder	31
Skattningsskalor och strukturerade intervjuer	31
Beteendetest djurförsök	32
Studiespecifika metoder	33
Studie I	33
Studie II	36
Studie III	39
Studie IV	42

Resultat	47
Studie I	47
Studie II	50
Studie III	52
Studie IV	57
Diskussion	65
Överaktivitet i RAAS	65
Suicidalitet och RAAS	66
RAAS i relation till inflammation	67
RAAS modifikation	68
Slutsatser	68
Framtida forskning	68
Populärvetenskaplig sammanfattning	71
Tack till	75
English Summary	77
Introduction	77
Methods	79
Results	81
Discussion	82
Conclusions	84
Referenslista	85

# Originalarbeten

Avhandlingen är baserad på följande artiklar och manuskript.

- I. HALLBERG, L., WESTRIN, A., ISAKSSON, A., JANELIDZE, S., TRASKMAN-BENDZ, L. & BRUNDIN, L. 2011. Decreased aldosterone in the plasma of suicide attempters with major depressive disorder. *Psychiatry Res*, 187, 135-9.
- II. HALLBERG, L., JANELIDZE, S., ENGSTROM, G., WISEN, A. G., WESTRIN, A. & BRUNDIN, L. 2010. Exercise-induced release of cytokines in patients with major depressive disorder. *J Affect Disord*, 126, 262-7.
- III. BAY-RICHTER, C., HALLBERG, L., VENTORP, F., JANELIDZE, S. & BRUNDIN, L. 2012. Aldosterone synergizes with peripheral inflammation to induce brain IL-1beta expression and depressive-like effects. *Cytokine*, 60, 749-54.
- IV. HALLBERG, L., GOTTSATER, A., ISAKSSON, A. & WESTRIN, A. Depression and anxiety in patients with suspected renal artery stenosis. Manuskript.

Artiklar tryckta med tillstånd ifrån tidskrifterna.



# Förkortningar

5-HIA	5-Hydroxiindolacetat, Serotonin metabolit
5-HT	5-hydroxytryptamine, Serotonin
11 $\beta$ -HSD <sub>2</sub>	11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenas typ 2
ACE	Angiotensin-Converting Enzyme, Angiotensinkonverterande enzym
ACTH	Adrenocorticotropic Hormone, Adrenokortikotropt hormon
ADH	Antidiuretiskt hormon
Ang I	Angiotensin I
Ang II	Angiotensin II
BSA	Brief Scale of Anxiety
CeA	Centrala kärnan i amygdala
CIDI	Composite International Diagnostic Interview
CINC-1	Cytokine-Induced Neutrophil Chemoattractant-1
CRH	Cortico Releasing Hormone, Kortikotropinfrisättande hormon
CRP	C-reaktivt protein
CPRS	Comprehensive Psychopathological Rating Scale
CSF	Cerebrospinal Fluid, Ryggmärgsvätska
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
FST	Forced Swim Test
GAD	Generalized Anxiety Disorder, Generaliserat ångestsyndrom
GR	Glukokortikoidreceptorer
HAD	Hospital Anxiety and Depression Scale
HPA	Hypothalamus, Pituitary gland och Adrenal gland Hypotalamus, hypofys och binjure

ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
IDO	Indoleamine 2,3 dioxygenase
IFN	Interferon
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IL	Interleukin
LPS	Lipopolysackarid
MADRS	Mongomery Åsberg Depression Rating Scale
MADRS-S	Mongomery Åsberg Depression Rating Scale Självskattning
MHPG	3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol, Noradrenalin metabolit
M.I.N.I	Mini Internationell Neuropsykiatrisk Intervju
MR	Mineralkortikoidreceptorer
mRNA	messenger-RNA
MOAI	Monoamine oxidase inhibitors, Monooxidas hämmare
NA	Noradrenalin
NaCl	Natriumkloridlösning
NAS	Njurartärstenos
NASP	Nationellt centrum för suicidforskning och prevention av psykisk ohälsa
NF- $\kappa$ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NMDA	N-metyl-D-aspartat
NTS	Nucleus of solitary tract, Solitärkärnan
PCR	Polymerase Chain Reaction, Polymeraskedjereaktion
PTRA	Percutaneous transluminal renal angioplasty
PVN	Paraventricular nucleus, Paraventrikulära kärnorna
RAAS	Renin-angiotensin-aldosteron systemet
RIA	Radioimmunologisk analys
RNA	Ribonucleic acid, Ribonukleinsyra

RPE	Rating of Perceived Exertion
RT	Reverse transcriptase
SAA	Serum Amyloid A
SD	Standard deviation
SEM	Standard Error of the Mean
sICAM	Soluble inter-cellular adhesion molecule
SIS	Suicide Intent Scale
SPIFA	Strukturerad Psykiatrisk Intervju För Allmänläkare
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSRI	Selective Serotonine Reuptake Inhibitors Selektiva serotonin återupptags hämmare
sVCAM	Soluble vascular cell adhesion molecule
TCA	Tricykliska antidepressiva
TNF	Tumörnekrosfaktor
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor Vaskulär endotelcellstillväxtfaktor

Lista över förkortningar som används i avhandlingen. Då det finns en svensk etablerad term är denna angiven. Den engelska termen är angiven för att kunna härleda förkortningen.



# Introduktion

## Epidemiologi

### **Suicid och suicidförsök**

Enligt statistik från Världshälsoorganisationen tar årligen 800 000 individer sitt liv och ytterligare 10-20 gånger fler individer gör ett suicidförsök (WHO, 2014). I en rapport framtagen av Nationellt centrum för suicidforskning och prevention av psykisk ohälsa (NASP), vilken baserades på statistik från Socialstyrelsen för åren 1980-2014, sågs en fallande trend för suicid i Sverige förutom i åldersgruppen 15-24 år (NASP, 2016).

Det kan ibland vara svårt att avgöra om ett dödsfall beror på suicid eller inte. Av den anledningen definieras suicid som säkra eller osäkra. Vid ett säkert suicid råder det inga tvivel om avsikten bakom dödsfallet. Termen osäkert suicid används när osäkerhet föreligger kring uppsåtet. Exempel på dödsfall som under vissa omständigheter kan ses som osäkert suicid är t ex en narkotikaöverdos eller en singelolycka med bil. Summan av säkra och osäkra suicid i Sverige har sjunkit ifrån 2 237 år 1980 till 1 524 år 2014. Om man däremot ser på de senaste åren, 1997-2014, har minskningen avtagit. Män är klart överrepresenterade och stod år 2014 för 68 % av alla säkra eller osäkra suicid, enligt statistik ifrån NASP.

### **Förekomst av depression och ångest.**

Det finns flera studier som har undersökt förekomsten av depression och ångest. Enligt en stor nationell studie från USA var livstidsprevalensen för depression 16,6 % och för ångestsyndrom 28,8 % (Kessler et al., 2005a). Tolvmånaders prevalensen för depression var 6,7 % och för ångestsyndrom 18,1 % (Kessler et al., 2005b).

Den svenska Lundbystudien är en longitudinell undersökning av den psykiska hälsan i den allmänna befolkningen och dess första fältundersökning genomfördes 1947. I Lundbystudien år 1957 uppfyllde 124 av de då totalt 2 612 inkluderade individerna diagnoskriterierna för depression, vilket svarar till en punktprevalens på

4,7 % (Rorsman et al., 1990). För Lundbystudiens tidsperiod 1972-1997 var den beräknade livstidsprevalensen för depression 22,5 % för män och 30,7 % för kvinnor (Mattisson et al., 2005). I en senare svensk studie kartlades förekomsten av ångestsyndrom och depression genom brevenkäter och man fann då en punktprevalens för depression som var 5,2 %. För generaliserad ångest (GAD), som var det vanligast förekommande ångestsyndromet, fann man en punktprevalens på 8,8 % (Johansson et al., 2013).

## **Depression, ångest och suicidrisk**

Genom en s k psykologisk obduktion kan omständigheterna som föregått ett suicid studeras i efterhand. En systematisk översikt över publicerade studier som baserats på psykologisk obduktion fann att 91 % av patienterna som tagit sitt liv hade haft en psykisk sjukdom och att depression var den i särklass vanligaste av dessa (Cavanagh et al., 2003).

Författarna till en metaanalys från år 2000 fann att för patienter som varit inlagda på sjukhus efter ett suicidförsök i samband med en depression var livstidsprevalensen för suicid 8,6 % (Bostwick and Pankratz, 2000). Livstidsrisken för deprimerade patienter som varit inlagda men inte gjort ett suicidförsök var 4 %.

Även ångestsjukdomar och ångest som symptom har visats vara förknippade med en ökad suicidrisk (Kanwar et al., 2013, Fawcett et al., 1990).

## **Samsjuklighet mellan depression, ångest och hjärt- kärlsjukdom**

Hypertoni och ischemisk hjärt-kärlsjukdom är folksjukdomar i Sverige. Cirka två miljoner svenskar lider av hypertoni (Kahan et al., 2013) och hypertoni anses utgöra ett stort hot mot folkhälsan. Det är en stor riskfaktor för hjärtkärlsjukdom men även för demens och njursjukdom.

Flera studier har påvisat ett samband mellan hjärtkärlsjukdom och depression. Depression är en riskfaktor för ökad mortalitet hos patienter med hjärt-kärlsjukdom (Barth et al., 2004), och deprimerade patienter har en 2-4 gånger ökad risk att utveckla hjärtkärlsjukdom någon gång under livet (Penninx et al., 2001). Man kan även konstatera att depression är överrepresenterat hos patienter med ischemisk hjärtsjukdom. I en studie uppvisade 47 % av patienterna med ischemisk hjärtsjukdom depressiva symptom (Changoor and Hutchinson, 2013).

Vidare tycks deprimerade äldre patienter ha en högre förekomst av hypertoni och hjärtkärlsjukdom än patienter med annan psykisk sjukdom (Adamis and Ball, 2000).

Omvänt har en studie visat att patienter med hypertension har en mer än dubbelt så stor förekomst av depression (Rabkin et al., 1983).

## Diagnoskriterier depression och ångest

Diagnostik av psykisk sjukdom är vanligen baserad på en klinisk intervju, inhämtande av uppgifter från anhöriga samt tidigare journaluppgifter. I dagsläget finns det inga prover eller biologiska undersökningar som har tillräcklig sensitivitet och specificitet för användning inom klinisk psykiatrisk verksamhet. Provtagning kan dock användas för att utesluta somatisk sjukdom (Lakhan et al., 2010, Singh and Rose, 2009).

För närvarande finns två parallella diagnossystem inom psykiatri: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD) samt Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM). Dessa två system har utvecklats parallellt och har med åren närmats sig varandra avsevärt. Inom den kliniska psykiatri i Sverige används version 10 av ICD (ICD-10). I Nordamerika samt i forskningssammanhang används oftast DSM-systemet.

Den första versionen av DSM gavs ut 1952. DSM-III Reviderad (-R) gavs ut 1987. Mellan år 1994 och 2013 användes DSM-IV och dess reviderade version, DSM-IV-TR, som kom år 2000). Den senaste versionen DSM-5 gavs ut 2013 och finns som svensk översättning sedan år 2014.

DSM-IV involverar ett multiaxialt diagnossystem bestående av fem axlar:

1. Klinisk symptombild
2. Personlighetsstörning
3. Fysiska sjukdomar
4. Social situation
5. Bedömning av patients globala psykiska, sociala och yrkesmässiga funktionsförmåga

I DSM-5 har axelsystemet avskaffats.

För att ställa diagnosen depression enligt DSM-IV krävs att personen i fråga antingen känner sig nedstämd eller att minskat intresse/glädje förekommer större delen av dagen eller under en ihållande period av minst två veckor. Övriga depressiva symptom är: betydande vikt upp eller nedgång, sömnstörning (för lite eller mycket), psykomotorisk agitation eller hämning, brist på energi, skuld känslor, sänkt koncentrationsförmåga och återkommande tankar på döden. Totalt måste fem av nio depressiva symptom förekomma. För att kunna ställa diagnosen är det viktigt att symptomen orsakar ett signifikant lidande eller resulterar i en kraftigt sänkt funktionsnivå. Symptomen får inte vara orsakade av medicinering, droger eller en

kroppslig åkomma. Symptomen får inte heller förklaras av en sorgereaktion. I DSM-5 är kravet på avsaknad av sorgereaktion borttaget.

Dystymi är en form av lågradig nedstämdhet med mer än två års duration. Tillståndet skall inte förklaras av en kronisk depression eller av en depression i partiell remission. I DSM-5 har diagnosen dystymi och kronisk depression bildat begreppet ihållande depression.

Flera tillstånd ryms under huvudgruppen ångesttillstånd. Tydligast symptombild av dessa har paniksyndrom, social fobi, specifik fobi, tvångssyndrom och posttraumatisk stressyndrom. Den vanligaste typen av ångestsjukdom är generaliserat ångestsyndrom, GAD (Johansson et al., 2013), vilket kännetecknas av en diffus och långvarig ångestbenägenhet. På detta kommer även en kroppslig anspänning och olika kroppsliga manifestationer av ångest.

## Biologiska system involverade i depression och ångest

Många olika biologiska system har undersökts för att finna den biologiska bakomliggande förklaringen till psykisk sjukdom. Flera olika system är troligen involverade i patofysiologin bakom såväl depression, ångest som suicidalt beteende. Betydelsen av monoaminer, inflammation, stressystemet och renin-angiotensin-aldosteron systemet (RAAS) beskrivs i detta avsnitt. Det finns även ett antal andra biologiska system av betydelse, men som det inte finns utrymme till att beskriva närmare i denna avhandling.

### **Monoaminer**

Betydelsen av monoaminer för uppkomsten av depression och ångestsjukdomar har varit en teori i över 50 år. 1965 publicerade Joseph Schildkraut en översiktsartikel som belyste betydelsen av noradrenalin (NA) för uppkomsten av depression (Schildkraut, 1965). Två år senare, 1967, publicerade Alec Coppen en artikel som belyste serotonin (5-HT) som varandes av betydelse (Coppen, 1967). Då både serotonin och noradrenalin klassificeras som monoaminer kom teorin att kallas för "the monoamine theory of depression".

Schildkraut byggde sin hypotes på att de antidepressiva läkemedlen tillhörande grupperna monooxidshämmare (monoamine oxidase inhibitors, MOAIs) och tricykliska antidepressiva (tricyclic antidepressants, TCA) utövade sina antidepressiva effekter genom att öka nivån av NA i hjärnan. Vidare hade ämnet reserpin visat sig ha en depressiv effekt på vissa individer samtidigt som det sänkte nivåerna av NA i hjärnan. Den depressiva effekten av reserpin kunde motverkas genom förebyggande behandling med MOAI och TCA.



Tryptofan är en essentiell aminosyra och en prekursor till 5-HT. Alec Coppen hade tidigare visat att samtida behandling med tryptofan kunde förstärka den antidepressiva behandlingseffekten av MAOI. Med stöd av detta argumenterade Coppen för att 5-HT var involverat i uppkomsten av depression.

Cellkropparna tillhörande de noradrenerga neuronerna i hjärnan är lokaliserade till locus coeruleus och inom laterala tegmentum kärnan i ventrala pons och medulla oblongata. Noradrenerga neuron i locus coeruleus projicerar till flera hjärnområden såsom cortex, subcortex, limbiska systemet, cerebellum, medulla oblongata samt ryggmärgen. Från ventrala pons projicerar NA neuron till hypotalamus, hjärnstam och ryggmärg.

Serotonerga neurons cellkroppar är belägna i hjärnstammen i dorsala och mediala nucleus raphe. Serotonerga neuron projicerar till limbiska strukturer (t ex hippocampus och amygdala) och basala ganglierna. För 5-HT- och NA-systemet finns det både pre- och postsynaptiska receptorer. Det finns tre typer av NA-receptorer:  $\beta$ -adrenerga,  $\alpha_1$ -adrenerga och  $\alpha_2$ -adrenerga.  $\beta$ - och  $\alpha_1$ -receptorerna är lokaliserade postsynaptiskt och verkar excitatoriskt. De  $\alpha_2$ -adrenerga receptorerna är inhibitoriska och lokaliserade både pre och postsynaptiskt (Ressler and Nemeroff, 2000). Det finns ett stort antal 5-HT receptorer, och för nuvarande har 14 st 5-HT receptorer identifierats (Kohler et al., 2016).

Mer än 50 år efter Joseph Schildkraut och Alec Coppens initiala hypotesformulering är det nu allmänt accepterat att avvikelser i serotonin- och noradrenalinssystemen är involverade i den bakomliggande patofysiologin för ångest och depression.. Eliminering av tryptofan från kosten resulterar i sänkta 5-HT nivåer. Fenylalanin är också en essentiell aminosyra och om den elimineras från kosten sänks nivåerna av NA och dopamin. I en stor metaanalys kom fram till att sänkning av monoaminer genom eliminering av essentiella aminosyror resulterade i depressiva symptom hos individer med en hereditet för depression samt hos omedicinerade patienter som haft en tidigare depression. Hos friska individer utan tidigare depressioner påverkades dock inte stämningläget (Ruhe et al., 2007).

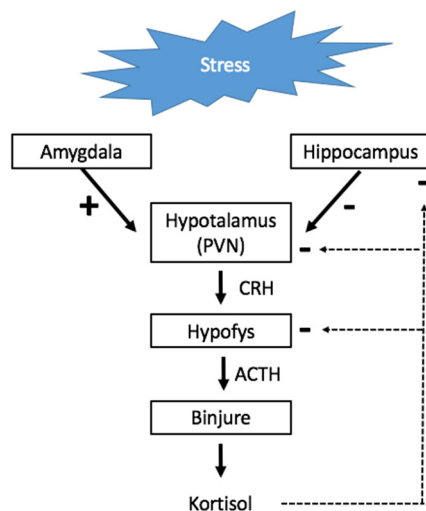
Flera studier har visat på sänkta nivåer av serotoninmetaboliten 5-hydroxiindolacetat (5-HIA) i CSF vid suicid (Asberg et al., 1976, Traskman et al., 1981). Även låga nivåer av NA-metaboliten 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG) är påvisat hos patienter med suicidtankar (Garvey et al., 1994).

## **Stresssystemet**

Då en individ upplever fara eller stress aktiveras kroppens stress-system som består av hypotalamus, hypofys och binjurebark (hypotalamus, pituitary gland och

adrenal gland, HPA). Vid aktivering frisätts kortikotropinfrisättande hormon (cortico releasing hormone, CRH) från hypotalamus vilket stimulerar hypofysen att frisätta adrenokortikotrop hormon (adrenocorticotropic hormone, ACTH) och  $\beta$ -endorfin. ACTH stimulerar binjurebarken att frisätta bland annat kortisol (kortikosteron hos råttor) och aldosteron. Vid stress frisätts även anti-diuretiskt hormon (ADH) även benämnt arginin vasopressin (AVP) ifrån hypotalamus. ADH frisättning resulterar i en vätskesparande effekt i njurarna och vasokonstriktion. ADH kan även inducera ACTH frisättning.

Kortisol är ett steroidhormon och binder huvudsakligen till glukokortikoidreceptorer (GR) och mineralokortikoidreceptorer (MR). Frisättningen av kortisol skiljer sig över dygnet och är som lägst på natten och som högst vid uppvaknandet. Kortisol fyller en viktig funktion i kroppen då det bland annat aktiverar glukoneogenesen samt antiinflammatoriska signalvägar. Regleringen av HPA-systemet sker till stor del genom negativ feedback då kortisol binder till GR och MR i hypofys, hypotalamus och hippocampus vilket dämpar aktivitet i HPA-axeln (Bao et al., 2008). Detta feedbacksystem kan användas för att testa reaktiviteten i HPA-systemet. Vid ett så kallat dexametason-test administreras den kortisolliknande substansen dexametason till försökspersonen på kvällen. Dagen efter mäts nivåerna av kortisol. Om HPA-axeln fungerar normalt har den endogena produktionen av kortisol då blivit hämmad och försökspersonen uppvisar låga morgonnivåer av kortisol (Carroll et al., 1981).



**Figur 1 HPA-systemet**

Vid stress/fara aktiveras HPA systemet som består av hypotalamus, hypofys och binjurebark (hypothalamus, pituitary gland och adrenal gland, HPA). Kortikotropinfrisättande hormon (cortico releasing hormone, CRH). Adrenokortikotrop hormon (adrenocorticotropic hormone, ACTH).

Störningar i HPA-axeln är ett välkänt fenomen vid depression (Bao et al., 2008). Vid kronisk och atypisk depression är en hypotes att regleringen av HPA-axeln skiftar ifrån CRH-kontroll till ADH-kontroll (O'Keane et al., 2012). Vid dexametason-test är nedsatt hämning av den endogena kortisolproduktionen ett vanligt fynd hos deprimerade patienter (Carroll et al., 1981). En studie visade att för 32 % av de deprimerade patienterna inträffade ingen hämning av den endogena kortisolproduktionen när dexametason-test genomfördes, dvs att det negativa feedbacksystemet i HPA-axeln var avtrubbat (Fountoulakis et al., 2008).

Initialt vid en stressrespons fyller de förhöjda kortisolnivåerna en viktig fysiologisk funktion. Kroniskt förhöjda nivåer av kortisol kan däremot ha en skadlig effekt. Hos råttor resulterar de förhöjda kortikosteronnivåerna vid stress redan efter ett par dagar i en nedsatt neuronfunktion i hippocampus. Exponering över ett par veckor resulterar i förlust av dendriter, och stress under ett par månaders tid orsakar förlust av neuron (Sapolsky, 1996).

Vid depression har flera studier visat på reducerad hippocampusvolym. En metaanalys över deprimerade patienter undersökta med magnetkamera fastställde att deprimerade patienter hade en 8-10 % mindre hippocampusvolym jämfört med friska kontrollpersoner (Videbech and Ravnkilde, 2004).

Barndomstrauman såsom fysiskt våld eller sexuella övergrepp utgör en riskfaktor för framtida depression, suicid och ångest samt för alkohol- och drogmissbruk i vuxenlivet (Chapman et al., 2004, Dube et al., 2001, Rajalin et al., 2013). Vid sådant barndomstrauma ses en påverkan på HPA-systemet som liknar den vid depression och denna påverkan kvarstår in i vuxenlivet. Därför är en hypotes att ett redan påverkat HPA-system utgör en riskfaktor för framtida depression (Nemeroff, 2016).

En djurmodell för barndomstrauma har skapats vilken består av att råttungarna separeras ifrån mödrarna. Denna separation resulterar i att djuren vid senare exponering för stress uppvisar betydligt högre nivåer av ACTH och kortikosteron jämfört med kontroller (Plotsky et al., 2005). I vuxet tillstånd uppvisar dessa djur depressiva symptom mätt som en minskad konsumtion av sackaros vilket indikerar anhedoni (Huot et al., 2001).

Flera studier talar för att deprimerade patienter som gjort ett suicidförsök kan ha en annorlunda HPA-aktivitet än deprimerade patienter som inte gjort ett suicidförsök. Traskman-Bendz med kollegor kunde 1992 visa att deprimerade patienter som gjort ett suicidförsök hade lägre nivåer av CRH i ryggmärgsvätskan (cerebrospinal fluid, CSF) jämfört med patienter med andra diagnoser än depression som gjort ett suicidförsök (Traskman-Bendz et al., 1992). Vid uppföljning sju månader efter suicidförsöket var nivåerna av CRH i CSF fortfarande låga trots en klinisk förbättring (Westrin et al., 2001). Vidare är det visat att i patienter med en affektiv

sjukdom som gjort ett suicidförsök kan en frånvaro av suppression av kortisol i dexametason-testet eventuellt förutsäga framtida suicidförsök (Jokinen et al., 2007).

## **Inflammationssystemet**

"Sickness behaviour" eller sjukdomskänsla uppträder under en infektion. Sjukdomskänslan innefattar bland annat trötthet, aptitförlust, minskat sexuellt intresse, koncentrationssvårigheter och sömnsvårigheter (Hart, 1988). Flera av dessa symptom stämmer överens med symptomen vid en depression. En välkänd hypotes är att sjukdomskänslan orsakas av proinflammatoriska cytokiner som påverkar hjärnan (Dantzer and Kelley, 1989). En tidig artikel som föreslog ett samband mellan depression och inflammation publicerades 1991 av R.S. Smith (Smith, 1991). Sedan dess har mycket forskning gällande depression inriktats på denna hypotes (Dantzer et al., 2008, Raison and Miller, 2011).

I ett stort antal studier har det visats att patienter med depression har förhöjda nivåer av cytokiner, dock har även studier som visat normala eller låga nivåer publicerats. Dessa studier sammanfattades i en metaanalys och slutsatsen var att de proinflammatoriska cytokinerna interleukin (IL)-6 och tumörnekrosfaktor (TNF)- $\alpha$  var förhöjda vid depression (Dowlati et al., 2010).

Det finns ytterligare fynd som stödjer hypotesen att inflammation är involverat i den bakomliggande genesen till depression. Enligt en studie på behandling av hepatit C med den proinflammatoriska cytokinen interferon-alfa inducerades ångest och depressiva symptom (Bonaccorso et al., 2001). De depressiva symptomen korrelerade positivt med ökning av IL-6 och IL-8. Emellertid är en majoritet av studierna rörande depression och inflammation tvärsnittsstudier. För att kunna fastställa ett kausalsamband mellan depression och förhöjd inflammatorisk aktivitet krävs longitudinella studier men endast ett fåtal sådana studier är utförda. En av dessa studier visade att förhöjda nivåer av IL-8 hos äldre kunde förutsäga insjuknande i mild till måttlig depression (Baune et al., 2012).

Tryptofan kan även brytas ned till kynurenin av enzymet indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO). Proinflammatoriska cytokiner såsom interferon- $\gamma$  och TNF- $\alpha$  kan öka enzymaktiviteten av IDO och därmed öka nivåerna av kynurenin som metaboliseras vidare först till 3-hydroxikynurenin och därefter till quinolinsyra. Quinolinsyra verkar som en N-metyl-D-aspartat (NMDA) receptor agonist och förhöjda nivåer av quinolinsyra har blivit kopplat till suicidalt beteende. Vidare ses även antidepressiva effekter av ketamin som är en NMDA antagonist (Dantzer and Walker, 2014).

För att studera hur inflammation kan inducera depression har en djurmodell tagits fram. Den är baserad på att försöksdjuren injiceras med lipopolysackarid (LPS),

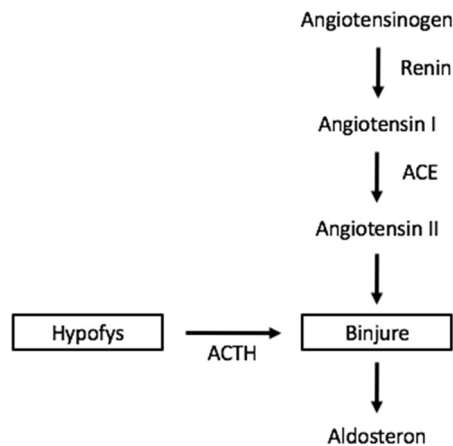
vilket är ett ytantigen på *E. coli* bakterier, vilket resulterar i en systemisk inflammation. En studie visade att LPS behandling inducerar depressiva symptom mätt med forced swim test (FST). De depressiva symptomen kvarstod även efter sjukdomskänslan med tillhörande nedsatt motoraktivitet hade upphört. Särskilt intressant i den studien är att en grupp försöksdjur behandlades även med minocycline som har en antiinflammatorisk effekt och kan hämmaIDO. Dessa försöksdjur utvecklade ej depressivt beteende (O'Connor et al., 2009).

Flera studier har blivit publicerade som berör sambandet mellan inflammation och suicidalt beteende. En översiktsartikel ifrån 2013 granskade 42 artiklar kring inflammation och suicidalitet. Författarna drog slutsatsen att det fanns ett samband mellan suicidalt beteende och inflammation. Exempel på substanser som associerades med suicidalt beteende var IL-2, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  och VEGF (Serafini et al., 2013). En studie från Lund har visat att suicidala patienter med depression uppvisar högre nivåer av IL-6 i CSF jämfört med friska kontrollpersoner (Lindqvist et al., 2009).

## **Renin-angiotensin-aldosteron systemet**

### *Normalfysiologi*

Renin-angiotensin-aldosteron systemet (RAAS) reglerar salt-vätskebalansen i kroppen och har därmed en central roll i blodtrycksregleringen (Ferrao et al., 2014, Basso and Terragno, 2001). Angiotensinogen syntetiseras i levern och frisätts till blodet. Vid minskat blodflöde genom njuren frisätts renin vilket omvandlar angiotensinogen till angiotensin I (Ang I). Endotelceller framförallt i lungvävnad frisätter angiotensinkonverterande enzym (Angiotensin-Converting Enzyme, ACE) vilket omvandlar angiotensin I till angiotensin II (Ang II). Ang II har en rad olika fysiologiska effekter bl a aktivering av det sympatiska nervsystemet vilket resulterar i vasokonstriktion. Ang II stimulerar hypofysens bakre lob att frisätta antidiuretiskt hormon (ADH) vilket har en vätskesparande effekt. Ang II stimulerar celler i binjurebarkens zona glomerulosa att frisätta steroidhormonet aldosteron som binder till mineralokortikoidreceptorer (MR). Aldosteron frisätts också av ACTH. Aldosteron ökar också re-absorption av natrium och kloridjoner i njuren samt utsöndring av kaliumjoner med en efterföljande vätskesparande effekt. Aldosteron stimulerar även arterioler direkt vilket leder till vasokonstriktion med en efterföljande blodtrycksstegring.



**Figur 2 Renin-angiotensin-aldosteron systemet**

Renin-angiotensin-aldosteron systemet (RAAS) reglerar salt-vätskebalansen i kroppen och har därmed en central roll i blodtrycksregleringen. Aldosteronfrisättning kan både induceras både av angiotensin II och av ACTH. ACE: Angiotensin-Converting Enzyme. ACTH: adrenokortikotropt hormon (adrenocorticotrophic hormone).

MR är huvudsakligen lokaliserade i cytoplasman där de vid aktivering tar sig in i cellkärnan och inducerar transkription av sina målgener. MR finns i stora delar av kroppen inklusive hjärnan. I hjärnan ses högst MR-koncentration i hippocampus medan däremot GR är mer spridd (Klok et al., 2011). Till MR kan både kortisol och aldosteron binda. MR har en 10 gånger högre affinitet för kortisol och kortikosteron jämfört med GR. Kortisol förekommer i högre nivåer i kroppen och förhållandet mellan kortisol och aldosteron är 500:1. Den höga affiniteten kombinerat med den rikliga förekomsten av kortisol innebär att de flesta MR är ockuperade av kortisol även vid låga stressnivåer. Detta skiljer sig ifrån GR som enbart uppvisar en högre ockupationsgrad vid förhöjda kortisolnivåer såsom vid uppvaknandet och vid stressfulla situationer.

I vissa områden i hjärnan finns både MR och enzymet 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenas typ 2 ( $11\beta$ -HSD<sub>2</sub>) vilket omvandlar kortisol och kortikosteron till inaktiva former och därmed tillåter att aldosteron binder till receptorn. Områden i hjärnan där detta enzym förekommer är solitärkärnan (nucleus of solitary tract, NTS), paraventrikulära kärnorna i hypotalamus (PVN) och centrala kärnan i amygdala (CeA) (Gomez-Sanchez, 2011) Se figur 3.

I hippocampus finns det förutom intracellulära MR även membranbundna MR. I hippocampus förekommer dock ej  $11\beta$ -HSD<sub>2</sub>. Trots detta är aldosteron aktivering möjlig pga en förhållandevis högre affinitet för aldosteron jämfört med kortikosteron. Membranbundna MR aktiveras först vid högre nivåer av

kortikosteron och är därför inte aktiverade i normaltillståndet till skillnad från MR utan aktiveras troligen enbart vid stress (Karst et al., 2005).

### *Njurartärstenos*

Vid njurartärstenos (NAS) föreligger det en förträngning på njurartären vilket orsakar ett lägre blodtryck inne i njuren vilket stimulerar RAAS (DeForrest et al., 1982). Redan år 1934 visades det att en partiell obstruktion av njurartären resulterade i ett förhöjt blodtryck (Goldblatt et al., 1934).

Njurartärstenos till följd av ateroskleros är vanligast (90 %) och drabbar huvudsakligen personer över 50 år. Näst vanligast är njurartärstenos till följd av fibromuskulär dysplasi och utgör 10 % av patienterna med NAS. NAS beräknas föreligga hos 1-5 % av alla patienter med hypertoni (Davis et al., 1979). NAS kan föreligga oupptäckt under många års tid och orsaka hypertension och/eller nedsatt njurfunktion (Caps et al., 1998). NAS som leder till svårbehandlad hypertension eller njurskada kan behandlas med percutaneous transluminal renal angioplasty (PTRA) (Gruntzig et al., 1978) med inläggning av en stent i njurartären. Vid utredningen av misstänkt NAS genomgår patienten oftast en magnetkameraangiografi. Om detta inger misstanke om NAS remitteras patienten för vidare undersökning med angiografi och om tryckgradienten över njurartärstenosen är > 10 mmHg genomgår patienten PTRA med stentinläggning. Behandlingseffekten av patienter med NAS med PTRA har emellertid inte varit övertygande (Wheatley et al., 2009, Cooper et al., 2014).

### *Betydelsen vid depression, ångest och suicidalitet*

I en studie undersöktes 10 patienter med hyperaldosteronism med en strukturerad klinisk intervju (Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, SCID I) för att fastställa förekomsten av DSM-IV diagnoser. I patientgruppen var GAD vanligast och 6/10 patienter erhöll diagnosen (Sonino et al., 2006). I en större studie från samma forskargrupp kartlades förekomsten av DSM-IV diagnoser i tre grupper: patienter med hyperaldosteronism, essentiell hypertension respektive normotensiva patienter (Sonino et al., 2011). I gruppen med hyperaldosteronism var återigen GAD vanligast (30,4 %), att jämföra med essentiell hypertoni (8,7 %). I gruppen med hyperaldosteronism var förekomsten av ångestsyndrom 52,2 %. Hyperaldosteronism medför även sänkt livskvalitet, vilken dock kan förbättras efter en adenektomi (Sukor et al., 2010). I en studie med 65 deprimerade patienter visade sig aldosteronnivåerna vara signifikant högre jämfört med de friska kontrollpersonerna (Emanuele et al., 2005).

Råttor behandlade med kontinuerlig aldosteroninfusion under två veckor med hjälp av osmotiska minipumpar inopererade under huden uppvisade en ökad förekomst av ångest mätt i open field test och elevated plus maze (Hlavacova and Jezova, 2008). Råttor behandlade på samma sätt med aldosteron visade ökade depressiva

symptom mätt i FST och sucrose preference test. Utöver de beteendemässiga förändringarna sågs ett ökat genuttryck i hippocampus för gener involverade i bland annat inflammation och glutamaterg aktivitet (Hlavacova et al., 2012). I en studie studerades råttor som genomgick tryptofan restriktion för att inducera depressiva symptom. Stegrade nivåer av aldosteron sågs redan efter sju dagar, jämfört med stegringen av kortikosteron som inträffade efter 14 dagar. Författarna argumenterar för att aldosteron kan vara en tidig markör för utveckling av depressiva symptom (Franklin et al., 2012).

Som nämnts förekommer det i PVN och CeA både MR och  $11\beta$ -HSD<sub>2</sub> vilket tillåter selektiv aldosteron aktivering. PVN och CeA är områden som anses viktiga för stressreglering och depression (Holsboer, 2000, Gold and Chrousos, 2002). NTS, som signalerar till PVN och CeA och även är känsligt för aldosteron, påverkas vid vagusstimulering vilket har visats ha en effekt vid terapirefraktär depression (Nemeroff et al., 2006). Vidare visar djurstudier att det finns membranbundna MR i hippocampus som har en lägre affinitet för kortikosteron i förhållande till aldosteron. Den ändrade affiniteten tillåter troligen aldosteron aktivering trots en avsaknad av  $11\beta$ -HSD<sub>2</sub> (Karst et al., 2005).

Postmortem studier har visat att patienter med depression som suiciderat har färre MR-receptorer i hippocampus och prefrontalcortex (Lopez et al., 1998). Lägre nivå av MR i hippocampus har även visats hos deprimerade patienter som inte dog genom suicid (Klok et al., 2011). Råttor behandlade med fluoxetin under 8 veckors tid resulterade i en ökning av MR i hippocampus (Brady et al., 1992). Behandlingsförsök av premenstruellt syndrom har gjorts med MR-antagonisten spironolakton. Behandlingen reducerade symptomen hos mer än 80 % av patienterna (O'Brien et al., 1979).

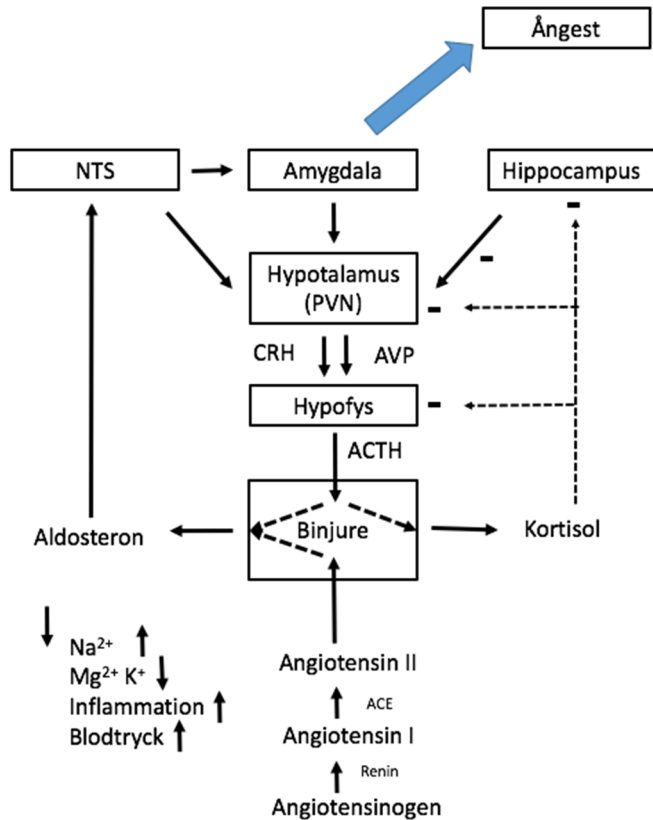
### *RAAS-inflammation*

Flera studier har undersökt sambandet mellan RAAS och inflammationssystemet. Behandling med Ang II kan öka leukocyters adhesionsförmåga till kärlväggen hos råttor (Alvarez et al., 2004). Vidare har det visats att humana glatta muskelceller utsatta för Ang II överuttrycker "nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells" (NF- $\kappa$ B) och frisätter IL-6 (Kranzhofer et al., 1999). Monocyter stimulerade med Ang II ökar sin produktion av TNF- $\alpha$  (Hahn et al., 1994). Även aldosteron behandling kan öka uttrycket av NF- $\kappa$ B i njurceller (Queisser et al., 2011).

Behandling med angiotensin-II-receptorblockeraren valsartan kan förhindra bildandet av reaktiva syreradikaler (reactive oxygen species, ROS) samt undertrycker aktiviteten hos NF- $\kappa$ B vilket sammantaget resulterar i en hämmande effekt på den inflammatoriska aktiviteten (Dandona et al., 2003). Aldosteron ökar Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1) och endotelcell leukocyt adhesion.



Denna aktivering kan hämmas genom blockad av MR med spironolakton (Caprio et al., 2008). Sammanfattningsvis tyder mycket på att aktivering av RAAS inducerar inflammation men att denna induktion kan motverkas av olika RAAS-påverkande farmaka.



**Figur 3 HPA och RAAS**

HPA (hypotalamus, pituitary gland och adrenal gland) och Renin-angiotensin-aldosteron systemets (RAAS) interaktion och reglering. Solitärkärnan (nucleus of solitary tract, NTS), paraventrikulära kärnorna i hypotalamus (PVN). CRH: Kortikotropinfrisättande hormon (cortico releasing hormone). ACTH adrenokortikotropt hormon (adrenocorticotrophic hormone). AVP: arginin vasopressin.

## Fysisk aktivitet och depression

Träning anses hälsofrämjande och rekommenderas ofta inom sjukvården som ett sätt att förebygga sjukdom och främja psykiskt välbefinnande. Effekten av träning på depressiva besvär utvärderades i en Cochrane-rapport 2013 (Cooney et al., 2013). Rapporten är baserad på 39 artiklar och visade att fysisk träning minskade depressiva symptom och förbättrade livskvalitén. Effekten var jämförbar med effekten av kognitiv beteendeterapi och av antidepressiva läkemedel vid lindrig till måttlig depression. En övervägande andel av de studier som undersökt sambandet mellan fysisk aktivitet och depression är baserade på konditionsträning. Styrketräning har däremot också visat sig ha en antidepressiv effekt (Cooney et al., 2013, Singh et al., 2005).

Verkningsmekanismen bakom hur fysisk aktivitet kan ha en antidepressiv effekt är inte fastställd. Flertalet av de ovan beskrivna biologiska systemen som är involverade vid depression påverkas troligen i positiv riktning av fysisk aktivitet. Inflammationssystemet är involverat både i den omedelbara effekten av fysisk aktivitet men även den mer långvariga. Kliniska studier har visat att den direkta effekten av fysisk aktivitet resulterar i frisättning av bland annat IL-6 (Chan et al., 2004).

Regelbunden fysisk aktivitet kan motverka det inflammatoriska tillståndet som föreligger vid depression. Fysisk aktivitet kan reducera nivåerna av C-reaktivt protein (CRP), IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  och IL-1 $\beta$ . Det ses även en ökning av det antiinflammatoriska IL-10 (Eyre and Baune, 2012).

# Målsättning

## Övergripande målsättning

Den övergripande målsättningen med avhandlingen var att studera sambandet mellan RAAS, inflammation, ångest och depression. Förhoppningen var att på så sätt få ökad kunskap om inflammations- och RAAS-systemens betydelse för patogenesen vid depression och ångestsjukdomar och därigenom få underlag till fortsatt klinisk forskning.

## Studie I

Syftet med studie I var att undersöka RAAS hos patienter som gjort ett suicidförsök. Syftet var också att studera om det finns samband mellan å ena sidan renin och aldosteron och å andra sidan psykiatriska symptom. Hypotesen var att deprimerade som gjort ett suicidförsök i detta avseende skulle skilja sig åt jämfört med deprimerade patienter som inte gjort ett suicidförsök.

## Studie II

Tidigare studier har rapporterat en ökad inflammatorisk aktivitet hos deprimerade patienter jämfört med friska kontrollpersoner. Målsättningen men studie II var att studera nivån av inflammatoriska substanser både i vila och under ett fysiskt belastningstest. Hypotesen var att deprimerade patienter skulle ha en ökad koncentration av inflammatoriska substanser i vila, jämfört med friska kontrollpersoner. Ytterligare en hypotes var att belastningstestet skulle resultera i en större frisättning av inflammatoriska ämnen hos deprimerade patienter jämfört med friska kontrollpersoner.

## Studie III

Syftet med studie III var att undersöka hur kronisk behandling med aldosteron tillsammans med LPS-behandling påverkar både central och perifer inflammation. Syftet var även att studera beteendemässiga förändringar hos försöksdjuren. Hypotesen var att kronisk aldosteronbehandling skulle öka känsligheten för utveckling av LPS-inducerade depressiva symptom.

## **Studie IV**

Syftet med studien var att undersöka om patienter med misstänkt njurartärstenos har en ökad förekomst av ångest och depression och huruvida denna reduceras efter endovaskulär behandling. Hypotesen var att förekomsten av både ångest och depression är högre hos patienter med misstänkt NAS jämfört med befolkningen. Ytterligare en hypotes var att endovaskulär åtgärd av NAS resulterar i minskade symptom på ångest och depression.

# Metoder

## Allmänna metoder

### Skattningsskalor och strukturerade intervjuer

#### *Comprehensive Psychopathological Rating Scale*

Comprehensive Psychopathological Rating Scale (CPRS) är en skattningsskala för ett stort antal psykiatriska symptom, konstruerad 1978 av Marie Åsberg och dennas kollegor (Åsberg et al., 1978). CPRS baseras på en klinisk intervju och består av 65 variabler. De första 40 variablerna behandlar det som patienten rapporterar under intervjun och de sista 25 variablerna skattar observerbara symptom som yttrar sig under intervjun. Varje variabel skattas mellan 0-3 poäng med halvsteg. CPRS är inte en diagnostisk skala utan används för att kartlägga och följa psykiska symptom. Alla intervjuare som genererat data till studierna som ingår i denna avhandling hade tränats i CPRS av en erfaren kollega. Från CPRS har flera underskalor konstruerats. Dessa skalor baseras på ett urval av den 65 variablerna. För ångest har sålunda Brief Scale of Anxiety (BSA) (Tyrer et al., 1984) konstruerats och för depression Montgomery Åsberg Depression Rating Scale (MADRS) (Montgomery and Åsberg, 1979).

#### *Montgomery Åsberg Depression Rating Scale*

Montgomery Åsberg Depression Rating Scale (MADRS) är konstruerad av 10 variabler ifrån CPRS. Vid konstruktionen valdes 10 utav totalt 17 depressiva symptom ut, och de som valdes ut var de som ändrades mest vid behandling med antidepressiva läkemedel. MADRS är en välkänd och mycket använd skala. Skalans variabler överlappar i stora drag med diagnoskriterierna för depression enligt DSM-IV. MADRS-Självskattning (-S) är en självskattningsvariant av MADRS som enbart består av 9 rapporterade variabler. I MADRS-S är varje variabel graderat från 0-6 dvs dubbelt så högt som den intervjubaserade MADRS-skalan (Svanborg and Åsberg, 1994). MADRS-S poäng på 13-19 talar för lätt depression, 20-34 för måttlig och 35-54 för svår depression.

### *Suicide Intent Scale*

Suicide Intent Scale (SIS) konstruerades av Aaron Beck med kollegor 1974 (Beck et al., 1974). SIS är konstruerad för att kunna skatta allvarlighetsgraden av ett suicidförsök. SIS består av 15 variabler mellan 0-2 poäng, vilket ger maxpoäng på 30 på hela SIS. De första åtta frågorna berör de objektiva omständigheterna under suicidförsöket och de sista sju berör patientens egna tankar om suicidförsöket. Skalan används kliniskt för att i efterhand bedöma hur hög suicidententionen var.

### *Hospital Anxiety and Depression Scale*

Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD) utvecklades 1983 och är konstruerad för att mäta symptom på ångest och depression hos ”icke psykiatriska patienter” (Zigmond and Snaith, 1983). Det är en självskattningsskala som består av totalt 14 variabler, sju av dessa är symptom på depression och sju är symptom på ångest. Varje variabel skattas mellan 0-3 poäng. HAD består på det viset av två underskalor, en för depression och en för ångest som vardera ger maxpoängen 21 poäng. Noll till sju poäng på respektive underskala talar för att ingen sjukdom föreligger, 8-10 poäng inger misstanke om sjukdom och 11-21 poäng talar för att det troligen föreligger en sjukdom.

### *Mini Internationell Neuropsykiatrisk Intervju (M.I.N.I.)*

M.I.N.I är ett strukturerad diagnostiskt bedömningsinstrument för att fastställa diagnoser enligt DSM. I denna avhandlingen är M.I.N.I 6.0 använd vilket fastställer diagnoser enligt DSM-IV. Den nyligen utvecklade efterföljande versionen, M.I.N.I 7.0, är utvecklad för diagnossättning enligt DSM-5. M.I.N.I genomförs på ca 20 minuter av en tränad intervjuare. MINI 6.0 innehåller 130 frågor och screenar för 16 axel I diagnoser enligt DSM-IV och en personlighetsstörning.

Världshälsoorganisationen använder sig av WHO:s World Mental Health Composite International Diagnostic Interview (WHO WMH-CIDI) för att kartlägga förekomsten av psykisk sjukdom. CIDI är en manualbaserad intervjuform som håller hög kvalite men är tidskrävande och tar ca 90 minuter att genomföra (Haro et al., 2006). M.I.N.I är validerat gentemot CIDI (Lecrubier et al., 1997).

## **Beteendetest djurförsök**

### *Forced Swim Test*

Forced Swim Test (FST) är framtagen för att utvärdera antidepressiv effekt av läkemedel hos råttor. Den första metodbeskrivningen publicerades av Porsolt med kollegor 1977 (Porsolt et al., 1977). Vid FST placeras försöksdjuret i en genomskinlig cylinder fylld med vatten. Vid första tillfället får råttan vänja sig vid att vara i cylindern under 15 minuter. Tjugofyra timmar senare placeras råttan åter

igen i cylindern under fem minuter. Under denna 5 minuters exponering registreras den sammanlagda immobila tiden, dvs då försöksdjuret inte rör sig, och en minskning av den tiden tolkas som en antidepressiv effekt.

Den ursprungliga versionen av FST visade sig vara dålig på att detektera den antidepressiva effekten av selektiva serotonin återupptags hämmare (Selective Serotonine Reuptake Inhibitors, SSRI). FST modifierades därför för att kunna detektera denna effekt (Lucki, 1997). I den modifierade varianten av FST har vattennivån höjts till 30 cm och det dominerande beteendet, för varje 5-sekundersintervall registrerades såsom antingen simning, klättring eller flytande. Detta sker liksom tidigare under en 5 minuters period.

FST används också för att mäta depressiv effekt vid exponering för olika substanser eller exponering för t ex en stressfull miljö. När FST används för detta syfte är det rekommenderat att beteendet mäts även vid första tillfället i vattenbadet (Slattery and Cryan, 2012). I denna avhandlingen är en ytterligare något modifierad variant av FST använd vilket framgår av metodspecifikationen i studie III.

## Studiespecifika metoder

### Studie I

#### **Decreased aldosterone in the plasma of suicide attempters with major depressive disorder**

##### *Patienter och procedur*

##### *Patientgrupp 1: Patienter som gjort suicidförsök*

Patienterna var mellan åren 1986 och 1999 inlagda på en psykiatrisk vårdavdelning som var specialiserad på vård efter suicidförsök. De rekryterades till studien från den psykiatriska akutmottagningen, den somatiska intensivvården, eller direkt från vårdavdelningen (Tabell 1).

För att minska risken att de biologiska resultaten skulle påverkas av antidepressiva eller antipsykotiska läkemedel och för att kunna observera patienterna i ett omedicinerat tillstånd behandlades patienterna inte med några antidepressiva eller antipsykotiska läkemedel under cirka två veckor efter suicidförsöket. Denna period kallas för ”wash-out-period”. Den varade mellan dagen för suicidförsöket till första forskningsdagen och var  $15 \pm 8$  (Medel  $\pm$  SD) dagar. Under den första forskningsdagen undersöktes patienterna med somatiskt status och blodprov och bedömdes enligt DSM-III-R systemet. Deras aktuella psykiska symtom skattades enligt CPRS. Uppgifter om patienternas somatiska sjukdomar togs från journalen

och uppgifter som framkom vid den kliniska forskningsintervjun. Somatisk status innefattade: Rutinneurologisk undersökning, status av hjärta, lungor, buk samt blodtryck och puls. Patienter vars blodprov visade spår av antidepressiva eller antipsykotiska läkemedel exkluderades från studien. Vidare exkluderades patienter med missbruksproblematik eller blodtryckssänkande medicinering.

De 43 patienter som hade gjort ett suicidförsök och som inkluderades i studien tillhörde följande diagnosgrupper definierade enligt DSM-III-R: Egentlig depression (N=18, DSM-III-R, 296.2, 296.3), anpassningsstörning (N=17, DSM-III-R 309.0-309.4, 309.9) och dystymi (N=8, DSM-III-R 300.4). Patienterna hade följande somatiska sjukdomar: ischias (N=1), migrän (N=1), leversteatos (N=1), epilepsi (N=1), allergi/astma (N=2), ledsmärta UNS (N=1) och inaktiv ulcerös kolit (N=1).

### *Patientgrupp 2: Deprimerade patienter som ej gjort suicidförsök*

Nitton patienter med depression rekryterades ifrån den allmänpsykiatriska mottagningen eller akutmottagningen vid den psykiatriska kliniken i Lund mellan åren 2001-2003. Enbart omedicinerade patienter med 21 poäng eller mer på MADRS och inga tidigare suicidförsök inkluderades i studien. En patient exkluderades pga tidigare suicidförsök och ytterligare en pga spår av mirtazapin i blodet. Sjutton obehandlade patienter med depression och utan tidigare suicidförsök inkluderades. Somatiska sjukdomar i patientgruppen var: Fibromyalgi (N=1), allergi (N=1), astma (N=1), migrän (N=1) och inaktiv ulcerös kolit (N=1).

### *Friska kontrollpersoner*

Åldersmatchade ( $\pm 5$  år) och könsmatchade friska kontroller (N=18) till de deprimerade patienterna utan suicidförsök rekryterades slumpvis via Lunds befolkningsregister. De screenades med en klinisk intervju, enligt Strukturerad Psykiatrisk Intervju För Allmänläkare (SPIFA) (Dahl et al., 2009), för missbruk, nuvarande kroppsliga sjukdomar samt nuvarande eller tidigare psykiska sjukdomar. Alla individer var friska baserat på kroppslig undersökning och rutinblodprover. Somatiska sjukdomar i denna kontrollgrupp var: allergi (N=2), axelinflammation (N=1) och fotsvamp (N=1).

### *Suicidförsök*

Suicidförsök definierades som "A situation in which a person has performed an actually or seemingly life-threatening behaviour with the intent of jeopardizing his life or give the appearance of such an intent, but which has not resulted in death" (Beck, 1972), vilket här översätts som "Livshotande eller skenbart livshotande beteende i avsikt att sätta sitt liv på spel eller göra intryck av en sådan avsikt som inte leder till döden". Suicidförsöken delades även in som våldsamma eller ickevåldsamma suicidförsök (Traskman et al., 1981). Som ett icke våldsamt suicidförsök räknas en överdos eller ett enstaka ytligt snitt över handleden. Våldsamt försök är t ex hängning, skjutvapen, hopp från hög höjd eller flera djupa



skärskador. Suicidförsök gjort av patienter med en historik av minst ett ytterligare suicidförsök definierades som upprepade suicidförsök.

#### *Laboratorie analyser*

Alla blodprover togs fastande mellan kl 0800-0900. Vid provtagningen användes EDTA provrör. Proverna centrifugerades och plasma frystes ned till -80 °C. Plasma (P-) aldosteron bestämdes med hjälp av radioimmunologisk analys (RIA) (Aldosterone Coat-A-Count, DPC, CA, USA). Variationskoefficienten för den metoden var 8,6% och 5,2% vid 100 pmol/L respektive 750 pmol/L. P-renin bestämdes med DiaSorin Liaison metoden (Liaison Renin, DiaSorin, Saluggia, Italy). Variationskoefficienten för den metoden var 4,4 % och 3,7 % vid 27 mIE/L respektive 102 mIE/L.

#### *Statistisk analys*

För de statistiska beräkningarna användes SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 17 för Macintosh. Students T-test och linjär regression korrigerad för ålder (ANCOVA) användes för gruppjämförelser. Test för parametrisk korrelation utfördes med hjälp av Pearson's R, partiell korrelation korrigerad för ålder. Alla hypoteser testades med två-svansad grad av signifikans. Alfa-nivå för signifikans sattes till  $p < 0,05$ .

#### *Etik*

Studien hade godkänts av regionala etikprövningsnämnden i Lund (DNR 1986/276; DNR 2003/419). Patienterna lämnade sitt skriftliga godkännande att delta i studien.

**Tabell 1 Alder, kön och psykiatriska skattningspoäng**

Karaktäristik av deltagarna i studie I.

	Depression (suicid- försök) (N=18)	Dystymi (sucidi- försök) (N=8)	Anpassnings- störning (suicid- försök) (N=17)	Depression (ej suicid- försök) (N=17)	Friska kontroller (N=18)
Medelålder (±SEM)	43 ± 4	33 ± 3	36 ± 3	34 ± 2	34 ± 3
Ålder (min-max)	19 – 71	20 – 44	19 – 56	22 – 54	23 – 55
Andel män, N(%)	8 (44)	4 (50)	8 (47)	9 (53)	9 (50)
Andel kvinnor, N (%)	10 (56)	4 (50)	9 (53)	8 (47)	9 (50)
CPRS (min-max)	19,5 (10-35)	19,75 (10-31)	9 (1,5-32)	30 (15-44,5)	1 (0-4,5)
MADRS (min-max)	19,9 (6-41)	19,1 (9-30)	9,3 (0-32)	25,1 (17-42)	0 (0-1)
BSA (min-max)	3,3 (1-7,5)	1,9 (0-3,5)	1,6 (0-5)	5,2 (2-9)	0,1 (0-1)
Lagringstid (min-max år)	5–18	15–18	7–17	5–7	5–7

## Studie II

### Exercise induced release of cytokines in patients with major depressive disorder

#### *Patienter*

Patientgruppen utgjordes av de 19 patienterna som inkluderades i Patientgrupp 2 i studie I. Den patient som där exkluderades pga ett tidigare suicidförsök exkluderades även här, men den patient som exkluderades pga spår av mirtazapin i blodet inkluderades. Totalt inkluderades 18 patienter i studien (tabell 2).

#### *Kontrollgrupp*

Samma friska kontrollpersoner som inkluderades i Studie I utgjorde kontrollgrupp även i denna studie. Totalt inkluderades 18 friska kontrollpersoner som var åldersmatchade ( $\pm 5$  år) och könsmatchade till de deprimerade patienterna (tabell 2).

#### *Psykiatrisk och somatisk undersökning*

Patienterna och kontrollpersonerna bedömdes under en klinisk undersökning med hjälp av SPIFA och CPRS. Somatiskt status utfördes och innefattade:

rutinneurologisk undersökning, status av hjärta, lungor, buk samt blodtryck och puls.

### *Arbetsbelastning*

Arbetsbelastningen utfördes med hjälp av en datoriserad ergometercykel (Rodby 380, Siemens Elma, Solna, Sverige) enligt en standardiserad metod (Atterhog et al., 1979). Deltagarna instruerades att inte delta i någon idrottsaktivitet på testdagen. De fick inte heller äta, inta koffein eller röka två timmar innan testet. Belastningstestet var upplagt med en initial arbetsbelastning på 30W för kvinnor och 50 W för män. Motståndet ökades gradvis (kvinnor 5 W/30 s, män 5 W/20 s) tills en hjärtfrekvens på  $125 \pm 5$  slag per minut uppnåddes (submaximal arbetsbelastning). Därefter ökades belastningen gradvis igen tills försökspersonerna var utmattade (maximal arbetsbelastning). Efter arbetsbelastningen vilade patienterna på en brits under 60 minuter. Elektrokardiografi (ECG-Megachraft, Siemens-Elema, Solna, Sverige) och hjärtfrekvens mättes kontinuerligt under hela testet och den subjektiva upplevda ansträngningen skattades av deltagaren varannan minut enligt Borg Rating of Perceived Exertion (RPE)-skalan (Borg, 1982). Borg-RPE-skalan skattar upplevd ansträngning mellan 6 poäng (extremt lätt) till 20 poäng (maximalt ansträngande). Blodtrycket mättes varannan minut. Totalt togs fem blodprov under försöket. Det första blodprovet togs efter att försökspersonerna vilat under 60 minuter innan arbetsbelastningen. Blodprov togs därefter vid submaximal, maximal arbetsbelastning samt efter 30 respektive 60 minuters vila.

### *Biokemisk analys*

Blodproverna placerades omedelbart på is. Därefter centrifugerades proverna i 3000 varv per minut under 10 minuter vid 4 °C. Blodplasma lagrades i -80 °C tills analystillfället. Serum amyloid A (SAA), IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, TNF- $\alpha$ , Soluble vascular cell adhesion molecule (sVCAM-1), soluble inter-cellular adhesion molecule (sICAM-1), CRP och IFN- $\gamma$  mättes i plasma med hjälp av ultra sensitive multiplex electrochemiluminescence immunoassays i enlighet med tillverkarens instruktioner (Meso Scale Discovery, UK). Alla prover analyserades i dubletter. Känsligheten hos de 15 analyserna presenteras i tabell 3.

### *Statistisk analys*

Alla uppmätta biologiska värden var snedfördelade varför icke-parametriska statistiska metoder användes. För intraindividuell analys användes Friedmans test följt av Wilcoxon rank test. Mann-Whitney U-test och Students T-test användes för gruppjämförelser. Multipla post-hoc tester korrigerades med Bonferroni. Analyserna utfördes med SPSS version 17.0. Alla hypoteser testades med två-svansad grad av signifikans. Alfanivå för signifikans sattes till  $p < 0,05$ .

## Etiskt godkännande

Studien godkändes av regionala etikprövningsnämnden i Lund (DNR 2003/419). Patienterna lämnade sitt skriftliga godkännande att delta i studien.

**Tabell 2 Kön, ålder och fysiologisk data under belastningstestet**

Karaktäristik av deprimerade patienter och friska kontroller i studie II. Ålder, submaximal effekt, maximal effekt, självskattad utmattning vid submax och maximal effekt samt vilopuls skiljde sig ej signifikant åt mellan deprimerade patienter och friska kontrollpersoner. Puls angiven i slag per minut (beats per minute, BPM). Självskattad ansträngning enligt Borg-RPE-skalan.

	Friska kontroller (N=18)	Depression (N=18)
Män/Kvinnor	9/9	9/9
Medelålder ±SD	34,4 ± 11,0	33,7 ± 10,6
Rökning (Ja/Nej)	0/18	4/14
Submaximal effekt ±SD (W)	122 ± 39	107 ± 33
Maximal effekt ±SD (W)	233 ± 79	203 ± 61
Vilopuls ±SD (BPM)	66 ± 11	65 ± 14
Puls vid submax ±SD (BPM)	127 ± 5	126 ± 4
Puls vid maximal effekt ±SD (BPM)	186 ± 11	183 ± 12
Självskattad ansträngning poäng ±SD (submax)	13.6 ± 1.1	14.0 ± 1.6
Självskattad ansträngning poäng ±SD (max)	18.9 ± 1.6	18.8 ± 1.5
Medicinering	Preventin (N=2)	Preventin (N=2) Furosemid (N=1) Zolpidem (N=1) Imovane (N=1)
Somatiska diagnoser	Allergi (N=2) Axelinflammation (N=1) Fotsvamp (N=1)	Fibromyalgi (N=1) Allergi (N=1) Astma (N=1) Migrän (N=1) Inaktiv ulcerös kolit (N=1)

**Tabell 3 Lägsta detektionsnivå**

Lägsta detektionsnivå för biokemiska analyser i studie II.

	Koncentration, pg/ml
IFN- $\gamma$	0,28
IL-10	0,52
IL-12	0,84
IL-13	0,18
IL-2	0,29
IL-4	0,20
IL-5	0,19
IL-1 $\beta$	0,21
IL-6	0,30
IL-8	0,23
TNF- $\alpha$	0,40
CRP	4,25
SAA	20,25
sICAM-1	2,00
sVCAM-1	29,75

## Studie III

### **Aldosterone synergizes with peripheral inflammation to induce brain IL-1 $\beta$ expression and depressive-like effects**

#### *Försöksdjur*

Råttanar av Wistar typ (Harlan, Sverige) med en kroppsvikt på 200-250 g användes vid försöken. Råttorna förvarades, 2-3 stycken tillsammans, i laboratorieburar av standardstorlek. Burarna var försedda med sågspån, tuggpinnar och fri tillgång till mat och vatten. Ljuset var tänt 12 timmar dagligen mellan kl 0700-1900. Innan studien började fick djuren acklimatisera sig vid miljön under fem dagar. Under försöksperioden vägdes råttorna dagligen.

Djuren delades in i fyra olika behandlingsgrupper med 10 djur i varje. Grupp 1 behandlades med aldosteron och lipopolysackarid (LPS). Grupp 2 behandlades med aldosteron och natriumklorid (placebo). Grupp 3 med kontrollsubstans och LPS. Grupp 4 med kontrollsubstans och natriumkloridlösning (NaCl).

#### *Aldosteron behandling*

Osmotiska minipumpar (modell 2002, Alzet, Alza corp, USA) användes för att behandla med aldosteron eller kontrollsubstans. Minipumparna inopererades och placerades subkutant som tidigare beskrivet av Hlavacova med kollegor (Hlavacova

et al., 2012). Ingreppet utfördes under narkos med isofluran. Lokalbedövningsmedlet xylocain (5 mg/ml) användes i såret och runt minipumpen för att minska postoperativt obehag hos försöksdjuren.

Minipumpens infusionshastighet var 0,5 µL/timme och levererade 2 µg aldosteron per timme och 100 g kroppsvikt. Aldosteron var löst i etanol och spätt med 0,9 % isotonisk NaCl till en slutlig etanolkoncentration på 1 %. En totalmängd om 220 µL fylldes på i minipumparna. Hos kontrolldjuren fylldes minipumparna med en kontrollsubstans bestående av 1 % etanol i isotonisk NaCl.

### *LPS behandling*

Råttorna injicerades intraperitonealt med 1 mg/kg (1 mg/ml) LPS från *Escherichia coli* (Serotyp 055:B5, Sigma-Aldrich, Sverige) eller med sterilt NaCl. Totalt erhöjldjuren fem LPS eller NaCl-injektioner med 24 timmars mellanrum.

### *Rörelsemönster och thigmotaxis*

För att kartlägga rörelsemönster hos djuren placerades de ensamma i en plexiglasbur (40x40 cm) under 15 minuters tid. Horisontell och vertikal aktivitet mättes genom registrering av antalet infraröda ljusstrålar som bröts (Photo-beam Activity System software, PAS, version 2.0.7.101, San Diego Instruments). Djuren fick vänja sig vid testmiljön under 15 minuter vid ett tillfälle 24 timmar innan det första av två beteendetest.

Rörelsemönstret testades två respektive 24 timmar efter den sista injektionen med LPS eller NaCl. Avsikten med att testa rörelsemönstret efter två timmar var att bekräfta det av LPS utlösta sjukdomsbeteendet hos försöksdjuren. Vid testet mättes aktivitet i centrum av buren respektive i periferin. Aktivitet i periferin jämfört med i centrum (thigmotaxis) betraktades som ett mått på ångest och mättes vid första exponeringen för utrustningen vid aklimatiseringen.

### *Depressivt beteende*

För att testa depressionsliknande beteende användes en modifierad variant av FST där depressivt beteende testades vid första exponeringen för vattenbadet (Cryan et al., 2002, Cryan and Lucki, 2000). En genomskinlig plexiglas cylinder (diameter 21 cm, höjd 46 cm) fylldes med 23 gradigt vatten till en nivå på 30 cm. Djuren testades, vid ett tillfälle, under 15 minuter 24 timmar efter den sista LPS eller natriumklorid injektionen. Råttornas beteende spelades in med hjälp av en videokamera och skattades blint i efterhand. Vid bedömning av försöksdjurens beteende avgjordes för varje 5 s intervall om simning, klättring eller flytning dominerade. Den här skattningsmetoden är tidigare beskriven av Cryan med kollegor (Cryan et al., 2002).

### *Avlivning och förberedelse av provmaterial*

Direkt efter avslutad FST sövdes försöksdjuren med pentobarbital (60 mg/kg). När försöksdjuren var medvetlösa togs CSF och blodprov. Därefter avlivades djuren, hjärnan togs ut och prefrontalcortex dissekerades fram och frystes ned till -80 °C. CSF frystes omedelbart ner till -80 °C. Blodproverna fick koagulera i rumstemperatur under en timme. Därefter centrifugerades blodproverna under 10 minuter med 1300 g vid 4 °C. Blodserum extraherades och frystes ned till -80 °C.

### *Reverse transcriptase qPCR*

Ribonukleinsyra (ribonucleic acid, RNA) ifrån hjärnvävnaden utvanns med hjälp av Trizol reagent (Invitrogen, Sverige) följt av ett RNeasy mini kit (Qiagen, Tyskland) enligt tillverkarens instruktioner. Ett mikrogram av RNA blev omvandlat till cDNA med hjälp av Super-Script III (Invitrogen, Sverige) enligt tillverkarens instruktioner. Reverse transcriptase (RT) qPCR utfördes på en C1000 thermal cycler med CFX 96 real-time system (Bio-Rad, Sverige) i en 20 µL reaktion med Beta-aktin och Rpl13 som kontrollgener. Primer sekvenser för IL-1 $\beta$  och IL-6 är beskrivet Tonelli med kollegor (Tonelli et al., 2008) och primers för kontrollgener är beskrivet av Bonefeld med kollegor (Bonefeld et al., 2008). Alla prover analyserades i triplikat och efficiency av primer paren var: IL-1 $\beta$  95,7%, IL-6 99,7%, Aktin 96,6% och Rpl13A 90,0%.

PCR-programmet initierades under 5 minuter vid 95 °C följt av 40 cykler med ett denatureringssteg under 15 sekunder, 30 sekunders nedkyllning vid 55 °C för hybridisering och ett förlängningssteg under 30 sekunder vid 72 °C. För smältkurvan värmdes proverna initialt till 95 °C under en minut och kyldes sedan av under en minut vid 55 °C följt av ökning var 10e sekund med 0,5 °C med en ökning av temperaturen ifrån 55 till 95 °C. Data analyserades med  $\Delta\Delta Ct$  metoden.

### *Cytokin och hormonanalys i CSF och serum*

Höggänslig multiplex electrochemiluminescence immunoassay (MesoScale Discovery, USA) användes för att mäta IL-1 $\beta$ , INF- $\gamma$ , IL-4, IL-5, Cytokine-induced-neutrophil chemoattractant-1 (CINC-1) och TNF- $\alpha$  i serum och CSF. Analyserna utfördes efter tillverkarens instruktioner med små modifikationer. 10 % bovine serum albumin (Fisher Scientific, Sverige) i blocking buffern användes vid analys av CSF. 50 µL provmaterial användes för alla analyserna. Inkubationen gjordes över natten vid 4 °C. Analysen utfördes på en SECTOR Imager 6000 läsare. Serum IL-6 mättes med hjälp av en kommersiellt tillgänglig ELISA kit (R&D systems, UK). Aldosteron och kortikosteron mättes med kommersiellt tillgängliga kit (Aldosterone EIA Kit, Assay Designs/Stressgen, Enzo, Sweden) enligt tillverkarens instruktioner.

### *Statistik*

För de statistiska beräkningarna användes SPSS 19 för Macintosh. Datan ansågs som normalfördelad om skevheten var mindre än 2. Icke normalfördelad data blev förvandlad till sin naturliga logaritm. FST, RT qPCR och ELISAs analyserades med 2X2 univariate ANOVA följt av planerade jämförelser med T-test. Multipla jämförelser korrigerades med Bonferronis metod. Korrelationsanalys gjordes med hjälp av Pearsons korrelations model. Alfa nivå av signifikans sattes till  $p < 0,05$ .

### *Etik*

Studien var godkänd av den regionala djurförsöksetiska nämnden i Malmö/Lund (DNR-2010/191).

## **Studie IV**

### **Depression and anxiety in patients with suspected renal artery stenosis**

#### *Patienter*

Patienterna rekryterades från Kärlsektionen vid Skånes universitetssjukhus i Malmö mellan augusti 2013 och juni 2015. Patienter som var planerade att genomgå en angiografi med tryckmätning i njurartärerna pga misstänkt njurartärstenos (NAS) erbjöds att delta i studien. För samtliga dessa patienter grundades misstanken om NAS på att de hade terapirefraktär hypertension och/eller tecken på njurskada kombinerat med patologiska fynd vid magnetkameraundersökning av njurartärerna. Patienterna som inkluderades i studien fick fylla i ett frågeformulär samt självskattningsskalor. De erbjöds också en psykiatrisk bedömning. Patienterna informerades om att beslutet att delta i studien ej skulle påverka deras fortsatta vård.

Under studieperioden uppfyllde 71 patienter inklusionskriterierna. Av dessa gick 10 gick inte att nå per telefon eller talade inte svenska och två var hospitaliserade pga annan svår sjukdom. De kvarvarande 59 patienterna informerades om studien av sin ordinarie läkare och fick patientinformation och frågeformulär. Av de 59 patienterna returnerade 37 stycken frågeformuläret inklusive ett skriftligt godkännande att delta i studien. Godkännandet innebar att forskningspersonalen skulle få ta del av deras journalhandlingar både från sjukhusvård och från primärvård. Av de 37 patienterna gick 18 personer med på att även delta i den psykiatriska bedömningen.

Både formulärdelen och den psykiatriska bedömningen genomfördes veckorna innan angiografen varför det inte var känt för den intervjuande läkaren huruvida NAS förelåg eller ej. Pga logistiska skäl genomfördes den psykiatriska bedömningen för tre av de 18 patienterna först efter angiografen (två till nio dagar). Under denna bedömning kände bedömaren ej till huruvida NAS förelåg eller ej.



### *Angiografi och endovaskulär intervention*

Under angiografin mättes tryckgradienten mellan aortan och njurartären och ifall denna var  $\geq 10$  mmHg bedömdes patienten ha en hemodynamiskt signifikant NAS och genomgick PTRÄ med placering av stent (Alhadad et al., 2009, Alhadad et al., 2007, Alhadad et al., 2006).

### *Frågeformuläret*

Frågeformuläret innehöll frågor gällande: antal år med hypertension, tidigare ångest, ångest under senaste året, tidigare behandling för ångest, behandling för ångest under senaste året, tidigare depression, depression under senaste året, tidigare behandling av depression, behandling av depression under senaste året, behandling med psykoterapi, tidigare behandling med psykofarmaka, behandling med psykofarmaka under senaste året. Om patienterna svarade ja på frågorna gällande psykofarmaka ombads de att lista läkemedlen. Frågeformulären returnerades till forskningsenheten i förfrankade adresserade kuvert.

### *Psykiatrisk bedömning*

Patienterna undersöktes av en ST-läkare i psykiatri (författaren till denna avhandling, Ludvig Hallberg). Den kliniska undersökningen bestod av: intervju enligt ett strukturerat intervjuformulär gällande tidigare och nuvarande psykiatriska besvär och deras behandlingar, tidigare och nuvarande somatiska tillstånd, samt familjehistoria av psykiatrisk sjukdom. Patienterna diagnoserades enligt DSM-IV med hjälp av M.I.N.I. version 6.0. Patienterna skattades också enligt CPRS från vilken underskalorna BSA och MADRS extraherades. De sju första bedömda patienterna fyllde även i HAD. För somatisk sjukdom hos de 18 patienterna som genomgick den psykiatriska bedömningen, se tabell 4.

### *Journalgenomgång*

Patienternas journaler granskades och uppgifter om utgångsvärden på p-renin och p-aldosteron, och tidigare och nuvarande sjukdomar registrerades. Granskningen genomfördes efter att frågeformuläret var returnerat eller den psykiatriska bedömningen var avslutad.

### *Utökat studieprotokoll*

När 12 patienter hade inkluderats i studien utökades studien med tillägg av MADRS-S och HAD till frågeformuläret och en uppföljning sex månader efter angiografin. Vid den tidpunkten hade sju redan bedömts psykiatriskt och fyllt i HAD innan angiografin. Totalt erhöles HAD från 29 patienter och MADRS-S från 25 patienter innan angiografin.

Efter införandet av det nya studieprotokollet erbjöds denna nya 6-månadersuppföljning till alla nya patienter som fyllde i frågeformuläret och alla

patienter som bedömts psykiatriskt. Även de patienter som redan genomgått den psykiatriska bedömningen erbjöds uppföljningen. Totalt var 32 patienter aktuella för denna uppföljning. Uppföljningen innebar att patienterna kontaktades igen brevlades sex månader efter angiografen och ombads fylla i MADRS-S och HAD samt att en morgon lämna ett uppföljande blodprov för analys av p-renin och p-aldosteron. Patienterna som hade deltagit i den psykiatriska bedömningen kontaktades också telefonledes för uppgifter kring eventuella ändringar i deras medicinering.

Av de 32 patienterna som var aktuella för denna uppföljning valde 25 stycken att delta. Av de 18 patienterna som deltog i den psykiatriska bedömningen deltog 16 stycken i uppföljningen.

### *Laboratorieanalyser*

Analysmetoden för p-aldosteron och p-renin ändrades den 17e november 2014 på laboratoriet vid Klinisk Kemi i Malmö. Detta påverkade analyserna av blodproverna insamlade vid uppföljningen. Innan den 17e november 2014 mättes p-aldosteron med RIA (Aldosterone Coat-A-Count, DPC, CA, USA). Normalvärdet för p-aldosteron är 110-860 pmol/L och variationskoefficienten var 8,6 % vid 100 pmol/L och 5,2 % vid 750 pmol/L. P-renin mättes med DiaSorin Liaison metoden (Liaison Renin, DiaSorin, Saluggia, Italy). Variationskoefficienten för den metoden var 4,4 % vid 27 mIE/L and 3,7 % vid 102 mIE/L.

Efter den 17e november 2014 mättes p-aldosteron och p-renin med IDS-iSYS metoden (Immunodiagnosics Systems Nordic a/s, Copenhagen, Denmark). I den nya metoden var variationskoefficienten för aldosteron 18 % och 10 % vid 230 och 555 pmol/L. Normalvärdet för renin med den nya metoden var 5-80 mIE/L och variationskoefficienten var 10 % vid både 14 och 92 mIE/L.

Alla aldosteron- och reninvärden som avsåg tiden innan angiografen samlades in ifrån patienternas journaler. Eftersom dessa analyser hade gjorts innan 17e november 2014 var de analyserade med en och samma analysmetod (Coat-A-Count respektive DiaSorin Liaison). Proverna vid uppföljningen samlades in både före och efter metodbytet. Fjorton av de 25 proverna analyserades med de äldre metoderna. Eftersom de två metoderna för att analysera renin uppvisade en bra korrelation ( $R=0,94$ ) kunde reninvärdena ifrån RIA omräknas till IDS-iSys metoden. Aldosteronvärdena omräknades inte eftersom korrelationen mellan tidigare och senare analys metod uppvisade en för låg korrelation, för aldosteronvärden på mindre än 400 pmol/L.

### *Statistik*

För de statistiska beräkningarna användes SPSS version 21.0 för Macintosh. Hypoteserna testades för tvåå-svansad signifikans och alfavärdet av signifikans sattes

till  $p < 0,05$ . Pga det relativt låga antalet deltagare användes icke parametriska analysmetoder. Mann-Whitney U test användes för gruppjämförelser för oberoende variabler, Wilcoxon signed rank test för parade värden. Spearmans rho för korrelationsanalys. Korstabulering och pearson chi användes för deskriptiv data. Alla värden är angivet som medel  $\pm$  1 SD.

### *Etik*

Studien godkändes av regionala etikprövningsnämnden i Lund (DNR 2013/310). Det utökade studieprotokollet infördes efter godkännande av etikprövningsnämnden. Patienterna lämnade sitt skriftliga godkännande att delta i studien.

**Tabell 4 Somatiska sjukdomar**

Somatiska sjukdomar för de 18 patienter som genomgick den psykiatriska bedömningen i studie IV.

Tillstånd	Alla (N=18)	Med NAS (N=10)	Ej NAS (N=7)
Hypertoni	18	10	7
Hjärtkärlsjukdom	15	10	4
Njursvikt	5	3	2
Diabetes Mellitus typ II	4	1	2
Atrofisk njure	2	2	0
Kronisk ryggsmärta	2	2	0
Artros	2	1	1
Dyslipidemi	2	2	0
Hyperurikemi	2	2	0
Benign prostata hyperplasi	1	1	0
Förmaksflimmer	1	1	0
Reumatoid artrit	1	1	0
Psoriasis	1	1	0
Ulcerös kolit	1	1	0
Stroke med sequele	1	1	0
Migrän	1	0	1
Kronisk pankreatit	1	0	1
Kronisk obstruktiv lungsjukdom	1	0	1
Astma	1	0	1



# Resultat

## Studie I

Renin- och aldosteronvärdena var snedfördelade och logaritmerades därför innan statistisk analys. I hela materialet, dvs patienter som nyligen gjort ett suicidförsök, deprimerade patienter som aldrig gjort ett suicidförsök, samt friska kontrollpersoner, förelåg en signifikant och positiv korrelation mellan renin och aldosteron (Pearson's  $R=0,77$ ,  $p<0,001$ ).

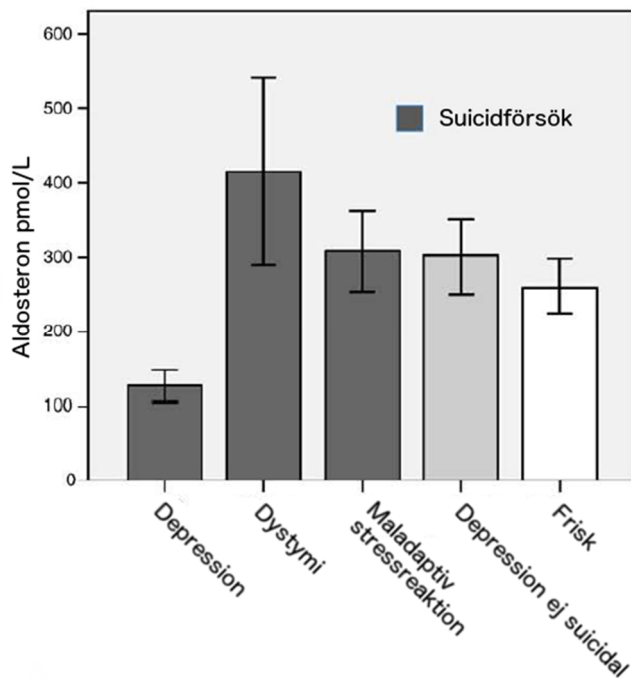
Både aldosteron och renin korrelerade negativt med försökspersonernas ålder i hela materialet (renin;  $R=-0,29$ ,  $p=0,01$ , aldosteron;  $R=-0,39$ ,  $p<0,001$ ). De deprimerade patienterna som nyligen gjort ett suicidförsök tenderade att vara något äldre än övriga grupper ( $p>0,05$ ;  $p<0,1$ ). Av den anledningen justerades de statistiska analyserna för ålder.

Renin- och aldosteronnivåerna skiljde sig inte åt mellan män och kvinnor. Vid analystillfället hade proverna förvarats mellan 5 och 18 år men det förelåg ingen signifikant korrelation mellan å ena sidan lagringstid och å andra sidan renin- eller aldosteron. Vidare korrelerade inte wash-outperiodens längd signifikant med renin eller aldosteron.

Aldosteronnivån hos deprimerade patienter som nyligen gjort ett suicidförsök var signifikant lägre än hos alla andra grupper (Fig 4). Reninvärdet hos de deprimerade patienterna som gjort ett suicidförsök var signifikant lägre än hos patienterna som nyligen gjort ett suicidförsök med diagnoserna dystymi eller anpassningsstörning samt jämfört med deprimerade patienter som inte gjort ett suicidförsök. För renin fanns det ingen signifikant skillnad mellan deprimerade patienter som nyligen gjort ett suicidförsök och friska kontrollpersoner (Fig 5).

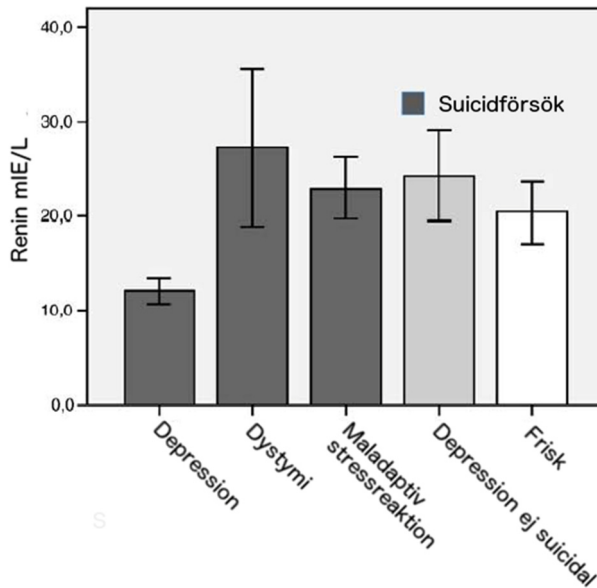
Det var ingen signifikant skillnad i renin- eller aldosteronnivåer hos patienter med eller utan axel II störning. Det fanns ingen signifikant skillnad på renin och aldosteron mellan patienter som hade gjort flera tidigare suicidförsök ( $N=13$ ) jämfört med de som enbart gjort ett suicidförsök ( $N=30$ ). Det fanns ej heller någon skillnad i renin och aldosteron mellan patienter som gjort ett suicidförsök som klassats som våldsamt ( $N=11$ ) och dem som klassats som icke våldsamt ( $N=32$ ).

I gruppen med deprimerade patienter som nyligen gjort ett suicidförsök förelåg det en negativ korrelation mellan aldosteron och rapporterade CPRS-poäng ( $R=-0,5$ ,  $p=0,045$ ). Detta innebar att lägre nivåer av aldosteron var förknippat med ökad symptombörda hos patienterna. Omvänt förelåg det i gruppen med patienter med anpassningsstörning som nyligen gjort ett suicidförsök en positiv korrelation mellan aldosteron och rapporterade CPRS-poäng ( $R=0,6$ ,  $p=0,03$ ). För samma patientgrupp förelåg det en positiv korrelation mellan observerade CPRS poäng och renin ( $r=0,6$ ,  $p=0,02$ ). Även deprimerade patienter som inte gjort ett suicidförsök uppvisade en positiv korrelation mellan observerade CPRS poäng och renin ( $R=0,8$ ,  $p=0,001$ ). Ångestsymptom skattat med BSA och depressionssymptom skattat med MADRS korrelerade inte med renin eller aldosteron i någon av diagnosgrupperna.



**Figur 4 Aldosteronnivåer i de olika grupperna**

Deprimerade patienter som gjort ett suicidförsök hade signifikant lägre aldosteronnivå än alla andra grupper. Gruppjämförelsen är ålderskorrigerad



**Figur 5 Reninnivåer i de olika grupperna**

Deprimerade patienter som gjort ett suicidförsök hade signifikant lägre reninnivå än patientgrupperna med dystymi och maladaptiv stressreaktion samt jämfört med deprimerade patienter som inte gjort ett suicidförsök. Gruppjämförelsen är ålderskorrigerad.

## Sammanfattning och tolkning av resultat i studie I

Huvudfyndet i studie I var att deprimerade patienter med nyligt suicidförsök hade signifikant lägre nivåer av aldosteron jämfört med andra patienter som gjort suicidförsök, deprimerade patienter som aldrig gjort något suicidförsök och friska kontroller. Det fanns även samband mellan låga nivåer av aldosteron och en ökad mängd psykiatriska symptom mätt med rapporterade CPRS poäng. Gruppen med anpassningsstörning som gjort ett suicidförsök skiljde sig ifrån patienter med depression som gjort ett suicidförsök. Patienterna med anpassningsstörning som gjort ett suicidförsök uppvisade en signifikant positiv korrelation mellan aldosteron och rapporterade CPRS poäng liksom en signifikant positiv korrelation mellan renin och observerade CPRS poäng. Även deprimerade icke suicidala patienter uppvisade högre observerade CPRS poäng vid högre renin nivåer. Fynden antyder att aktiveringen av RAAS systemet skiljer sig åt mellan suicidala deprimerade som gjort ett suicidförsök, suicidala patienter med andra diagnoser, deprimerade patienter som aldrig gjort ett suicidförsök och friska kontroller.

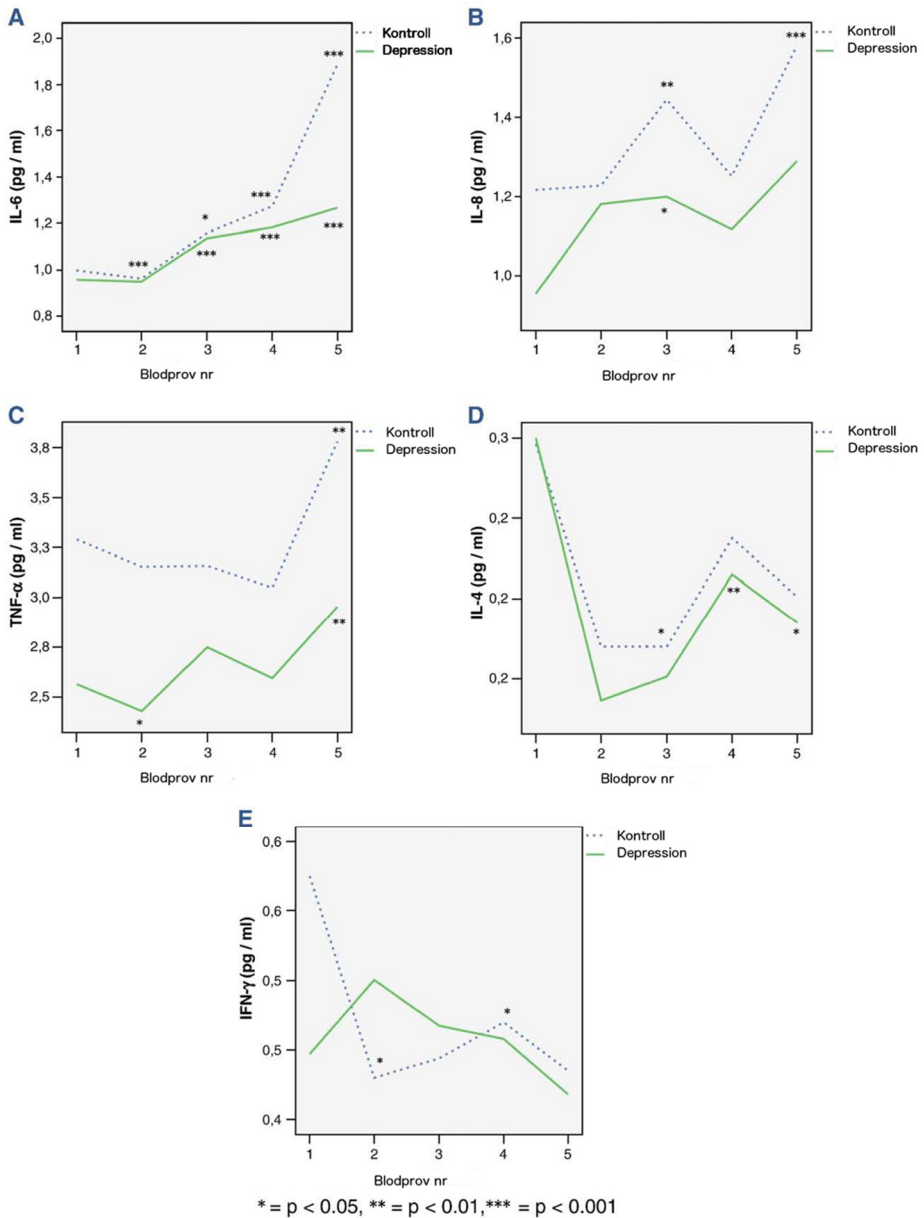
## Studie II

Deprimerade patienter skiljde sig inte åt med avseende på uppnådd effekt under belastningstestet. I vila skiljde sig inte de inflammatoriska parametrarna signifikant mellan gruppen med deprimerade patienter och friska kontrollpersoner.

Friedman's test följt av wilcoxon signed rank användes för att studera den intraindividella förändringen över tid under cykelbelastningstestet. IL-6, IL-8 och TNF- $\alpha$  ökade signifikant under cykelbelastningen hos både deprimerade patienter och kontrollpersoner (Fig 6). IFN- $\gamma$  minskade signifikant hos de friska kontrollerna men inte hos de deprimerade patienterna (Fig 6). Det var ingen signifikant skillnad över tid för SAA, S-VCAM, S-ICAM, CRP, IL-10, IL-12, IL-13, IL-2, IL-5 eller IL-1 $\beta$  för de deprimerade patienterna eller de friska kontrollpersonerna.

För de ämnen där det förelåg en signifikant intraindividuell ökning eller minskning gjordes statistiska analyser av huruvida det förelåg en signifikant skillnad mellan deprimerade patienter och friska kontroller vad gäller differensen mellan prov taget vid maxbelastning och prov i vila före belastningen samt prov tagit vid submax och provtaget vid vila före belastningen. Minskningen av IL-6 visade sig då signifikant högre hos kontroller än hos patienter vid submaximal effekt (Kruskal-Wallis ANOVA följt av Mann-Whitney U-test;  $p=0,014$ , Bonferroni korrektion). Det fanns inga andra signifikanta skillnader i ökning eller minskning av de olika faktorerna.





**Figur 6 Cytokinfri sättning under arbetsbelastningen**

Cytokinfri sättning hos patienter med depression och friska kontrollpersoner under arbetsbelastningen. Prov 1: efter 60 minuters vila. Prov 2: Vid submaximal belastning. Prov 3: Vid maximal belastning. Prov 4: Efter 30 minuters vila. Prov 5: Efter 60 minuters vila. Signifikans stjärnorna representerar den intraindividella förändringen jämfört med prov 1.

## Sammanfattning och tolkning av resultat i studie II

I studie II kunde det inte påvisas någon skillnad i inflammationsnivåer i vila hos deprimerade patienter jämfört med friska kontroller. Under fysisk ansträngning ökade nivåerna av IL-6, IL-8 och TNF- $\alpha$  hos både deprimerade kontroller och friska kontroller. IFN- $\gamma$  minskade hos friska kontroller men inte hos deprimerade patienter. Det fanns få skillnader i cytokinfrisättning hos deprimerade patienter och friska kontrollpersoner. En skillnad som observerades var dock att vid submaximal arbetsbelastning var minskningen av IL-6 något mindre hos deprimerade patienter jämfört med friska kontroller. Detta skulle kunna tala för en något ökad inflammatorisk reaktivitet hos deprimerade patienter vid fysisk ansträngning.

## Studie III

### Cytokin- mRNA i hjärnvävnad

Behandling med LPS ökade nivån av mRNA för IL-1 $\beta$  i PFC ( $F(1,35)=18,49$ ,  $p<0,001$ ). Behandling med enbart aldosteron hade däremot ingen effekt på mRNA nivåerna av IL-1 $\beta$ . Det fanns en interaktion mellan LPS och aldosteron i PFC, ( $F(1,35)=5,31$ ,  $p=0,027$ ) (Fig 7A). IL-6 mRNA nivåerna i PFC påverkades inte av LPS och/eller aldosteron.

### Cytokinnivåer i serum och CSF

ANOVA analys visade att aldosteronbehandling ( $F(1,34)=6,44$ ,  $p<0,05$ ) såväl som LPS behandling ( $F(1,34)=53,04$ ,  $p<0,001$ ) ökade IL-1 $\beta$  nivåerna i CSF. Vidare sågs det en i CSF en interaktion mellan aldosteron och LPS ( $F(1,34)=9,26$ ,  $p<0,01$ ) (Fig 7B). I serum sågs ingen signifikant effekt av LPS eller aldosteron behandling var för sig. Däremot observerades det en interaktion mellan LPS och aldosteron i serum ( $F(1,35)=5,21$ ,  $p=0,029$ ) (Fig 7C). Aldosteronbehandlade djur hade minskade nivåer av IL-1 $\beta$  i serum jämfört med kontroller. Denna skillnad sågs ej längre då djuren behandlades både med LPS och aldosteron.

TNF- $\alpha$  och CINC-1 i CSF påverkades av LPS behandling (TNF- $\alpha$   $F(1,33)=10,22$ ,  $p=0,003$ ; CINC-1  $F(1,34)=40,45$ ,  $p<0,001$ ). Aldosteron påverkade ej TNF- $\alpha$  och CINC-1 i CSF. LPS påverkade kortikosteron, IL-4, TNF- $\alpha$  och CINC-1 i serum (Kortikosteron  $F(1,35)=10,44$ ,  $p<0,01$ ; IL-4  $F(1,35)=6,98$ ,  $p=0,01$ ; TNF- $\alpha$   $F(1,35)=8,86$ ,  $p<0,01$ ; CINC-1  $F(1,35)=33,3$ ,  $p<0,001$ ). Aldosteron påverkade ej dessa ämnen. Den enda cytokin förutom IL-1 $\beta$  som påverkades av aldosteron var IL-6. Nivåerna av IL-6 i serum ökades av aldosteron (aldosteron  $F(1,25)=4,39$ ,  $p=0,046$ ) men inte av LPS (LPS  $F(1,25)=2,04$ ,  $p>0,05$ ). Ej heller påverkade LPS och aldosteron behandling IFN- $\gamma$  eller IL-5 i serum. Ingen interaktion mellan aldosteron eller LPS förelåg. Nivåerna av IL-4 och IL-5 i CSF var inte mätbara.

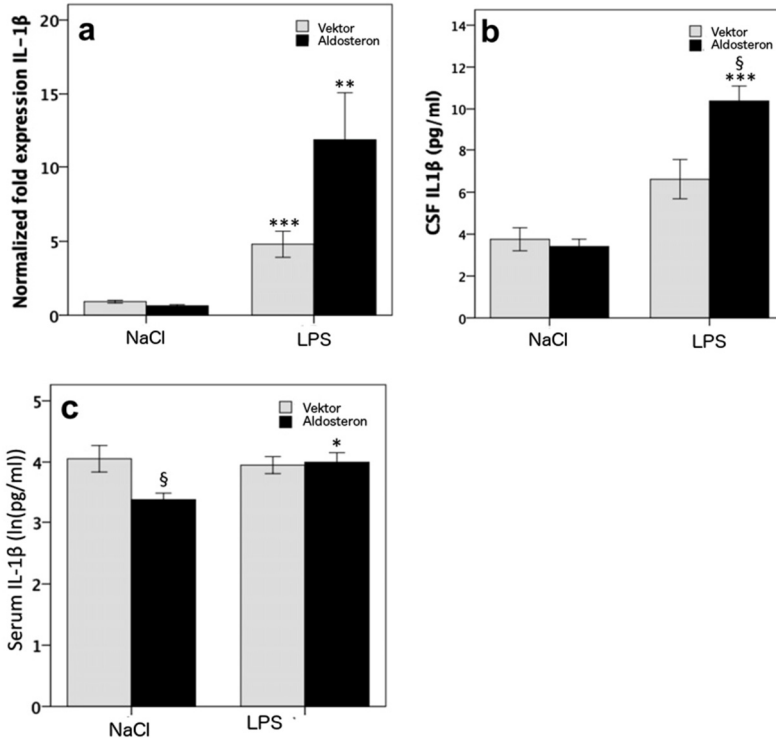
## Korrelationsanalys för IL-1 $\beta$

Det förelåg en korrelation mellan IL-1 $\beta$  mRNA i PFC och IL-1 $\beta$  i CSF ( $r=0,61$ ,  $p<0,001$ ) (Fig 8A). Nivåerna av IL-1 $\beta$  i CSF och serum korrelerade ej (Fig 8B).

## Effekt av LPS- och aldosteron behandling på beteendetester

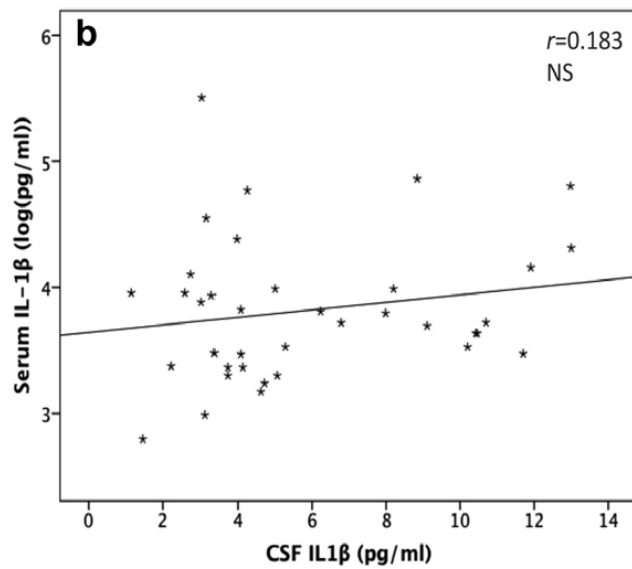
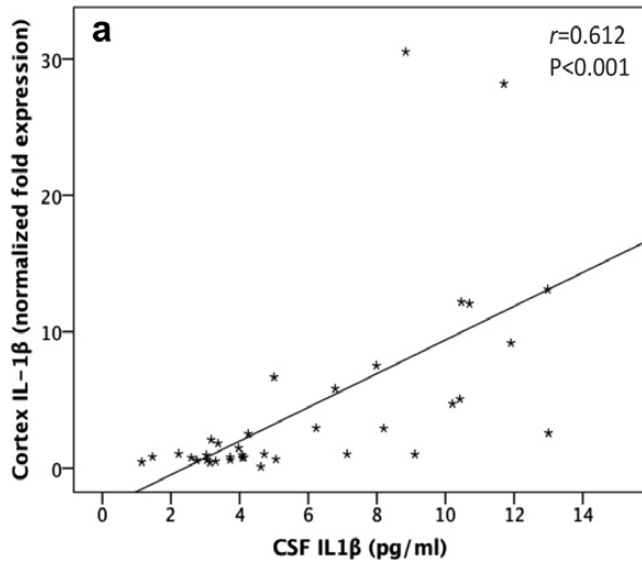
Flytbeteende i FST påverkades av aldosteronbehandling ( $F(1,34)=9,22$ ,  $p=0,005$ ) men inte av LPS behandling ( $F(2,34)=2,338$ ,  $p>0,05$ ) (Fig 9). Djur som behandlades med aldosteron ökade sitt flytbeteende. Flytbeteende korrelerade positivt med följande cytokiner i CSF: IL-1 $\beta$  ( $r=0,374$ ,  $p<0,05$ ) (Fig 10), TNF- $\alpha$  ( $r=0,38$ ,  $p<0,05$ ) och CINC-1 ( $r=0,34$ ,  $p<0,05$ ).

Motoraktiviteten två timmar efter den sista LPS-injektionen bekräftade att djuren uppvisade sjukdomsbeteende orsakat av LPS (LPS  $F(1,35)=50,16$ ,  $p<0,001$ , aldosteron  $F(1,35)=0,12$ ,  $p>0,05$ , LPS X aldosteron  $F(1,35)=0,38$ ,  $p>0,05$ ). 24 timmar efter den sista LPS-injektionen syntes fortfarande en effekt av LPS på motoraktiviteten ( $F(1,35)=32,34$ ,  $p<0,001$ ) men det fanns ingen korrelation mellan motoraktivitet och flytbeteende i FST ( $r=-0,015$ ,  $p>0,05$ ). Detta indikerar att flytbeteende inte är kopplat till den nedsatta motoraktiviteten. Motoraktiviteten 24 timmar efter LPS behandling korrelerade negativt med IL-1 $\beta$  i CSF och mRNA i PFC ( $r=0,48$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,50$ ,  $p=0,001$  respektive). Både IL-1 $\beta$  i CSF och mRNA i PFC korrelerade negativt med vertikal aktivitet 24 timmar efter LPS injektion ( $r=-0,42$ ,  $p<0,01$  och  $r=-0,59$ ,  $p<0,001$ ). LPS eller aldosteron behandling hade ingen effekt på thigmotaxis. Ej heller fanns det någon korrelation mellan thigmotaxis och CSF IL-1 $\beta$  nivåerna.



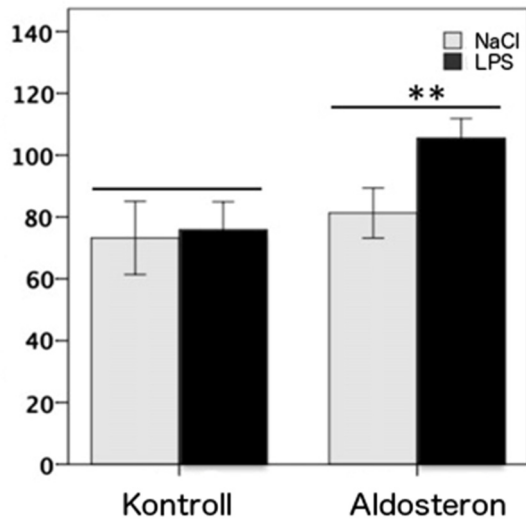
**Figur 7 Behandling av försöksdjur**

7a: Relativ mRNA nivå av IL-1 $\beta$  i PFC mätt med RT qPCR. LPS behandlade djur har ett ökat uttryck av mRNA för IL-1 $\beta$ . 7b: IL-1 $\beta$  nivå i CSF mätt med ELISA. LPS behandling ökar nivåerna av IL-1 $\beta$  i CSF hos djur som även är behandlade med aldosteron. Aldosteron och LPS behandlade djur har även signifikant högre nivå av IL-1 $\beta$  i CSF än enbart LPS behandlade. 7c: Logaritmerad nivå av IL-1 $\beta$  i serum mätt med ELISA. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  LPS jämfört med NaCl behandling. § $p < 0,05$  aldosteron jämfört med vektor behandling. Error bar  $\pm 1$ SEM.



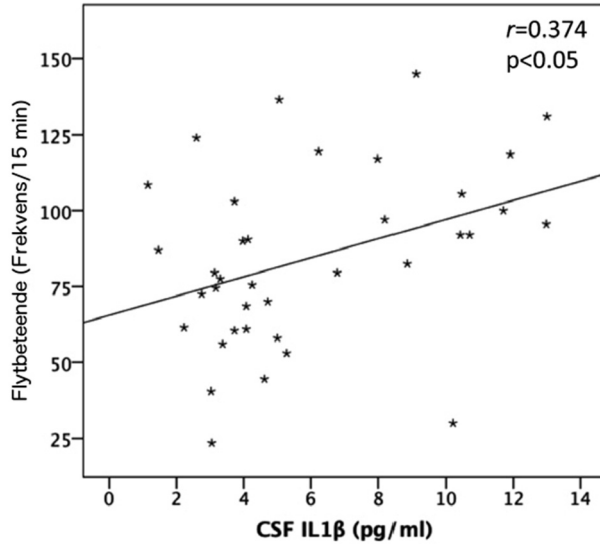
**Figur 8 Korrelationsanalys för IL-1 $\beta$**

8a: Det förelåg en signifikant positiv korrelation mellan mRNA för IL-1 $\beta$  i PFC och IL-1 $\beta$  i CSF. 8b: IL-1 $\beta$  i CSF och serum korrelerade ej signifikant.



**Figur 9 Flytbeteende**

Flytbeteende, som ett mått på depressivt beteende, hos djuren i de olika behandlingsgrupperna. Aldosteronbehandlade (N=20) djur uppvisade signifikant mer flytbeteende jämfört med de behandlade med kontrollsubstans (N=20). \*\*p<0,01.



**Figur 10 Korrelation**

Det förelåg en positiv korrelation mellan IL-1 $\beta$  i CSF och flytbeteendet i FST.

### **Sammanfattning och tolkning av resultat i studie III**

I studie III undersöktes kombinationseffekter av aktivering av RAAS och inflammationssystemet. LPS behandling ökade mRNA-nivåerna för IL-1 $\beta$  i PFC. Samtida aldosteron- och LPS-behandling hade en interaktionseffekt på uttrycket av IL-1 $\beta$  i PFC. Både behandling med aldosteron och LPS ökade nivåerna av IL-1 $\beta$  i CSF. Aldosteronbehandling ökade även nivåerna av IL-6 i serum. Aldosteronbehandling ökade depressivt beteende hos försöksdjuren mätt som ökat flytbeteende i FST. Detta resultat talar för att aldosteronbehandling kan inducera ett depressivt beteende hos försöksdjur. Aldosteronbehandling ökade även central inflammation vilket i sin tur var korrelerat till depressivt beteende.

## **Studie IV**

### **Angiografen**

Tjugoen av de 37 patienterna erhöll diagnosen NAS vid angiografen. Alla 21 patienter genomgick PTRÄ och hos 18 av 21 patienter kunde en stent framgångsrikt läggas in i njurartären. Femton patienter fick inte diagnosen NAS och genomgick enbart angiografi. Hos en patient kunde inte njurartären nås pga kraftig ateroskleros i bukaortan och tryckmätning kunde därför ej genomföras varpå det är okänt om NAS förelåg eller ej. Alla tio patienterna med NAS genomgick PTRÄ och åtta fick en stent framgångsrikt inlagd.

### **Frågeformuläret och självskattningsskalor**

Tretton av de 37 patienterna som fyllde i frågeformuläret angav att de haft ångest någon gång under livet varav 8 angav att de haft ångest under det senaste året. Åtta av dem angav tidigare depression varav fyra angav att de haft depression under det senaste året. Ytterligare uppgifter gällande kön, ålder, medicinering, svar på frågeformuläret och poäng på självskattningsskalorna MADRS-S och HAD för de 37 patienter som deltog i frågeformuläret återfinns i tabell 5 och 6.

Varken MADRS-S poängen eller det totala HAD-poängen skiljde sig signifikant mellan patienterna med NAS jämfört med patienterna utan NAS. Ej heller HAD-ångest eller HAD-depression skiljde sig åt mellan patienter med eller utan NAS.

Den intervju-skattade MADRS korrelerade starkt med självskattningsversionen MADRS-S ( $R=0,83$ ,  $p=0,001$ ). Även den intervju-skattade BSA korrelerade med den självskattade HAD-ångest ( $R=0,8$ ,  $p<0,001$ ).

## Psykiatrisk bedömning

### *DSM-IV diagnos*

Tio av de 18 patienterna (56 %) som undersöktes med den strukturerade psykiatriska intervjun hade en pågående ångestsjukdom enligt DSM-IV diagnoserat med M.I.N.I. 6.0. Två av 18 undersökta patienterna hade en pågående depression enligt DSM-IV. Åtta av de undersökta patienterna uppfyllde inte kriterierna för en DSM-IV diagnos enligt M.I.N.I. För uppgifter kring ålder, kön, nuvarande och tidigare DSM-IV diagnos se Tabell 7. Tio av de 18 patienterna som bedömdes psykiatriskt diagnoserades med NAS. Av de tio patienterna med NAS uppfyllde fyra diagnoskriterierna för en pågående ångestsjukdom. Fem av de sju patienterna som inte hade NAS uppfyllde diagnoskriterierna för en pågående ångestsjukdom.

### *Suicidalitet*

Tre av de 18 intervjuade patienterna (16,6 %) uppgav att de tidigare under livet gjort ett suicidförsök (23-47 år sedan). Av dessa fick en patient diagnosen NAS, en hade inte NAS och en patient kunde inte bli komplett undersökt vid angiografen. Två av dessa tre patienter hade gjort suicidförsök under en pågående depression.

Frågeformuläret innehöll inte frågor om tidigare suicidförsök. Förekomsten av tidigare suicidförsök kan därför beräknas på flera olika sätt. Andelen i förhållande till alla 71 patienter var 3/71 (4,2 %). Beräknat i förhållande till alla 59 tillfrågade patienter var andelen 3/59 (5,1 %). I förhållande till alla 37 patienter som inkluderades var andelen 3/37 (8,1 %). Beräknat i förhållande till de 18 patienter som genomgick den psykiatriska bedömningen motsvarar det 3/18 (16,6 %).

### *Selektionsbias*

Av de 37 patienter som svarade på frågeformuläret genomgick 18 den psykiatriska bedömningen. Korstabulering användes för att kartlägga huruvida de patienter som deltog i den psykiatriska bedömningen skiljde sig ifrån de som enbart besvarade frågeformuläret. Åtta av de 18 patienter som valde att delta i den psykiatriska bedömningen hade rapporterat att de haft en depression tidigare. Detta skiljde sig signifikant ( $p=0,001$ ) ifrån gruppen som enbart valt att besvara frågeformuläret där ingen angett att de haft en tidigare depression.

Åtta av de 18 patienter som deltog i den psykiatriska bedömningen angav att de haft tidigare ångestbesvär men detta skiljde sig inte signifikant ifrån de fem av totalt 19 som enbart deltog i formulärsdelen. Se tabell 5.



## **MADRS- S och HAD vid uppföljningen jämfört med indextillfället**

### *Uppföljning av patienter som genomgått PTRÄ med framgångsrik stentning*

De 18 patienterna som hade NAS och genomgick PTRÄ med stentning framgångsrikt analyserades också separat. HAD-ångest och HAD-depressions poäng var  $3,9 \pm 2,8$  och  $2,2 \pm 1,8$  vid indextillfället (N=16) och  $4,0 \pm 1,8$  och  $2,7 \pm 2,4$  vid uppföljningen (N=13). Det förelåg ingen signifikant skillnad mellan skattningspoängen vid indextillfället och uppföljningen

### *Uppföljning av patienter med depression eller ångest senaste året enligt frågeformuläret*

Enligt frågeformuläret rapporterade elva patienter att de haft ångest eller depression under det senaste året. För dessa patienter var MADRS-S  $12,5 \pm 9,2$  (N=6) vid index-tillfället och  $13,4 \pm 7,5$  (N=9) vid uppföljningen 6 månader senare. Motsvarande HAD-totalpoäng för samma patienter var  $13,7 \pm 6,2$  (N=9) vid index-tillfället och  $13,0 \pm 5,5$  (N=9) vid uppföljningen. Det förelåg ingen signifikant skillnad avseende MADRS-S eller HAD poäng efter 6 månader jämfört med index-tillfället.

### *Uppföljning av patienter med depression eller ångest enligt den kliniska intervjun*

Alla patienterna som hade en pågående depression uppfyllde även de diagnostiska kriterierna för en ångestsjukdom. Förändringen av MADRS-S eller HAD-poäng undersöktes separat hos de patienter som enligt den psykiatriska bedömningen hade antingen en pågående ångestsjukdom. För dessa patienter var MADRS-S poängen vid index-tillfället  $13,0 \pm 7,8$  (N=7) och vid uppföljningen  $13,1 \pm 8,3$  (N=9). HAD-totalpoäng var  $12,7 \pm 6,5$  (N=10) vid index-tillfället och  $12,3 \pm 5,7$  (N=9) vid uppföljningen. HAD-ångest var  $8,0 \pm 3,5$  (N=10) vid index-tillfället och  $6,8 \pm 3,9$  (N=9) vid uppföljningen. HAD-depression var  $4,7 \pm 3,5$  vid index-tillfället och  $5,6 \pm 3,2$  vid uppföljningen. Det förelåg ingen signifikant skillnad i MADRS-S eller HAD poäng eller dess underskalor vid index-tillfället jämfört med uppföljningen efter 6 månader.

## **Hormoner och blodtryck**

### *Indextillfället*

Medelvärdet för p-renin innan angiografien var  $296 \pm 680$  mIE/L (N=13) och för p-aldosteron  $372 \pm 539$  pmol/L (N=13). Detta innebär att p-renin men inte p-aldosteron var förhöjt jämfört med det normala referensområdet. Medelblodtrycket vid inskrivning inför angiografien var  $172 \pm 24$  /  $83 \pm 11$  (systoliskt/diastoliskt) (N=36).

P-reninvärdet var signifikant högre hos patienter med NAS (N=6) ( $623 \pm 934$  mIE/L) jämfört med de utan NAS (N=6) ( $10,4 \pm 7,9$  pmol/L) ( $p=0,002$ ). För aldosteron var det ingen signifikant skillnad mellan patienter med eller utan NAS. Se tabell 6 för aldosteronvärden.

Blodtrycket skiljde sig inte signifikant åt mellan patienter med eller utan NAS, se tabell 6.

Nio patienter hade både MADRS-S poäng och ett p-aldosteron värde. För dessa patienter förelåg det ingen signifikant korrelation mellan MADRS-S och p-aldosteron. Av dessa nio patienter blev fem diagnostiserade med NAS och det förelåg en signifikant korrelation mellan MADRS-S och p-aldosteron ( $p=0,037$ ).

#### *Hormoner och blodtryck vid uppföljningen jämfört med index tillfället*

Medelvärdet för p-renin vid uppföljningen efter 6 månader var  $132 \pm 341$  mIE/L (N=25). P-renin-värdet skiljde sig inte signifikant vid uppföljningen för patienter med NAS som genomgått en framgångsrik PTRÄ med stentimplantation (N=4,  $p=0,068$ ) jämfört med patienter där stentimplantation ej utfördes. Vid uppföljningen förelåg det ingen signifikant för p-renin eller p-aldosteron med varken MADRS-S, HAD-ångest eller HAD-depression.

**Tabell 5 Resultat av frågeformuläret**

Tabellen visar resultat av frågeformuläret i studie IV. Korstabulering är använt för statistisk jämförelse.

	<b>Enbart frågeformulär (N=19)</b>	<b>Psykiatrisk bedömning (N=18)</b>	<b>P</b>
Tidigare haft ångestbesvär Ja/Nej/Osäker	5/13/1	8/8/2	0,33
Ångestbesvär under senaste året Ja/Nej/Osäker	2/15/2	6/11/1	0,23
Tidigare fått behandling för ångest Ja/Nej	1/18	5/13	0,063
Ångestbehandling under det senaste året Ja/Nej	0/19	1/17	0,30
Tidigare depression Ja/Nej/Osäker	0/16/3	8/5/5	0,001
Depression under det senaste året Ja/Nej/Osäker	0/18/1	4/10/4	0,018
Tidigare fått behandling för depression Ja/Nej	0/18	8/10	0,001
Depressionsbehandling under senaste året Ja/Nej	0/19	1/17	0,30
Tidigare behandlad med psykoterapi Ja/Nej	1/18	1/17	0,94
Tidigare behandlad med psykofarmaka Ja/Nej	4/15	6/12	0,40
Pågående behandling med psykofarmaka Ja/Nej	1/18	0/17	0,34

**Tabell 6 Ålder, kön, självskattningsskalor, blodtryck, hormonvärden och medicinering**

Karaktäristik av alla patienter i studie IV som deltog i frågeformuläret. Värden för p-renin och p-aldosteron vid indextillfället.

	Alla (N=37)	NAS (N=21)	Ej NAS (N=15)
Ålder ± SD	64,1 ± 12,0	63,2 ± 13,0	64,9 ± 11,1
Kön (Män/Kvinnor)	16/21	12/9	4/11
MADRS-S ± SD (N)	7,6 ± 6,9 (25)	6,4 ± 4,9 (15)	7,3 ± 6,8 (9)
MADRS-S uppföljning ± SD (N)	8,8 ± 7,0 (25)	6,9 ± 4,8 (16)	10,4 ± 7,7 (8)
HAD ± SD (N)	7,4 ± 6,2 (29)	5,9 ± 3,9 (17)	8,0 ± 7,0 (11)
HAD uppföljning ± SD (N)	8,3 ± 5,6 (24)	6,4 ± 3,3 (15)	9,9 ± 6,4 (8)
HAD Ängest ± SD (N)	4,6 ± 3,9 (29)	3,8 ± 2,7 (17)	4,8 ± 4,5 (11)
HAD Ängest uppföljning ± SD (N)	4,8 ± 3,2 (24)	3,9 ± 2,0 (15)	5,3 ± 3,5 (8)
HAD Depression ± SD (N)	2,8 ± 2,8 (29)	2,1 ± 1,8 (17)	3,2 ± 3,1 (11)
HAD Depression uppföljning ± SD (N)	3,5 ± 3,0 (24)	2,5 ± 2,3 (15)	4,6 ± 3,4 (8)
BT vid inskrivning (mmHg) ± SD (N)	172 ± 24 / 83 ± 11 (36)	169 ± 19 / 85 ± 9 (21)	174 ± 30/82 ± 12 (14)
P-renin (mIE/L) ± SD (N)	296 ± 680 (13)	623 ± 934 (6)	10,4 ± 7,9 (6)
P-aldosteron (pmol/L) ± SD (N)	372 ± 539 (13)	511 ± 755 (6)	283 ± 276 (6)
Beta blockerare	30	17	12
Calcium kanal antagonist	24	13	10
Angiotensin II receptor antagonist	14	5	8
Tiaziddiuretika	13	6	6
ACE-hämmare	12	7	5
Loop diuretika	12	6	5
Centralverkande antihypertensiv drog	8	5	2
Alfablockerare	7	4	2
Aldosteron receptor antagonist	3	1	2

**Tabell 7 Ålder, kön och DSM-IV diagnostik**

Karaktäristik för patienter i studie IV som genomgått den psykiatriska bedömningen. Patienterna är diagnoserade med M.I.N.I enligt DSM-IV. MADRS och BSA är extraherade ifrån en fullständig CPRS skattning under den psykiatriska bedömningen. Värden angivet som medelvärde  $\pm$  1SD.

	Alla (N=18)	NAS (N=10)	Ej NAS (N=7)
Ålder $\pm$ SD (N)	65,4 $\pm$ 12,1 (18)	67,9 $\pm$ 10,3 (10)	60,7 $\pm$ 14,5 (7)
Kön (Män/Kvinnor)	8/10	7/3	1/6
<b>Nuvarande psykiatrisk diagnos</b>	10	4	5
Ångestsjukdom	10	4	5
Generaliserad ångest	6	2	3
Social fobi	6	2	3
Agorafobi	3	2	0
Paniksyndrom	2	0	1
Tvångssyndrom	2	1	0
Depression	2	1	0
Alkoholberoende	1	0	1
<b>Tidigare psykiatrisk diagnos</b>			
Depression	9	4	4
Paniksyndrom	3	0	2
MADRS $\pm$ SD	9,9 $\pm$ 8,4 (N=18)	6,9 $\pm$ 6,8 (N=10)	10,9 $\pm$ 4,2 (N=7)
BSA $\pm$ SD	5,7 $\pm$ 3,7 (N=18)	4,6 $\pm$ 3,3 (N=10)	5,9 $\pm$ 2,4 (N=7)

## Sammanfattning och tolkning av resultat i studie IV

I studie IV undersöktes den psykiatriska sjukligheten hos patienter med njurartärstenos. Studien fann att av patienter med misstänkt njurartärstenos uppfyllde 56 % av patienterna DSM-IV kriterierna för en pågående ångestsjukdom. Vidare hade 16,6 % av de intervjuade patienterna någon gång under livet gjort ett suicidförsök. Om alla patienter som remitterats till kliniken för misstänkt njurartärstenos inkluderas i beräkningen innebär det att minst 4,2 % av dessa någon gång gjort ett suicidförsök. Detta kan jämföras med en frekvens för befolkningen i allmänhet där tidigare studier visat på en livstidsprevalens om cirka 3 % (Nock et al., 2008). Resultaten talar således för att patienter med misstänkt NAS har en hög förekomst av ångestsjukdom. De inger även en misstanke om att patienter med svårbehandlad hypertoni/misstänkt NAS, kan ha en förhöjd risk för att göra ett suicidförsök, tex i samband med en depression.

Reninvärdena var förhöjda för patienterna med NAS medan aldosteron låg inom normalgränserna. Det förelåg en korrelation mellan MADRS-S och aldosteron hos patienter med NAS, emellertid var den enligt baserad på ett fåtal individer.



# Diskussion

## Överaktivitet i RAAS

Fynden i denna avhandling talar för att en överaktivitet i RAAS kan medföra flera psykiatriska symptom. I studie I visades att deprimerade ickesuicidala patienter hade högre CPRS poäng vid högre nivåer av renin. Eftersom renin och aldosteron hade en god korrelation är det rimligt att anta att det högre reninvärdet svarar mot en ökad RAAS aktivitet. En ökad RAAS aktivitet har blivit förknippad med en rad olika psykiatriska symptom och tillstånd såsom depression, ångest och sänkt livskvalitet (Emanuele et al., 2005, Sonino et al., 2011, Sukor et al., 2010).

Aldosteronbehandling av försöksdjuren i studie III resulterade i ett depressivt beteende i FST, vilket är i linje med en tidigare publicerad studie (Hlavacova et al., 2012). I en annan tidigare studie visades att aldosteronbehandling av råttor orsakade ångestbeteende mätt i elevated plus maze (Hlavacova and Jezova, 2008). I studie III kunde dock ingen ångestframkallande effekt av aldosteronbehandling observeras. En möjlig förklaring till det är att ångest mättes med open field test, vilket inte är det test som har bäst känslighet för ångest.

I studie IV observerades en positiv korrelation mellan MADRS-S och aldosteron hos patienter med NAS. Fyndet baserades på ett fåtal individer och bör därför tolkas med försiktighet. Det går dock i linje med tidigare studier som rapporterat förhöjda aldosteronkoncentrationer hos deprimerade patienter (Emanuele et al., 2005, Murck et al., 2003).

MR förekommer i ett stort antal organ i kroppen inklusive hjärnan (Klok et al., 2011). I vissa delar av hjärnan förekommer enzymet  $11\beta$ -HSD<sub>2</sub> vilket möjliggör för aldosteron att aktivera MR. De delar i hjärnan som man vet innehåller MR samt  $11\beta$ -HSD<sub>2</sub> är PVN, NTS och CeA (Gomez-Sanchez, 2011). Det är därför rimligt att dessa delar av hjärnan kan vara involverade i den påverkan som RAAS har på ångest och depressiva symptom. Hippocampus är den del i hjärnan med störst förekomst av MR (Klok et al., 2011). I hippocampus förekommer ej  $11\beta$ -HSD<sub>2</sub>. Emellertid verkar det i hippocampus finnas membranbundna MR med högre affinitet för aldosteron i förhållande till kortikosteron varpå dessa kan vara av betydelse trots avsaknaden av  $11\beta$ -HSD<sub>2</sub> (Karst et al., 2005).

I en stor registerbaserad studie som inkluderade över två miljoner individer visades att både ångestsjukdom och depression var överrepresenterat hos patienter med hypertoni. Den studien visade att av patienterna med hypertoni hade 7,1 % en ångestsjukdom och 9,6 % en depression under en 5 årsperiod . Detta kan jämföras med 6,3 % och 6,9 % för ångestsjukdom respektive depression för normotensiva patienter i studien (Sandstrom et al., 2016). Prevalenssiffror för depression hos patienter med hypertoni kan dock variera mycket. En nyligen publicerad kinesisk meta-analys baserad på 41 studier och över 30 000 individer med hypertension visade på en prevalens för depression på 26,8 % (Li et al., 2015).

## Suicidalitet och RAAS

Studie I visade att deprimerade patienter som gjort ett suicidförsök hade signifikant lägre nivåer av aldosteron jämfört med deprimerade patienter som inte gjort ett suicidförsök. Detta var i linje med en av de hypoteser som sattes upp innan studien. Lägre aldosteron-koncentration var även kopplat till en större symptombörda. Det är dock inte helt tydligt hur detta fynd ska tolkas.

En hypotes är att vid en depression är RAAS initialt överaktiverat. Det är möjligt att denna initiala överaktivering avtar med tiden, vilket resulterar i en hypofunktion med låga aldosteronvärden. Tyvärr fanns ingen uppgift om hur längre de suicidala deprimerade patienterna hade varit deprimerade. Tidigare studier har visat liknande resultat gällande HPA-axeln, med låga nivåer av CRH i CSF hos suicidala patienter (Roy, 1992, Traskman-Bendz et al., 1992, Brunner et al., 2001). I en långtidsuppföljning, tolv år efter suicidförsöket, är det visat att suicidala patienter hade lägre kortisolnivåer i saliv jämfört med friska kontroller (Lindqvist et al., 2008).

Förekomsten av ett tidigare suicidförsök bland patienterna med misstänkt NAS som genomgick den psykiatriska bedömningen var 16,6 % vilket kan jämföras med 2,7 % i den allmänna befolkningen (Nock et al., 2008). Det fanns inga uppgifter kring tidigare suicidförsök bland de patienter som inte genomgick den psykiatriska bedömningen. Om ingen av dessa gjort ett tidigare suicidförsök skulle den lägsta tänkbara förekomsten av tidigare suicidförsök vara 4,2 % vilket indikerar att förekomsten av tidigare suicidförsök hos patienter med misstänkt NAS eventuellt är förhöjd. Denna eventuellt ökade förekomst av tidigare suicidförsök kan inte förklaras med hypertonin i sig, eftersom suicidförsöken inträffade innan hypertonidebuten. En möjlig hypotes skulle däremot kunna vara att tidiga ändringar i RAAS påverkar det psykiska välmåendet negativt vilket i sin tur skulle kunna öka suicidfrekvensen. En annan möjlig hypotes är att det tidigt hos dessa individer



förekom en ökad inflammatorisk aktivitet vilken sedan bidragit till utvecklingen av depression, ångest, suicidal beteende och hypertoni.

## RAAS i relation till inflammation

Fynden i den här avhandlingen samt tidigare publicerade studier tyder på att en överaktivitet i RAAS är kopplat till en ökad förekomst av både ångest och depression. Samtidigt verkar överaktivitet i RAAS kunna inducera inflammation. Förutom möjligheten att en överaktivitet i RAAS har en direkt psykopatologisk effekt på hjärnan är det möjligt att den ökade RAAS aktiviteten ökar aktiviteten i inflammationssystemet. Det är tidigare visat att en ökad inflammatorisk aktivitet i sin tur kan inducera både ångest och depression (Dantzer et al., 2008, Raison and Miller, 2011).

Kunskapen om vilken effekt aldosteron har på hjärnan är begränsad. Studie III visade att samtida LPS- och aldosteronbehandling hade en synergisk effekt på produktionen av mRNA för IL-1 $\beta$  i prefrontalcortex. Både aldosteron- och LPS-behandling ökade koncentration av IL-1 $\beta$  i CSF. Eftersom det inte förelåg någon korrelation mellan IL-1 $\beta$  i serum och CSF är det rimligt att anta att den ökade förekomsten av IL-1 $\beta$  i CSF var lokalt producerat i hjärnan. Det förelåg även en positiv korrelation mellan mRNA för IL-1 $\beta$  i prefrontalcortex och CSF. Dock är resultaten inte helt samstämmiga och i studie III sågs en minskning av IL-1 $\beta$  i serum hos djur enbart behandlade med aldosteron.

Vid misstänkt njurartärstenos ses en överaktivitet av inflammationssystemet med bland annat förhöjda nivåer av TNF- $\alpha$  och IL-6. Behandling av NAS med PTRÄ resulterar i signifikant lägre nivåer av IL-6 en månad efter ingreppet jämfört med indexvärdet (Alhadad et al., 2007). Det är möjligt att den ökade förekomsten av pågående ångestsyndrom i studie IV är relaterad till den ökade inflammatoriska aktiviteten vid NAS.

Deprimerade patienter har överlag en förhöjd inflammatorisk aktivitet med ökade nivåer av de proinflammatoriska cytokinerna TNF- $\alpha$  och IL-6 (Dowlati et al., 2010). I studie II var det ingen signifikant skillnad i inflammationsmarkörer mellan deprimerade patienter och friska kontroller i vila. En förklaring kan vara att patienterna inte hade tillräckligt svår depression då MADRS poäng  $\geq 21$  var satt som inklusionsgräns vilket ligger i nedre spannet för en medelsvår depression. Det kan dock argumenteras för att de deprimerade patienterna i studie II hade vissa tecken på förhöjd inflammatorisk aktivitet eftersom de i en fas under arbetsprovet hade en mindre minskning av IL-6 än de friska kontrollpersonerna.

## RAAS modifikation

I studie III kunde det inte påvisas en reduktion av psykiatriska symptom sex månader efter den endovaskulära åtgärden. Det finns en tidigare fallrapport som studerat effekten av PTRÄ med stentinfäggning hos en patient med NAS och dess effekt på psykiatriska symptom (Mazza et al., 2016). I det fallet försvann de psykiatriska symptomen inom ett par veckor efter PTRÄ med stentinfäggning. Det handlade dock om en 46 årig patient som haft hypertoni i 1,5 år, att jämföra med patienterna i studie IV som hade en medelålder på 64 år, hade haft hypertoni under många år och hade en betydande somatisk sjukdomsbörda.

Det är möjligt att långvarig överaktivering av RAAS ger kvarvarande skador på hjärnan vilka blir svårare att reparera då överaktiveringen pågått under lång tid. En studie som stödjer denna hypotes involverar patienter med hyperaldosteronism till följd av aldosteronproducerande binjureadenom, Conns sjukdom. Studien involverade en grupp med nydiagnostiserade patienter med Conns sjukdom utan behandling, en grupp enbart med medicinsk behandling samt patienter som genomgått adrenalectomi. För alla tre grupperna sågs en ökad förekomst av ångest och depression som dock inte skiljde sig åt mellan grupperna (Apostolopoulou et al., 2014).

## Slutsatser

Fyndet i denna avhandling talar för att en ökad aktivitet i RAAS kan inducera depressiva symptom och eventuellt även ångest. Deprimerade patienter som gjort ett suicidförsök verkar dock skilja ut sig genom att de har en minskad aktivitet i RAAS. En ökad aktivitet i RAAS kan inducera både en central och perifer inflammation. Symptomen på depression och ångest kan vara ett resultat av direkt aktivering av MR i hjärnan eller genom aktivering av inflammationssystemet. Detta behöver dock studeras ytterligare.

## Framtida forskning

RAAS i förhållande till ångest och depression är ett relativt nytt forskningsområde som dock har börjat få allt mer uppmärksamhet de senaste 10 åren. Ett välkänt problem är att många patienter som tar sitt liv enbart haft kontakt med sjukvården för somatiska besvär och en stor andel har inte haft kontakt alls. I studie IV uppfyllde 56 % av patienterna ett ångestsyndrom men inte en enda patient medicinerade med

SSRI-preparat eller liknande. Den allmänna upplevelsen under intervjuerna var att många mår dåligt men förklarade detta med sin omfattande somatiska sjuklighet. Att identifiera personer i samhället som mår dåligt men inte söker sjukvård är en central komponent för att kunna minska antalet suicid.

En aspekt som kan undersökas genom framtida forskning är hur psykiatrisk samsjuklighet bäst upptäcks hos patienter med omfattande somatisk sjukdom som t ex vid mycket svårbehandlad hypertoni eller sjukdomar med stegrad inflammatorisk aktivitet.

Fynden i studie I med lägre aldosteronkoncentration hos deprimerade patienter som gjort ett suicidförsök är intressant. Det finns studier som tyder på att MR i hjärnan är involverade vid problemlösningsförmåga (de Kloet et al., 2016). Det är därför möjligt att den låga aldosteronkoncentrationen påverkar problemlösningsförmågan negativt och därmed ökar risken för suicid. Detta behöver dock studeras vid framtida studier.



# Populärvetenskaplig sammanfattning

## Introduktion

Ångest och depression är folksjukdomar och drabbar människor i alla åldrar. Cirka 7 % av befolkningen lider i detta nu av en depression och 18 % av ett ångestsyndrom. Årligen tar över 1500 personer livet av sig och vid de flesta fallen finns det en bakomliggande depression eller ångesttillstånd. Självordstalen har minskat mycket sedan 1980-talet men de senaste 15 åren har minskningen i princip avstannat.

Flera biologiska system är involverade i sjukdomsutvecklingen av ångest och depression. De mest välkända hypoteserna handlar om avvikelser i signalsubstanserna serotonin och noradrenalin, men också stressystemet och inflammationssystemet kan vara involverade. På senare år har det även kommit studier som visar att de hormoner som reglerar blodtrycket, t ex renin och aldosteron, kan vara involverade i uppkomsten av ångest och depression. Intressant nog har patienter med högt blodtryck, eller de som haft en hjärtinfarkt, en ökad förekomst av ångest och depression.

Syftet med den här avhandlingen var att undersöka kopplingen mellan inflammatoriska processer, hormonen som reglerar blodtrycket, samt ångest och depression.

## Material och metoder

Patienter som nyligen försökt begå självmord undersöktes. De bedömdes av en psykiater och deras psykiatriska symptom mättes på olika skalor. Även deprimerade patienter som inte försökt ta livet av sig och friska kontrollpersoner undersöktes. Alla patienterna fick lämna blodprov som analyserades.

I nästa del av avhandlingen undersöktes frisättningen av inflammatoriska ämnen vid ett s k cykeltest. Deprimerade patienter och friska kontrollpersoner fick cykla på testcyklar under gradvis ökande motstånd tills de var nästan utmattade. Under cykeltestet togs blodprover som senare analyserades för inflammatoriska ämnen.

I tredje delen av avhandlingen undersöktes effekten behandling av råttor med aldosteron och/eller det inflammationsskapande ämnet lipopolysackarid. Hos försöksdjuren mättes depressivt beteende samt prover togs ifrån blod, ryggmärgsvätska och hjärna för att studera inflammatorisk aktivitet.

I den fjärde delen av avhandlingen studerades patienter som hade mycket högt och svårmedicerat blodtryck. Anledning till det besvärliga blodtrycket var att de misstänktes ha en förträngning på njurartären, blodkärlet som försörjer njurarna med blod. En sådan förträngning benämns för njurartärstenos. De patienter som valde att delta i studien fick fylla i ett frågeformulär samt självskattningsskalor med avseende på depression och ångest. De kunde även tacka ja till att delta i en omfattande psykiatrisk bedömning.

## **Resultat**

I första studien sågs ett samband hos deprimerade patienter mellan en ökad mängd psykiatriska symptom och en ökad aktivitet i hormonsystemen som styr blodtrycket. För deprimerade patienter som försökt begå självmord förelåg det istället ett omvänt samband. Där ökade de psykiatriska symptomen med lägre nivåer av aktivitet i hormonsystemet. Vidare sågs även lägre nivå av aldosteron hos deprimerade patienter som försökt ta livet av sig jämfört med både deprimerade patienter som inte gjort ett självmordsförsök samt med friska kontrollpersoner.

I andra studien skiljde sig inte den inflammatoriska aktiviteten i vila hos deprimerade patienter jämfört med friska kontroller. Detta skiljer sig ifrån tidigare studier som har observerat en förhöjd grundinflammatorisk aktivitet hos deprimerade patienter. Frisättningen av inflammatoriska ämnen skiljde sig dock något åt hos deprimerade patienter med viss ökad aktivitet jämfört med friska kontrollpersoner.

I tredje studien orsakade behandling med aldosteron att försöksdjuren både uppvisade depressiva symptom och uppvisade en ökad inflammation. Den ökade mängden inflammation var även förknippat med en ökad mängd depressiva symptom.

I fjärde studien fyllde 37 patienter i frågeformulär och självskattningsskalor. Av dessa bedömdes 18 patienter vid en psykiatrisk bedömning. Tio av 18 patienter (56 %) hade ett pågående ångestsyndrom vilket är klart ökat jämfört med befolkningen i stort. Förekomsten av tidigare självmordsförsök, bland patienterna med misstänkt njurartärstenos, var 4,2 – 16,6 %.

## **Diskussion**

Fyndet i den här avhandlingen talar för att de hormonsystem som reglerar blodtrycket även har en påverkan på ångest och depression. En ökad aktivitet i hormonsystemen ökar även den inflammatoriska aktiviteten vilket i sin tur kan framkalla depressiva symptom. Den stora andelen patienter med misstänkt njurartärstenos som hade ett ångestsyndrom är anmärkningsvärd och utgör det kanske mest intressanta fyndet i avhandlingen. Eftersom samsjuklighet finns mellan å ena sidan högt blodtryck och hjärtkärlsjukdom och å andra sidan ångest och

depression så är det viktigt att försöka hitta förklaringen. Överaktiviteten i hormonsystemen skulle kunna vara en sådan förklaring.

En viktig poäng med avhandlingen är att det hos patienter med svårbehandlat blodtryck kan finnas odiagnostiserade ångest och depressiva tillstånd, vilket kan medföra stort lidande. Tidigare studier har visat att förekomsten av ångest och depression är hög även hos patienter som haft hjärtinfarkt och lider av sjukdomar med en ökad inflammatorisk aktivitet. Kunskapen kring samsjukligheten mellan kroppslig sjukdom samt förekomsten av ångest och depression är ofta begränsad. Därför är det viktigt att mer forskning görs inom detta område. Många patienter söker aldrig hjälp för sina besvär utan lider i det tysta. Detta måste få en ändring.





# Tack till

Under min tid som doktorand har jag mött många personer som varit mycket hjälpsamma och som jag vill tacka. Jag började forska inom psykiatri 2008 och blev inskriven som doktorand 2009. Jag vill börja med att tacka min huvudhandledare Åsa Westrin för fantastisk handledning. Ett möte med dig är inspirerande och man går därifrån med en känsla av att allt är möjligt. Därefter vill jag tacka min bihandledare Lena Brundin som introducerade mig till forskningen och för utmärkt handledning under mina första studier. Tack till mina bihandledare Shorena Janelidze och Cecilie Bay-Richter för att ni guidade mig genom den prekliniska världen.

Ett stort tack även till Lil Träskman-Bendz för att jag fick använda tidigare insamlat material. Jag vill även tacka Gunnar Engström för värdefull handledning inom statistik. Tack Anita Wisén för samarbetet kring studie II och för återkoppling kring träningens biologi. Ett stort tack till Anders Gottsäter för ett strålande samarbete och blixtnabb respons i skrivandet av fjärde manuskriptet.

Tack Filip Ventorp för moralisk support i labbet, intressanta diskussioner och din allmänt skeptiska hållning. Tack Daniel Lindqvist och Fredrik Vang för inspiration och givande diskussioner.

Även ett stort tack till Sophie Erhardt och Göran Engberg för att jag fick komma till ert laboratorium i Stockholm för gästforskning.

Jag vill även tacka Region Skåne för forskningstid och ett stort tack till mina kollegor vid psykiatriska kliniken i Kristianstad för att ni har stått ut med min högst sporadiska närvaro i den kliniska verksamheten till följd av min forskning. Tack Sven Rydhög för att du varit bollplank vid kliniska frågeställningar relaterat till forskningen. Jag vill även tacka mina chefer Johnny Käll och Peter Södergren för att ni gett mig möjlighet och utrymme att forska. Jag vill även tacka Sjöbringstiftelsen för stipendium.

Under min doktorandtid har jag stött på många andra människor som inspirerat mig. Ett stort tack till er alla.



# English Summary

The significance of inflammation and the renin angiotensin aldosterone system in anxiety and depression

## Introduction

Depressive and anxiety disorders are among the most common public health problems in the world. The lifetime prevalence of major depressive disorders is about 16.6 %, and that of an anxiety disorder 28.8 % (Kessler et al., 2005a). Both depression and anxiety disorders increase the risk of suicide. According to statistics from the World Health Organization, around 800 000 individuals commit suicide each year (WHO, 2014).

Hypertension and ischaemic heart disease are widespread diseases, and over two million people in Sweden have hypertension (Kahan et al., 2013). A higher prevalence of depression has been found in patients with ischaemic heart disease and hypertension (Changoor and Hutchinson, 2013, Rabkin et al., 1983).

Several biological systems have been investigated in the past in an attempt to identify the underlying cause of anxiety and depression. It is over 50 years since “the monoamine theory of depression” was postulated. Today, there is little doubt that monoamines are involved in depression and anxiety, however, the extent of their involvement is not known. It has been shown in depletion studies that result in a decrease of serotonin, noradrenaline and dopamine, that patients with a family history of depression and unmedicated patients in remission develop depressive symptoms during depletion, while healthy subjects with no prior episodes of depression or a family history of depression, do not (Ruhe et al., 2007).

Increased HPA axis activity is another robust finding in patients with melancholic depression (Bao et al., 2008). However, it has been proposed that there is a “switch” in the regulation of the HPA system, from corticotropin-releasing hormone (CRH) to arginine vasopressin control, in chronic and atypical depression as stress becomes more sustained or repeated (O’Keane et al., 2012). This may be supported by previous findings of low CRH in the CSF (Traskman-Bendz et al., 1992), and sustained low CSF-CRH levels seven months after a suicide attempt, in spite of

clinical improvement (Traskman-Bendz et al., 1992, Westrin et al., 2001). Patients who attempted suicide were followed up after 12 years, and it was found that they had lower levels of salivary cortisol in the evening than controls (Lindqvist et al., 2008). Nonsuppression in the dexamethasone suppression test (DST) could be a useful predictor of future suicide attempts in patients with mood disorder who had previously attempted suicide (Jokinen et al., 2007).

An increase in proinflammatory cytokines has been shown repeatedly to be related to depression and depressive symptoms. It was reported in a review that patients with depression seem to have increased inflammatory activities; increased levels of interleukin (IL)-6 and tumour necrosis factor (TNF)- $\alpha$  being the most consistent findings (Dowlati et al., 2010). Another example can be found in a study on the treatment of patients with chronic hepatitis C with interferon (IFN)- $\alpha$ , where it was shown that IFN- $\alpha$  increased serum IL-6 and IL-8 levels, which were significantly related to increases in depression and anxiety scores (Bonaccorso et al., 2001). Interestingly, increased levels of IL-8 may predict depression in the elderly (Baune et al., 2012).

Findings using animal models also support the theory of a relationship between inflammation and depression (Remus and Dantzer, 2016). In one model, animals injected with lipopolysaccharide (LPS) developed depressive-like behaviour (O'Connor et al., 2009). There may be several explanations of the relationship between inflammation and depression. One major theory is that cytokines cause depressive symptoms by inducing the enzyme indoleamine 2,3 dioxygenase, which stimulates the tryptophan–kynurenine pathway in favour of the tryptophan–5-HT pathway (Dantzer et al., 2011).

Both cardiovascular and strength training have been shown to have an antidepressant effect (Cooney et al., 2013, Singh et al., 2005), although the mechanism has not yet been elucidated. However, it has been found that regular exercise can reduce levels of C-reactive protein (CRP), IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  (Eyre and Baune, 2012).

The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) prevents low blood pressure by means of a coordinated effect of the hormones angiotensin and renin. Angiotensin II stimulates the release of aldosterone from the adrenal gland. Aldosterone is a steroid that acts on mineralocorticoid receptors (MR). It reduces the loss of sodium ions and water from the kidneys, which leads to increased blood pressure (Ferrao et al., 2014). Constriction of the renal artery, for example, by renal artery stenosis (RAS) lowers the intrarenal pressure, thereby stimulating the RAAS, causing persistent hypertension (DeForrest et al., 1982, Basso and Terragno, 2001). RAS leading to treatment-resistant hypertension and/or kidney dysfunction can be treated with percutaneous transluminal renal angioplasty (PTRA) together with the insertion of a stent in the renal artery (Gruntzig et al., 1978).

Increased levels of aldosterone have been found in patients suffering from depression (Emanuele et al., 2005, Murck et al., 2003). In one study, it was found that six out of ten patients with primary aldosteronism (PA) suffered from an anxiety disorder (Sonino et al., 2006). In a follow-up study, 23 healthy controls were compared to 23 patients with essential hypertension (EH) and 23 with PA (Sonino et al., 2011). Twelve of the 23 patients with PA suffered from an anxiety disorder, compared to four of the 23 with EH. Patients with PA also scored higher than the EH patients when rated for stress. In another study, a higher prevalence of both anxiety and depression was found in patients with PA, and a positive correlation was found between renin concentration and symptoms of anxiety in women (Apostolopoulou et al., 2014).

The mechanism by which the RAAS can induce symptoms of anxiety and depression is not yet understood. A possible mechanism has been suggested by Murck et al. (Murck et al., 2014). It involves the activation of MR in the paraventricular nucleus of the hypothalamus, the nucleus of the solitary tract and the central nucleus of the amygdala, all of which play important roles in anxiety and depression. The enzyme 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 ( $11\beta$ -HSD<sub>2</sub>), which breaks the binding of cortisol to MRs allowing binding of aldosterone, is expressed in these brain regions. Furthermore, there is evidence pointing towards the existence of aldosterone sensitive membrane-bound MR in the hippocampus (Karst et al., 2005).

The aim of the studies presented in this thesis was to investigate possible interactions between the RAAS, the inflammatory system, and depression and anxiety.

## Methods

For complete descriptions of the methods used in the studies the reader is referred to the respective articles.

Study I: Forty-three suicide attempters were included in the study. They had the following diagnoses: major depressive disorder (MDD) (n=18), adjustment disorder (n=17) and dysthymia (n=8). Seventeen non-suicidal MDD patients and eighteen healthy controls were also included. On the day of blood sampling, both patients and control subjects were rated for psychiatric symptoms using the Comprehensive Psychopathological Rating Scale (CPRS). Blood samples were drawn between 8 and 9 am after overnight fasting, and analysed to determine renin and aldosterone levels in plasma.

Study II: Eighteen patients with depression and a Montgomery–Asberg Depression Rating Scale (MADRS) score of above 21, and 18 healthy controls who were sex and age matched ( $\pm 5$  years) were included. The day before the exercise test, patients were evaluated using the CPRS and Clinical Interview for DSM-IV diagnoses.

The exercise test was designed with an initial workload of 30 W for women and 50 W for men. The workload was increased in small steps (5 W/30 s for women and 5 W/20 s for men) until a heart rate of  $125 \pm 5$  beats per minute was attained. This was followed by a constant workload for 6 min (“sub-maximal workload”). The workload was subsequently increased in small steps (as described above) until exhaustion (“maximal workload”). Blood samples were collected at different times before and after the exercise test. Baseline blood samples were taken at 2 pm after 60 min of resting sitting in a chair, immediately before the exercise test. Blood samples were also taken at sub-maximal and maximal workloads. After the exercise test, the subjects rested in a supine position, and further blood samples were drawn after 30 min and 60 min.

Serum amyloid A, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, TNF- $\alpha$ , soluble vascular cell adhesion molecule (sVCAM), soluble inter-cellular adhesion molecule (sICAM), CRP and IFN- $\gamma$  were measured in plasma using ultra-sensitive multiplex electrochemiluminescence immunoassays.

Study III: Male Wistar rats, weighing 200–250 g, were used in these experiments. The animals were divided into four groups with 10 animals in each: aldosterone- and LPS-treated, aldosterone- and saline-treated, vehicle- and LPS-treated and vehicle- and saline-treated.

Aldosterone or vehicle was administered continuously via osmotic minipumps for 5 days at a dose of 2  $\mu$ g/100 g body weight/day. Rats were injected i.p. with 1 mg/kg LPS or with sterile isotonic saline. The animals received a total of 5 LPS or saline injections at 24-hour intervals.

Locomotion was assessed in an open field for 15 minutes. The animals had been habituated to the open field 24 h prior to the locomotion tests. Locomotor activity was assessed 2 h after the last LPS injection to confirm LPS-induced behaviour, and 24 h after the last LPS injection, before the animals were subjected to the forced swim test (FST). Depressive behaviour was tested with the FST 24 h after the last LPS injection. The animals were sacrificed after the FST, and blood, CSF and brain tissue were collected.

Reverse transcriptase qPCR was used to analyse mRNA for IL-6 and IL-1 $\beta$  in the brain tissue of the prefrontal cortex. High-sensitivity electrochemiluminescence-based multiplex immunoassay was used to measure IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-5, cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1 (CINC-1) and TNF- $\alpha$  in serum and CSF.

Study IV: Patients with suspected RAS were recruited. The patients included in the study were asked to fill in a questionnaire and the self-rating scales MADRS-Self (S) and Hospital Anxiety and Depression rating scale (HAD). They were also offered a clinical psychiatric examination.

Thirty-seven patients agreed to answer the questionnaire and complete the MADRS-S and HAD self-rating scales. Eighteen patients agreed to undergo the psychiatric examination, which included a structured clinical interview regarding previous and current psychiatric disorders. The patients were diagnosed according to the DSM-IV using the structured diagnostic tool Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I. 6.0). Patients were also rated according to the CPRS.

The mean pressure gradient between the aorta and the renal artery was measured during renal angiography, and if found to be  $\geq 10$  mm Hg the patient was diagnosed as having RAS and underwent PTRAs, followed by stent insertion. Renin and aldosterone values prior to PTRAs were obtained from the patients' medical journals.

Six months after PTRAs, the patients were invited to participate in a follow-up study consisting of the collection of blood samples to determine renin and aldosterone levels, and the HAD and MADRS-S self-rating scales. Patients who participated in the clinical psychiatric examination were contacted by phone to ascertain changes in their current medication.

During the study, there was a change in the study outline, see manuscript IV.

## Results

Study I: The main finding was that suicidal MDD patients had significantly lower levels of aldosterone than all other diagnostic groups. A negative correlation was found between low levels of aldosterone and the reported CPRS score. In the suicide attempters with adjustment disorder, a positive correlation was found between aldosterone level and reported CPRS score, and between renin level and the observed CPRS score. A positive correlation was also found between renin and the observed CPRS score in depressed non-suicidal MDD patients.

These findings imply that the activity of the RAAS differs between suicidal MDD patients and suicidal patients with adjustment disorder and dysthymia, as well as non-suicidal MDD patients and healthy control subjects.

Study II: The baseline levels of inflammatory substances did not differ between depressed patients and healthy control subjects. During the exercise test, the concentrations of IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  increased in both depressed patients and control subjects. However, IFN- $\gamma$  decreased in control subjects but not in depressed

patients. There were very few differences in cytokine release between depressed patients and control subjects. The initial decrease in IL-6 at sub-maximal workload was smaller in depressed patients than in control subjects. This could imply higher inflammatory reactivity in depressed subjects than in control subjects.

Study III: LPS treatment in rats increased the levels of mRNA for IL-1 $\beta$  in the prefrontal cortex. Combined treatment with aldosterone and IL-1 $\beta$  had an interaction effect on the level of IL-1 $\beta$  mRNA in the prefrontal cortex. Both treatment with LPS and aldosterone increased the concentration of IL-1 $\beta$  in the CSF. Aldosterone treatment also increased the IL-6 concentration in serum.

Aldosterone treatment increased depressive-like behaviour in the rats, as measured with the forced swim test. These results suggest that aldosterone treatment can induce depressive behaviour. Aldosterone treatment also increased central inflammation, which was positively correlated with depressive-like behaviour.

Study IV: Thirty-seven patients answered the questionnaire. Among these, 13 reported anxiety at least once during their life, and eight reported anxiety during the previous year. Eight patients reported previous depression, and four reported depression during the previous year.

Eighteen patients with suspected RAS were assessed using a clinical psychiatric examination. Fifty-six per cent of these met the DSM-IV criteria for current anxiety. Of the 18 patients examined, 16.6 % (3/18) had previously attempted suicide. In relation to all 71 patients with suspected RAS attending the clinic during the study period, this represented 4.2 % (3/71). This can be compared to a rate of previous suicide attempts in the general population of around 3 % (Nock et al., 2008).

The renin concentration was elevated in all subjects, but the aldosterone concentration was within the normal range. A positive correlation was found between MADRS-S and aldosterone in patients with RAS, however, this finding is based on only a few individuals.

## Discussion

The findings presented in this thesis suggest that increased activity of the RAAS is related to a wide range of psychiatric symptoms. In Study I, depressed patients who had not attempted suicide exhibited a positive correlation between renin level and a wide range of psychiatric symptoms rated as observed CPRS scores. This is in line with previous findings of a positive correlation between renin and symptoms of anxiety in women (Apostolopoulou et al., 2014). Furthermore, the results of Study III suggest that aldosterone induces depressive-like symptoms in rats, confirming the findings of Hlavacova et al. (Hlavacova et al., 2012).



It is reasonable to assume that MR are involved in the ability of the RAAS to induce symptoms of anxiety and depression. Due to the existence of the enzyme  $11\beta$ -HSD<sub>2</sub>, aldosterone can activate MR in the paraventricular nucleus, the nucleus of the solitary tract and the central nucleus of the amygdala, all of which are brain regions known to be important in anxiety and depression (Murck et al., 2014). In general most MR are preferably activated by cortisol due to the much higher concentration of cortisol than aldosterone (Gomez-Sanchez, 2011). There is also evidence suggesting the existence of aldosterone sensitive membrane-bound MR in the hippocampus (Karst et al., 2005). This indicates that there may be an important relationship between the HPA axis and the RAAS system regarding their influence on psychiatric symptoms.

The negative correlation between reported CPRS scores and aldosterone level in depressed patients who had recently attempted suicide (Study I) was in line with the hypotheses. It could be in accordance with previous findings, suggesting a difference in the activation of the HPA axis between suicide attempters and depressed patients in general (Traskman-Bendz et al., 1992, Westrin et al., 2001, Lindqvist et al., 2008). Despite the findings by our group of long-lasting low CRH levels and low saliva cortisol in suicide attempters, over-activity of the HPA axis, measured as nonsuppression in the DST, has been shown to be a risk factor for future suicide (Jokinen et al., 2007). The importance of the RAAS system and the HPA axis in suicidal patients must be further investigated.

In Study IV, 56 % of the patients with suspected RAS who underwent a clinical psychiatric examination were diagnosed as having a current anxiety disorder. This is in good agreement with a study on patients with PA, in which twelve of the 23 patients (52 %) with PA suffered from an anxiety disorder (Sonino et al., 2011). Furthermore, anxiety and negativism have been described in a case report on a patient with RAS (Mazza et al., 2016). However, no difference was found in anxiety or depression between patients who were diagnosed with or without RAS based on angiography. This might be explained by multifactorial mechanisms behind the link between anxiety/depression and hypertension.

The rate of suicide attempters among the patients with suspected RAS who agreed to the psychiatric examination was 16.6 %, compared to 2.7 % in the general population (Nock et al., 2008). No data were available on previous suicide attempts in patients who were not examined. If none of these had attempted suicide, the prevalence of suicide attempters would have been 4.2 %, which would tend to indicate that the rate of suicide attempters is higher in patients with suspected RAS. It is difficult to explain this increase, as the suicide attempts occurred before the known onset of hypertension. It is possible that changes in the RAAS system earlier in life could have affected their well-being. Another explanation could be that long-

lasting inflammation contributes to depression, anxiety or suicidality and hypertension.

An increase in RAAS activity can also lead to an increase in inflammatory activity. In Study III, treating rats with aldosterone increased the concentration of IL-1 $\beta$  in the CSF and the concentration of IL-6 in serum. It has also been reported that patients with RAS exhibit increased inflammatory activity (Alhadad et al., 2007). Depression and anxiety have been linked to inflammation (Dantzer et al., 2008, Raison and Miller, 2011). This is in line with the aldosterone-induced depressive-like symptoms of rats, which were positively correlated with IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and CINC-1 levels in CSF in Study III.

No significant differences were found in baseline levels of cytokines between depressed patients and controls (Study II). This is in contrast to a previous meta-analysis, showing increased levels in depression; increases in TNF- $\alpha$  and IL-6 being the most consistent findings (Dowlati et al., 2010). However, the initial decrease in IL-6 seen in Study II was smaller in depressed patients compared to controls, which might suggest increased inflammatory activity.

## Conclusions

In conclusion, increased activity of the RAAS can induce depressive symptoms and possibly also anxiety. In suicidal MDD patients, on the other hand, decreased activity was observed. Increased RAAS activity can also induce both central and peripheral inflammation. The depressive and anxiogenic effect could be a result of both direct activation of MR in the brain and activation of the inflammatory system. However, this must be further investigated.

# Referenslista

- ADAMIS, D. & BALL, C. 2000. Physical morbidity in elderly psychiatric inpatients: prevalence and possible relations between the major mental disorders and physical illness. *Int J Geriatr Psychiatry*, 15, 248-53.
- ALHADAD, A., GURON, G., FORTUNA-NOWAKOWSKA, E., SAEED, A., MATTIASSON, I., JENSEN, G., LINDBLAD, B., GOTTSATER, A. & HERLITZ, H. 2007. Renal angioplasty causes a rapid transient increase in inflammatory biomarkers, but reduced levels of interleukin-6 and endothelin-1 1 month after intervention. *J Hypertens*, 25, 1907-14.
- ALHADAD, A., MATTIASSON, I., IVANCEV, K., LINDBLAD, B. & GOTTSATER, A. 2009. Predictors of long-term beneficial effects on blood pressure after percutaneous transluminal renal angioplasty in atherosclerotic renal artery stenosis. *Int Angiol*, 28, 106-12.
- ALHADAD, A., MATTIASSON, I., IVANCEV, K., LINDH, M., GOTTSATER, A. & LINDAHL, B. 2006. Mean pressure gradient in renal artery stenosis (RAS) before and after percutaneous transluminal renal angioplasty (PTRA) regarding initial effect and long-term outcome. Useful or not? *J Renovasc Dis*, 7-13.
- ALVAREZ, A., CERDA-NICOLAS, M., NAIM ABU NABAH, Y., MATA, M., ISSEKUTZ, A. C., PANES, J., LOBB, R. R. & SANZ, M. J. 2004. Direct evidence of leukocyte adhesion in arterioles by angiotensin II. *Blood*, 104, 402-8.
- APOSTOLOPOULOU, K., KUNZEL, H. E., GERUM, S., MERKLE, K., SCHULZ, S., FISCHER, E., PALLAUF, A., BRAND, V., BIDLINGMAIER, M., ENDRES, S., BEUSCHLEIN, F. & REINCKE, M. 2014. Gender differences in anxiety and depressive symptoms in patients with primary hyperaldosteronism: a cross-sectional study. *World J Biol Psychiatry*, 15, 26-35.
- ASBERG, M., MONTGOMERY, S. A., PERRIS, C., SCHALLING, D. & SEDVALL, G. 1978. A comprehensive psychopathological rating scale. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 5-27.
- ASBERG, M., TRASKMAN, L. & THOREN, P. 1976. 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Arch Gen Psychiatry*, 33, 1193-7.
- ATTERHOG, J. H., JONSSON, B. & SAMUELSSON, R. 1979. Exercise testing: a prospective study of complication rates. *Am Heart J*, 98, 572-9.
- BAO, A. M., MEYNEN, G. & SWAAB, D. F. 2008. The stress system in depression and neurodegeneration: focus on the human hypothalamus. *Brain Res Rev*, 57, 531-53.
- BARTH, J., SCHUMACHER, M. & HERRMANN-LINGEN, C. 2004. Depression as a risk factor for mortality in patients with coronary heart disease: a meta-analysis. *Psychosom Med*, 66, 802-13.

- BASSO, N. & TERRAGNO, N. A. 2001. History about the discovery of the renin-angiotensin system. *Hypertension*, 38, 1246-9.
- BAUNE, B. T., SMITH, E., REPPERMUND, S., AIR, T., SAMARAS, K., LUX, O., BRODATY, H., SACHDEV, P. & TROLLOR, J. N. 2012. Inflammatory biomarkers predict depressive, but not anxiety symptoms during aging: the prospective Sydney Memory and Aging Study. *Psychoneuroendocrinology*, 37, 1521-30.
- BECK, A. D., JH; FREDERICK, CJ; PERLIN, S.; POKORNY, AD; SCHULMAN, RE 1972. *Suicide prevention in the 70's*, U.S. Government Printing Office.
- BECK, A. T., HERMAN, I. & SCHUYLER, D. 1974. Development of Suicidal Intent Scales. In: BECK, A. T., RESNICK, H. & LETTIERI, D. (eds.) *The prediction of suicide*. Bowie, Md Charles Press.
- BONACCORSO, S., PUZELLA, A., MARINO, V., PASQUINI, M., BIONDI, M., ARTINI, M., ALMERIGHI, C., LEVRERO, M., EGYED, B., BOSMANS, E., MELTZER, H. Y. & MAES, M. 2001. Immunotherapy with interferon-alpha in patients affected by chronic hepatitis C induces an intercorrelated stimulation of the cytokine network and an increase in depressive and anxiety symptoms. *Psychiatry Res*, 105, 45-55.
- BONEFELD, B. E., ELFVING, B. & WEGENER, G. 2008. Reference genes for normalization: a study of rat brain tissue. *Synapse*, 62, 302-9.
- BORG, G. A. 1982. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*, 14, 377-81.
- BOSTWICK, J. M. & PANKRATZ, V. S. 2000. Affective disorders and suicide risk: a reexamination. *Am J Psychiatry*, 157, 1925-32.
- BRADY, L. S., GOLD, P. W., HERKENHAM, M., LYNN, A. B. & WHITFIELD, H. J., JR. 1992. The antidepressants fluoxetine, idazoxan and phenelzine alter corticotropin-releasing hormone and tyrosine hydroxylase mRNA levels in rat brain: therapeutic implications. *Brain Res*, 572, 117-25.
- BRUNNER, J., STALLA, G. K., STALLA, J., UHR, M., GRABNER, A., WETTER, T. C. & BRONISCH, T. 2001. Decreased corticotropin-releasing hormone (CRH) concentrations in the cerebrospinal fluid of eucortisolemic suicide attempters. *J Psychiatr Res*, 35, 1-9.
- CAPRIO, M., NEWFELL, B. G., LA SALA, A., BAUR, W., FABBRI, A., ROSANO, G., MENDELSON, M. E. & JAFFE, I. Z. 2008. Functional mineralocorticoid receptors in human vascular endothelial cells regulate intercellular adhesion molecule-1 expression and promote leukocyte adhesion. *Circ Res*, 102, 1359-67.
- CAPS, M. T., ZIERLER, R. E., POLISSAR, N. L., BERGELIN, R. O., BEACH, K. W., CANTWELL-GAB, K., CASADEI, A., DAVIDSON, R. C. & STRANDNESS, D. E., JR. 1998. Risk of atrophy in kidneys with atherosclerotic renal artery stenosis. *Kidney Int*, 53, 735-42.
- CARROLL, B. J., FEINBERG, M., GREDEN, J. F., TARIKA, J., ALBALA, A. A., HASKETT, R. F., JAMES, N. M., KRONFOL, Z., LOHR, N., STEINER, M., DE VIGNE, J. P. & YOUNG, E. 1981. A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia. Standardization, validation, and clinical utility. *Arch Gen Psychiatry*, 38, 15-22.

- CAVANAGH, J. T., CARSON, A. J., SHARPE, M. & LAWRIE, S. M. 2003. Psychological autopsy studies of suicide: a systematic review. *Psychol Med*, 33, 395-405.
- CHAN, M. H., CAREY, A. L., WATT, M. J. & FEBBRAIO, M. A. 2004. Cytokine gene expression in human skeletal muscle during concentric contraction: evidence that IL-8, like IL-6, is influenced by glycogen availability. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 287, R322-7.
- CHANGOOR, T. M. & HUTCHINSON, G. 2013. The Prevalence of Depressive Symptoms in a Trinidadian Cardiac Population. *West Indian Med J*, 62, 620-627.
- CHAPMAN, D. P., WHITFIELD, C. L., FELITTI, V. J., DUBE, S. R., EDWARDS, V. J. & ANDA, R. F. 2004. Adverse childhood experiences and the risk of depressive disorders in adulthood. *J Affect Disord*, 82, 217-25.
- COONEY, G. M., DWAN, K., GREIG, C. A., LAWLOR, D. A., RIMER, J., WAUGH, F. R., MCMURDO, M. & MEAD, G. E. 2013. Exercise for depression. *Cochrane Database Syst Rev*, 9, CD004366.
- COOPER, C. J., MURPHY, T. P., CUTLIP, D. E., JAMERSON, K., HENRICH, W., REID, D. M., COHEN, D. J., MATSUMOTO, A. H., STEFFES, M., JAFF, M. R., PRINCE, M. R., LEWIS, E. F., TUTTLE, K. R., SHAPIRO, J. I., RUNDBACK, J. H., MASSARO, J. M., D'AGOSTINO, R. B., SR., DWORKIN, L. D. & INVESTIGATORS, C. 2014. Stenting and medical therapy for atherosclerotic renal-artery stenosis. *N Engl J Med*, 370, 13-22.
- COPPEN, A. 1967. The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry*, 113, 1237-64.
- CRYAN, J. F. & LUCKI, I. 2000. Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-Hydroxytryptamine(2C) receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 295, 1120-6.
- CRYAN, J. F., MARKOU, A. & LUCKI, I. 2002. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci*, 23, 238-45.
- DAHL, A. A., KRUGER, M. B., DAHL, N. H., KARLSON, H., KNORRING, L. V. & STORDAL, E. 2009. SPIFA-A presentation of the Structured Psychiatric Interview for General Practice. *Nord J Psychiatry*, 1-11.
- DANDONA, P., KUMAR, V., ALJADA, A., GHANIM, H., SYED, T., HOFMAYER, D., MOHANTY, P., TRIPATHY, D. & GARG, R. 2003. Angiotensin II receptor blocker valsartan suppresses reactive oxygen species generation in leukocytes, nuclear factor-kappa B, in mononuclear cells of normal subjects: evidence of an antiinflammatory action. *J Clin Endocrinol Metab*, 88, 4496-501.
- DANTZER, R. & KELLEY, K. W. 1989. Stress and immunity: an integrated view of relationships between the brain and the immune system. *Life Sci*, 44, 1995-2008.
- DANTZER, R., O'CONNOR, J. C., FREUND, G. G., JOHNSON, R. W. & KELLEY, K. W. 2008. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*, 9, 46-56.
- DANTZER, R., O'CONNOR, J. C., LAWSON, M. A. & KELLEY, K. W. 2011. Inflammation-associated depression: from serotonin to kynurenine. *Psychoneuroendocrinology*, 36, 426-36.

- DANTZER, R. & WALKER, A. K. 2014. Is there a role for glutamate-mediated excitotoxicity in inflammation-induced depression? *J Neural Transm (Vienna)*, 121, 925-32.
- DAVIS, B. A., CROOK, J. E., VESTAL, R. E. & OATES, J. A. 1979. Prevalence of renovascular hypertension in patients with grade III or IV hypertensive retinopathy. *N Engl J Med*, 301, 1273-6.
- DE KLOET, E. R., OTTE, C., KUMSTA, R., KOK, L., HILLEGERS, M. H., HASSELMANN, H., KLIEGEL, D. & JOELS, M. 2016. STRESS and DEPRESSION a crucial role of the mineralocorticoid receptor. *J Neuroendocrinol*.
- DEFORREST, J. M., KNAPPENBERGER, R. C., ANTONACCIO, M. J., FERRONE, R. A. & CREEKMORE, J. S. 1982. Angiotensin II is a necessary component for the development of hypertension in the two kidney, one clip rat. *Am J Cardiol*, 49, 1515-7.
- DOWLATI, Y., HERRMANN, N., SWARDFAGER, W., LIU, H., SHAM, L., REIM, E. K. & LANCTOT, K. L. 2010. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry*, 67, 446-57.
- DUBE, S. R., ANDA, R. F., FELITTI, V. J., CHAPMAN, D. P., WILLIAMSON, D. F. & GILES, W. H. 2001. Childhood abuse, household dysfunction, and the risk of attempted suicide throughout the life span: findings from the Adverse Childhood Experiences Study. *JAMA*, 286, 3089-96.
- EMANUELE, E., GEROLDI, D., MINORETTI, P., COEN, E. & POLITI, P. 2005. Increased plasma aldosterone in patients with clinical depression. *Arch Med Res*, 36, 544-8.
- EYRE, H. & BAUNE, B. T. 2012. Neuroimmunological effects of physical exercise in depression. *Brain Behav Immun*, 26, 251-66.
- FAWCETT, J., SCHEFTNER, W. A., FOGG, L., CLARK, D. C., YOUNG, M. A., HEDEKER, D. & GIBBONS, R. 1990. Time-related predictors of suicide in major affective disorder. *Am J Psychiatry*, 147, 1189-94.
- FERRAO, F. M., LARA, L. S. & LOWE, J. 2014. Renin-angiotensin system in the kidney: What is new? *World J Nephrol*, 3, 64-76.
- FOUNTOULAKIS, K. N., GONDA, X., RIHMER, Z., FOKAS, C. & IACOVIDES, A. 2008. Revisiting the Dexamethasone Suppression Test in unipolar major depression: an exploratory study. *Ann Gen Psychiatry*, 7, 22.
- FRANKLIN, M., BERMUDEZ, I., HLAVACOVA, N., BABIC, S., MURCK, H., SCHMUCKERMAIR, C., SINGEWALD, N., GABURRO, S. & JEZOVA, D. 2012. Aldosterone increases earlier than corticosterone in new animal models of depression: is this an early marker? *J Psychiatr Res*, 46, 1394-7.
- GARVEY, M. J., HOLLON, S. D. & TUASON, V. B. 1994. Relationship between 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol and suicide. *Neuropsychobiology*, 29, 112-6.
- GOLD, P. W. & CHROUSOS, G. P. 2002. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry*, 7, 254-75.

- GOLDBLATT, H., LYNCH, J., HANZAL, R. F. & SUMMERVILLE, W. W. 1934. Studies on Experimental Hypertension : I. The Production of Persistent Elevation of Systolic Blood Pressure by Means of Renal Ischemia. *J Exp Med*, 59, 347-79.
- GOMEZ-SANCHEZ, E. P. 2011. Mineralocorticoid receptors in the brain and cardiovascular regulation: minority rule? *Trends Endocrinol Metab*, 22, 179-87.
- GRUNTZIG, A., KUHLMANN, U., VETTER, W., LUTOLF, U., MEIER, B. & SIEGENTHALER, W. 1978. Treatment of renovascular hypertension with percutaneous transluminal dilatation of a renal-artery stenosis. *Lancet*, 1, 801-2.
- HAHN, A. W., JONAS, U., BUHLER, F. R. & RESINK, T. J. 1994. Activation of human peripheral monocytes by angiotensin II. *FEBS Lett*, 347, 178-80.
- HARO, J. M., ARBABZADEH-BOUCHEZ, S., BRUGHA, T. S., DE GIROLAMO, G., GUYER, M. E., JIN, R., LEPINE, J. P., MAZZI, F., RENESES, B., VILAGUT, G., SAMPSON, N. A. & KESSLER, R. C. 2006. Concordance of the Composite International Diagnostic Interview Version 3.0 (CIDI 3.0) with standardized clinical assessments in the WHO World Mental Health surveys. *Int J Methods Psychiatr Res*, 15, 167-80.
- HART, B. L. 1988. Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosci Biobehav Rev*, 12, 123-37.
- HLAVACOVA, N. & JEZOVA, D. 2008. Chronic treatment with the mineralocorticoid hormone aldosterone results in increased anxiety-like behavior. *Horm Behav*, 54, 90-7.
- HLAVACOVA, N., WES, P. D., ONDREJCAKOVA, M., FLYNN, M. E., POUNDSTONE, P. K., BABIC, S., MURCK, H. & JEZOVA, D. 2012. Subchronic treatment with aldosterone induces depression-like behaviours and gene expression changes relevant to major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, 15, 247-65.
- HOLSBOER, F. 2000. The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology*, 23, 477-501.
- HUOT, R. L., THRIVIKRAMAN, K. V., MEANEY, M. J. & PLOTSKY, P. M. 2001. Development of adult ethanol preference and anxiety as a consequence of neonatal maternal separation in Long Evans rats and reversal with antidepressant treatment. *Psychopharmacology (Berl)*, 158, 366-73.
- JOHANSSON, R., CARLBRING, P., HEEDMAN, A., PAXLING, B. & ANDERSSON, G. 2013. Depression, anxiety and their comorbidity in the Swedish general population: point prevalence and the effect on health-related quality of life. *PeerJ*, 1, e98.
- JOKINEN, J., CARLBORG, A., MARTENSSON, B., FORSLUND, K., NORDSTROM, A. L. & NORDSTROM, P. 2007. DST non-suppression predicts suicide after attempted suicide. *Psychiatry Res*, 150, 297-303.
- KAHAN, T., CARLBERG, B. & NILSSON, P. M. 2013. [Hypertension is the greatest threat to global health. Increases the risk of cardiovascular disease, dementia and kidney disease]. *Lakartidningen*, 110, 1088-9.

- KANWAR, A., MALIK, S., PROKOP, L. J., SIM, L. A., FELDSTEIN, D., WANG, Z. & MURAD, M. H. 2013. The association between anxiety disorders and suicidal behaviors: a systematic review and meta-analysis. *Depress Anxiety*, 30, 917-29.
- KARST, H., BERGER, S., TURIAULT, M., TRONCHE, F., SCHUTZ, G. & JOELS, M. 2005. Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 19204-7.
- KESSLER, R. C., BERGLUND, P., DEMLER, O., JIN, R., MERIKANGAS, K. R. & WALTERS, E. E. 2005a. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*, 62, 593-602.
- KESSLER, R. C., CHIU, W. T., DEMLER, O., MERIKANGAS, K. R. & WALTERS, E. E. 2005b. Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*, 62, 617-27.
- KLOK, M. D., ALT, S. R., IRURZUN LAFITTE, A. J., TURNER, J. D., LAKKE, E. A., HUITINGA, I., MULLER, C. P., ZITMAN, F. G., DE KLOET, E. R. & DERIJK, R. H. 2011. Decreased expression of mineralocorticoid receptor mRNA and its splice variants in postmortem brain regions of patients with major depressive disorder. *J Psychiatr Res*, 45, 871-8.
- KOHLER, S., CIERPINSKY, K., KRONENBERG, G. & ADLI, M. 2016. The serotonergic system in the neurobiology of depression: Relevance for novel antidepressants. *J Psychopharmacol*, 30, 13-22.
- KRANZHOFER, R., SCHMIDT, J., PFEIFFER, C. A., HAGL, S., LIBBY, P. & KUBLER, W. 1999. Angiotensin induces inflammatory activation of human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19, 1623-9.
- LAKHAN, S. E., VIEIRA, K. & HAMLAT, E. 2010. Biomarkers in psychiatry: drawbacks and potential for misuse. *Int Arch Med*, 3, 1.
- LECRUBIER, Y., SHEEHAN, D., WEILLER, E., AMORIM, P., BONORA, I., HARNETT SHEEHAN, K., JANAVS, J. & DUNBAR, G. 1997. The Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI). A short diagnostic structured interview: reliability and validity according to the CIDI. *European Psychiatry*, 12, 224-231.
- LI, Z., LI, Y., CHEN, L., CHEN, P. & HU, Y. 2015. Prevalence of Depression in Patients With Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)*, 94, e1317.
- LINDQVIST, D., ISAKSSON, A., TRASKMAN-BENDZ, L. & BRUNDIN, L. 2008. Salivary cortisol and suicidal behavior--a follow-up study. *Psychoneuroendocrinology*, 33, 1061-8.
- LINDQVIST, D., JANELIDZE, S., HAGELL, P., ERHARDT, S., SAMUELSSON, M., MINTHON, L., HANSSON, O., BJORKQVIST, M., TRASKMAN-BENDZ, L. & BRUNDIN, L. 2009. Interleukin-6 Is Elevated in the Cerebrospinal Fluid of Suicide Attempters and Related to Symptom Severity. *Biol Psychiatry*.
- LOPEZ, J. F., CHALMERS, D. T., LITTLE, K. Y. & WATSON, S. J. 1998. A.E. Bennett Research Award. Regulation of serotonin1A, glucocorticoid, and mineralocorticoid



- receptor in rat and human hippocampus: implications for the neurobiology of depression. *Biol Psychiatry*, 43, 547-73.
- LUCKI, I. 1997. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol*, 8, 523-32.
- MATTISSON, C., BOGREN, M., NETTELBLADT, P., MUNK-JORGENSEN, P. & BHUGRA, D. 2005. First incidence depression in the Lundby Study: a comparison of the two time periods 1947-1972 and 1972-1997. *J Affect Disord*, 87, 151-60.
- MAZZA, A., RAVENNI, R., ARMIGLIATO, M., ROSSETTI, C., SCHIAVON, L., FIORINI, F., RIGATELLI, G., RAMAZZINA, E. & CASIGLIA, E. 2016. Mood Disorders in Uncontrolled Hypertension Despite Multiple Anti-Hypertensive Medications: Searching for a Link. *High Blood Press Cardiovasc Prev*.
- MONTGOMERY, S. A. & ASBERG, M. 1979. A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry*, 134, 382-9.
- MURCK, H., BUTTNER, M., KIRCHER, T. & KONRAD, C. 2014. Genetic, molecular and clinical determinants for the involvement of aldosterone and its receptors in major depression. *Nephron Physiol*, 128, 17-25.
- MURCK, H., HELD, K., ZIEGENBEIN, M., KUNZEL, 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.
- NASP 2016. Nationellt centrum för suicidforskning och prevention av psykisk ohälsa. Själv mord i Sverige 1980-2014.
- NEMEROFF, C. B. 2016. Paradise Lost: The Neurobiological and Clinical Consequences of Child Abuse and Neglect. *Neuron*, 89, 892-909.
- NEMEROFF, C. B., MAYBERG, H. S., KRAHL, S. E., MCNAMARA, J., FRAZER, A., HENRY, T. R., GEORGE, M. S., CHARNEY, D. S. & BRANNAN, S. K. 2006. VNS therapy in treatment-resistant depression: clinical evidence and putative neurobiological mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 31, 1345-55.
- NOCK, M. K., BORGES, G., BROMET, E. J., ALONSO, J., ANGERMEYER, M., BEAUTRAIS, A., BRUFFAERTS, R., CHIU, W. T., DE GIROLAMO, G., GLUZMAN, S., DE GRAAF, R., GUREJE, O., HARO, J. M., HUANG, Y., KARAM, E., KESSLER, R. C., LEPINE, J. P., LEVINSON, D., MEDINA-MORA, M. E., ONO, Y., POSADA-VILLA, J. & WILLIAMS, D. 2008. Cross-national prevalence and risk factors for suicidal ideation, plans and attempts. *Br J Psychiatry*, 192, 98-105.
- O'BRIEN, P. M., CRAVEN, D., SELBY, C. & SYMONDS, E. M. 1979. Treatment of premenstrual syndrome by spironolactone. *Br J Obstet Gynaecol*, 86, 142-7.
- O'CONNOR, J. C., LAWSON, M. A., ANDRE, C., MOREAU, M., LESTAGE, J., CASTANON, N., KELLEY, K. W. & DANTZER, R. 2009. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. *Mol Psychiatry*, 14, 511-22.
- O'KEANE, V., FRODL, T. & DINAN, T. G. 2012. A review of Atypical depression in relation to the course of depression and changes in HPA axis organization. *Psychoneuroendocrinology*, 37, 1589-99.

- PENNINX, B. W., BEEKMAN, A. T., HONIG, A., DEEG, D. J., SCHOEVEERS, R. A., VAN EIJK, J. T. & VAN TILBURG, W. 2001. Depression and cardiac mortality: results from a community-based longitudinal study. *Arch Gen Psychiatry*, 58, 221-7.
- PLOTSKY, P. M., THRIVIKRAMAN, K. V., NEMEROFF, C. B., CALDJI, C., SHARMA, S. & MEANEY, M. J. 2005. Long-term consequences of neonatal rearing on central corticotropin-releasing factor systems in adult male rat offspring. *Neuropsychopharmacology*, 30, 2192-204.
- PORSOLT, R. D., LE PICHON, M. & JALFRE, M. 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266, 730-2.
- QUEISSER, N., OTEIZA, P. I., STOPPER, H., OLI, R. G. & SCHUPP, N. 2011. Aldosterone induces oxidative stress, oxidative DNA damage and NF-kappaB-activation in kidney tubule cells. *Mol Carcinog*, 50, 123-35.
- RABKIN, J. G., CHARLES, E. & KASS, F. 1983. Hypertension and DSM-III depression in psychiatric outpatients. *Am J Psychiatry*, 140, 1072-4.
- RAISON, C. L. & MILLER, A. H. 2011. Is depression an inflammatory disorder? *Curr Psychiatry Rep*, 13, 467-75.
- RAJALIN, M., HIRVIKOSKI, T. & JOKINEN, J. 2013. Family history of suicide and exposure to interpersonal violence in childhood predict suicide in male suicide attempters. *J Affect Disord*, 148, 92-7.
- REMUS, J. L. & DANTZER, R. 2016. Inflammation models of depression in rodents: relevance to psychotropic drug discovery. *Int J Neuropsychopharmacol*.
- RESSLER, K. J. & NEMEROFF, C. B. 2000. Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. *Depress Anxiety*, 12 Suppl 1, 2-19.
- RORSMAN, B., GRASBECK, A., HAGNELL, O., LANKE, J., OHMAN, R., OJESJO, L. & OTTERBECK, L. 1990. A prospective study of first-incidence depression. The Lundby study, 1957-72. *Br J Psychiatry*, 156, 336-42.
- ROY, A. 1992. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and suicidal behavior in depression. *Biol Psychiatry*, 32, 812-6.
- RUHE, H. G., MASON, N. S. & SCHENE, A. H. 2007. Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Mol Psychiatry*, 12, 331-59.
- SANDSTROM, Y. K., LJUNGGREN, G., WANDELL, P., WAHLSTROM, L. & CARLSSON, A. C. 2016. Psychiatric comorbidities in patients with hypertension - a study of registered diagnoses 2009-2013 in the total population in Stockholm County, Sweden. *J Hypertens*, 34, 414-20.
- SAPOLSKY, R. M. 1996. Why stress is bad for your brain. *Science*, 273, 749-50.
- SCHILDKRAUT, J. J. 1965. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry*, 122, 509-22.
- SERAFINI, G., POMPILI, M., ELENA SERETTI, M., STEFANI, H., PALERMO, M., CORYELL, W. & GIRARDI, P. 2013. The role of inflammatory cytokines in suicidal behavior: a systematic review. *Eur Neuropsychopharmacol*, 23, 1672-86.
- SINGH, I. & ROSE, N. 2009. Biomarkers in psychiatry. *Nature*, 460, 202-7.

- SINGH, N. A., STAVRINOS, T. M., SCARBEEK, Y., GALAMBOS, G., LIBER, C. & FIATARONE SINGH, M. A. 2005. A randomized controlled trial of high versus low intensity weight training versus general practitioner care for clinical depression in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 60, 768-76.
- SLATTERY, D. A. & CRYAN, J. F. 2012. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nat Protoc*, 7, 1009-14.
- SMITH, R. S. 1991. The macrophage theory of depression. *Med Hypotheses*, 35, 298-306.
- SONINO, N., FALLO, F. & FAVA, G. A. 2006. Psychological aspects of primary aldosteronism. *Psychother Psychosom*, 75, 327-30.
- 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, E878-83.
- SUKOR, N., KOGOVSEK, C., GORDON, R. D., ROBSON, D. & STOWASSER, M. 2010. Improved quality of life, blood pressure, and biochemical status following laparoscopic adrenalectomy for unilateral primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*, 95, 1360-4.
- SVANBORG, P. & ASBERG, M. 1994. A new self-rating scale for depression and anxiety states based on the Comprehensive Psychopathological Rating Scale. *Acta Psychiatr Scand*, 89, 21-8.
- TONELLI, L. H., HOLMES, A. & POSTOLACHE, T. T. 2008. Intranasal immune challenge induces sex-dependent depressive-like behavior and cytokine expression in the brain. *Neuropsychopharmacology*, 33, 1038-48.
- TRASKMAN, L., ASBERG, M., BERTILSSON, L. & SJOSTRAND, L. 1981. Monoamine metabolites in CSF and suicidal behavior. *Arch Gen Psychiatry*, 38, 631-6.
- TRASKMAN-BENDZ, L., EKMAN, R., REGNELL, G. & OHMAN, R. 1992. HPA-related CSF neuropeptides in suicide attempters. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2, 99-106.
- TYRER, P., OWEN, R. T. & CICCETTI, D. V. 1984. The brief scale for anxiety: a subdivision of the comprehensive psychopathological rating scale. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 47, 970-5.
- VIDEBECH, P. & RAVNKILDE, B. 2004. Hippocampal volume and depression: a meta-analysis of MRI studies. *Am J Psychiatry*, 161, 1957-66.
- WESTRIN, A., EKMAN, R., REGNELL, G. & TRASKMAN-BENDZ, L. 2001. A follow up study of suicide attempters: increase of CSF-somatostatin but no change in CSF-CRH. *Eur Neuropsychopharmacol*, 11, 135-43.
- WHEATLEY, K., IVES, N., GRAY, R., KALRA, P. A., MOSS, J. G., BAIGENT, C., CARR, S., CHALMERS, N., EADINGTON, D., HAMILTON, G., LIPKIN, G., NICHOLSON, A. & SCOBLE, J. 2009. Revascularization versus medical therapy for renal-artery stenosis. *N Engl J Med*, 361, 1953-62.
- WHO 2014. World Health Organization. Preventing suicide: a global imperative.
- ZIGMOND, A. S. & SNAITH, R. P. 1983. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand*, 67, 361-70.







**LUND UNIVERSITY**  
Faculty of Medicine

Lund University, Faculty of Medicine  
Doctoral Dissertation Series 2016:63  
ISBN 978-91-7619-289-4  
ISSN 1652-8220

