

DISSERTATION

Die Assoziation von C-reaktivem Protein (CRP) mit depressiven Symptomen nach Schlaganfall: Eine Langzeitstudie mit besonderem Fokus auf Geschlechtsunterschiede

The Association of CRP (C-reactive Protein) on Depressive Symptoms After Stroke: A Longitudinal Study focusing on Sex Differences

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Viktoria Luise Katharina Schaeff

Erstbetreuung: PD Dr. med. Thomas Liman

Datum der Promotion: 28.02.2025



# Inhaltsverzeichnis

<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>iii</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>iv</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>v</b>
<b>Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>5</b>
1.1. Schlaganfall	5
1.2. Depression	5
1.2.1. Depression in der Bevölkerung	5
1.2.2. Depression nach Schlaganfall	6
1.4. Zielsetzung	8
<b>2 Methodik</b>	<b>10</b>
2.1. Studiendesign und Studienteilnehmende	10
2.2. Datenquellen	11
2.2.1. hs-CRP Messung	11
2.2.2. Wahlund Score	11
2.2.3. Medikation	11
2.3. Zielgröße	12
2.4. Statistische Methoden	12
2.4.1. Variablen zur Störfaktor-Identifikation	12
2.4.2. Komparative Statistische Analysen	14
2.5. Softwarenutzung	16
2.6. Stellungnahme zur Einhaltung ethischer Normen und guter wissenschaftlicher Praxis	16
<b>3 Ergebnisse</b>	<b>17</b>
3.1. Allgemeine Angaben	17
3.1.1. Teilnehmer:innen	17
3.1.2. Deskriptive Daten	17
3.3. Lineares Modell für das Jahr eins, zwei und drei	20

---

3.4.	Lineares gemischtes Modell über die Zeit	21
3.5.	Sensitivitätsanalysen	22
<b>4</b>	<b><i>Diskussion</i></b>	<b>27</b>
4.1	Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse	27
4.2	Interpretation der Ergebnisse und Einbettung in den aktuellen Forschungsstand	27
4.3	Stärken und Schwächen der Studie	31
4.4	Implikationen für Praxis und/oder zukünftige Forschung	33
<b>5</b>	<b><i>Schlussfolgerungen</i></b>	<b>34</b>
	<i>Literaturverzeichnis</i>	35
	<i>Eidesstattliche Versicherung</i>	41
	<i>Anteilerklärung an der erfolgten Publikationen</i>	42
	<i>Auszug aus der Journal Summary List</i>	43
	<i>Druckexemplar der Publikation</i>	45
	<i>Lebenslauf</i>	55
	<i>Abstract der These zum Studienabschluss</i>	57
	<i>Komplette Publikationsliste</i>	58
	<i>Danksagung</i>	59

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristika unserer Kohorte bei Studieneinschluss, stratifiziert nach hs-CRP .....	18
Tabelle 2: Charakteristika der Patient:innen an den einzelnen Beobachtungszeitpunkten, stratifiziert nach klinischem Schwellenwert von CES-D .....	19
Tabelle 3: Effekte von hs-CRP und depressive Symptome (CES-D Wert) für das Jahr eins, zwei und drei aus dem linearen Modell.....	21
Tabelle 4: Effekt von hs-CRP auf depressive Symptome (CES-D) über drei Jahre aus dem linear gemischten Modell .....	22
Tabelle 5: Effekt von hs-CRP auf depressive Symptome (CES-D) in Patient:innen mit subklinischer Entzündung (hs-CRP < 10 mg/L) (n=331) über drei Jahre nach linear gemischtem Modell.....	24
Tabelle 6: Dosis-Wirkungs-Beziehung von hs-CRP auf depressive Symptome (CES-D) über drei Jahre nach linear gemischtem Modell .....	24
Tabelle 7: Effekt von hs-CRP und depressive Symptome (CES-D) über drei Jahre für Patienten mit durchgeführtem cMRT (n=328) nach linear gemischtem Modell .....	24
Tabelle 8: Übersicht der Effekte der vorangegangenen Analysen mit der Erweiterung der Störfaktoren: mit Antidepressiva und anti-entzündliche Medikamente in der Dauermedikation bei Studieneinschluss .....	25
Tabelle 9 Übersicht der Charakteristika - stratifiziert nach CES-D Fehlwerten .....	26

---

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Erklärung zur Identifikation von Störfaktoren, Quelle: eigene Darstellung, modifiziert nach Pearl (2000)	<b>12</b>
Abbildung 2: Gerichteter azyklischer Graph (DAG) zur Störfaktor-identifikation für den Einfluss von hs-CRP auf CES-D, Software Dagitty; Quelle: eigene Darstellung	<b>13</b>
Abbildung 3: Flussdiagramm zum PROSCIS-B Studienein-schluss, Quelle: Schaeff et al., 2023	<b>17</b>
Abbildung 4: Darstellung der CES-D Messwerte an den drei Beobachtungszeitpunkten stratifiziert nach Geschlecht und dem hs-CRP Schwellenwert, Quelle: eigene Darstellung	<b>20</b>

## Abkürzungsverzeichnis

aHT - Arterieller Hypertonus  
ARWMC - Age-Related White Matter Change Skala  
ATC - Anatomisch-Therapeutische-Chemikalische Klassifikation  
BMI - Body Mass Index  
CES-D - Center for Epidemiologic Studies Depression Scale  
CI – Konfidenzintervall  
cMRT - Zerebrale Magnetresonanztomographie  
CRP - C-reaktives Protein  
CV - Kardiovaskular  
DM - Diabetes mellitus  
DAG - gerichteten azyklischen Graphen  
hs-CRP - hochsensitives C-reaktives Protein  
IL-6 - Interleukin-6  
IQR - Interquartilabstand  
KHK - Koronare Herzkrankheit  
LMM - Linear gemischte Modelle  
MDD - Major Depressive Disorder  
NIHSS - National Institutes of Health Stroke Skala  
pAVK - periphere arterielle Venenverschlusskrankheit  
PROSCIS-B - PROSpective Cohort with Incident Stroke  
PSD - Post Stroke Depression  
PSDD - Post Stroke Depression Disorder  
PSDS - Post Stroke Depression Symptoms  
SD – Standardabweichung  
STROBE - Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology  
TNF- $\alpha$  – Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$   
TOAST - Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment  
VHF – Vorhofflimmern  
WHO - World Health Organisation  
WML - White Matter Läsionen  
VCAM - Vascular Cell Adhesion Molekül

## Zusammenfassung

Hintergrund: Nach einem Schlaganfall zählt Depression zu der häufigsten neuropsychiatrischen Komplikation. In der Gesamtbevölkerung ist C-reaktives Protein als Prädiktor für eine Depression etabliert. Hier wollen wir untersuchen, ob hochsensitives C-reaktives Protein (hs-CRP) bei Patient:innen nach einem milden bis moderatem Schlaganfall über die Zeit mit depressiven Symptomen assoziiert ist und ob es einen Unterschied bezüglich der Ausprägung bei Männern und Frauen gibt.

Methoden: Wir rekrutierten Patient:innen mit einem erstmaligen Schlaganfall für die Prospective Cohort with Incident Stroke Berlin (NCT01363856). Die depressive Symptomlast der Patient:innen wurde mit dem validierten CES-D (Center for Epidemiologic Studies Depression Scale) Fragebogen an insgesamt drei Beobachtungszeitpunkten über drei Jahre erfasst, wobei ein CES-D über dem Schwellenwert von 16 Punkten auf eine klinisch signifikante Depression hindeutet. Einflussfaktoren wurden systematisch mit *directed acyclic graphs (DAG)* identifiziert und für die adjustierten Berechnungen genutzt. Den Zusammenhang von hs-CRP zu CES-D Werten an den einzelnen Jahren berechneten wir mit einem linearen Modell. Mit gemischten linearen Modellen berechneten wir die Effektstärke von hs-CRP auf CES-D Werten über drei Jahre und in den Subgruppenanalysen berechneten wir zusätzlich, ob 1) eine Dosis-Wirkungsbeziehung von hs-CRP zu den CES-D Werten über die Zeit vorliegt 2) sich die Effektstärke von subklinischen hs-CRP (< 10 mg/l) zu CES-D Werten über die Zeit unterscheidet 3) ergänzende Störfaktoren das Modell verbessern. In allen Analysen inkludierten wir einen Interaktionsterm, um einen Unterschied zwischen den Geschlechtern zu identifizieren.

Ergebnisse: Wir analysierten 585 Patient:innen mit einem mildem bis moderatem ischämischen Schlaganfall. Die Patient:innen waren durchschnittlich 67 (SD 13) Jahre alt, 39 % waren weiblich und der mediane NIHSS Score betrug 3 (IQR 1 -4). Im ersten Jahr gaben 20% der Teilnehmenden einen CES-D Wert von  $\geq 16$  an. Im zweiten Jahr waren es 21% und im dritten Jahr 17%. In unserem linear gemischten Modell waren höhere log-transformierten hs-CRP Level mit höheren CES-D Werten assoziiert ( $\beta=1,28$ ; (95% CI, 0,22–2,34)). Für Frauen bestätigt sich diese Assoziation in der Interaktionsanalyse ( $\beta=2,33$ ; (95% CI, 0,71–3,95)) und allen Subgruppenanalysen.

Schlussfolgerung: In unserer Kohorte von Patient:innen mit mildem bis moderatem erstmaligem ischämischen Schlaganfall zeigen sich erhöhte hochsensitive C-reaktives Protein Level bei Studieneinschluss mit höheren depressiven Symptomen über drei Jahre assoziiert und werden durch die Subgruppenanalysen bestätigt. In den Interaktionsanalyse konnten wir zeigen, dass sich diese Assoziation insbesondere für Frauen nachweisen lässt.

## Abstract

**Background and Purpose:** Depression is the most common neuropsychiatric complication following stroke. High sensitivity C reactive Protein (hs-CRP) is associated with depression in the general population and in cardiovascular diseases. We aim to assess whether hs-CRP is associated with depressive symptoms over a period of three years after a first time mild to moderate ischemic stroke. We are especially interested in the difference regarding sex.

**Methods:** Data has been obtained from the Prospective Cohort with Incident Stroke Berlin (NCT01363856). Depressive symptoms were assessed with the validated CES-D (Centre for Epidemiologic Studies Depression Scale) questionnaire at three annual follow-ups. A CES-D score above the threshold of 16 points indicates clinically significant depression. We systematically identified confounders using *directed acyclic graphs* for our regression analyses. We relied on linear and linear mixed models for calculating effect size and confidence interval of hs-CRP on CES-D for each year and over time. In sensitivity analyses we explored 1) a Dose-Response relationship of hs-CRP on depressive symptoms 2) the association of subclinical inflammation (hs-CRP < 10 mg/l) on depressive symptoms 3) expanded confounders. We included an interaction term for all our analyses to assess a potential difference between men and women.

**Results:** We analysed 585 patients with mild to moderate ischemic stroke. Patients had a mean age of 67 (SD 13) years, 39% were female, and the median NIHSS score was 3 (IQR 1-4). In the first year, 20% of participants reported a CES-D score  $\geq 16$ ; in the second year 21%, and in the third year 17%. In our linear mixed model, higher log-transformed hs-CRP levels were associated with higher CES-D scores ( $\beta=1.28$ ; 95% CI, 0.22–2.34). For women, this association was confirmed in the interaction analysis ( $\beta=2.33$ ; 95% CI, 0.71–3.95). We also confirmed this in all subgroup analyses and showed an interaction with female sex.

**Conclusion:**

In our cohort of patients with mild to moderate first-time ischemic stroke, elevated high-sensitivity C-reactive protein levels at study inclusion were associated with higher depres-

sive symptoms over three years. These results were consistent across all subgroup analyses. In the interaction analysis, we demonstrated that this association is particularly evident in women.

# 1 Einleitung

## 1.1. Schlaganfall

Schlaganfall ist eine rasch fortschreitende Erkrankung mit einem über 24 Stunden andauernden neurologischen Defizit, das auf eine fokale Schädigung des zentralen Nervensystems aufgrund einer vaskulären Ursache zurückzuführen ist. Hierbei kann zwischen ischämischen zerebralen sowie hämorrhagischen Infarkten unterschieden werden (Sacco et al., 2013). In einer zwölfjährigen Studie wurde gezeigt, dass depressive Symptome und ein erhöhter CRP (C-reaktives Protein) -Spiegel Prädiktoren für kardiovaskuläre Krankheiten und Schlaganfall sind (Poole & Steptoe, 2020). Schlaganfall ist eine häufige Erkrankung und weltweit die zweithäufigste Todesursache. Im Jahr 2019 waren weltweit 62 % aller Schlaganfälle ischämischer Natur (GBD 2019 Stroke Collaborators, 2021). Die globale Inzidenz von Schlaganfällen beträgt 12,2 Millionen und die Prävalenz liegt bei 101 Millionen (GBD 2019 Stroke Collaborators, 2021).

Die Zahlen haben sich innerhalb der letzten 30 Jahre nahezu verdoppelt (Feigin et al., 2022) und gemessen an der demographischen Entwicklung ist zu erwarten, dass diese weiter zunehmen werden. In Europa beträgt die Inzidenz 1,5 Millionen und die Prävalenz 9 Millionen. Für Deutschland wird eine Inzidenz von 242.500 und eine Prävalenz von 1,7 Millionen angegeben (Luengo-Fernandez et al., 2020). Da das Alter der größte nicht modifizierbare Risikofaktor bleibt, wird erwartet, dass die Inzidenz und Prävalenz in Deutschland bis 2035 um 25 % bzw. 24 % und bis 2040 um 33 % bzw. 29 % steigen werden (Luengo-Fernandez et al., 2020). In Deutschland belaufen sich die direkten sozialen und Gesundheitskosten auf 9,954 Millionen Euro und die indirekten Kosten auf 7,646 Millionen Euro (Luengo-Fernandez et al., 2020).

## 1.2. Depression

### 1.2.1. Depression in der Bevölkerung

Die WHO gibt an, dass „Depression im Jahr 2015 den größten Einzelbetrag zu Beeinträchtigung leistete“ ((World Health Organisation, 2017) wörtliche Übersetzung durch den Autor)). Depression ist das Ergebnis eines komplexen Zusammenspiels von biologischen, psychologischen und sozialen Komponenten. Oftmals geht eine Vulnerabilität vo-

raus, sei es aufgrund genetischer Veranlagung oder sozial erlernter Faktoren, und in Verbindung mit anderen Risikofaktoren oder dem Fehlen schützender Faktoren entsteht eine dynamische Wechselwirkung und Anfälligkeit (Robert Koch-Institut, 2012). Sowohl bei Schlaganfällen als auch bei Depressionen spielt die Neuroinflammation in der Pathophysiologie der Entstehung eine maßgebliche Rolle ((Sarkar et al., 2021), zitiert nach Haun et al., 2008 und Mukherjee et al., 2006). Bereits seit den 1990er Jahren gibt es Forschungsansätze, die einen Zusammenhang zwischen erhöhten Entzündungsparametern und dem Auftreten depressiver Symptome untersuchen. Ein CRP-Wert von  $> 3$  mg/l ist mit einer Veränderung des Belohnungssystems und des Glutamat-Stoffwechsels assoziiert und ein Prädiktor für spätere depressive Symptome (Miller & Raison, 2016). Studien an der Gesamtbevölkerung berichten, dass Entzündungsmechanismen zur MDD durch biologische Mechanismen, darunter erhöhte inflammatorische Zytokine (Debnath et al., 2021) veränderter Neurotransmitter-Stoffwechsel, und eine Glucocorticoid-Rezeptor-Resistenz (Miller & Raison, 2016), beitragen. Interessanterweise weisen geschlechtsspezifische Untersuchungen eher auf eine Prädisposition von CRP für den Einfluss auf depressive Symptome in der Gesamtbevölkerung bei Männern hin (Vetter et al., 2013), dies wird auch in einer aktuellen Studie aus Deutschland gezeigt (Ernst et al., 2021). Wiederrum zeigt eine aktuelle Studie einer großen hispanischen Kohorte nach Anpassung keine signifikanten Auswirkungen von hochsensitives C-reaktives Protein (hs-CRP) auf depressive oder ängstliche Symptome (Guerrero et al., 2023).

### 1.2.2. Depression nach Schlaganfall

Nach einem Schlaganfall ist die häufigste neuropsychiatrischen Komplikation eine Depression (Hackett & Anderson, 2005) und wird häufig als *Post Stroke Depression* (PSD) beschrieben. Bisher existieren jedoch keine diagnostischen Kriterien, die sowohl zeitliche als auch symptombezogene Merkmale berücksichtigen (Yue et al., 2017)(Towfighi et al., 2017).

Die genaue Ursache der PSD ist noch immer unklar und kann unter zwei Hypothesen zusammengefasst werden: „Reaktion auf schwere Belastung und Anpassungsstörung“ oder „organisch depressive Störung“ wie sie im ICD-10 aufgeführt sind (Mödden & Hildebrandt, 2008). Es wurden auch Modelle entwickelt, die einen dynamischen Verlauf und eine Unterscheidung zwischen *Post Stroke Depression Symptoms* (PSDS) und *Post*

*Stroke Depression Disorder* (PSDD) vorschlagen. In diesen Modellen wird PSDS als Vorstufe zu PSDD betrachtet, wobei PSDD hier einer *Major Depressive Disorder* (MDD) entspricht (Yue et al., 2017). Die diagnostische Unsicherheit könnte wahrscheinlich ein Grund für die stark variierenden Angaben zu Inzidenz und Prävalenz der PSD sein. Die Inzidenz wird beispielweise von 7 – 21% (Ayerbe et al., 2011) bis zu 33 – 55 % (Towfighi et al., 2017) angegeben. Hackett et al. berichten von einer Prävalenz von 33 % der Patient:innen 5 Jahre nach einem erstmaligen Schlaganfall (Hackett & Pickles, 2014). Eine umfangreiche Metaanalyse aus 2023 mit 27,401 Teilnehmenden gibt eine aggregierte Prävalenz von 27 % an. Innerhalb eines Monats nach Schlaganfall lag die Inzidenz bei 30 %, bis zu 5 Monaten bei 27 %, bis zu einem Jahr bei 22 % und nach einem Jahr bei 29 % (Liu et al., 2023). Fasst man die oben angegebenen Prävalenzen von Schlaganfall und PSD zusammen, könnte die Prävalenz von Patient:innen mit PSD in Deutschland 2040 bereits 730.000 betragen.

Bekannte und etablierte Risikofaktoren für das Auftreten von depressiven Symptomen nach einem Schlaganfall sind vorangegangene psychiatrische Diagnosen, die Schwere des Schlaganfalls, körperliche Beeinträchtigung, kognitive Einschränkungen und Fehlen sozialer Unterstützung oder eines sozialen Umfelds (Ladwig et al., 2023). Lee et al. berichten, dass mehr als 50 % der Patient:innen nicht mit PSD diagnostiziert wurden und somit 80 % keine Behandlung erhielten. Daher schlussfolgern sie, dass Risikopatient:innen besser identifiziert werden müssen, um ihnen ein Behandlungsangebot zu ermöglichen (Lee et al., 2022). Depressive Symptome nach einem Schlaganfall sind mit einem schlechteren funktionalen Ergebnis, einer erhöhten Mortalität, körperlichen Beeinträchtigungen (Ayerbe et al., 2013) und einem erhöhten Risiko für erneute Schlaganfälle (Wu et al., 2019) assoziiert.

Obwohl der Einfluss von inflammatorischen Parametern auf die Entwicklung von depressiven Symptomen nach einem Schlaganfall vielfach untersucht wurde, ist die Studienlage nicht eindeutig. In der Vergangenheit wurden zwar zahlreiche Beobachtungsstudien zum Zusammenhang zwischen Depression nach einem Schlaganfall und entzündlichen Biomarkern durchgeführt, jedoch sind die Studienergebnisse multifaktoriell nicht homogen oder eindeutig. Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin-6 (IL-6) wurden bereits in einer Metaanalyse als potenzielle Serummarker identifiziert (Chen et al., 2020). In einer anderen prospektiven Beobachtungsstudie aus dem Jahr 2020 mit 572 Teilnehmenden wurde gezeigt, dass hs-CRP, gemessen innerhalb von 48 Stunden nach Symptombeginn

des Schlaganfalls, mit depressiven Symptomen am Tag 8, aber nicht nach drei Monaten nach dem Schlaganfall in Verbindung stand (Kowalska et al., 2020). Eine Studie aus Schweden von 2013 mit Schlaganfallüberlebenden eineinhalb Jahre nach dem Schlaganfall zeigte zwar eine signifikante Erhöhung der Entzündungsparameter im Vergleich zu Patient:innen ohne Schlaganfall, jedoch wurde kein Unterschied bei den Entzündungsparametern zwischen Schlaganfallüberlebenden mit oder ohne Depression festgestellt (Noonan et al., 2013). Eine kürzlich durchgeführte Metaanalyse mit 3.536 Schlaganfallpatient:innen aus 13 Kohorten-Studien kommt zu dem Schluss, dass höhere CRP-Werte in der Akutphase nach dem Schlaganfall das Risiko für eine Depression innerhalb eines Jahres nach dem Schlaganfall erhöhen (Yang et al., 2021). Diese Analyse weist jedoch explizit darauf hin, dass weitere Studien mit längeren Beobachtungszeiträumen benötigt werden, um diesen Effekt zu bestätigen.

In einer systematischen Suche in PubMed im Oktober 2023 konnte keine Studie identifiziert werden, die sich mit dem häufigeren Auftreten einer Depression nach einem Schlaganfall in Zusammenhang mit Entzündungsparametern bei Frauen im Vergleich zu Männern auseinandersetzt. Die publizierten Studien analysieren die Ergebnisse nicht hinsichtlich möglicher Geschlechterunterschiede. Dies könnte zusätzlich erklären, warum die Studienergebnisse bezüglich der Entzündungshypothese bei Depression nach einem Schlaganfall so heterogen sind.

#### **1.4. Zielsetzung**

Angesichts steigender Fallzahlen von Schlaganfällen und Depressionen als eine der häufigsten neuropsychiatrischen Komplikationen ist es von großer Bedeutung, Risikopatienten angemessen zu identifizieren und die zugrundeliegende Pathophysiologie zu verstehen, um diese zu adäquat zu therapieren. Basierend auf dem aktuellen Forschungsstand kann kein eindeutiger Schluss auf den Zusammenhang zwischen CRP und Depression nach einem Schlaganfall gezogen werden. Daher ist es das Hauptziel dieser Dissertation, die Auswirkungen von hs-CRP auf depressive Symptome über einen Zeitraum von drei Jahren zu untersuchen, wobei ein besonderer Fokus auf den Geschlechterunterschieden liegt.

Die Nullhypothese (H0) kann wie folgt formuliert werden:

Entzündliche Parameter (hier hs-CRP) zum Zeitpunkt der Studieneinschreibung haben keinen negativen Einfluss auf depressive Symptome (gemessen anhand des CES-D-Wertes) im Verlauf nach einem Schlaganfall.

Unsere Alternativhypothese (H1) lautet:

Ein erhöhtes hs-CRP zum Zeitpunkt der Studieneinschreibung erhöht die depressiven Symptome (gemessen am CES-D-Wert) im Verlauf nach einem Schlaganfall.

Die zweite Alternativhypothese (H2) besagt, dass der Einfluss von hs-CRP auf depressive Symptome zwischen Männern und Frauen unterschiedlich ist. . ]

## 2 Methodik

### 2.1. Studiendesign und Studienteilnehmende

Die PROSpective Cohort with Incident Stroke-Berlin (PROSCIS-B; ClinicalTrials.gov identifier: NCT01363856) ist eine prospektive Krankenhaus-basierte Schlaganfallkohorte, in der als primäre Endpunkt vaskuläres Risiko und als sekundäre Endpunkte kognitive Leistung und Depression untersucht wurden. Erwachsene Patienten, bei denen der Symptomeintritt nicht länger als sieben Tage zurücklag, mit einem neu diagnostizierten Schlaganfall an einer der drei Stroke-Units der Charité – Universitätsmedizin Berlin wurden rekrutiert und für drei Jahre beobachtet. Eingeschlossen wurden Patient:innen, bei denen anhand der WHO-Kriterien ein Schlaganfall diagnostiziert wurde. Diese umfasst sowohl zerebrale Ischämie, zerebrale Hämorrhagie und Sinusvenenthrombosen. Patienten mit einem bereits vorangegangenen Schlaganfall oder einem schwerem (National Institutes of Health Stroke Skala (NIHSS)  $\geq 16$ ) Schlaganfall wurden ausgeschlossen. Auf Grund der unterschiedlichen Pathomechanismen konzentriert sich die Rekrutierung auf rein ischämische Schlaganfälle, um eine homogene Patientenkohorte zu gewährleisten. Patient:innen mit Hirntumor, Hirnmetastasen oder Aphasien wurden auf Grund der geringen Fallzahl bzw. aus ethischen Grundsätzen ausgeschlossen (Schaeff et al., 2023). In der PROSCIS-B-Studie wurden Patientinnen und Patienten mit mildem bis moderatem ischämischem Schlaganfall untersucht. Über einen Zeitraum von drei Jahren wurden sie jährlich kontaktiert, entweder telefonisch oder postalisch, je nach Präferenz der Patienten. Dabei wurden standardisierte Fragebögen zu Depression, kognitivem und funktionalem Outcome verwendet (Liman et al., 2013).. Eine Stichprobenberechnung erfolgte bereits durch die PROSCIS-B Gruppe vor Studienbeginn, diese wurde aber anhand des primären Endpunkts (kardiovaskuläres Risiko) berechnet und beläuft sich auf 750 Patient:innen (Liman et al., 2013). Eine Post hoc Poweranalyse ist nicht sinnvoll (Zhang et al., 2019), daher berechneten wir stattdessen, ob die Effektstärke sensitiv für die gegebene Fallzahl ist.

## 2.2. Datenquellen

### 2.2.1. hs-CRP Messung

Den Patienten der PROSCIS-B Studie wurden innerhalb von sieben Tagen nach dem Schlaganfall Blutproben entnommen. Der Serumspiegel von hs-CRP in den Proben wurde durch Chemiluminescent Immunassay bestimmt. Die Nachweisgrenzen reichten von 0,3 bis 101 mg/L mit einer analytischen Sensitivität von 0,1 mg/L und einer funktionellen Sensitivität von 0,3 mg/L.

Bei hs-CRP Messungen handelt es sich meistens um einen rechtsschiefen Wert, somit befinden sich viele der Datenpunkte auf der linken Seite des Mittelwerts und liegen weniger häufig auf der rechten Seite. Um eine Normalverteilung der Ergebnisse zu erreichen, wurde hs-CRP logtransformiert ( $10X_i + 0,01$ ) (Schaeff et al., 2023). Zum einen wird so den Modell-Anforderungen einer Normalverteilung Rechnung getragen, als auch, basierend auf der Methodik vorheriger Publikationen (hier exemplarisch (Zalli et al., 2016)(Vetter et al., 2013)), eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet. Die Anwendung der Logarithmus-Transformation erfolgte in allen Analysen mit Ausnahme der Dosis-Effekt-Analyse, um sicherzustellen, dass die Ergebnisse für diese spezielle Analyse verständlich bleiben.

### 2.2.2 Wahlund Score

Zerebrale Magnetresonanztomographie (cMRT) erfolgte mittels 1.5-T und 3-T Scannern an den jeweiligen Standorten. Marklagerläsion bzw. White Matter Läsionen (WML) konnten durch FLAIR und T2 gewichtete Sequenzen in die Wahlund Klassifikation eingeteilt werden. Bei der Wahlund-Klassifikation oder Age-Related White Matter Change Skala (ARWMC) werden WML in beiden Hemisphären (links und rechts) und in den fünf Regionen, Frontal, Parieto-Occipital, Temporal, Infratentoriell und Basalganglien bewertet. Jede der zehn Regionen wird mit einer Punktzahl von 0 – 3 nach Ausprägung der WML in dem cMRT bewertet und aus allen Regionen eine Summe von maximal 30 Punkten gebildet (Wahlund et al., 2001). Die Erfassung des Wahlund Scores ist validiert (Wahlund et al., 2001) und erfolgte durch zwei unabhängige Beobachter (Schaeff et al., 2023).

### 2.2.3. Medikation

Patient:innen, welche bei Studieneinschlusses Antidepressiva oder antientzündliche Medikamente einnahmen, wurden durch die Anatomisch-Therapeutische-Chemikalische

Klassifikation (ATC) 2018 in der Aufnahmemedikation identifiziert (Schaeff et al., 2023). NA06A/C bezeichnen Antidepressiva und H02A-B, J01A-X, J05A, M01A-C antientzündliche Medikamente.

### 2.3. Zielgröße

Der primäre Endpunkt unserer Untersuchung war der Verlauf der depressiven Symptome der Patient:innen; hierfür wurden die Symptome über drei Jahre nach dem Schlaganfall erfasst. Die depressiven Symptome wurden mit dem Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D) Fragebogen, welcher telefonisch oder postalisch beantwortet wurde, erfragt. Der erstmals 1977 vorgestellte CES-D besteht aus 20 Fragen, welche sich auf die Domänen depressiver Affekt, positiver Affekt, somatische Beschwerden und zwischenmenschliche Probleme verteilen (Radloff, 1977). Jede Frage bezieht sich jeweils auf die Symptomlast der letzten Woche, dabei repräsentieren null Punkten „weniger als einen Tag“, ein Punkt „an ein bis zwei Tagen“, zwei Punkte „an drei bis vier Tagen“ und drei Punkte „an fünf bis sieben Tagen“. Ein CES-D Wert  $\geq 16$  ist der Schwellenwert und deutet auf eine Depression hin (Radloff, 1977). Patient:innen, bei denen kein einziger CES-D Wert erhoben werden konnte, z. B. durch Versterben vor dem ersten Beobachtungszeitpunkt oder Studienabbruch, wurden ausgeschlossen (Schaeff et al., 2023). Verstorbene Teilnehmende wurden über das Landesarchiv identifiziert und validiert.

### 2.4. Statistische Methoden

#### 2.4.1. Variablen zur Störfaktor-Identifikation

In der Literatur gibt es zahlreiche potenzielle Einflussfaktoren und prädiktive Variablen, die das Risiko einer Depression nach einem Schlaganfall erhöhen. Weiterhin ist bekannt,

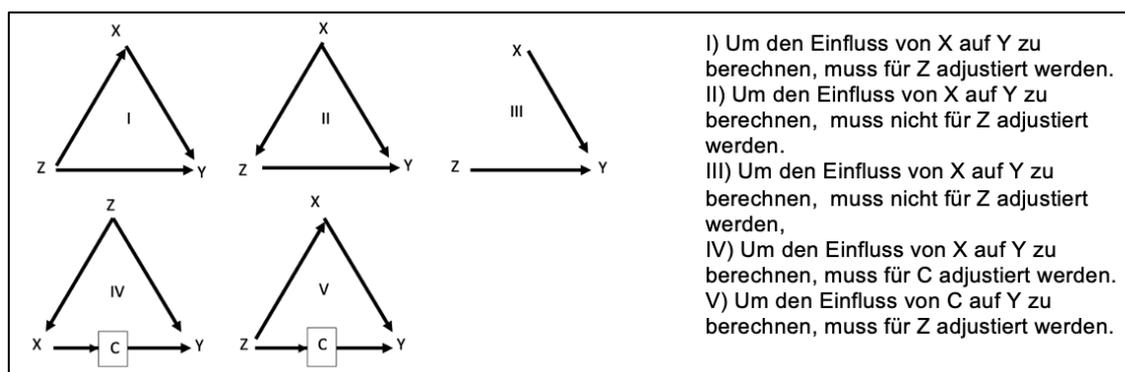


Abbildung 1: Erklärung zur Identifikation von Störfaktoren, Quelle: eigene Darstellung, modifiziert nach Pearl (2000)

dass in Beobachtungsstudien nur Korrelation angegeben werden können, dennoch enthalten manche Korrelation auch einen kausalen Anteil (Pearl, 2000). Um Störfaktoren systematisch aufzubereiten, erstellten wir einen gerichteten azyklischen Graphen (DAG). Dieser ist eine qualitative Methode, um für potenzielle Störfaktor zu adjustieren, unter der Annahme, dass eine Variable in mindestens einem Individuum einen Einfluss auf eine andere Variable hat. Abbildung 1. zeigt eine grafische Aufbereitung der unterschiedlichen Kriterien, um Störfaktoren zu identifizieren für die adjustiert werden muss. Mit dieser Methode können zum einen wichtige Störfaktor identifiziert werden, für die zwingend adjustiert werden muss, ohne alle potenziellen Störfaktoren (auch nicht erhobene) zu inkludieren, dies erlaubt das Backdoor Kriterium des DAG (Pearl, 2000). Zum anderen können die Annahmen und Gedanken der Forschenden systematisch aufbereitet und für den Leser verständlich dargestellt werden, somit kann auch eine fachliche Diskussion stattfinden (Pearl, 2000).

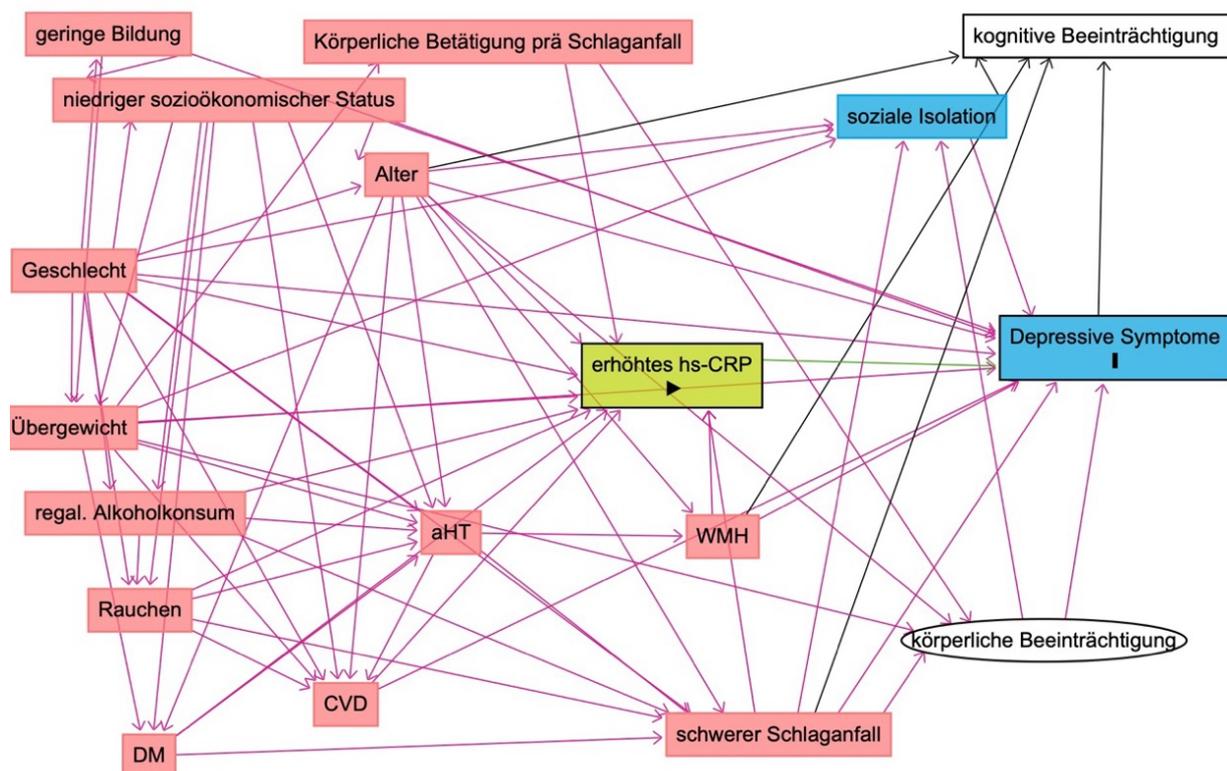


Abbildung 2: Gerichteter azyklischer Graph (DAG) zur Störfaktoridentifikation für den Einfluss von hs-CRP auf CES-D, Software Dagitty; Quelle: eigene Darstellung

hs-CRP - hochsensitives C-reaktives Protein, WMH – White matter Läsionen, aHT – arterieller Hypertonus, DM – Diabetes mellitus, CVD – kardiovaskuläre Krankheiten, CES-D - Center for Epidemiologic Studies Depression Skala

Variablen die mittels Dagitty (Textor et al., 2016) - basierend auf unserem erstelltem DAG (Abbildung 2.) - identifiziert werden konnten, waren: Alter (kontinuierlich), Geschlecht (di-

chotom: weiblich/männlich), Diabetes mellitus (dichotom), mindestens ein kardiovaskuläres Krankheitsbild, arterieller Hypertonus (dichotom), schwerer Schlaganfall (National Institutes of Health Stroke Skala (NIHSS)(kategorisch, 0-4, 5-15)), Übergewicht (Body Mass Index (BMI)(kategorisch, <18, 18,5 - <25, 25 - <30 und >30)), aktiver Raucher (dichotom), regelmäßiger Alkoholkonsum (dichotom), körperliche Betätigung vor dem Schlaganfall (dichotom: keine bis gelegentlich/ regelmäßig bis stark) (Schaeff et al., 2023). Für kognitive und körperliche Beeinträchtigung wurden keine Daten erhoben, daher werde diese im DAG als nicht adjustierbar markiert und mittels Intermediate ausgeklammert. Im Nachhinein wurden auch die Variablen "Antidepressiva" und "anti-entzündliche" Medikationen bei Studieneinschluss als potenzielle Störfaktor berücksichtigt, daher erfolgt hierzu eine eigene Sensitivitätsanalyse.

## 2.4.2. Komparative Statistische Analysen

### 2.4.2.1. Studienpopulation

Um den Verlauf der depressiven Symptome der Schlaganfallpatient:innen in Bezug auf hs-CRP bei Studieneinschluss zu beurteilen, stratifizierten wir zunächst die Patient:innen nach  $\text{hs-CRP} \geq 5 \text{ mg/L}$  und darunter. Diese Einteilung orientiert sich an dem klinischen Schwellenwert für einen erhöhten hs-CRP Spiegel und dient der Darstellung der deskriptiven Statistik. Diese werden dann mittels metrischen und parametrischen Tests jeweils analysiert und die Ergebnisse dargestellt.

2.4.2.2. Unterschied zwischen Patienten und Patientinnen für Jahr eins, zwei und drei  
Bezüglich der geschlechtsspezifischen Untersuchungen standen zum einen Subgruppenanalysen vs. Interaction Effekt Modelle zur Wahl. Auf Grund der besseren Generalisierbarkeit, höheren statischen Power- und Modellanpassung haben wir uns für das Interaktion Modell entschieden (Aiken et al., 1991). Wir führen unter Verwendung linearer Modelle Berechnungen durch, um den Einfluss von hs-CRP auf den CES-D-Score in den einzelnen Beobachtungszeitpunkten in Jahr eins, zwei und drei zu ermitteln. Dies zielt darauf ab, einen Trend in Bezug auf die Entwicklung einer Depression nach einem Schlaganfall im Zusammenhang mit hs-CRP zu untersuchen und darzustellen. In dem Modell wurden daher sowohl „hs-CRP + Geschlecht + (hs-CRP \* Geschlecht)“ als Variablen eingefügt. Dies erlaubt eine Interpretation der Ergebnisse hinsichtlich von hs-CRP als unabhängige Variable und im Hinblick darauf, ob der Einfluss auf CES-D in den zwei unterschiedlichen Geschlechtern verschieden ausgeprägt ist. Darüber hinaus werden die

Ergebnisse in  $\beta$ -Effektstärke mit 95 % CI und  $p$  angegeben und die Störfaktoren gemäß Abschnitt 2.4.1. inkorporiert.

#### 2.4.2.3. Depressive Symptome über die Zeit

In der weiterführenden Statistik und um den Verlauf der depressiven Symptome zu beurteilen, erfassten wir wie oben beschrieben CES-D Werte an den Beobachtungszeitpunkten in Jahr eins, zwei und drei: somit ergeben sich bis zu drei CES-D Werte pro Teilnehmenden. Um die Korrelation zwischen wiederholten Messungen in den denselben Patient:innen zu berücksichtigen und für die Autokorrelation zu adjustieren, verwendeten wir linear gemischte Modelle (Linear Mixed Models (LMM)). Diese erlauben für eine intraindividuelle-repetitive Abhängigkeit der Messwerte zu modellieren und die nicht adjustierte und adjustierte  $\beta$ -Effektstärke mit 95 % Konfidenzintervall (CI) für den Einfluss von hs-CRP auf den CES-D Wert über die Zeit zu berechnen (Schaeff et al., 2023). Zusätzlich besitzen LMM die Eigenschaft, für fehlende Messwerte unter der Annahme „*missing at random*“ mittels *random intercept* zu imputieren und somit eine Schätzung des fehlenden Messwertes abzugeben, ohne dabei die Daten zu verfälschen. Der *random intercept* erlaubt zuzüglich zu dem *missing at random* einen spezifischen Fehler für den Achsenstrahl zu integrieren. In unserem Modell integrierten wir zunächst die Zeit als erste unabhängige Variable, gefolgt von hs-CRP. Zusätzlich wurden Interaktionsanalysen, wie in 2.4.1.2. bereits beschrieben, durchgeführt. Um unsere Forschungsfragen adäquat zu beantworten, inkorporierten wir zudem relevante Störfaktoren, welche in Abschnitt 2.4.1. beschrieben werden.

#### 2.4.2.4. Sensitivitätsanalysen

Wir berechneten außerdem vier Sensitivitätsanalysen: wir verfolgten zwei Ansätze, um den quantitativen Effekt von hs-CRP zu explorieren. Zum einen wollten wir untersuchen, ob hs-CRP eine Dosis-Wirkungs-Beziehung hat. Hierzu separierten wir die Quantile von hs-CRP und verglichen diese Gruppen zum ersten Quantil mittels LMM. Die Ergebnisse werden in  $\beta$ -Effektstärke mit 95 % CI und  $p$  angegeben.

Zum anderen wollten wir Teilnehmende mit einer klinisch signifikanten akuten Entzündung ausschließen und nur die mit einem subklinischem hs-CRP untersuchen. In der Literatur wird ein Schwellenwert von 10 mg/l angeführt (Strandberg & Tilvis, 2000). Hierzu wurde erneut ein LMM berechnet und die  $\beta$ -Effektstärken mit 95 % CI und  $p$  angegeben.

Da uns nicht für alle Patient:innen cMRT-Datensätze zur Verfügung standen, wir aber dennoch den aus den im cMRT sichtbaren WML errechneten Wahlund Score als signifikanten Störfaktor identifizierten, führten wir hierzu eine separate Analyse durch (schaeff et al., 2023). Daher wurde ein Subdatenset erstellt, in dem nur die Patient:innen mit vorliegendem cMRT berücksichtigt waren und der Wahlund Score dem LMM als Störfaktor hinzugefügt. Die Berechnung erfolgte wie in gewohnter Weise in Abschnitt 2.4.1.3. beschrieben und die Ergebnisse sind in  $\beta$ -Effektstärke mit 95 % CI und  $p$  angegeben.

Wie in 2.4.1 beschrieben, wurden die Variablen Einnahme von: "Antidepressiva" oder "anti-entzündliche Medikamenten" bei Studieneinschluss als mögliche Störfaktoren erst im Nachhinein hinzugefügt. Um keinen Bias zu erzeugen, werden die Ergebnisse bzgl.  $\beta$ -Effektstärke mit 95 % CI und  $p$  separat aufgeführt.

## 2.5. Softwarenutzung

Die initiale Datenaufbereitung erfolgte durch IBM SPSS Statistik, Version 24, IBM Corp, Armonk, NY. Die deskriptive Statistik und Daten-Analysen wurden unter Anwendung von R (4.2.2.) mit RStudio-Benutzeroberfläche und den Paketen „base 4.3.1.“, „broom1.0.5.“, „broom.mixed1.14.0.“, „datasets 4.3.1.“, „dplyr 1.13.“, „flextable 0.9.3.“, „ggplot2 3.4.3.“, „grafics 4.3.1.“, „gtsummary 1.7.2.“, „lme41.1-34.“, „lmerTest3.1-3.“, „methods 4.3.1.“, „psych 2.3.6.“, „purrr 1.0.2.“, „readr 2.1.4.“, „stats 4.3.1.“, „stringr 1.5.0.“, „tibble 3.2.1.“, „tidyr 1.3.0.“, „tidyverse 2.0.0.“ und „utils 4.3.1.“ durchgeführt und Grafiken programmiert. Der DAG wurde mittels der Software DAGitty (<http://www.dagitty.net/dags.html>) erstellt.

## 2.6. Stellungnahme zur Einhaltung ethischer Normen und guter wissenschaftlicher Praxis

Alle Teilnehmenden wurden über die Studienteilnahme aufgeklärt und schriftliche Einverständniserklärungen, unterzeichnet durch Patient:innen oder Betreuer:innen, liegen vor. Zusätzlich haben alle Teilnehmer:innen explizit einer Blut-Biomarker-Analyse zugestimmt. Die PROSCIS-B Studie ist im Besitz eines Ethikvotums der Ethik-Kommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin (EA1/218/09) und wurde unter den Vorgaben der ethischen Prinzipien der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Wir berichten über unsere Studie anhand der STROBE (*Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*)-Kriterien.

### 3 Ergebnisse

Nachfolgend werden die Ergebnisse der Analysen präsentiert, weitere Informationen sind ggfls. in der Publikation aufgeführt.

#### 3.1 Allgemeine Angaben

##### 3.1.1. Teilnehmer:innen

Insgesamt konnten wir 690 Patient:innen für die PROSCIS-B Studie rekrutieren. Anhand der oben (2.1.) erläuterten Inklusions- und Exklusionskriterien konnten wir insgesamt 621 Patient:innen einschließen. Die PROSCIS-B Teilnehmenden waren durchschnittlich 67 ( $\pm 13$ SD) alt, 39 % ( $n=242$ ) waren weiblich und der Median des NIHSS war 3 (IQR 1-4) (Schaeff et al., 2023). Eine graphische Darstellung des Studieneinschlussverfahrens kann der Abbildung 3. entnommen werden, in dieser wird aufgezeigt, wie wir die hier analysierte Studienpopulation von 585 Patient:innen einschlossen.

##### 3.1.2. Deskriptive Daten

Hs-CRP Messung erfolgte im Median nach 4 (IQR 3-5) Tagen, der Bestimmungszeitraum unterschied sich nicht signifikant zwischen den Patient:innen mit erhöhtem ( $\geq 5$  mg/L) hs-CRP im Vergleich zu den mit normwertigen Messungen. Die hs-CRP Messungen lagen zwischen 0,3 – 101 mg/L. Unser medianer Beobachtungszeitraum lag bei 1125 (IQR 1093-1213) Tagen (Schaeff et al., 2023). Eine detaillierte Übersicht mit den Charakteristika der Patient:innen zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses, stratifiziert nach hs-CRP Schwellenwert, ist in Tabelle 1. angegeben.

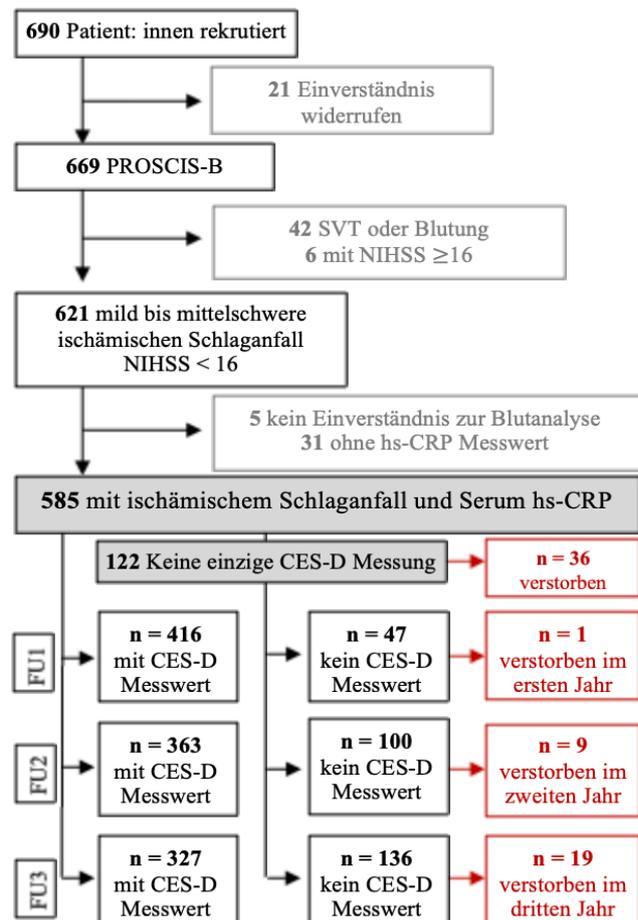


Abbildung 3: Flussdiagramm zum PROSCIS-B Studieneinschluss, Quelle: Schaeff et al., 2023

PROSCIS-B - PROSpective Cohort with Incident Stroke, hs-CRP - hochsensitives C-reaktives Protein, CES-D - Center for Epidemiologic Studies Depression Skala, FU - Beobachtungszeitpunkt, SVT - Sinus Venen Thrombose, NIHSS National Institutes of Health Stroke Skala

Tabelle 1: Charakteristika unserer Kohorte bei Studieneinschluss, stratifiziert nach hs-CRP

Variablen	hs-CRP < 5 mg/L n = 301 <sup>1</sup>	hs-CRP ≥ 5 mg/L, n = 284 <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>
Alter, in Jahren	66 (13)	71 (13)	<0,001
Weiblich	102 (34%)	124 (44%)	0,015
Diastolischer Blutdruck mmHg	78 (13)	75 (16)	0,013
Systolischer Blutdruck mmHg	139 (22)	137 (22)	>0,9
NIHSS	2,0 (1,0, 4,0)	3,0 (1,0, 5,0)	<0,001
0-4	245 (81%)	196 (69%)	
5-15	56 (19%)	88 (31%)	
Regelmäßiger Alkoholkonsum	115 (40%)	88 (32%)	0,043
Aktiver Raucher	88 (30%)	75 (27%)	0,4
BMI, Median (IQR)	26,3 (23,8, 28,9)	27,5 (24,7, 30,9)	<0,001
< 18,5	2 (0.7%)	2 (0.7%)	
≥ 18,5 and < 25	122 (41%)	78 (28%)	
≥ 25 and < 30	121 (40%)	114 (41%)	
≥ 30	55 (18%)	84 (30%)	
Total Cholesterol (mg/dL)	198 (44)	191 (53)	0,12
High-Density Lipoproteine (mg/dl)	50 (37)	47 (44)	<0,001
Low-Density Lipoproteine (mg/dl)	121 (16)	114 (16)	0,029
Triglyceride (mg/dl)	116 (73)	120 (87)	0,4
Diabetes mellitus	60 (20%)	68 (24%)	0,2
Vorangegangener Myokardinfarkt	10 (3.3%)	11 (3.9%)	0,7
Koronare Herzkrankheit	47 (16%)	44 (15%)	>0,9
periphere arterielle Venenverschlusskrankheit	16 (5.3%)	24 (8.5%)	0,13
Arterieller Hypertonus	176 (58%)	207 (73%)	<0,001
Vorhofflimmern	41 (14%)	83 (29%)	<0,001
Schlaganfall Subtypen nach TOAST Klassifikation			0,042
Makroangiopathie	74 (25%)	80 (28%)	
Kardiale Embolie	60 (20%)	79 (28%)	
Mikroangiopathie	51 (17%)	43 (15%)	
Andere Ursachen	12 (4.0%)	5 (1.8%)	
Unbekannt	104 (35%)	77 (27%)	
Unterbringung in einer Pflegeeinrichtung vor dem Schlaganfall	5 (1.7%)	6 (2.1%)	0,7
Bildung ≤ 10 Jahre	186 (64%)	211 (79%)	<0,001
körperliche Betätigung vor dem Schlaganfall			<0,001
keine bis gelegentlich	174 (58%)	218 (78%)	
regelmäßig bis starke	125 (42%)	62 (22%)	
Wahlund Score	5,0 (2,0, 8,0)	6,0 (3,0, 11,0)	0,004
Infarktmuster			0,8
Territorial (kortikal und subkortikal)	63 (30%)	52 (32%)	
Subkortikal	60 (29%)	40 (25%)	
Versprengt	45 (22%)	38 (23%)	
Lakunär	0 (0%)	1 (0.6%)	
Infratentoriell	41 (20%)	31 (19%)	

<sup>1</sup>Median (Interquartilabstand); n (%), Mittelwert (Standardabweichung); hs-CRP-hochsensitives C-reaktives Protein, NIHSS - National Institutes of Health Stroke Skala, BMI - Body Mass Index, TOAST - Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment; Quelle: Schaeff et al., 2023

Bei 463 Patient:innen wurde mindestens ein CES-D Messwert erhoben, für 55 % (n=245) konnten wir Messwerte für alle drei Zeitpunkte einholen. Cronbachs Alpha ist an allen Zeitpunkten 0,9. Im ersten Jahr waren 20 % (n=86) depressiv, angezeigt durch einen CES-D-Wert von ≥ 16. Im zweiten Jahr 21 % (n=77) und in Jahr drei 17 % (n=56). Eine detaillierte Übersicht der Patienteneigenschaften zu den einzelnen Zeitpunkten ist Tabelle 2. zu entnehmen. Zusammenfassend liegt ein signifikanter Unterschied bezüglich des CES-D ≥ 16 bei Frauen, bei einer Bildung ≤ 10 Jahren, einer Koronare Herzkrankheit (KHK) und einem höheren NIHSS Wert vor.

Tabelle 2: Charakteristika der Patient:innen an den einzelnen Beobachtungszeitpunkten, stratifiziert nach klinischem Schwellenwert von CES-D

	Beobachtungszeitpunkt in Jahr 1				Beobachtungszeitpunkt in Jahr 2				Beobachtungszeitpunkt in Jahr 3			
CES-D < 16	330 (80 %)				286 (79 %)				271 (83 %)			
CES-D ≥ 16	86 (20%)				77 (21 %)				56 (17 %)			
Kein CES-D, n	169				222				258			
Verstorben	37 (21 %)				45 (20 %)				55 (21 %)			
Median CES-D	7 (3 – 14)				7 (3 – 15)				7 (3 – 14)			
Variable	N	CES-D < 16 <sup>1</sup>	CES-D ≥ 16 <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>	N	CES-D < 16 <sup>1</sup>	CES-D ≥ 16 <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>	N	CES-D < 16 <sup>1</sup>	CES-D ≥ 16 <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>
Alter in Jahren	416	66 (13)	65 (12)	0,2	363	66 (12)	63 (13)	0,024	327	65 (12)	68 (11)	0,2
weiblich	416	115 (35%)	46 (53%)	0,002	363	97 (34%)	35 (45%)	0,062	327	88 (32%)	28 (50%)	0,013
hs-CRP in mg/L	416	4 (2, 11)	5 (2, 12)	0,15	363	4 (2, 10)	6 (2, 15)	0,021	327	3 (1, 8)	6 (3, 19)	<0,001
NIHSS	416			0,3	363			0,2	327			0,006
0-4		257 (78%)	62 (72%)			225 (79%)	55 (71%)			223 (82%)	36 (64%)	
5-15		73 (22%)	24 (28%)			61 (21%)	22 (29%)			48 (18%)	20 (36%)	
Median (IQR)	416	2 (1, 4)	2 (1,3, 5)	0,047	363	2 (1, 4)	3 (2, 5)	0,008	327	2 (1, 4)	3 (2, 5,2)	0,004
Regelmäßiger Alkoholkonsum	402	127 (40%)	27 (32%)	0,2	351	116 (42%)	26 (35%)	0,3	318	105 (40%)	15 (28%)	0,10
Aktiver Raucher	411	82 (25%)	25 (30%)	0,3	358	76 (27%)	24 (32%)	0,3	324	74 (28%)	16 (29%)	0,9
BMI	413	27 (24,2, 29,4)	27,3 (24,1, 31,3)	0,8	361	26,8 (24, 29,3)	28 (24,2, 31,6)	0,030	326	26,9 (24,2, 29,4)	27,4 (24,6, 32)	0,3
< 18,5	413	1 (0,3%)	2 (2,4%)	0,034	361	2 (0,7%)	0 (0%)	0,031	326	2 (0,7%)	0 (0%)	
≥18,5 und < 25		110 (33%)	27 (32%)			102 (36%)	24 (32%)			90 (33%)	19 (34%)	
≥25 und < 30		146 (44%)	28 (33%)			125 (44%)	25 (33%)			119 (44%)	17 (30%)	
≥ 30		72 (22%)	27 (32%)			56 (20%)	27 (36%)			59 (22%)	20 (36%)	
CV-Risikofaktoren												
Diabetes mellitus	416	64 (19%)	21 (24%)	0,3	363	60 (21%)	16 (21%)	>0,9	327	49 (18%)	16 (29%)	0,073
Z. n. Myokardinfarkt	413	10 (3,0%)	2 (2,4%)	>0,9	362	7 (2,4%)	4 (5,3%)	0,3	325	8 (3,0%)	1 (1,8%)	>0,9
Koronare Herzkrankheit	416	41 (12%)	21 (24%)	0,005	363	34 (12%)	19 (25%)	0,005	327	29 (11%)	13 (23%)	0,011
Periphere arterielle Venenver- schlusskrankheit	416	14 (4,2%)	8 (9,3%)	0,10	363	15 (5,2%)	5 (6,5%)	0,8	327	14 (5,2%)	3 (5,4%)	>0,9
Arterieller Hypertonus	416	202 (61%)	59 (69%)	0,2	363	181 (63%)	49 (64%)	>0,9	327	162 (60%)	38 (68%)	0,3
Vorhofflimmern	416	63 (19%)	19 (22%)	0,5	363	48 (17%)	17 (22%)	0,3	327	45 (17%)	11 (20%)	0,6
Wohnhaft in einem Pflegeheim prä Schlaganfall	416	4 (1,2%)	1 (1,2%)	>0,9	363	5 (1,7%)	0 (0%)	0,6	327	4 (1,5%)	0 (0%)	>0,9
≤ 10 Bildung	403	204 (64%)	68 (80%)	0,013	353	167 (60%)	60 (79%)	0,003	318	159 (61%)	47 (84%)	<0,001
WahlundScore	303	4,0 (2,0, 8,0)	5,0 (3,2, 8,8)	0,4	259	5,0 (2,0, 9,0)	4,0 (2,8, 6,2)	0,085	235	5,0 (2,0, 8,2)	5,0 (4,0, 8,0)	0,4
Körperliche Betätigung prä Schlag- anfall	414			0,6	360			0,2	324			0,090
Keine bis gelegentlich		211 (64%)	58 (67%)			170 (60%)	53 (69%)			163 (61%)	40 (73%)	
Regelmäßig bis stark		117 (36%)	28 (33%)			113 (40%)	24 (31%)			106 (39%)	15 (27%)	

<sup>1</sup>Median (Interquartilabstand); n (%), Mittelwert (Standardabweichung); <sup>2</sup>Wilcoxon Test; Pearsons Chi-quadrat Test; Exakter Fisher Test

CES-D – Center for Epidemiologic Studies Depression Skala, hs-CRP-hochsensitives C-reaktives Protein, NIHSS - National Institutes of Health Stroke Skala, BMI - Body Mass Index; Quelle: Schaeff et al., 2023

### 3.2. Unterschied zwischen Patienten und Patientinnen

Die Fragestellung unserer Analyse beschäftigt sich explizit mit dem unterschiedlichen Verlauf von depressiven Symptomen nach einem Schlaganfall bei Männern und Frauen. Hierzu entscheiden wir uns zunächst für eine grafische Ansicht von Patienten und Patientinnen stratifiziert nach hs-CRP bei Studieneinschluss. Hierbei sollte beachtet werden, dass in der Abbildung 5. keinerlei Adjustierung für andere Risikofaktoren erfolgen. Aus Abbildung 5. wird ersichtlich, dass Patientinnen einen höheren hs-CRP Messwert an allen drei Erhebungszeitpunkten präsentieren als Patienten. Insbesondere kann

beobachtet werden, dass Patientinnen mit erhöhtem hs-CRP eher eine Symptomzunahme aufweisen, während die anderen Vergleichsgruppen konstant bleiben oder abnehmende CES-D Messwerte präsentieren.

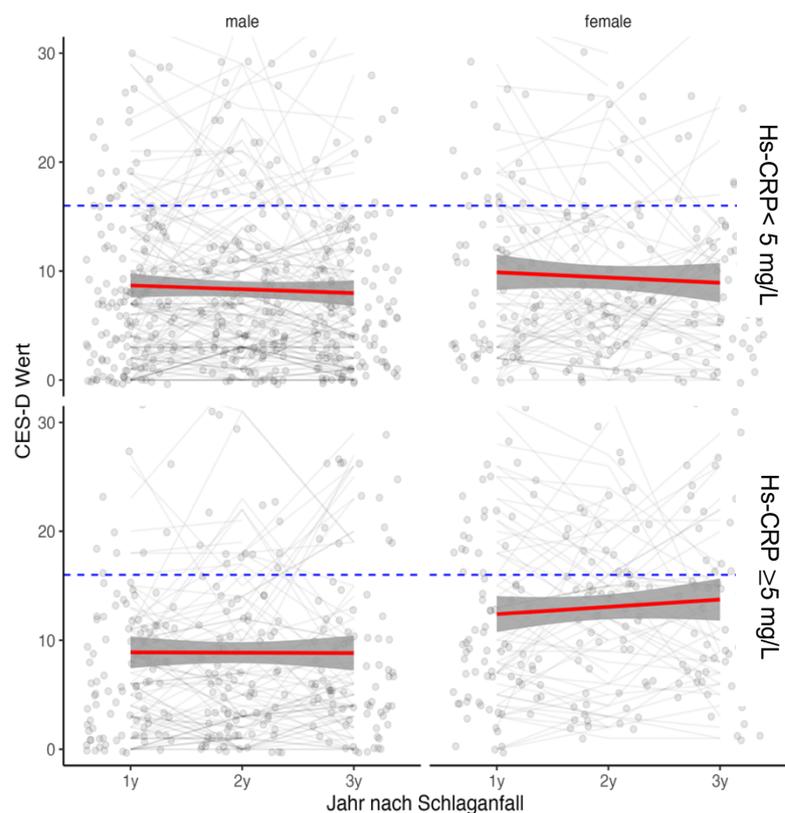


Abbildung 4: Darstellung der CES-D Messwerte an den drei Beobachtungszeitpunkten stratifiziert nach Geschlecht und dem hs-CRP Schwellenwert, Quelle: eigene Darstellung

- CES-D  $\geq 16$
- Geglättete Trendlinie nach linearer Regression
- Standardfehler

hs-CRP - hochsensitives C-reaktives Protein, CES-D - Center for Epidemiologic Studies Depression Skala

### 3.3 Lineares Modell für das Jahr eins, zwei und drei

Hierfür erfolgte die Berechnung von hs-CRP als Einflussfaktor auf den erfassten CES-D an den drei Erhebungszeitpunkten. Die Effektstärke der jeweiligen Berechnung, auch im Hinblick des unterschiedlichen Verlaufs bei Männern und Frauen, ist in Tabelle 3. dargestellt. In unserem nicht adjustierten Modell waren erhöhte log transformierte hs-CRP

Werte bei Studieneinschluss signifikant mit höheren CES-D Messwerten zum jeweiligen Erhebungszeitpunkt zwei und drei assoziiert. Nach Adjustierung für die oben genannten Störfaktoren zeigte sich nur noch der CES-D Messwert aus dem dritten Jahr ( $\beta=2,14$ ; (95% CI, 0,74–3,54)) signifikant mit einem erhöhten hs-CRP assoziiert. Diese Berechnungen erfolgten für Männer und Frauen als eine einheitliche Gruppe. Inkludiert man jedoch in diesem Modell einen Interaktionsterm für das Geschlecht, zeigt sich, dass es bei Männern an keinem der Zeitpunkte eine signifikante Assoziation oder einen Trend gibt, bei Frauen jedoch eine Zunahme der Effektstärke über die Zeitpunkte zu beobachten ist, was sich mit dem Graph in Abbildung 4. deckt.

Tabelle 3: Effekte von hs-CRP und depressive Symptome (CES-D Wert) für das Jahr eins, zwei und drei aus dem linearen Modell

		Nicht adjustiert		Adjustiert		Adjustiert + Interaktion Männer		Adjustiert + Interaktion Frauen	
10log hs-CRP in	Veränderung in CES-D über die Zeit	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
Jahr 1		1,12	-0,07 – 2,31	0,67	-0,61 – 1,95	0,16	-1,42–1,75	1,48	-0,48 – 3,54
Jahr 2		<b>2,07**</b>	0,79 – 3,36	1,14	-0,26 – 2,55	-0,21	-1,92- 1,51	<b>3,28**</b>	1,17 – 5,39
Jahr 3		<b>2,78***</b>	1,51 – 4,06	<b>2,14*</b>	0,74 – 3,54	1,23	-0,48-2,95	<b>3,60***</b>	1,47 – 5,73

# adjustiert für Alter, Geschlecht, körperliche Betätigung vor dem Schlaganfall, Diabetes mellitus, Kardiovaskuläres Risikofaktoren, National Institutes of Health Stroke Skala, Body Mass Index, regelmäßiger Alkoholkonsum, aktiver Raucher  
CES-D – Center for Epidemiologic Studies Depression Skala, hs-CRP-hochsensitives C-reaktives Protein  
\* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$ , \*\*\* $p<0,00$ ; Quelle: Schaeff et al., 2023

### 3.4. Lineares gemischtes Modell über die Zeit

Um die Assoziation von hs-CRP auf den Verlauf von depressiven Symptomen im zeitlichen Verlauf zu beurteilen, nutzten wir ein linear gemischtes Modell. Hierbei werden, wie in Abschnitt 2.4.1.3. detailliert beschrieben, die jeweiligen vorherigen CES-D Messwerte der Patient:innen berücksichtigt. Zunächst lässt sich in der nicht adjustierten Untersuchung eine Assoziation von log transformiertem hs-CRP auf CES-D beobachten ( $\beta=1,87$ ; (95% CI, 0,88–2,86)); dieser Effekt reduziert sich nach Adjustierung auf  $\beta=1,28$ ; (95% CI, 0,22–2,34), bleibt jedoch signifikant. Der Einfluss von hs-CRP auf depressive Symptome nach Schlaganfall unterscheidet sich bei Patienten und Patientinnen. Während sich bei Patienten keine Assoziation nachweisen lässt, verdoppelt sich die Effektstärke fast bei Frauen ( $\beta=2,33$ ; (95% CI, 0,71–3,95)) (Schaeff et al., 2023). Alle Ergebnisse hierzu sind in Tabelle 4. dargestellt.

Tabelle 4: Effekt von hs-CRP auf depressive Symptome (CES-D) über drei Jahre aus dem linear gemischten Modell

	Nicht adjustiert		Adjustiert		Adjustiert + Interaktion Männer		Adjustiert + Interaktion Frauen	
	Veränderung in CES-D über die Zeit							
	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
10log hs-CRP	<b>1,87***</b>	0,88–2,86	<b>1,28*</b>	0,22 –2,34	0,61	-0,71 –1,93	<b>2,33**</b>	0,71 –3,95
	R <sup>2</sup> 0,022		R <sup>2</sup> 0,109		R <sup>2</sup> 0,112			

# adjustiert für Alter, Geschlecht, körperliche Betätigung vor dem Schlaganfall, Diabetes mellitus, Kardiovaskuläres Risikofaktoren, National Institutes of Health Stroke Skala, Body Mass Index, regelmäßiger Alkoholkonsum, aktiver Raucher;  
CES-D – Center for Epidemiologic Studies Depression Skala, hs-CRP-hochsensitives C-reaktives Protein  
\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,00; Quelle: Schaeff et al., 2023

### 3.5. Sensitivitätsanalysen

In den Sensitivitätsanalysen gingen wir der Fragestellung nach, ob unterschiedliche Einflussfaktoren den Effekt von hs-CRP auf depressive Symptome nach einem Schlaganfall erklären könnten. Zunächst wurde exploriert, ob die Teilnehmenden in der Kohorte mit subklinischen hs-CRP, die gegen eine akute klinische Infektion sprechen, keine Assoziation von hs-CRP mehr aufweisen würden. Hierzu führten wir die vorangegangene Berechnung erneut für die 331 Patient:innen mit Serum hs-CRP Messwerten von < 10 mg/L bei Studieneinschluss durch. Während in der nicht adjustierten Berechnung für Männer und Frauen sich noch eine moderate Effektstärke von log transformierten hs-CRP auf CES-D zeigte, war diese nach Adjustierung nicht mehr signifikant. Die Ergebnisse unserer Berechnungen sind aus Tabelle 5. zu entnehmen. Auffallend ist, dass erneut bei der Modellierung eines Interaktionsterms für Frauen ( $n=115$ ) eine signifikante Effektstärke ( $\beta=3,54$ ; (95% CI, 0,91–6,17)) zu beobachten ist (Schaeff et al., 2023).

Weiterführend verfolgten wir den Gedanken, bei hs-CRP eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für den Einfluss auf depressive Symptome nach Schlaganfall nachzuweisen. Die Ergebnisse hierzu werden in Tabelle 6. dargestellt und werden jeweils zu dem Referenzquantil (0 – 1,77 mg/L) verglichen. Zusammenfassend lässt sich in der adjustierten Berechnung eine geringfügige, jedoch nicht statistisch signifikante Dosis-Wirkungs-Beziehung nachweisen. Wie bereits zuvor beobachtet, scheinen bei Frauen das dritte Quantil (4,77 – 12,5 mg/L) ( $\beta=3,87$ ; (95% CI, 0,76–6,99)) und auch das vierte Quantil (> 12,51 mg/L) ( $\beta=3,53$ ; (95% CI, 0,46–6,61)) eine Assoziation von hs-CRP auf CES-D aufzuweisen. Bei einer

klaren Dosis-Wirkungs-Beziehung wäre eine eindeutige Zunahme der Effektstärke im Vergleich vom dritten Quantil zum vierten Quantil zu erwarten gewesen.

Weiterführend führten wir eine Sensitivitätsanalyse bei Schlaganfallpatienten mit bei Studieneinschluss durchgeführten cMRT-Bildern durch, wobei die Wahlund-Skala oder AR-WMC als Störfaktor in unserem linearen gemischten Modell berücksichtigt und die Ergebnisse in Tabelle 7. aufgeführt sind. Diese gesonderte Berechnung erfolgte, da nicht für alle Teilnehmenden cMRT-Daten ( $n=328$ ) vorlagen, aber in dem angefertigten DAG WML als potenzieller Störfaktor identifiziert wurde. WML sind Bereiche abnormer Myelinbildung im Gehirn, die beispielsweise auf Entzündung und Schädigung des Myelins hinweisen und als gültiger Marker für Kleingefäßkrankheiten gelten. Höhere hs-CRP waren mit höheren CES-D-Messwerten über einen Zeitraum von drei Jahren in dem adjustierten linearen gemischten Modell assoziiert ( $\beta=1,58$ ; (95% CI, 0,36–2,8)). Erneut konnten wir bei Patienten keine Assoziation nachweisen, während sich die Effektstärke bei Frauen fast verdoppelt ( $\beta=2,82$ ; (95% CI, 0,93–4,70)) (Schaeff et al., 2023).

In unserer Kohorte erhielten 37 Patient:innen anti-entzündliche und 25 Patient:innen antidepressive Medikamente. Von den 25 Patient:innen waren 52 % weiblich ( $n=13$ ), 13 verwendeten trizyklische Antidepressiva, sieben nahmen selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer ein, drei verwendeten Serotonin- und Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer, und drei nahmen tetrazyklische Antidepressiva, während eine Person eine zweifache Kombination einnahm. Im ersten Jahr der Nachuntersuchung waren 20 % ( $n = 86$ ) depressiv, wie durch einen CES-D-Score  $\geq 16$  angezeigt wird, und 47 % ( $n = 8$ ) im zweiten Jahr, sowie 50 % ( $n = 9$ ) im dritten Jahr. Alle beschriebenen Analysen wurden wiederholt und um die Störfaktoren „Einnahme von Antidepressiva“ und „Einnahme von anti-entzündliche Medikamenten“ bei Studieneinschluss erweitert. Die Ergebnisse hierzu sind in Tabelle 8. abgebildet. Zusammenfassend lässt sich keine signifikante Änderung der Ergebnisse berichten; zwar lässt sich mit den zwei zusätzlichen Störfaktoren die Effektstärke dezimieren und die CI werden enger, die Ergebnisse bleiben jedoch im Trend und in der Signifikanz bestehen.

Tabelle 5: Effekt von hs-CRP auf depressive Symptome (CES-D) in Patient:innen mit subklinischer Entzündung (hs-CRP &lt; 10 mg/L) (n=331) über drei Jahre nach linear gemischtem Modell

	Nicht adjustiert		Adjustiert		Adjustiert + Interaktion Männer		Adjustiert + Interaktion Frauen	
	Veränderung in CES-D über die Zeit							
	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
10log hs-CRP	<b>1,53*</b>	0,08–2,98	1,20	-0,5 –2,9	-0,36	-2,52 –1,79	<b>3,54*</b>	0,91 –6,17
	R <sup>2</sup> 0,01		R <sup>2</sup> 0,073		R <sup>2</sup> 0,87			
# adjustiert für Alter, Geschlecht, körperliche Betätigung vor dem Schlaganfall, Diabetes mellitus, Kardiovaskuläres Risikofaktoren, National Institutes of Health Stroke Skala, Body Mass Index, regelmäßiger Alkoholkonsum, aktiver Raucher; CES-D – Center for Epidemiologic Studies Depression Skala, hs-CRP-hochsensitives C-reaktives Protein; *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,00; Quelle: Schaeff et al., 2023								

Tabelle 6: Dosis-Wirkungs-Beziehung von hs-CRP auf depressive Symptome (CES-D) über drei Jahre nach linear gemischtem Modell

	Nicht adjustiert		Adjustiert		Adjustiert + Interaktion Männer		Adjustiert + Interaktion Frauen	
	Veränderung in CES-D über die Zeit							
	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
hs-CRP <1,77 mg/l	Ref		Ref		Ref		Ref	
hs-CRP 1,77 – 4,77	1,34	-0,50 – 3,17	0,44	-1,34 – 2,23	0,22	-1,96 – 2,40	1,33	-1,74 – 4,40
hs-CRP 4,77 – 12,5	1,67	-0,17 – 3,51	0,77	-1,05 – 2,59	-0,82	-3,03 – 1,39	<b>3,87*</b>	0,76 – 6,99
hs-CRP 12,5-101	<b>3,35**</b>	1,47 – 5,24	<b>1,96*</b>	0,02 – 3,91	1,29	-1,13 – 3,71	<b>3,53 *</b>	0,46 – 6,61
	R <sup>2</sup> 0,018		R <sup>2</sup> 0,101		R <sup>2</sup> 0,110			
# adjustiert für Alter, Geschlecht, körperliche Betätigung vor dem Schlaganfall, Diabetes mellitus, Kardiovaskuläres Risikofaktoren, National Institutes of Health Stroke Skala, Body Mass Index, regelmäßiger Alkoholkonsum, aktiver Raucher; CES-D – Center for Epidemiologic Studies Depression Skala, hs-CRP-hochsensitives C-reaktives Protein; *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,00; Quelle: Schaeff et al., 2023								

Tabelle 7: Effekt von hs-CRP und depressive Symptome (CES-D) über drei Jahre für Patienten mit durchgeführtem cMRT (n=328) nach linear gemischtem Modell

	Nicht adjustiert		Adjustiert		Adjustiert + Interaktion Männer		Adjustiert + Interaktion Frauen	
	Veränderung in CES-D über die Zeit							
	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
10log hs-CRP	<b>1,67**</b>	0,53–2,81	<b>1,58*</b>	0,36 –2,8	0,79	-0,73 –2,31	<b>2,82**</b>	0,93 –4,70
	R <sup>2</sup> 0,018		R <sup>2</sup> 0,089		R <sup>2</sup> 0,095			
# adjustiert für Alter, Geschlecht, körperliche Betätigung vor dem Schlaganfall, Diabetes mellitus, Kardiovaskuläres Risikofaktoren, National Institutes of Health Stroke Skala, Body Mass Index, regelmäßiger Alkoholkonsum, aktiver Raucher; CES-D – Center for Epidemiologic Studies Depression Skala, hs-CRP-hochsensitives C-reaktives Protein, cMRT – zerebrale Magnetresonanztomographie; *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,00; Quelle: Schaeff et al., 2023								

Tabelle 8: Übersicht der Effekte der vorangegangenen Analysen mit der Erweiterung der Störfaktoren: mit Antidepressiva und anti-entzündliche Medikamente in der Dauermedikation bei Studieneinschluss

	Nicht adjustiert		Adjustiert		Adjustiert + Interaktion Männer		Adjustiert + Interaktion Frauen	
	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
10log hs-CRP in	Veränderung in CES-D über die Zeit							
Tabelle3 <sup>1</sup>								
Jahr 1	1,12	-0,07-2,31	0,51	-0,76-1,79	0,06	-1,52-1,64	1,24	-0,72-3,20
Jahr 2	<b>2,08**</b>	0,80-3,36	1,03	-0,36-2,42	-0,15	-1,85-1,54	<b>2,92**</b>	0,81-5,02
Jahr 3	<b>2,78**</b>	1,51-4,06	<b>2,02</b>	0,62-3,41	1,24	-0,46-2,95	<b>3,29**</b>	1,16-5,42
Tabelle 4. <sup>1</sup>	<b>1,87***</b>	0,88–2,86	<b>1,26*</b>	0,21 –2,32	0,63	-0,67 –1,93	<b>2,27**</b>	0,67 –3,88
Tabelle 5. <sup>1</sup>	<b>1,53*</b>	0,08–2,98	1,06	-0,59 –2,71	-0,35	-2,43 –1,73	<b>3,23*</b>	0,96 –5,80
Tabelle 7. <sup>2</sup>	<b>1,67**</b>	0,53–2,81	<b>1,41*</b>	0,20 –2,62	0,61	-0,89 –2,11	<b>2,68**</b>	0,81 –4,55

<sup>1</sup> adjustiert für Alter, Geschlecht, körperliche Betätigung vor dem Schlaganfall, Diabetes mellitus, Kardiovaskuläres Risikofaktoren, National Institutes of Health Stroke Skala, Body Mass Index, regelmäßiger Alkoholkonsum, aktiver Raucher

<sup>2</sup> adjustiert für Alter, Geschlecht, körperliche Betätigung vor dem Schlaganfall, Diabetes mellitus, Kardiovaskuläres Risikofaktoren, National Institutes of Health Stroke Skala, Body Mass Index, regelmäßiger Alkoholkonsum, aktiver Raucher, Wahlund Score;

CES-D – Center for Epidemiologic Studies Depression Skala, hs-CRP-hochsensitives C-reaktives Protein \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,00; Quelle: Schaeff et al., 2023

Zusätzlich untersuchten wir bei den Patient:innen, ob es einen Anhalt für systematische Fehler gibt und z.B. alternative Faktoren die fehlenden CES-D Messwerte erklären. Hierzu erfolgt eine Aufstellung der Patient:innen, stratifiziert nach Anzahl der fehlenden CES-D Messwerte. Die Ergebnisse hierzu sind in Tabelle 9. dargestellt. Kurz zusammenfasst zeigt sich, dass Teilnehmende mit fehlenden CES-D Messwerten für alle 3 Erhebungszeitpunkte häufiger Antidepressiva bei Studieneinschluss einnahmen. Patient:innen mit CES-D Messwerten für alle drei Zeitpunkte sind jünger, hs-CRP ist niedriger, das Bildungsniveau ist höher, sie leben häufiger zuhause und haben eine höhere körperliche Betätigung.

Aus einer Fallzahl von 500 und mit der Annahme eines zweiseitigen Testes mit 95 % CI für die Regressionskurve ergibt sich eine 0.088\*SD pro SD für hs-CRP für mittels z Statistik für große Stichproben.

Tabelle 9 Übersicht der Charakteristika - stratifiziert nach CES-D Fehlwerten

Variable	N	Einschlusskriterien erfüllt			Studienausschluss	p-value <sup>2</sup>
		3 CESD-Werte N = 254 <sup>1</sup>	2 CESD-Werte N = 74 <sup>1</sup>	1 CESD-Wert N = 135 <sup>1</sup>	Kein CESD-Wert N = 122 <sup>1</sup>	
Alter	585	67 (56, 74)	69 (57, 80)	68 (60, 76)	71 (61, 81)	0,010
Frauen	585	88 (35%)	33 (45%)	56 (41%)	49 (40%)	0,3
NIHSS	585	2,0 (1,0, 4,0)	3,0 (2,0, 5,0)	2,0 (1,0, 4,0)	3,0 (1,3, 5,0)	0,007
Aktiver Raucher	575	68 (27%)	15 (20%)	39 (29%)	41 (35%)	0,2
BMI	578	27,0 (24,2, 29,4)	27,2 (24,2, 30,5)	27,3 (24,2, 30,9)	26,2 (24,3, 29,3)	0,5
Kardiovaskuläre Diagnosen						
Diabetes mellitus	585	46 (18%)	14 (19%)	37 (27%)	31 (25%)	0,12
Vorangegangener Myokardinfarkt	582	5 (2,0%)	1 (1,4%)	8 (6,0%)	7 (5,7%)	0,076
Koronare Herzkrankheit	585	34 (13%)	11 (15%)	22 (16%)	24 (20%)	0,5
periphere arterielle Venenver- schlusskrankheit	585	12 (4,7%)	7 (9,5%)	8 (5,9%)	13 (11%)	0,14
Arterieller Hypertonus	585	146 (57%)	51 (69%)	101 (75%)	85 (70%)	0,003
Vorhofflimmern	585	40 (16%)	25 (34%)	29 (21%)	30 (25%)	0,006
Wohnsituation	585					0,059
Zuhause		250 (98%)	74 (100%)	134 (99%)	116 (95%)	
Pflegeheim		4 (1,6%)	0 (0%)	1 (0,7%)	6 (4,9%)	
≤ 10, Bildung	560	154 (63%)	55 (81%)	94 (70%)	94 (84%)	<0,001
Wahlund Score	402	5,0 (2,0, 8,0)	5,0 (2,0, 11,0)	6,0 (4,0, 9,0)	6,5 (4,0, 12,0)	0,035
hsCRP in mg/L	585	3 (1, 9)	8 (2, 22)	5 (2, 15)	6 (3, 17)	<0,001
körperliche Betätigung prä Schlaganfall	579					0,001
keine bis gelegentlich		153 (61%)	60 (81%)	88 (66%)	91 (76%)	
regelmäßig bis stark		99 (39%)	14 (19%)	46 (34%)	28 (24%)	
körperliche Betätigung post Schlaganfall	439					0,024
keine bis gelegentlich		126 (50%)	36 (61%)	77 (65%)	8 (73%)	
regelmäßig bis stark		125 (50%)	23 (39%)	41 (35%)	3 (27%)	
CES-D Jahr 1	416	7 (3, 12)	10 (6, 15)	10 (4, 16)	NA (NA, NA)	0,002
CES-D Jahr 3	363	7 (3, 13)	13 (5, 18)	10 (5, 17)	NA (NA, NA)	0,011
CES-D Jahr 3	327	7 (3, 13)	11 (7, 14)	9 (4, 15)	NA (NA, NA)	0,079
Antidepressiva Einnahme	585	13 (5,1 %)	4 (5,4 %)	8 (5,9 %)	10 (8,2 %)	0,7
Verstorben während Studienzeitraum	585	0 (0%)	10 (14%)	9 (6,7%)	36 (30%)	
Verstorben nach Studienzeitraum		1 (0,4%)	2 (2,7%)	1 (0,7%)	2 (1,6%)	

<sup>1</sup>Median (Interquartilabstand); n (%), <sup>2</sup>Kruskal-Wallis Test; Pearsons Chi-quadrat Test; Exakter Fisher Test

CES-D – Center for Epidemiologic Studies Depression Skala, hs-CRP-hochsensitives C-reaktives Protein, NIHSS - National Institutes of Health Stroke Skala, BMI - Body Mass Index; Quelle: eigene Darstellung

## 4 Diskussion

### 4.1 Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse

In unserer Analyse von Patient:innen mit einem erstmaligem mildem bis moderatem Schlaganfall konnten wir zeigen, dass höhere Serumspiegel von hs-CRP bei Studieneinschluss mit höheren depressiven Symptomen über den Zeitraum von drei Jahren assoziiert sind. Betrachtet man zunächst den Effekt von hs-CRP auf CES-D auf die einzelnen Erhebungszeitpunkte (jeweils Jahr eins, zwei und drei), zeigt sich ein zunehmender negativer Effekt von hohen hs-CRP – Werten auf depressive Symptome nach Schlaganfall, besonders bei Frauen. Dies bestätigt sich in der adjustierten longitudinalen LMM-Analyse von log transformiertem hs-CRP auf CES-D über die Zeit, bei welcher die jeweiligen vorherigen CES-D Messwerte der Patient:innen berücksichtigt werden. Dieser Effekt konnte insbesondere für Frauen bestätigt werden. Auch in den Sensitivitätsanalysen der Kohorten mit 1) mit subklinischer Entzündung (hs-CRP < 10 mg/L), 2) der Dosis-Wirkungs-Beziehung, 3) Adjustierung für cMRT Marker wie „white matter lesion load“ und 4) nach Adjustierung für die Einnahme von Antidepressiva oder anti-inflammatorischen Medikamenten bei Studieneinschluss bestätigte sich die Assoziation von erhöhtem hs-CRP mit depressiven Symptomen über die Zeit, insbesondere bei Frauen.

### 4.2 Interpretation der Ergebnisse und Einbettung in den aktuellen Forschungsstand

In unserer prospektiven Kohortenstudie untersuchten wir Patient:innen mit einem erstmalig diagnostizierten Schlaganfall auf die depressive Symptomlast über die auf den Schlaganfall folgenden drei Jahre in Zusammenhang zu hs-CRP in der akuten Schlaganfallphase. Die depressive Symptomlast wurde mit dem standardisierten und validierten CES-D Fragebogen durch die Teilnehmenden selbst erfasst.

Unser Ziel war zu untersuchen, ob Patient:innen mit erhöhtem hs-CRP eine stärkere depressive Symptomlast tragen und ob dies bei Frauen oder Männern in unterschiedlicher Ausprägung auftritt. Zukünftig sollen so Risikopatient:innen identifiziert werden und der Pathomechanismus bei Depression nach Schlaganfall um den geschlechterspezifischen Effekt erweitert werden.

Die Ergebnisse unserer LMM bestätigen unsere Hypothesen, dass 1) Patient:innen mit erhöhtem hs-CRP in der akuten Schlaganfallphase stärkere depressive Symptomlast

über den Zeitraum von drei Jahren tragen und 2) dieser Effekt Männer und Frauen unterschiedlich stark betrifft und nur bei Frauen nachzuweisen ist.

Zunächst zeigt sich in der Untersuchung des nicht adjustierten Unterschieds zwischen Männern und Frauen, dass depressive Symptome je nach Über- oder Unterschreiten des Schwellenwerts für hs-CRP ( $\geq 5$  mg/L) und Geschlecht unterschiedlich auftreten. Aus Abbildung 4. kann entnommen werden, dass Patientinnen mit einem erhöhten hs-CRP eine ausgeprägtere und zunehmende depressive Symptomlast tragen im Vergleich zu z. B. Patienten oder Patientinnen ohne erhöhtes hs-CRP. Bei der Interpretation von Abbildung 4. muss jedoch zwingend berücksichtigt werden, dass keine Adjustierung für Störfaktoren erfolgte.

In unserer Untersuchung konnten wir eine Prävalenz von Depression nach Schlaganfall, festgelegt durch den validierten klinischen Schwellenwert von einem CES-D Messwert  $\geq 16$ , von 20% für das erste Jahr, 21 % für das zweite Jahr und 17 % für das dritte Jahr nach dem Schlaganfall angeben. Somit liegt diese leicht unter der Pool-Prävalenz von PSD von 25 % im Krankenhaus (Liu et al., 2023). Dies erklären wir damit, dass Liu et al. Studien inkludierten mit einem Beobachtungszeitraum von unter einem Jahr und die Hälfte der Patient:innen mit einem Depressionsbeginn nach 3 Monaten nach einem Jahr keine klinisch relevanten Diagnosekriterien mehr erfüllten.

Auch die deutlich erhöhte Prävalenz von Patient:innen mit erhöhten CES-D Messwerten in der Subgruppe der Teilnehmenden, welche bei Studieneinschluss Antidepressiva einnahmen (Jahr eins: 20%, Jahr zwei: 47 und Jahr drei: 50), spricht für eine nachvollziehbare Erfassung.

In unserem linearen Model, auch nach Adjustierung für Störfaktoren, zeigt sich zwar eine konstant positive, aber nicht statistisch signifikante Assoziation. Dieses Model erlaubt zwar die Berechnung der Effektstärken für die einzelnen Jahre, berücksichtigt jedoch nicht die vorherigen CES-D Werte der einzelnen Patient:innen. Es ist anzunehmen, dass Patient:innen mit depressiven Symptomen bzw. einer Depression im vorherigen Jahr ein höheres Risiko tragen an persistierenden Symptomen zu leiden, hierzu existieren jedoch noch keine aussagekräftigen Langzeitstudien (Liu et al., 2023). Obwohl diese Untersuchung daher nur eingeschränkte Validität hat, zeigt sich eine unterschiedliche Effektverteilung zwischen Männern und Frauen. Dies lässt die Interpretation zu, dass der Einfluss von hs-CRP auf depressive Symptome nach einem Schlaganfall an den einzelnen Beobachtungszeitpunkten bei Frauen stärker als bei Männern ausgeprägt ist.

Bereits Kowalska et al. untersuchten den Einfluss von hs-CRP auf den Verlauf von depressiven Symptomen nach acht Tagen und drei Monaten. In ihrer prospektiven Krankenhaus-Kohorten-Studie von transienten ischämischen und persistierend ischämischen Schlaganfallpatienten konnte ein prädiktiver Charakter von hs-CRP auf depressive Symptome nach acht Tagen, aber nicht nach drei Monaten nachgewiesen werden (Kowalska et al., 2020).

Weiterführen konnten wir unsere Berechnungen um die jeweiligen CES-D Vorwerte der Teilnehmenden mittels gemischten linearen Modells erweitern und somit die Validität erhöhen. Hierbei konnten wir jeweils eine mittlere Effektstärke (Cohen J., 1988), auch nach Adjustierung für hs-CRP auf depressive Symptome bei Patient:innen nachweisen. Unser Ergebnis bestätigt eine Metanalyse (12 aus Asien und eine aus Europa) aus 2021, in der bei insgesamt 3.536 Patient:innen eine höhere Serumkonzentration von CRP vorlag bei Patient:innen mit PSD vs. ohne PSD (standardisierte Mittelwertdifferenz =0,19, 95% CI: 0,12 – 0,27) (Yang et al., 2021). Dabei kommen wir auch der Forderung der Metanalyse nach weiteren Studien mit längeren Beobachtungszeiträumen nach, da nur drei Studien einen Beobachtungszeitraum von über drei Monaten untersuchten. Interessanterweise bestätigt sich in unserer Untersuchung, dass Frauen stärker betroffen sind. Wir gehen davon aus, dass in der Analyse für beide Geschlechter zusammen der Effekt maskiert sein könnte und erst in der Interaktionsanalyse das Zusammenspiel von hs-CRP und dem weiblichen Geschlecht ersichtlich wird. Wir konnten keine Studien identifizieren, die sich geschlechterspezifisch mit Depression nach Schlaganfall und erhöhten inflammatorischen Biomarkern bei Schlaganfallpatientinnen auseinandersetzt. Während bereits bekannt ist, dass Frauen, betrachtet auf die Lebensspanne, ein höheres Risiko haben an einer MDD ((Lim et al., 2018) und (Kessler 2003)) zu leiden, konnten Untersuchungen zeigen, dass hs-CRP das Risiko der Entwicklung einer Depression in gesamten Bevölkerung erhöht ((Wium et al. 2013) und der Einfluss von hs-CRP bei Männern stärker ist (Elovainio et al. 2009)). Ye et al. konnten für IL-6 und CRP eine Kausalität zu MDD zeigen (Ye et al., 2021). Für den Zusammenhang von hs-CRP und die Entwicklung einer MDD wurde ein Zusammenhang für Männer ((Tayefi et al. 2017),(Vetter et al., 2013) und (Toker et al. 2005)) oder für Frauen ((Ma et al. 2010) und (Ye et al., 2021)) gezeigt, somit sind die Ergebnisse hierzu noch nicht eindeutig.

Tariq et al. haben die Pathophysiologie in der akuten und subakuten Inflammation nach einem Schlaganfall getrennt in Bezug auf Männer und Frauen dargestellt. Es wird de-

monstriert, dass sich in allen Immunantworten Männer und Frauen unterscheiden, interessanterweise kann sowohl bei der Mikroglia als auch der Astrozytenantwort zunächst eine dominantere antiinflammatorische Wirkung (z. B. durch IL-4 und IL-10) bei Frauen gezeigt werden, jedoch scheint dieser Effekt mit zunehmendem Alter durch fehlende X-Inaktivierung und geringere Östrogenlevel abzunehmen und sich in einen pro-inflammatorischen Effekt umzukehren. Besonders in Anbetracht der fundamental unterschiedlichen Immunantworten auf einen Schlaganfall unterstreicht Tariq et al. die Notwendigkeit für geschlechterspezifische Analyse und die damit einhergehend neue geschlechterspezifische Behandlung bei Schlaganfall (Tariq et al., 2023).

Aus den Sensitivitätsanalysen der Patient:innen mit hs-CRP < 10 mg/L und der Dosis-Wirkungsbeziehung lässt sich ableiten, dass bei Frauen eine Assoziation von hs-CRP auf depressive Symptome besonders im subklinischen Schwellenwert (a: hs-CRP < 10 mg/L und b: hs-CRP 4,77 – 12,5 mg/L) vorliegt. Eine Erklärung hierfür ist, dass es sich um Patientinnen handelt, bei denen begleitend eine systemische Infektion vorliegt und daher der Effekt von hs-CRP auf die Entwicklung von depressiven Symptomen nicht längerfristig vorliegt. In Bezug auf den Zusammenhang zwischen Depression und Inflammation wird die Inflammationshypothese auch auf die Entstehung von PSD angewandt. Hierbei wird eine reduzierte Funktion der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse in Patient:innen mit MDD und chronischer Inflammation zu Grunde gelegt (Carvalho et al 2024). Zusätzlich sollen inflammatorische Mediatoren zu einer reduzierten Produktion von *Brain-derived neurotrophic Faktor* (BDNF) führen (Porter und Connor (2022), welche dann eine reduzierte Neuroplastizität und Neugenesen zur Folge haben (Martinowich, Manji und Lu (2007).

Auch aus der Sensitivitätsanalyse mit dem erweiterten Störfaktor Wahlund Score lässt sich ableiten, dass dies für beide Geschlechter ein wichtiger Störfaktor ist. Vergleicht man hierzu Tabelle 7 mit Tabelle 4, zeigt sich, dass sich die adjustierte Effektstärke beider Geschlechter sowie der Frauen erhöht. In zukünftigen Analysen sollte der WahlundScore daher gemessen und, je nach Aufbau der Störfaktoren, inkludiert werden. Wie bereits oben erwähnt ist nachvollziehbar, dass bei den Patienten mit Einnahme von Antidepressiva die Prävalenz der depressiven Symptome (> 16 CES-D) deutlich erhöht ist. Auch aus der Sensitivitätsanalyse mit dem nachträglich hinzugefügten Faktor „Einnahme von antidepressiven Medikamenten“ zeigt sich ein konsistenter Trend in Hinblick auf die statistische Signifikanzniveaus. Da der Einfluss auf die Effektstärke tendenziell etwas größer ist bei Frauen als bei beiden Geschlechtern zusammen, jedoch nur eine geringe Fallzahl

von Patient:innen vorlag die Antidepressiva einnahmen vorlag, sollten für zukünftige Analysen die Einnahme systematisch erfasst werden und in die Störfaktoranalyse mit eingeschlossen werden. Hierbei sollte jedoch auch beachtet werden, dass, wie in Tabelle 9. dargestellt, Patient:innen, bei denen kein CES-D Wert vorlag, häufiger Antidepressive eingenommen haben bzw. der Prozentuale Anteil mit steigenden CES-D Messwerten ansteigt.

### 4.3 Stärken und Schwächen der Studie

Unsere Studie zeichnet sich durch die prospektive Datenerhebung, den langen Beobachtungszeitraum, die Studiengröße und umfassende Datenerhebung als auch die systematische Identifikation von möglichen Einflussvariablen und Störfaktor aus. Trotzdem gibt es Schwächen, welche im Folgenden beschrieben und beurteilt werden. Die Messung von hs-CRP erfolgte nur zu Beginn der Studie und es liegen keine Daten zu Verlaufskontrollen und damit einhergehende Rückschlüsse über persistierende Inflammation vor. Da unsere Studie darauf ausgelegt war, den Einfluss von hs-CRP in der akuten Schlaganfallphase zu beurteilen, sehen wir in der Zukunft vor allem einen Mehrwert von repetitiven Messungen, um Rückschlüsse auf den Verlauf und den zeitlichen Zusammenhang zwischen Depression nach Schlaganfall und Inflammation zu ziehen. Darüber hinaus erfolgte nur die Messung und Analyse von hs-CRP als Proxy für Inflammation, vorherige Studien haben bereits andere wichtige Biomarker wie TNF- $\alpha$ , IL-6 und VICAM adressiert. Hierzu sind für die Zukunft weitere Analysen, aufbauend auf den in dieser Studie gewonnen Erkenntnissen, geplant. Zusätzlich liegen zum einen keine anderen Serumwerte wie Procalcitonin oder ein Differenzialblutbild zur Beurteilung einer links Verschiebung vor, zum anderen konnten wir nicht für parallel vorliegende Infektionen adjustieren. Somit könnten hs-CRP Erhöhungen auch auf eine klinische Infektion zurückzuführen sein und dies sollte in der Interpretation unserer Ergebnisse beachtet werden. Jedoch weisen die Daten aus der Sensitivitätsanalyse der subklinischen Inflammation nicht auf einen ausgeprägten Informations-Bias hin. Zusätzlich gibt es keinen Anhalt, dass in unserer Studie teilnehmende Patientinnen häufiger an Infektionen leiden als Patienten, daher kann dies nicht den unterschiedlichen Einfluss von hs-CRP auf Männer und Frauen erklären. Des Weiteren wurden Patient:innen nur durch einen Befragungsbogen bzgl. der depressiven Symptome evaluiert. Eine psychiatrische Vorstellung zur Diagnosesicherung ist nicht erfolgt. Dies ist auch der Grund, warum wir eine lineare Analyse vorzogen, den Einfluss auf

depressive Symptome untersuchten und von einer logistischen Regressionsanalyse mit Unterteilung in depressiv und nicht depressiv absahen. Weiterhin liegen keine Daten für die Teilnehmer: innen bzgl. psychiatrischer Vordiagnosen vor, einzig die Einnahme von antidepressiven Medikamenten bei Studieneinschluss wurde dokumentiert. Hierbei könnte einer der wichtigsten Risikofaktoren für die erneute Entstehung einer Depression nicht erfasst sein. Jedoch wäre hier zu erwägen, der in der Einleitung beschriebenen Inflammationshypothese zur Entstehung einer Depression zu folgen und die persistierende Inflammation als Risikofaktor für Depression und Depression nach Schlaganfall zu sehen. Zusätzlich wurde an den folgenden Beobachtungszeitpunkten (nach Jahr eins, zwei und drei) nicht die Einnahme von antidepressiven Medikamenten erfasst, was womöglich die interne Validität unsere Studie beeinträchtigt. Mögliche Fehler II Art -  $\beta$  Fehler - sind die Annahme, dass die Einnahme von Antidepressiva den CES-D Score vermutlich senkt und somit Patient:innen mit einer klinischen Depression durch die antidepressive Therapie niedrigere CES-D Messwerte vorweisen. Ein weiterer Aspekt ist, dass depressive Patienten möglicherweise weniger häufig an den einzelnen Befragungen teilnehmen, bzw. wie in unserer Studie gezeigt häufiger nicht antworten. Dies könnte dazu führen, dass depressive Patienten häufiger als Drop-Out geführt werden und es zu einer Unterschätzung der Prävalenz und Schwere von Depression in unserer Stichprobe führt. Die Identifikation und Beurteilung von depressiven Symptomen sind entscheidend, hierzu hat sich der validierte CES-D Fragebogen als wirksames Messinstrument gezeigt. Dennoch ist es wichtig Fehler I und II Art zu berücksichtigen, die bei der Verwendung dieses Fragebogens auftreten. Fehler I Art - sogenannter  $\alpha$ -Fehler - könnte sein, dass Menschen in Selbsteinschätzungen meist höhere Werte angeben als in einem strukturierten klinischen Interview. Jedoch ist der CES-D ein validierter Fragebogen und berücksichtigt dies mit invertierten Fragen, und wir konnten eine hohe interne Validität (Cronbachs  $\alpha$  von 0.9) ermitteln. Zusätzlich ist trotz systematischer Störfaktor-Identifikation mittels DAG nicht ausgeschlossen, dass wir für wichtige Störfaktoren nicht adjustiert bzw. wichtige Störfaktoren nicht beobachtet haben.

Die externe Validität unsere Studie wird durch das multizentrische Design mit unterschiedlichen Einzugsgebieten und Bevölkerungsschichten, den langen Beobachtungszeitraum und einer systematischen Identifikation von Störfaktoren gestützt und gewährleistet eine generelle Übertragbarkeit der Ergebnisse. Zusätzlich wurden die STROBE-

Kriterien zur systematischen Berichterstattung genutzt und sollen zukünftige Replikationen unserer Studie unterstützen. Eine externe Validation der Ergebnisse ist durch die PROCIS-M (München) Kohorte geplant. Eine Einschränkung ergibt sich aus den Ausschlusskriterien, da wir nur Patient:innen mit einem erstmaligen ischämischen milden bis moderaten Schlaganfall untersuchten. Daher können die Ergebnisse nicht für hämorrhagische, schwere oder erneute Schlaganfälle oder Schlaganfälle mit Aphasie übertragen werden.

#### **4.4 Implikationen für Praxis und/oder zukünftige Forschung**

Wie bereits an mehreren Stellen angedeutet, fehlt es an Langzeitstudien zur Depression nach einem Schlaganfall; hierzu sollten zukünftig weiterführende Studien geplant und bestenfalls um eine psychiatrische Evaluation ergänzt werden. Wie ebenfalls bereits angemerkt, sehen wir zukünftig einen Mehrwert in Interaktionsanalysen für Männer und Frauen; insbesondere für Studien, die die Immunantwort betreffen. In unserer Untersuchung konnten wir zeigen, dass der Effekt von hs-CRP nur in kleiner Ausprägung zu beobachten ist, wenn man beide Geschlechter zusammen analysiert, aber eine mittlere Effektstärke für den Effekt von hs-CRP auf Depression nach Schlagfall für Frauen nachweist.

Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die DAG`s hervorragend eignen um eine systematische und übersichtliche Störfaktoridentifikation eignen und diese einen wissenschaftlichen Diskurs durch transparente und verständliche Kommunikation des Identifikationsprozesses und Ergebnis fördern, um etwaige Anpassungen vorzunehmen.

## 5 Schlussfolgerungen

Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass erhöhte CRP-Werte zum Zeitpunkt des Schlaganfalls mit einer Zunahme von depressiven Symptomen über drei Jahre assoziiert sind, insbesondere bei Frauen. Die vorliegenden Studienergebnisse tragen somit zu den bestehenden Erkenntnissen über die Entstehung von Depressionen nach Schlaganfällen bei und weisen auf eine mögliche inflammatorische Komponente - insbesondere im Hinblick auf Frauen - bei. Trotz einiger Limitationen sind unserer Studienergebnisse eine vielversprechende Grundlage für zukünftige Biomarkeranalysen, die die wechselseitige Beziehung zwischen Inflammation und Post Stroke Depression untersuchen wollen. Zukünftige Studien sollte hier insbesondere eine geschlechtergetrennte Untersuchung favorisieren, um Pathomechanismen besser zu verstehen und somit die Behandlung bzw. Prophylaxe von Depressionen nach einem Schlaganfall weiter voranzutreiben.

## Literaturverzeichnis

1. Aiken, L. S. and West, S. G. (1991) Multiple Regression: Testing and Interpreting Interactions. Sage Publications, Inc, Thousand Oaks.
2. Ayerbe, L., Ayis, S., Crichton, S., Wolfe, C. D. A., & Rudd, A. G. (2013). The natural history of depression up to 15 years after stroke: The South London stroke register. *Stroke*, 44(4), 1105-1110.  
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.679340>
3. Ayerbe, L., Ayis, S., Rudd, A. G., Heuschmann, P. U., & Wolfe, C. D. A. (2011). Natural history, predictors, and associations of depression 5 years after stroke: The South London stroke register. *Stroke*, 42(7), 1907–1911.  
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.605808>
4. Carvalho, L. A., Bergink, V., Sumaski, L., Wijkhuijs, J., Hoogendijk, W. J., Birkenhager, T. K., & Drexhage, H. A. (2014). Inflammatory activation is associated with a reduced glucocorticoid receptor alpha/beta expression ratio in monocytes of inpatients with melancholic major depressive disorder. *Translational psychiatry*, 4(1), e344. <https://doi.org/10.1038/tp.2013.118>
5. Chen, Y., Pu, J., Liu, Y., Tian, L., Chen, X., Gui, S., Xu, S., Song, X., & Xie, P. (2020). Pro-inflammatory cytokines are associated with the development of post-stroke depression in the acute stage of stroke: A meta-analysis. *Topics in Stroke Rehabilitation*, 27(8), 620–629. <https://doi.org/10.1080/10749357.2020.1755813>
6. Cohen J. (1988). *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2nd ed.). Lawrence Erlbaum Association.
7. Debnath, M., Berk, M., & Maes, M. (2021). Translational evidence for the Inflammatory Response System (IRS)/Compensatory Immune Response System (CIRS) and neuroprogression theory of major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 111(January), 110343.  
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110343>
8. Elovainio, M., Aalto, A. M., Kivimäki, M., Pirkola, S., Sundvall, J., Lönnqvist, J., & Reunanen, A. (2009). Depression and C-reactive protein: population-based Health 2000 Study. *Psychosomatic medicine*, 71(4), 423–430.  
<https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e31819e333a>
9. Ernst, M., Brähler, E., Otten, D., Werner, A. M., Tibubos, A. N., Reiner, I., Wicke, F., Wiltink, J., Michal, M., Nagler, M., Münzel, T., Wild, P. S., König, J., Pfeiffer, N., Borta, A., Lackner, K. J., & Beutel, M. E. (2021). Inflammation predicts new onset of depression in men, but not in women within a prospective, representative community cohort. *Scientific Reports*, 11(1), 1–12.

- <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81927-9>
10. Feigin, V. L., Brainin, M., Norrving, B., Martins, S., Sacco, R. L., Hacke, W., Fisher, M., Pandian, J., & Lindsay, P. (2022). World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022. *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*, 17(1), 18–29.  
<https://doi.org/10.1177/17474930211065917>
  11. GBD (Global burden of Disease) 2019 Stroke Collaborators (2021). Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Neurology*, 20(10), 1–26. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00252-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00252-0)
  12. Guerrero, L. R., Hong, S., Tarraf, W., Perreira, K., Camacho, Á., Kohn, J. N., Jimenez, D. E., Talavera, G. A., Gallo, L., Allison, M. A., Wassertheil-Smoller, S., & González, H. M. (2023). Association of anxiety and depressive symptoms with C-reactive protein in diverse Latinos: Results from the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos (HCHS/SOL). *PLoS ONE*, 18(8 August), 1–15.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289833>
  13. Hackett, M. L., & Anderson, C. S. (2005). Predictors of depression after stroke: A systematic review of observational studies. *Stroke*, 36(10), 2296–2301.  
<https://doi.org/10.1161/01.STR.0000183622.75135.a4>
  14. Hackett, M. L., & Pickles, K. (2014). Part I: Frequency of depression after stroke: An updated systematic review and meta-analysis of observational studies. *International Journal of Stroke*, 9(8), 1017–1025. <https://doi.org/10.1111/ijss.12357>
  15. Kessler, R. C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Koretz, D., Merikangas, K. R., Rush, A. J., Walters, E. E., Wang, P. S., & National Comorbidity Survey Replication (2003). The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA*, 289(23), 3095–3105.
  16. Kowalska, K., Pasinska, P., Klimiec-Moskal, E., Pera, J., Slowik, A., Klimkowicz Mrowiec, A., & Dziedzic, T. (2020). C-reactive protein and post-stroke depressive symptoms. *Scientific Reports* 3,9, 10(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58478-6>
  17. Ladwig, S., Werheid, K., Südmeyer, M., & Volz, M. (2023). Predictors of post-stroke depression: Validation of established risk factors and introduction of a dynamic perspective in two longitudinal studies. *Frontiers in Psychiatry*, 14.  
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.1093918>
  18. Lee, E. J., Kwon, O. D., & Kim, S. J. (2022). Prevalence, awareness, and treatment of depression among community-dwelling stroke survivors in Korea. *Scientific Reports*, 12(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08126-y>

19. Lim, G. Y., Tam, W. W., Lu, Y., Ho, C. S., Zhang, M. W., & Ho, R. C. (2018). Prevalence of Depression in the Community from 30 Countries between 1994 and 2014 /692/699/476/1414 /692/499 article. *Scientific Reports*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21243-x>
20. Liman, T. G., Zietemann, V., Wiedmann, S., Jungehuelsing, G. J., Endres, M., Wollenweber, F. A., Wellwood, I., Dichgans, M., & Heuschmann, P. U. (2013). Prediction of vascular risk after stroke - protocol and pilot data of the prospective Cohort with incident stroke (PROSCIS). *International Journal of Stroke*, 8(6), 484–490. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2012.00871.x>
21. Liu, L., Xu, M., Marshall, I. J., Wolfe, C. DA, Wang, Y., & Connell, M. D. (2023). Prevalence and natural history of depression after stroke: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *PLoS Medicine*, 20(3), 1–21. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PMED.1004200>
22. Ma Y., Chiriboga D.E., Pagoto S.L., Rosal M. C., Li W., Merriam P. A., Herbert J. R., Whites M.C., Ockene I.S. (2010). Association between Depression and C-Reactive Protein. *Cardiovascular Disease Related Lifestyle Factors and Longevity*, Vol. 2011, Article ID 286509 | <https://doi.org/10.4061/2011/286509>
23. Martinowich, K., Manji, H., & Lu, B. (2007). New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature neuroscience*, 10(9), 1089–1093. <https://doi.org/10.1038/nn1971>
24. Miller, A. H., & Raison, C. L. (2016). The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nature reviews. Immunology*, 16(1), 22–34. <https://doi.org/10.1038/nri.2015.5>
25. Mödden, C., & Hildebrandt, H. (2008). Poststroke Depression (PSD): Diagnose, verlauf und psychotherapeutische behandlungsmöglichkeit. *Neurologie Und Rehabilitation*, 14(4), 175–184.
26. Noonan, K., Crewther, S. G., Carey, L. M., Pascoe, M. C., & Linden, T. (2013). Sustained inflammation 1.5 years post-stroke is not associated with depression in elderly stroke survivors. *Clinical Interventions in Aging*, 8, 69–74. <https://doi.org/10.2147/cia.s38547>
27. Pearl J., (2000). *Causality*. Cambridge University Press. <http://bayes.cs.ucla.edu/BOOK2K/ch2-2.pdf>
28. Poole, L., & Steptoe, A. (2020). The combined association of depressive symptoms and C-reactive protein for incident disease risk up to 12 years later. Findings from the English Longitudinal Study of Ageing (ELSA). *Brain, Behavior, and Immunity*, 88, 908–912. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.01.010>
29. Radloff, L. (1977). The CES-D Scale : A Self-Report Depression Scale for Research in

- the General Population. *Applied Psychological Measurement*, 1(3), 385–401.
30. Luengo-Fernandez, R., Violato, M., Candio, P., & Leal, J. (2020). Economic burden of stroke across Europe: A population-based cost analysis. *European stroke journal*, 5(1), 17–25. <https://doi.org/10.1177/2396987319883160>
31. Porter, G. A., & O'Connor, J. C. (2022). Brain-derived neurotrophic factor and inflammation in depression: Pathogenic partners in crime?. *World journal of psychiatry*, 12(1), 77–97. <https://doi.org/10.5498/wjp.v12.i1.77>
32. Robert Koch-Institut. (2021). PSYCHISCHE GESUNDHEIT IN DEUTSCHLAND. Erkennen - Bewerten - Handeln Schwerpunktbericht Teil 1 - Erwachsene. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Gemeinsam getragen von RKI und Destatis. RKI, Berlin, SBN: 978-3-89606-312-0 DOI: 10.25646/8831
33. Sacco, R. L., Kasner, S. E., Broderick, J. P., Caplan, L. R., Connors, J. J., Culebras, A., Elkind, M. S. V., George, M. G., Hamdan, A. D., Higashida, R. T., Hoh, B. L., Janis, L. S., Kase, C. S., Kleindorfer, D. O., Lee, J. M., Moseley, M. E., Peterson, E. D., Turan, T. N., Valderrama, A. L., & Vinters, H. V. (2013). An updated definition of stroke for the 21st century: A statement for healthcare professionals from the American heart association/American stroke association. *Stroke*, 44(7), 2064–2089. <https://doi.org/10.1161/STR.0b013e318296aeca>
34. Sarkar, A., Sarmah, D., Datta, A., Kaur, H., Jagtap, P., Raut, S., Shah, B., Singh, U., Baidya, F., Bohra, M., Kalia, K., Borah, A., Wang, X., Dave, K. R., Yavagal, D. R., & Bhattacharya, P. (2021). Post-stroke depression: Chaos to exposition. *Brain Research Bulletin*, 168, 74–88. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2020.12.012>
35. Schaeff, V. L. K., Sperber, P. S., Piper, S. K., Giesers, N. K., Gertz, K., Heuschmann, P. U., Endres, M., & Liman, T. G. (2023). Associations of C-reactive protein with depressive symptoms over time after mild to moderate ischemic stroke in the PROSCIS-B cohort. *Journal of neurology*, 271(2), 909–917. <https://doi.org/10.1007/s00415-023-12038-w>
36. Strandberg, T. E., & Tilvis, R. S. (2000). Mortality in a Prospective Study in the Elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, 1057–1060. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.20.4.1057>
37. Tariq, M. B., Lee, J., & McCullough, L. D. (2023). Sex differences in the inflammatory response to stroke. *Seminars in Immunopathology*, 45(3), 295–313. <https://doi.org/10.1007/s00281-022-00969-x>
38. Tayefi, M., Shafiee, M., Kazemi-Bajestani, S. M. R., Esmaeili, H., Darroudi, S., Khakpouri, S., Mohammadi, M., Ghaneifar, Z., Azarpajouh, M. R., Moohebaty, M., Heidari-Bakavoli, A., Parizadeh, M. R., Nematy, M., Safarian, M., Ebrahimi, M., Ferns, G. A., Mokhber, N., & Ghayour-Mobarhan, M. (2017). Depression and

- anxiety both associate with serum level of hs-CRP: A gender-stratified analysis in a population-based study. *Psychoneuroendocrinology*, 81, 63–69.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.02.035>
39. Toker, S., Shirom, A., Shapira, I., Berliner, S., & Melamed, S. (2005). The association between burnout, depression, anxiety, and inflammation biomarkers: C-reactive protein and fibrinogen in men and women. *Journal of occupational health psychology*, 10(4), 344–362. <https://doi.org/10.1037/1076-8998.10.4.344>
40. Textor, J., van der Zander, B., Gilthorpe, M. S., Liskiewicz, M., & Ellison, G. T. (2016). Robust causal inference using directed acyclic graphs: the R package 'dagitty'. *International journal of epidemiology*, 45(6), 1887–1894.  
<https://doi.org/10.1093/ije/dyw341>
41. Towfighi, A., Ovbiagele, B., El Hussein, N., Hackett, M. L., Jorge, R. E., Kissela, B. M., Mitchell, P. H., Skolarus, L. E., Whooley, M. A., & Williams, L. S. (2017). Poststroke Depression: A Scientific Statement for Healthcare Professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 48(2), e30–e43. <https://doi.org/10.1161/STR.000000000000113>
42. Vetter, M. L., Wadden, T. A., Vinnard, C., Moore, R. H., Khan, Z., Volger, S., Sarwer, D. B., & Faulconbridge, L.F., (2013). Gender Differences in the Relationship between Symptoms of Depression and High-Sensitivity CRP. *Int J Obes (Lond)*, 37(1), S38–S43. <https://doi.org/doi:10.1038/ijo.2013.95>
43. Wahlund, L. O., Barkhof, F., Fazekas, F., Bronge, L., Augustin, M., Sjögren, M., Wallin, A., Ader, H., Leys, D., Pantoni, L., Pasquier, F., Erkinjuntti, T., & Scheltens, P. (2001). A new rating scale for age-related white matter changes applicable to MRI and CT. *Stroke*, 32(6), 1318–1322.  
<https://doi.org/10.1161/01.STR.32.6.1318>
44. Wium-Andersen, M. K., Ørsted, D. D., Nielsen, S. F., & Nordestgaard, B. G. (2013). Elevated C-reactive protein levels, psychological distress, and depression in 73, 131 individuals. *JAMA psychiatry*, 70(2), 176–184.  
<https://doi.org/10.1001/2013.jamapsychiatry.102>
45. World Health Organization. (2017). *Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates*. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
46. Wu, Q. E., Zhou, A. M., Han, Y. P., Liu, Y. M., Yang, Y., Wang, X. M., & Shi, X. (2019). Poststroke depression and risk of recurrent stroke: A meta-analysis of prospective studies. *Medicine*, 98(42), e17235.  
<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017235>
47. Yang, Y., Zhu, L., Zhang, B., Gao, J., Zhao, T., & Fang, S. (2021). Higher Levels of C Reactive Protein in the acute phase of stroke Indicate an Increased Risk for Post-

- stroke Depression: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.08.018>
48. Ye, Z., Kappelmann, N., Moser, S., Davey Smith, G., Burgess, S., Jones, P. B., & Khandaker, G. M. (2021). Role of inflammation in depression and anxiety: Tests for disorder specificity, linearity and potential causality of association in the UK Biobank. *The Lancet*, 38, 100992. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100992>
49. Yue, Y., Liu, R., Cao, Y., Wu, Y., Zhang, S., Li, H., Zhu, J., Jiang, W., Wu, A., & Yuan, Y. (2017). New opinion on the subtypes of poststroke depression in chinese stroke survivors. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 13, 707–713. <https://doi.org/10.2147/NDT.S128429>
50. Zalli, A., Jovanova, O., Hoogendijk, W. J. G., Tiemeier, H., & Carvalho, L. A. (2016). Low grade inflammation predicts persistence of depressive symptoms. *3,4 Psychopharmacology*, 233(9), 1669–1678. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-3919-9>
51. Zhang, Y., Hedo, R., Rivera, A., Rull, R., Richardson, S., & Tu, X. M. (2019). Post hoc power analysis: Is it an informative and meaningful analysis? *General Psychiatry*, 32(4), 3–6. <https://doi.org/10.1136/gpsych-2019-100069>

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Viktoria Luise Katharina Schaeff, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die Assoziation von C-reaktivem Protein (CRP) mit depressiven Symptomen nach Schlaganfall: Eine Langzeitstudie mit besonderem Fokus auf Geschlechtsunterschiede /The Association of CRP (C-reactive Protein) on Depressive Symptoms After Stroke: A Longitudinal Study focusing on Sex Differences“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. In der hier vorliegenden Arbeit wurde ChatGPT ausschließlich zum Korrekturlesen und Textoptimieren genutzt.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

19.04.2024

---

---

## Anteilserklärung an der erfolgten Publikationen

Viktoria Luise Katharina Schaeff hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation: **Schaeff VLK**, Sperber PS, Piper SK, Giesers NK, Gertz K, Heuschmann PU, Endres M, Liman TG. Associations of C-reactive protein with depressive symptoms over time after mild to moderate ischemic stroke in the PROSCIS-B cohort. J Neurol. 2023 Oct 18

Beitrag im Einzelnen:

Die Entwicklung der Forschungsfragen sowie das Studiendesign für die Substudie aus PROSCIS-B wurden von mir konzipiert. Unter epidemiologischer Aufsicht erfolgte die eigenständige Planung der Analyse und anschließend die selbstständige Datenaufbereitung zur Auswertung und die Durchführung der statistischen Analyse. Dies umfasste das eigenhändige Erstellen spezifischer Skripte unter Verwendung bestehender *R*-Pakete. Die Ergebnisse wurden von mir allein in grafischer und tabellarischer Form aufbereitet, interpretiert und in einem Manuskript verfasst. Nach meiner Einreichung im Fachjournal, in Rücksprache mit den anderen Co-Autoren, wurden sämtliche Kommentare der Gutachter allein von mir beantwortet.

---

Unterschrift, Datum und Stempel des/der erstbetreuenden Hochschullehrers/in

---

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

## Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2021** Selected Editions: SCIE,SSCI  
 Selected Categories: **"CLINICAL NEUROLOGY"** Selected Category  
 Scheme: WoS  
**Gesamtanzahl: 212 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfaktor
1	LANCET NEUROLOGY	49,221	59.935	0.06262
2	Nature Reviews Neurology	18,852	44.711	0.02950
3	JAMA Neurology	21,007	29.907	0.05043
4	Alzheimers & Dementia	26,516	16.655	0.03970
5	ACTA NEUROPATHOLOGICA	30,046	15.887	0.03384
6	BRAIN	69,241	15.255	0.05988
7	JOURNAL OF NEUROLOGY NEUROSURGERY AND PSYCHIATRY	38,495	13.654	0.02508
8	NEURO-ONCOLOGY	20,825	13.029	0.02439
9	PSYCHIATRY AND CLINICAL NEUROSCIENCES	6,445	12.145	0.00577
10	NEUROLOGY	115,450	11.800	0.09703
11	SLEEP MEDICINE REVIEWS	12,620	11.401	0.01356
12	Neurology-Neuroimmunology & Neuroinflammation	5,161	11.360	0.01049
13	ANNALS OF NEUROLOGY	45,647	11.274	0.03862
14	STROKE	86,009	10.170	0.07454
15	Stroke and Vascular Neurology	1,741	9.893	0.00369
16	MOVEMENT DISORDERS	35,923	9.698	0.02884
17	Brain Stimulation	10,760	9.184	0.01497
18	Alzheimers Research & Therapy	7,513	8.823	0.01287
19	Journal of Stroke	2,036	8.632	0.00391
20	JOURNAL OF HEADACHE AND PAIN	6,592	8.588	0.01107

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfaktor
21	PAIN	46,662	7.926	0.02957
22	Epilepsy Currents	1,428	7.872	0.00170
23	BRAIN PATHOLOGY	7,083	7.611	0.00689
24	NEUROSCIENTIST	6,603	7.235	0.00538
25	International Journal of Stroke	7,698	6.948	0.01415
26	Translational Stroke Research	4,125	6.800	0.00500
27	EPILEPSIA	36,294	6.740	0.02447
28	JOURNAL OF NEUROLOGY	24,906	6.682	0.02746
29	JOURNAL OF AFFECTIVE DISORDERS	59,622	6.533	0.06912
30	CNS DRUGS	6,627	6.497	0.00642
31	Therapeutic Advances in Neurological Disorders	2,816	6.430	0.00398
32	SLEEP	31,283	6.313	0.01904
33	EUROPEAN JOURNAL OF NEUROLOGY	17,087	6.288	0.01965
34	CURRENT OPINION IN NEUROLOGY	7,258	6.283	0.00814
35	NEUROPATHOLOGY AND APPLIED NEUROBIOLOGY	5,197	6.250	0.00447
36	Neurotherapeutics	7,998	6.088	0.00899
37	CEPHALALGIA	13,467	6.075	0.01470
38	Current Neurology and Neuroscience Reports	5,335	6.030	0.00686
39	European Stroke Journal	1,210	5.894	0.00411
40	Multiple Sclerosis Journal	15,617	5.855	0.01778
41	EUROPEAN ARCHIVES OF PSYCHIATRY AND CLINICAL NEUROSCIENCE	6,005	5.760	0.00577
42	INTERNATIONAL JOURNAL OF NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY	8,630	5.678	0.00655

# Druckexemplar der Publikation

Journal of Neurology  
<https://doi.org/10.1007/s00415-023-12038-w>

ORIGINAL COMMUNICATION



## Associations of C-reactive protein with depressive symptoms over time after mild to moderate ischemic stroke in the PROSCIS-B cohort

Viktoria L. K. Schaeff<sup>1</sup> · Pia S. Sperber<sup>1,2,3,4</sup> · Sophie K. Piper<sup>5,6,7</sup> · Naomi K. Giesers<sup>8</sup> · Karen Gertz<sup>1,2</sup> · Peter U. Heuschmann<sup>9,10,11</sup> · Matthias Endres<sup>1,2,6,12,13</sup> · Thomas G. Liman<sup>1,2,8,12</sup>

Received: 27 July 2023 / Revised: 28 September 2023 / Accepted: 29 September 2023  
 © The Author(s) 2023

### Abstract

**Background and purpose** C-reactive protein serves as a marker of inflammation and is linked to depression in the general population. We aimed to assess whether elevated baseline levels of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) are associated with depressive symptoms over time in a prospective cohort of mild-to-moderate first-ever ischemic stroke patients.

**Methods** Data were obtained from the Prospective Cohort with Incident Stroke Berlin (NCT01363856). Depressive symptoms were assessed with the Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D) at three annual follow-up points. We assessed the association of elevated levels of hs-CRP with CES-D scores over time via linear mixed models. In a subgroup analysis, we explored an interaction effect with sex.

**Results** We included 585 ischemic stroke patients with baseline data on CRP levels. The mean age was 67 (13 SD), 39% ( $n=226$ ) were female, and the median National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) was 3 (IQR 1–4). Twenty percent of survivors showed evidence for depressive symptoms one year after stroke with CES-D  $\geq 16$ , 21% at year two, and 17% at year three. Higher log-transformed baseline hs-CRP levels were associated with higher CES-D Scores over time in the adjusted linear mixed model ( $\beta=1.28$ ; (95% CI 0.22–2.34)). The subgroup analysis revealed an interaction effect of hs-CRP on depressive symptoms in women ( $\beta=2.33$ ; (95% CI 0.71–3.95)).

**Conclusion** In our cohort with mild-to-moderate first-ever ischemic stroke patients, hs-CRP levels were associated with more depressive symptoms over time, with an interaction effect for the female sex.

**Study registration** <https://clinicaltrials.gov>; Unique identifier: NCT01363856.

**Keywords** Inflammation · Hs-CRP · Ischemic stroke · Depression

✉ Viktoria L. K. Schaeff  
[Viktoria.schaeff@charite.de](mailto:Viktoria.schaeff@charite.de)

<sup>1</sup> Charité—Universitätsmedizin Berlin, Center for Stroke Research Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany

<sup>2</sup> German Centre for Cardiovascular Research DZHK, Berlin, Germany

<sup>3</sup> Charité—Universitätsmedizin Berlin, Department of Neurology With Experimental Neurology, Berlin, Germany

<sup>4</sup> Charité—Universitätsmedizin Berlin, Experimental and Clinical Research Center, Berlin, Germany

<sup>5</sup> Charité—Universitätsmedizin Berlin, Institute of Biometry and Clinical Epidemiology, Berlin, Germany

<sup>6</sup> Berlin Institute of Health, Berlin, Germany

<sup>7</sup> Charité—Universitätsmedizin Berlin, Institute of Medical Informatics, Berlin, Germany

<sup>8</sup> Department of Neurology, Carl Von Ossietzky University, Oldenburg, Germany

<sup>9</sup> Institute of Clinical Epidemiology and Biometry, University of Würzburg, Würzburg, Germany

<sup>10</sup> Clinical Trial Center Würzburg, University Hospital Würzburg, Würzburg, Germany

<sup>11</sup> Institute for Medical Data Science, University Hospital Würzburg, Würzburg, Germany

<sup>12</sup> German Center for Neurodegenerative Disease DZNE, Berlin, Germany

<sup>13</sup> Charité – Universitätsmedizin Berlin, Neurocure Cluster of Excellence, Berlin, Germany

Published online: 18 October 2023

Springer

## Introduction

Depression is a major complication after stroke affecting more than 30% of patients up to five years after stroke [1]. Depressive symptoms after stroke, especially PSD (post-stroke depression), are associated with poor outcomes including increased mortality and disability [2]. Inflammation has been linked to both risk of cardiovascular events and depression [3]. Recent studies in the general population reported an inflammatory response contributing to the development of major depressive disorders via biological mechanisms such as altered neurotransmitter metabolism, increased proinflammatory cytokines, and glucocorticoid receptor resistance [4, 5]. However, the role of inflammatory processes in the pathophysiology of depressive symptoms after stroke is less apparent [6, 7]. Some studies have shown an association of increased peripheral inflammation in PSD [8, 9], while in another analysis this association was lost over time [10]. Additionally, some studies have only reported the presence of low-grade peripheral inflammation without significant association with PSD [11].

However, the natural course of depressive symptoms after ischemic stroke is variable, and relying on single measures of depressive symptoms might limit research on a potential association between inflammation and depressive symptoms after stroke.

Here, we aimed to assess whether elevated baseline levels of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) are associated with depressive symptoms over time in a prospective cohort with annual assessments of depressive symptoms via CES-D (Center for Epidemiologic Studies Depression Scale) in ischemic stroke patients.

## Methods

### Data availability

The data and syntax supporting our findings are available from the principal investigator (Dr Liman) upon reasonable request.

### Study design and patient characteristics

The PROSCIS-B (Prospective Cohort with Incident Stroke—Berlin, *ClinicalTrials.gov identifier: NCT01363856*) is a prospective, observational hospital-based cohort study that recruited adult patients at three tertiary university hospital sites of the Charité-Universitätsmedizin Berlin with first-ever stroke according to WHO criteria [12]. Patients diagnosed with prior stroke,

brain tumor, or brain metastasis of other origin, or patients participating in an interventional study were excluded. We only included patients presenting without moderate to severe aphasia or dysarthria due to ethical regulations. Details on study design, in-, and exclusion criteria have been published previously [13, 14]. For this study, only patients with mild-to-moderate ischemic stroke events (NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) < 16) were included, as cases with severe strokes were few (NIHSS  $\geq$  16,  $n = 6$ ). A detailed baseline characterization of patients with extensive clinical and technical examinations was performed within 7 days after symptom onset including blood sampling for laboratory measures as previously described [13].

Patients were contacted annually to assess depressive symptoms, cognitive function, and functional outcomes up to three years after the index event.

Additionally, magnetic resonance imaging (MRI) data were gathered using different 1.5-T and 3-T scanners at three tertiary sites. Fluid-attenuated inversion recovery or T2-weighted images were used to assess white matter lesion severity according to the Wahlund classification system [15]. The Wahlund visual rating scale, or age-related white matter changes scale (ARWMC), is a scale ranging from a score of 0 to 30 that accounts for white matter lesions (WML) in both sides of the brain (right and left) and pre-specified brain regions (frontal, parieto-occipital, temporal, infratentorial/cerebellum, and basal ganglia). Here, white matter hyperintensities are assigned a score of 0 to 3 in each region on both sides of the brain. The final score is the sum of all regions. The rating was performed independently by two evaluators.

### CRP measurements

Blood serum samples were obtained within seven days after the index event. Chemiluminescent immunoassay (Siemens) was used to determine the concentration of hs-CRP. Detection limits ranged from 0.3–101 mg/L with an analytical sensitivity of 0.1 mg/L and a functional sensitivity of 0.3 mg/L.

### Outcome definitions

The outcome of interest was depressive symptoms after stroke. Symptoms of depression were assessed annually until three years after the stroke with a CES-D score (20 items, 4 domains, range 0–60) by postal mail or telephone interview. CES-D Scores  $\geq$  16 are defined to be indicative of the presence of Depression [16]. Patients without a CES-D assessment available at any of the three follow-up points, e.g., due to death, have also been excluded from our analysis. Verification of death was obtained by the Berlin registry office.

## Statistical methods

Baseline descriptive statistics are given as mean with standard deviation (SD) and median with limits of the interquartile range (IQR). The internal consistency of responses was evaluated by Cochrane's alpha. Moreover, we performed linear mixed models (LMM) to calculate crude and confounder adjusted effect sizes ( $\beta$ ) and corresponding 95% Confidence Intervals (CI) of baseline hs-CRP on CES-D Score for the period of three years after the first ischemic stroke. LMM tolerates missing data and accounts for repeated measurements in subjects by fitting a random intercept for each patient. Because the hs-CRP distribution was right skewed, we  $\log(10X_i + 0.01)$  transformed hs-CRP. Due to the log transformation,  $\beta$  accounts for the increase in depressive symptoms (CES-D Score) for each increase of hs-CRP by a factor of 10 on a multiplicative scale. Dose–response relationship of hs-CRP on CES-D Score over time was investigated by dividing hs-CRP into quartiles and comparing the effect size ( $\beta$ ; 95% CI) to the first quartile using LMM. Exclusively for investigating dose response, we did not log transform hs-CRP to keep the quartiles more comprehensible.

Confounders for our adjusted model were systematically identified by creating a DAG (directed acyclic graph) [17]. A causal diagram for variable selection was drafted with DAGitty (<http://www.dagitty.net/dags.html>, see Supplemental Fig. 1). Variables included as confounders in the final model were age (continuous), sex (female/male), diabetes mellitus (dichotomous), history of cardiovascular disease (dichotomous), NIHSS (continuous), BMI (continuous), current smoker (dichotomous), habitual alcohol consumption (dichotomous), and activity level pre-stroke (dichotomous; none to occasional/ regular to heavy).

We identified white matter lesions as a marker for cerebral small vessel disease, which was considered a possible confounder in the DAG, but MRI data were limited to  $n = 402$  patients. Therefore, we ran a separate analysis including only those patients with MRI data available in which the Wahlund Score was added as a confounder in the multivariable analysis. Additionally, we investigated whether the effect of hs-CRP on more depressive symptoms depends on sex. For this, we repeated our main analysis by adding an interaction term of sex and hs-CRP.

In a later added secondary analysis, we have identified individuals taking antidepressant or anti-inflammatory medication and repeated our multivariate analysis including those as confounders. Antidepressant and anti-inflammatory medication use (dichotomous) was established via anatomical-therapeutic-chemical Classification (ATC) Codes 2018 at admission (antidepressant medication: N06A and N06C and anti-inflammatory medication: H02A-B, J01A-X, J05A, M01A-C).

Data preparation was done using IBM SPSS Statistics for Windows (v.24, IBM Corp, Armonk, NY). All descriptive and statistical analyses were performed in R (4.2.2.) with the RStudio user interface. We adhered to STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) criteria.

## Ethical approval

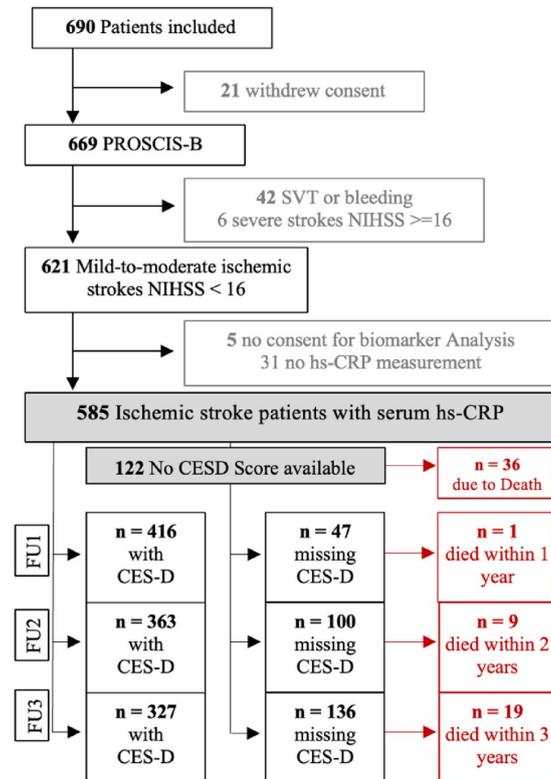
Patients or their legal representatives gave written consent. The PROSCIS-B study was approved by the Ethics Committee of the Charité—Universitätsmedizin Berlin (EA1/218/09) and was conducted according to the ethical principles stated by the Declaration of Helsinki.

## Results

### Baseline data

We included 621 patients with mild to moderate stroke between March 2010 and May 2013 in the PROSCIS B study. PROSCIS-B patients had a mean age of 67 ( $\pm 13$ SD) years, 39% ( $n = 242$ ) were female, and the median baseline NIHSS score was 2 (IQR 1–4). We obtained hs-CRP levels in 585 ischemic stroke patients. In our longitudinal analysis, we included 463 patients who additionally provided at least one CES-D assessment during follow-up. Details on the number of patient inclusion and exclusion are presented in the flowchart in Fig. 1. Baseline characteristics of PROSCIS-B participants are presented in detail in Table 1. The median time for retrieving blood samples to determine hs-CRP was 4 days (IQR 3–5) and did not significantly differ in patients with elevated ( $\geq 5$  mg/L) versus normal hs-CRP values. Hs-CRP ranged from 0.3 to 101 mg/L in the analyzed sample. In 55% of patients, we received complete CES-D Data on all three follow-up points. Cochran's alpha for CES-D was 0.9 for all three assessments.

In our cohort, 35 patients received antidepressant medication at baseline. However, 10 individuals had to be excluded from the analysis as they did not provide a single CESD Score. Among these individuals (52% ( $n = 13$ ) were female), 13 used tricyclic antidepressants, seven were on selective serotonin reuptake inhibitors, three used serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors, and three took tetracyclic antidepressants, while one used a double combination. At first-year follow-up, 20% ( $n = 86$ ) were depressed, indicated by a CES-D score  $\geq 16$  and 47% ( $n = 8$ ) at year two, and 50% ( $n = 9$ ) at year three.



**Fig. 1** Flowchart of inclusion and exclusion criteria, consent included consent for study participation and biomarker analysis, *PROSCIS-B* Prospective Cohort with Incident Stroke Berlin, *NIHSS* National Institutes of Health Stroke Scale, *hs-CRP* high-sensitivity C-reactive Protein, *CES-D* Center for Epidemiologic Studies Depression Scale

### Follow-up data

The median follow-up time for the third appointment was 1125 days (IQR 1093–1213). Median CES-D score at first-year follow-up was 7 (IQR 3–14) for patients with hs-CRP levels below the clinical threshold (<5 mg/L), while patients with elevated hs-CRP levels ( $\geq 5$  mg/L) presented with a median CES-D score of 9 (IQR 4–14). At first-year follow-up, 20% ( $n=86$ ) were depressed, indicated by a CES-D score  $\geq 16$ . It was 21% ( $n=77$ ) in year two and 17% ( $n=56$ ) in year three. A detailed overview of the cohort at each follow-up point is presented in Supplemental Table 1. In summary, patients with a CES-D score of  $\geq 16$  were more often female, presented with higher NIHSS Score, received < 10 years of education, and had a history of coronary artery disease.

In the longitudinal (repeated measures) analysis, higher baseline hs-CRP levels were associated with higher CES-D Scores over the period of three years in unadjusted linear mixed models with a crude  $\beta=1.87$ ; (95% CI, 0.88–2.86) and in the adjusted models with  $\beta=1.28$ ; (95% CI 0.22–2.34). Furthermore, we found an interaction for women in hs-CRP on CES-D scores over time  $\beta=2.33$ ; (95% CI 0.71–3.95), as shown in Table 2.

### Sensitivity analyses

Additionally, we performed a sensitivity analysis in stroke patients with baseline data on MRI images adding the Wahlund visual rating scale, or ARWMC as a confounder in our linear mixed model as shown in Table 3. WML are areas of abnormal myelination in the brain that reflect e.g., inflammation and damage to the myelin and are considered to be a valid marker for small vessel disease [18]. Higher baseline hs-CRP levels were also associated with higher CES-D Scores over the period of three years in the unadjusted linear mixed models with a crude  $\beta=1.67$ ; (95% CI, 0.53–2.81) and after full adjustment  $\beta=1.58$ ; (95% CI, 0.36–2.8) in 328 stroke patients with data on MRI. Once more, we identified an interaction for the female sex of hs-CRP on CES-D scores over time shown by  $\beta=2.82$ ; (95% CI 0.93–4.70).

The results of the dose–response analysis are shown in Supplemental Table 2. In summary, we observed a slight dose–response of hs-CRP levels in the quartiles of CES-D over time. The highest levels of hs-CRP (12.5–101 mg/L, quartile 4) were statistically significantly associated with higher CES-D scores over time in the adjusted model  $\beta=1.96$ ; (95% CI 0.02–3.91). However, in the interaction analysis for women, we identified hs-CRP levels of 4.77–12.5 mg/L (quartile 3) to be statistically significantly associated with higher CES-D score over time in the adjusted model  $\beta=3.87$ ; (95% CI 0.76–6.99).

We conducted a final subgroup analysis in stroke patients with hs-CRP levels below 10 mg/L indicating low-grade inflammation. Hs-CRP levels over 10 mg/L have been described as a cut-off for clinically significant inflammation [19]. Results are shown in Supplemental Table 3. In stroke patients with hs-CRP < 10 mg/L ( $n=331$ ), higher hs-CRP levels over a 3-year period were not associated with higher CES-D scores. However, when introducing an interaction term for the female sex, we observed an association:  $\beta=3.54$ ; (95% CI 0.92–6.2).

In sensitivity analyses adjusted for anti-inflammatory and antidepressant medication, no major differences were found (adjusted:  $\beta=1.26$ ; (95% CI 0.21–2.32), female  $\beta=2.27$ ; (95% CI 0.67–3.88), male  $\beta=0.63$ ; (95% CI –0.67–1.93)).

**Table 1** Demographic baseline characteristics stratified by high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) levels

Variable	hs-CRP < 5 mg/L <i>n</i> = 301	hs-CRP ≥ 5 mg/L, <i>n</i> = 284	<i>p</i> -value <sup>1</sup>
Age in years mean (SD)	66 (13)	71 (13)	<0.001
Female sex <i>n</i> (%)	102 (34%)	124 (44%)	0.015
Diastolic blood pressure mmHg, mean (SD)	78 (13)	75 (16)	0.013
Systolic blood pressure mmHg, mean (SD)	139 (22)	137 (22)	> 0.9
NIHSS Score, median (IQR)	2.0 (1.0, 4.0)	3.0 (1.0, 5.0)	<0.001
0–4	245 (81%)	196 (69%)	
5–15	56 (19%)	88 (31%)	
≥ 16	0 (0%)	0 (0%)	
Habitual alcohol consumption <i>n</i> (%) <sup>*</sup>	115 (40%)	88 (32%)	0.043
Current smoker, <i>n</i> (%) <sup>*</sup>	88 (30%)	75 (27%)	0.4
BMI in kg, median (IQR), <i>n</i> (%) <sup>*</sup>	26.3 (23.8, 28.9)	27.5 (24.7, 30.9)	<0.001
< 18.5	2 (0.7%)	2 (0.7%)	
≥ 18.5 and < 25	122 (41%)	78 (28%)	
≥ 25 and < 30 t	121 (40%)	114 (41%)	
≥ 30	55 (18%)	84 (30%)	
Total cholesterol (mg/dL), mean (SD)	198 (44)	191 (53)	0.12
High-density lipoprotein (mg/dl), mean (SD)	50 (37)	47 (44)	<0.001
Low-density lipoprotein (mg/dl), mean (SD)	121 (16)	114 (16)	0.029
Triglyceride (mg/dl), mean (SD)	116 (73)	120 (87)	0.4
Diabetes mellitus, <i>n</i> (%)	60 (20%)	68 (24%)	0.2
History of myocardial infarction, <i>n</i> (%)	10 (3.3%)	11 (3.9%)	0.7
Coronary artery disease, <i>n</i> (%)	47 (16%)	44 (15%)	> 0.9
Peripheral artery disease, <i>n</i> (%)	16 (5.3%)	24 (8.5%)	0.13
Arterial hypertension, <i>n</i> (%)	176 (58%)	207 (73%)	<0.001
Atrial fibrillation, <i>n</i> (%)	41 (14%)	83 (29%)	<0.001
Stroke subtype according to TOAST, <i>n</i> (%)			0.042
Large artery atherosclerosis	74 (25%)	80 (28%)	
Cardioembolic	60 (20%)	79 (28%)	
Small artery occlusion	51 (17%)	43 (15%)	
Other cause	12 (4.0%)	5 (1.8%)	
Undefined	104 (35%)	77 (27%)	
Pre-stroke Institutionalization, <i>n</i> (%)	5 (1.7%)	6 (2.1%)	0.7
Education, <i>n</i> (%) <sup>*</sup>			<0.001
≤ 10 years	186 (64%)	211 (79%)	
> 10 years	105 (36%)	56 (21%)	
Physical activity pre-stroke, <i>n</i> (%) <sup>*</sup>			<0.001
None to occasional	174 (58%)	218 (78%)	
Regular to heavy	125 (42%)	62 (22%)	
WahlundScore, median (IQR) <sup>#</sup>	5.0 (2.0, 8.0)	6.0 (3.0, 11.0)	0.004
Infarct pattern, <i>n</i> (%) <sup>#</sup>			0.8
Territorial with subcortical and cortical	63 (30%)	52 (32%)	
Subcortical	60 (29%)	40 (25%)	
Scattered infarct	45 (22%)	38 (23%)	
Lacunar	0 (0%)	1 (0.6%)	
Infratentorial	41 (20%)	31 (19%)	

<sup>1</sup> Wilcoxon rank sum test; Pearson's Chi-squared test; Fisher's exact test

<sup>\*</sup>Restricted to patients without missing values in the respective category

<sup>#</sup>MRI available in *n* = 402 patients

**Table 2** High sensitivity C-reactive protein and depressive symptoms over time after stroke

	Crude		Adjusted		Adjusted + male interaction		Adjusted + female interaction	
	Change in CES-D score over time							
	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
10log hs-CRP	1.87***	0.88–2.86	1.28*	0.22–2.34	0.61	–0.71–1.93	2.33**	0.71–3.95

#Adjusted for age, sex, physical activity pre-stroke, diabetes mellitus, history of cardiovascular disease, stroke severity, BMI, regular alcohol consumption, and smoking status; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

**Table 3** High sensitivity C-reactive protein and depressive symptoms over time after stroke adjusted for cerebral white matter hyperintensities in patients with data on baseline MRI

	Crude		Adjusted		Adjusted + male interaction		Adjusted + female interaction	
	Change in CES-D score over time							
	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
10log hs-CRP	1.67**	0.53–2.81	1.58*	0.36–2.8	0.79	–0.73–2.31	2.82**	0.93–4.70

#Adjusted for age, sex, physical activity pre-stroke, ARWMC (Wahlund Score), diabetes mellitus, history of cardiovascular disease, stroke severity, BMI, regular alcohol consumption, and smoking status; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

## Discussion

In our study of mild-to-moderately affected first ischemic stroke patients, we demonstrated that higher baseline hs-CRP levels were associated with more depressive symptoms during a follow-up of three years. In subgroup analysis, after adjustment for WML, the effect size increased. Consistently, our results showed an interaction with the female sex. Additionally, we found a slight dose–response relationship between hs-CRP levels and depressive symptoms over time, although the effect was more pronounced in women with “low-grade inflammation” (hs-CRP < 10 mg/L).

Several observational studies have reported associations of inflammatory biomarkers such as CRP, TNF- $\alpha$ , and Interleukin-6 (IL-6) with PSD/depressive symptoms after stroke [7, 8, 20]. In a larger prospective stroke cohort, Kowalska et al. showed that elevated levels of CRP measured within 48 h after stroke onset were associated with depressive symptoms at day 8, but not with depressive symptoms after stroke three months later [9]. Others reported higher levels of CRP and leukocytes present at 18 months after stroke but did not find an association between elevated CRP levels and PSD [10]. A recent systematic review with data from 3,536 stroke patients from 13 cohort studies (12 Chinese, 1 European) demonstrated that higher CRP levels in the acute phase of stroke indicate a higher risk for PSD during follow-up of one year [20]. The review specifically called for further studies with

extended follow-up periods as the majority (ten) of studies only provided a follow-up time of three months. They concluded, primarily based on short follow-up times, that elevated CRP might serve as a predictor for PSD. However, further observational studies with longer follow-up times are required. They found an overall prevalence of PSD of approximately 30%, and patients with PSD had significantly higher CRP levels on admission compared to non-PSD patients (standard mean difference: 0.19; 95% CI 0.12–0.27). In our study, the prevalence of depression was 20% at year one, 21% at year two, and 17% at year three. Thus, the prevalence was comparable and consistent with reports from other hospital cohorts in which the incidence of PSD ranged between 11 and 30% up to four years after stroke [1].

However, significant variability between studies was found, resulting from heterogeneity in clinical, methodological, and statistical factors (e.g., follow-up time points, inclusion criteria, assessment of depressive symptoms, and definition of PSD/depression after stroke) For instance, in the systematic review the timing of PSD assessment varied between 8 days and 12 months after stroke [20].

Consistent with these findings, our study demonstrated, for the first time, that the previously described effect of CRP on depressive symptoms continues to persist up to three years after stroke. In a sub-study of the population-based Rotterdam study, elevated IL-6 and CRP levels were found to independently predict incident depressive symptoms (CES-D  $\geq 16$ ) over five years, irrespective of age, gender, BMI, physical illness, smoking status, or MMSE. Moreover,

**Table 2** High sensitivity C-reactive protein and depressive symptoms over time after stroke

	Crude		Adjusted		Adjusted + male interaction		Adjusted + female interaction	
	Change in CES-D score over time							
	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
10log hs-CRP	1.87***	0.88–2.86	1.28*	0.22–2.34	0.61	–0.71–1.93	2.33**	0.71–3.95

#Adjusted for age, sex, physical activity pre-stroke, diabetes mellitus, history of cardiovascular disease, stroke severity, BMI, regular alcohol consumption, and smoking status; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

**Table 3** High sensitivity C-reactive protein and depressive symptoms over time after stroke adjusted for cerebral white matter hyperintensities in patients with data on baseline MRI

	Crude		Adjusted		Adjusted + male interaction		Adjusted + female interaction	
	Change in CES-D score over time							
	Beta	95% CI	Beta	95%- CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
10log hs-CRP	1.67**	0.53–2.81	1.58*	0.36–2.8	0.79	–0.73–2.31	2.82**	0.93–4.70

#Adjusted for age, sex, physical activity pre-stroke, ARWMC (Wahlund Score), diabetes mellitus, history of cardiovascular disease, stroke severity, BMI, regular alcohol consumption, and smoking status; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

## Discussion

In our study of mild-to-moderately affected first ischemic stroke patients, we demonstrated that higher baseline hs-CRP levels were associated with more depressive symptoms during a follow-up of three years. In subgroup analysis, after adjustment for WML, the effect size increased. Consistently, our results showed an interaction with the female sex. Additionally, we found a slight dose–response relationship between hs-CRP levels and depressive symptoms over time, although the effect was more pronounced in women with “low-grade inflammation” (hs-CRP  $< 10$  mg/L).

Several observational studies have reported associations of inflammatory biomarkers such as CRP, TNF- $\alpha$ , and Interleukin-6 (IL-6) with PSD/depressive symptoms after stroke [7, 8, 20]. In a larger prospective stroke cohort, Kowalska et al. showed that elevated levels of CRP measured within 48 h after stroke onset were associated with depressive symptoms at day 8, but not with depressive symptoms after stroke three months later [9]. Others reported higher levels of CRP and leukocytes present at 18 months after stroke but did not find an association between elevated CRP levels and PSD [10]. A recent systematic review with data from 3,536 stroke patients from 13 cohort studies (12 Chinese, 1 European) demonstrated that higher CRP levels in the acute phase of stroke indicate a higher risk for PSD during follow-up of one year [20]. The review specifically called for further studies with

extended follow-up periods as the majority (ten) of studies only provided a follow-up time of three months. They concluded, primarily based on short follow-up times, that elevated CRP might serve as a predictor for PSD. However, further observational studies with longer follow-up times are required. They found an overall prevalence of PSD of approximately 30%, and patients with PSD had significantly higher CRP levels on admission compared to non-PSD patients (standard mean difference: 0.19; 95% CI 0.12–0.27). In our study, the prevalence of depression was 20% at year one, 21% at year two, and 17% at year three. Thus, the prevalence was comparable and consistent with reports from other hospital cohorts in which the incidence of PSD ranged between 11 and 30% up to four years after stroke [1].

However, significant variability between studies was found, resulting from heterogeneity in clinical, methodological, and statistical factors (e.g., follow-up time points, inclusion criteria, assessment of depressive symptoms, and definition of PSD/depression after stroke) For instance, in the systematic review the timing of PSD assessment varied between 8 days and 12 months after stroke [20].

Consistent with these findings, our study demonstrated, for the first time, that the previously described effect of CRP on depressive symptoms continues to persist up to three years after stroke. In a sub-study of the population-based Rotterdam study, elevated IL-6 and CRP levels were found to independently predict incident depressive symptoms (CES-D  $\geq 16$ ) over five years, irrespective of age, gender, BMI, physical illness, smoking status, or MMSE. Moreover,

higher baseline levels of IL-6 and CRP were also associated with the persistence of depressive symptoms over five years, whereas none of the inflammatory markers were associated with depressive symptoms at baseline [21].

Several mechanisms have been proposed as a possible link between inflammation and depression [22–25]. This so-called “inflammation hypothesis” of depression has also been applied to PSD [6]. One explanation might be a reduced function of the hypothalamus–pituitary–adrenal axis in patients with major depression and chronic inflammation [26]. Elevated levels of inflammatory mediators could lead to a reduction in brain-derived neurotrophic factor, which negatively influences neurogenesis and neuroplasticity [27] and is also associated with depression [28]. Further evidence supporting the hypothesis that inflammation is a cause rather than a consequence of depression is provided by a Mendelian randomization analysis of a UK Biobank sample, demonstrating that IL-6 and CRP are causally linked with depression [29].

In sensitivity analyses (interaction analyses), the association between hs-CRP and depressive symptoms over time was more pronounced in women, especially in those with low-grade inflammation. A recent study found a strong association between CRP and depression in women that aligns with our results [30]. The lifetime risk for depression in women is twice as high as in men, showing consistent patterns across cultures [31]. According to a recent review, the association between inflammation and depression may be particularly relevant in women [32]. For instance, more women tend to have elevated inflammatory markers such as CRP compared to men [33]. Additionally, healthy women with higher baseline levels of CRP had more depressive symptoms over a 7-year follow-up period than those with lower values [34]. Several factors that promote inflammation, including distress syndrome, childhood adversity, and obesity appear to affect women to a greater extent than men, which may help to explain why the effect of elevated hs-CRP levels on depressive symptoms is pronounced in women in our study [35].

There are several strengths and limitations of our study to be considered. The strength of our study lies in the prospective design, extended follow-up period, and the systematic identification of confounders.

However, there are limitations that should be acknowledged. First, we only assessed baseline hs-CRP levels in the acute phase of stroke. Repeated measures of proinflammatory markers (e.g., hs-CRP and IL-6) over time would have provided more insights into the temporal relationship between inflammation and depression. Second, it is essential to acknowledge a limitation related to the assessment of psychiatric status. Depressive symptoms were evaluated solely through a self-reported 20-item questionnaire and was not confirmed by a clinical psychiatric assessment. Additionally,

the omission of participants’ prior psychiatric history represents a potential limitation, given that our analysis relied exclusively on baseline antidepressant medication usage. In the same context, the ongoing monitoring of antidepressant medication utilization during follow-up periods could yield valuable insights into clinically relevant depressive episodes and serve as a covariate for future investigations.

In addition, in this study, we were not able to adjust for clinical infection in the post-stroke phase or during follow-up. This might introduce a bias in our results and should be considered when interpreting our findings, while we assume that infections would be not favored in one sex. However, in the subgroup analysis for low-grade inflammation, we confirm our findings.

Fourth, our findings may only be applicable to mild and moderate stroke patients, as severe stroke was an exclusion criterion. Additionally, during all follow-up points, we had a considerable number of patients who did not report back. However, the linear mixed-effect model is well known for its ability to handle missing data [36].

Lastly, the aim of this study was to investigate high-sensitivity C-reactive protein as a potential contributing factor to post-stroke depressive symptoms. Depression is a complex condition influenced by a variety of genetic, environmental, and physiological factors, with hs-CRP being just one of many potential contributors. Therefore, this is crucial when interpreting these findings.

## Conclusion

In our cohort with mild-to-moderate first-ever ischemic stroke patients, higher levels of baseline hs-CRP were associated with more depressive symptoms over time. This effect was pronounced in women, particularly in women with hs-CRP values indicating low-grade inflammation. Further longitudinal studies (including cytokine analysis such as IL-6) are warranted to investigate the temporal relationship between sex, inflammation, and depressive symptoms after stroke.

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00415-023-12038-w>.

**Funding** Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

## Declarations

**Conflicts of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source,

provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

## References

- Hackett ML, Pickles K (2014) Part I: frequency of depression after stroke: an updated systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int J Stroke*. <https://doi.org/10.1111/ijvs.12357>
- Ayerbe L, Ayis S, Wolfe CDA, Rudd AG (2013) Natural history, predictors and outcomes of depression after stroke: systematic review and meta-analysis. *Br J Psychiatry*. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.111.107664>
- Endres M, Moro MA, Nolte CH et al (2022) Immune pathways in etiology, acute phase, and chronic sequelae of ischemic stroke. *Circ Res*. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.319994>
- Debnath M, Berk M, Maes M (2021) Translational evidence for the inflammatory response system (IRS)/compensatory immune response system (CIRS) and neuroprogression theory of major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110343>
- Miller AH, Maletic V, Raison CL (2009) Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry*. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.11.029>
- Spalletta G, Bossù P, Ciaramella A et al (2006) The etiology of post-stroke depression: a review of the literature and a new hypothesis involving inflammatory cytokines. *Mol Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001879>
- Robinson RG, Jorge RE (2016) Post-stroke depression: a review. *Am J Psychiatry*. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2015.15030363>
- Chen Y, Pu J, Liu Y et al (2020) Pro-inflammatory cytokines are associated with the development of post-stroke depression in the acute stage of stroke: a meta-analysis. *Top Stroke Rehabil*. <https://doi.org/10.1080/10749357.2020.1755813>
- Yang R-R, Lu B-C, Li T et al (2016) The relationship between high-sensitivity C-reactive protein at admission and post stroke depression: a 6-month follow-up study. *Int J Geriatr Psychiatry*. <https://doi.org/10.1002/gps.4315>
- Kowalska K, Pasinska P, Klimiec-Moskal E et al (2020) C-reactive protein and post-stroke depressive symptoms. *Sci Rep*. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58478-6>
- Noonan K, Crewther SG, Carey LM et al (2013) Sustained inflammation 1.5 years post-stroke is not associated with depression in elderly stroke survivors. *Clin Interv Aging*. <https://doi.org/10.2147/CIA.S38547>
- Hatano S (1976) Experience from a multicentre stroke register: a preliminary report. *Bull World Health Organ* 54(5):541–553
- Liman TG, Zietemann V, Wiedmann S et al (2013) Prediction of vascular risk after stroke—protocol and pilot data of the prospective cohort with incident stroke (PROSCIS). *Int J Stroke*. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2012.00871.x>
- Huo S, Kränkel N, Nave AH et al (2021) Endothelial and leukocyte-derived microvesicles and cardiovascular risk after stroke: PROSCIS-B. *Neurology*. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000011223>
- Wahlund LO, Barkhof F, Fazekas F et al (2001) A new rating scale for age-related white matter changes applicable to MRI and CT. *Stroke*. <https://doi.org/10.1161/01.STR.32.6.1318>
- Parikh RM, Eden DT, Price TR, Robinson RG (1988) The sensitivity and specificity of the Center for Epidemiologic Studies Depression Scale in screening for post-stroke depression. *Int J Psychiatry Med*. <https://doi.org/10.2190/BH75-EUYA-4FM1-J7QA>
- Textor J, van der Zander B, Gilthorpe MS et al (2016) Robust causal inference using directed acyclic graphs: the R package “DAGitty.” *Int J Epidemiol*. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw341>
- Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ et al (2013) Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration. *Lancet Neurol*. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70124-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70124-8)
- Strandberg TE, Tilvis RS (2000) C-reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.20.4.1057>
- Yang Y, Zhu L, Zhang B et al (2022) Higher levels of C-reactive protein in the acute phase of stroke indicate an increased risk for post-stroke depression: a systematic review and meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.08.018>
- Zalli A, Jovanova O, Hoogendijk WJG et al (2016) Low-grade inflammation predicts persistence of depressive symptoms. *Psychopharmacology*. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-3919-9>
- Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG et al (2008) From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*. <https://doi.org/10.1038/nrn2297>
- Zunszain PA, Hepgul N, Pariante CM (2013) Inflammation and depression. *Curr Top Behav Neurosci*. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2012\\_211](https://doi.org/10.1007/7854_2012_211)
- Troubat R, Barone P, Leman S et al (2021) Neuroinflammation and depression: a review. *Eur J Neurosci*. <https://doi.org/10.1111/ejn.14720>
- Göttert R, Fidzinski P, Kraus L et al (2022) Lithium inhibits tryptophan catabolism via the inflammation-induced kynurenine pathway in human microglia. *Glia*. <https://doi.org/10.1002/glia.24123>
- Carvalho LA, Bergink V, Sumaski L et al (2014) Inflammatory activation is associated with a reduced glucocorticoid receptor alpha/beta expression ratio in monocytes of inpatients with melancholic major depressive disorder. *Transl Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/tp.2013.118>
- Porter GA, O'Connor JC (2022) Brain-derived neurotrophic factor and inflammation in depression: pathogenic partners in crime? *World J Psychiatry*. <https://doi.org/10.5498/wjp.v12.i1.77>
- Martinowich K, Manji H, Lu B (2007) New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nat Neurosci*. <https://doi.org/10.1038/nn1971>
- Khandaker GM, Zuber V, Rees JMB et al (2020) Shared mechanism between depression and coronary heart disease: findings from a large UK general population-based cohort. *Mol Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0395-3>
- Ye Z, Kappelmann N, Moser S et al (2021) Role of inflammation in depression and anxiety: tests for disorder specificity, linearity, and potential causality of association in the UK Biobank. *EClinical-Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100992>
- Bromet E, Andrade LH, Hwang I et al (2011) Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC*. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-90>
- Derry HM, Padin AC, Kuo JL et al (2015) Sex differences in depression: does inflammation play a role? *Curr Psychiatry Rep*. <https://doi.org/10.1007/s11920-015-0618-5>
- Khera A, McGuire DK, Murphy SA et al (2005) Race and gender differences in C-reactive protein levels. *J Am Coll Cardiol*. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.04.051>
- Matthews KA, Schott LL, Bromberger JT et al (2010) Are there bidirectional associations between depressive symptoms and C-reactive protein in mid-life women? *Brain Behav Immun*. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2009.08.005>

35. Kronenberg G, Schöner J, Levitanus M, Alvarado Balderrama AV, Geran R, Laumeier I, Schlattmann P, Nelson CP, Endres M, Gertz K (2021) The importance of previous lifetime trauma in stroke-induced PTSD symptoms and mental health outcomes. *J Psychiatr Res.* <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.10.033>
36. Brown VA (2021) An introduction to linear mixed-effects modeling in R. *Adv Methods Pract Psychol Sci.* <https://doi.org/10.1177/2515245920960351>

## **Lebenslauf**

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



## Abstract der These zum Studienabschluss

VIII Morphology, Genetics, Radiology

221

### CNV OF BREAST CANCER IN TRASTUZUMAB RECEIVING WOMEN

Author: *Viktoria Schaff*<sup>1</sup>

Scientific research supervisor: Assoc. Prof. *Zanda Daneberga*<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Rīga Stradiņš University, Latvia*

<sup>2</sup> *Rīga Stradiņš University, Institute of Oncology, Latvia*

**Keywords.** Breast cancer, *HER2/ERBB2* Gene, CNV, Trastuzumab.

**Introduction.** Breast cancer is the most common cancer in women, with an annual mortality rate of 32,7 per 100 in Latvia. Around 30 % of women with the ICD diagnosis C-50 show an overexpression for the human epidermal growth factor receptor (HER2) which is also used as a prognostic tool as it is associated with increased aggressiveness and lower disease-free time. Commonly overexpression's are identified using immunohistochemistry (IHC) which detects HER2 on a protein expression level. Those identified patients are further treated with Trastuzumab (Herceptin) in addition to their chemotherapy to achieve cell cycle arrest<sup>3</sup> but limiting the effect to that only 30 % of treated patients seem to respond adequate to the treatment.

**Aim.** To identify CNV of *ERBB2* and co-amplified regions in patients with Trastuzumab treatment.

**Materials and methods.** Fresh frozen tissue biopsies of 62 consented women who have donated their samples between 2011 until 2015 and had the confirmed diagnosis C-50 / breast cancer with Immunohistochemistry proofed HER2 amplification were involved in the study. Seven patients with the same criteria but a HER 2-negative diagnosis have also been included as controls. DNA was isolated using the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). 53 samples which yielded more than 50 ng/μL, measured with NanoQuant plate Infinite M200 Pro Monochromator (Tecan) have been further processed. CNV was detected using array-SNP HumanCytoSNP-12 v2.1 BeadChip Kit with ~300,000 SNP's (Illumina) according to the manufacturers protocol, genotyping was than performed for 53 HER2+ samples and 7 HER2- samples on BeadArray Reader HiScan (Illumina). Quantitative data was visualised and analysed using Genome Studio as well as R program and Bioconductor. Samples were examined for amplification in *ERBB2* gene region in the q-arm of chromosome 17 region as well as other copy number variation similarities.

**Results.** Out of 53 samples only 22 (41 %) showed a amplification in the *ERBB2* gene region. Out of 7 samples with no assumed amplification, 6 showed no amplification of *ERBB2* gene region, but one CNV was detected. Furthermore, 20 of those true Her 2 positive samples share genomic characteristic identified regions, so far, are *NOS2* gene and *NLK* both on 17q11.2. Chromothripsis was detected in 23 % of HER2 + (5/22) and 10% of HER2 - (3/31) samples.

**Conclusion.** This study outlines a high rate of false positive (61 % in HER 2 + group) and also false negative (14 % in HER 2 - group) rate. Chromothripsis is twice as likely to occur in true HER 2 positive patients.

## Komplette Publikationsliste

### Originalarbeiten

**Schaeff VLK**, Sperber PS, Piper SK, Giesers NK, Gertz K, Heuschmann PU, Endres M, Liman TG. Associations of C-reactive protein with depressive symptoms over time after mild to moderate ischemic stroke in the PROSCIS-B cohort. *J Neurol*. 2023 Oct 18. doi: 10.1007/s00415-023-12038-w. Epub ahead of print. PMID: 37848651.

Cubuk A, Weinberger S, Moldovan ED, **Schaeff V**, Neymeyer J. Use of the Allium Round Posterior Stent for the Treatment of Recurrent Vesicourethral Anastomosis Stricture. *Urology*. 2023 Sep;179:118-125. doi: 10.1016/j.urology.2023.06.024. Epub 2023 Jul 8. PMID: 37429546. IF: 2.633

STARSurG Collaborative and EuroSurg (Collaborative: ... F. Belia, **V. Schaeff**, A. Otto...) Collaborative. Validation of the OAKS prognostic model for acute kidney injury after gastrointestinal surgery. *BJS Open*. 2022 Jan 6;6(1):zrab150. doi: 10.1093/bjsopen/zrab150. PMID: 35179188; PMCID: PMC8855527. IF: 3.875

EuroSurg Collaborative. (Collaborative: ... F. Belia, **V. Schaeff**, A. Otto...) Timing of nasogastric tube insertion and the risk of postoperative pneumonia: an international, prospective cohort study. *Colorectal Dis*. 2020 Dec;22(12):2288-2297. doi: 10.1111/codi.15311. Epub 2020 Sep 18. PMID: 34092023. IF:3.917

EuroSurg Collaborative. (Collaborative: ... F. Belia, **V. Schaeff**, A. Otto...) Safety of hospital discharge before return of bowel function after elective colorectal surgery. *Br J Surg*. 2020 Apr;107(5):552-559. doi: 10.1002/bjs.11422. Epub 2020 Jan 24. PMID: 31976560. IF: 11.122

EuroSurg Collaborative. (Collaborative: ... F. Belia, **V. Schaeff**, A. Otto...) Safety and efficacy of non-steroidal anti-inflammatory drugs to reduce ileus after colorectal surgery. *Br J Surg*. 2020 Jan;107(2):e161-e169. doi: 10.1002/bjs.11326. Epub 2019 Oct 9. PMID: 31595986., IF: 11.122

### Leserbrief

S J Chapman, R Blanco-Colino, D Clerc, A Otto, D Nepogodiev, G Pagano, **V Schaeff**, A Soares, G Zaffaroni, R Žebrák, Author response to: Comment on: Safety and efficacy of non-steroidal anti-inflammatory drugs to reduce ileus after colorectal surgery, *British Journal of Surgery*, Volume 107, Issue 3, February 2020, Page 317, <https://doi.org/10.1002/bjs.11482>

## Danksagung

Mein Dank gilt meinem Betreuer, Thomas Liman, der mich während der Dissertation unterstützt hat und mir mit Rat und Tat zur Seite stand. Ich wünsche jedem einen so guten Betreuer wie ich ihn hatte. Weiterhin möchte ich der gesamten PROSCIS-AG und dem CSB danken, die mir besonders den Einstieg in diese wissenschaftliche Arbeit trotz der Pandemie ermöglicht haben. Die Promotion hat mein Interesse an der Forschung weiter bestätigt, und ich empfinde es als Glück, dass ich nicht mit Forschungsfrustration auf unsere Zusammenarbeit zurückblicke.

Weiterhin gilt mein Dank meinen Freunden Alex, Annalena und Alena, die sich selbst im Promotionsdschungel bewegen und immer ein offenes Ohr, Verständnis oder Motivation für mich hatten. Nicht viele Leute können von sich behaupten, so fantastische Mitbewohner und Klassenkameraden gehabt zu haben und so weit weg von zuhause eine zweite Familie zu finden. Freunde wie euch findet man nicht oft im Leben, und ich bin unendlich dankbar, dass es euch in meinem Leben gibt und noch lange geben wird.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern Bernd und Susanne und meiner Schwester Theresia. Egal wie weit entfernt, ihr habt mir immer zur Seite gestanden, in schlechten und guten Zeiten. Besonders meinen Eltern danke ich für all die Möglichkeiten, die ihr mir geboten, habt; und ohne die alles, mein Studium, die Promotion und die Assistenzarztzeit, nicht möglich gewesen wäre. Meinem Vater, der mir immer mit Kontakten und als Gesprächspartner zur Seite stand, und meiner Mutter, die sich als Nicht-Medizinerin jede Zeile meiner Arbeit durchgelesen und mit mir besprochen hat. Meiner Schwester, die in endlosen Telefonaten viel Verständnis aufgebracht hat und im richtigen Moment Motivation geliefert hat, um weiterzuschreiben. Egal, wie viel geografische Distanz zwischen uns liegt, uns trennt nichts.