

SOMMAIRE

PREFACE.....	2
I. ARTICLE.....	3
1. Présentation.....	3
2. Résumé et mots clés.....	4
3. Introduction.....	5
4. Méthode.....	6
5. Résultats.....	10
6. Discussion.....	11
7. Conclusion.....	14
8. Déclaration.....	15
9. Références.....	16
II. FIGURES ET TABLEAUX.....	19
1. Figure 1.....	19
2. Tableau 1.....	20
3. Tableau 2.....	21
4. Tableau 3.....	22
III. ANNEXES	
1. Annexe 1 : Article original.....	23
2. Annexe 2 : Critères diagnostiques de la schizophrénie selon le DSM-5.....	40
3. Annexe 3 : Feuille de cotation pour l'échelle PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale).....	43
4. Annexe 4 : Feuille de cotation pour l'échelle de dépression de Calgary pour la schizophrénie.....	46

I. ARTICLE

1. Présentation

L'inflammation périphérique est associée à une modification de la perfusion cérébrale SPECT dans la schizophrénie

Titre courant : Inflammation et perfusion SPECT dans la schizophrénie

FOND Guillaume^{1,2}, GAROSI Alexandra³, FAUGERE Mélanie^{1,3}, CAMPION Jacques-Yves⁴, LANCON Christophe^{1,3}, BOYER Laurent^{1,2}, RICHERI Raphaëlle^{1,3,4}, GUEDJ Eric^{4,5}

1. EA 3279 – EA 3279: CReSS, Centre de recherche sur les services de santé et la qualité de vie , Aix Marseille Univ, 27 Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France.

2. Département de l'information médicale et de la santé publique, APHM, Aix Marseille Univ, 27 Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France.

3. Département de Psychiatrie, APHM, La Conception Hôpital Universitaire, 147 Boulevard Baille, 13005 Marseille, France.

4. Aix Marseille Univ, CNRS, Ecole Centrale Marseille, UMR 7249, Institut Fresnel, CERIMED, 27 Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France.

5. Département de Médecine Nucléaire, APHM, La Timone Hôpital Universitaire, 264 rue Saint Pierre, 13005 Marseille, France.

Catégorie : Recherche originale.

Nombre de mots. Résumé = 298 ; Manuscrit = 4 767

*** La correspondance doit être envoyée à :**

Eric Guedj, MD, PhD

eric.guedj@ap-hm.fr

Service Central de Biophysique et Médecine Nucléaire, Hôpital de la Timone, 264 rue Saint Pierre, 13005 Marseille, France. Tel. : +33-491385558; Fax: +33-491384769

2. Résumé

Postulat. L'inflammation périphérique est fréquente dans la schizophrénie, et joue un rôle majeur dans la physiopathologie, le pronostic et la persistance de la symptomatologie psychotique sous traitement.

Objectif. Déterminer la corrélation entre l'inflammation périphérique et la perfusion cérébrale SPECT chez des patients ambulatoires stabilisés et traités par antipsychotiques atteints de schizophrénie, et déterminer si ces changements de perfusion sont associés à la persistance des symptômes.

Méthodes. Le taux sanguin de protéine C-réactive hautement sensible (hs-CRP) et la perfusion cérébrale SPECT ont été évalués chez 137 patients ambulatoires stabilisés atteints de schizophrénie. Des associations basées sur les voxels du cerveau entier ont été recherchées avec SPM entre la perfusion SPECT et la hs-CRP (analyse de corrélation aux niveaux quantitatifs et analyse entre groupes selon un seuil de 3mg/L). Les clusters identifiés ont été secondairement corrélés aux symptômes cliniques.

Résultats. Après ajustement sur l'âge, le sexe, le niveau d'éducation, la durée de la maladie, la prise d'antidépresseur, la dose équivalente de chlorpromazine, le tabagisme et l'obésité, une corrélation négative a été trouvée entre le niveau de hs-CRP et la perfusion de 4 zones cérébrales : le gyrus frontal inférieur droit, le gyrus temporal moyen/supérieur droit, le lobe pariétal supérieur gauche et le gyrus temporal postcentral/transversal droit ($p\text{-voxel} < 0,001$, $k > 80$, non corrigé). Une perfusion accrue de l'amygdale gauche a été identifiée chez les patients avec un niveau de hs-CRP ≥ 3 mg/L par rapport à ceux avec un niveau de hs-CRP < 3 mg/L. Une corrélation négative a été retrouvée entre la perfusion du gyrus frontal inférieur droit et la persistance des symptômes positifs, négatifs et d'excitation sous traitement antipsychotique.

Conclusion. Chez les patients stabilisés atteints de schizophrénie, l'inflammation périphérique est associée à des changements de perfusion cérébrale qui sont corrélés à la persistance de la symptomatologie psychotique.

Mots-clés : Psychiatrie ; schizophrénie ; santé mentale ; SPECT ; perfusion cérébrale ; neuroimagerie

3. Introduction

La compréhension de la physiopathologie sous-jacente de la schizophrénie peut aider à mieux sélectionner et développer les traitements. Dans les années 1970, la théorie monoaminergique était la principale théorie nosologique et émettait l'hypothèse que la schizophrénie était due à des dysfonctionnements de la dopamine. Cette approche a montré ses limites puisque les antipsychotiques antidopaminergiques de première ligne ne sont efficaces que chez 34% des patients [1] et que la clozapine, l'antipsychotique le plus efficace, a une puissance antidopaminergique moindre avec une efficacité de seulement 60% chez les patients ne répondant pas aux antipsychotiques précédents [2]. Les hypothèses biologiques actuelles sur la persistance des symptômes psychotiques sous traitement se concentrent sur des différences dans le fonctionnement des voies dopaminergiques ou des changements dans les voies du glutamate ou d'autres neuromédiateurs. Ces points de vue ne s'excluent pas mutuellement ; plusieurs voies convergent et peuvent contribuer à la neurobiologie de la persistance des symptômes psychotiques sous traitement.

En plus de ces possibles explications, nous disposons maintenant de plus de deux décennies de données mettant en évidence le rôle des processus immuno-inflammatoires dans la schizophrénie. Parmi celles-ci, des études portant sur l'ensemble du génome ont montré que la mutation de l'antigène leucocytaire humain était le modèle le plus constant retrouvé dans la schizophrénie [3]. Une augmentation globale de l'expression des gènes pro-inflammatoires a été trouvée au niveau des transcriptions et des protéines dans l'histologie post-mortem de cerveaux de patients schizophrènes [4]. Les patients schizophrènes présentent, en effet, de multiples sources d'inflammation, dont l'infection à *Toxoplasma* et le surpoids [5]. Tous ces résultats ont renforcé l'hypothèse immuno-inflammatoire dans la schizophrénie [6]. Si l'activation microgliale induite par l'inflammation périphérique a été bien documentée dans les études sur le cerveau post-mortem de la schizophrénie [4,7], on sait peu de choses sur les conséquences de l'inflammation sur la perfusion du cerveau vivant. Notre hypothèse est que l'inflammation peut induire des altérations de l'unité neurovasculaire (y compris les astrocytes, les cellules endothéliales et les neurones) qui pourraient entraîner des modifications de la perfusion cérébrale [8]. Nous avons également

émis l'hypothèse que ces changements fonctionnels seraient un marqueur indirect de la persistance des symptômes psychotiques sous traitement antipsychotique.

L'objectif principal de cette étude est de déterminer l'impact de l'inflammation périphérique sur la perfusion cérébrale SPECT (single-photon emission computed tomography) chez les patients atteints de schizophrénie. L'objectif secondaire est de déterminer si ces changements de perfusion sont associés à la persistance de la symptomatologie psychotique sous traitement antipsychotique.

4. Méthode

Plan de l'étude

Tous les patients ambulatoires ont été recrutés dans l'hôpital universitaire régional de psychiatrie de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille (AP-HM) (<http://fr.ap-hm.fr/>), Marseille, France, à partir du mois d'avril 2011. Les patients ont été adressés en provenance de toute la région Provence-Alpes Cotes d'Azur (Sud de la France) par leur médecin généraliste ou leur psychiatre, qui ont ensuite reçu un rapport d'évaluation détaillé avec des suggestions d'interventions personnalisées.

Population étudiée

Critères d'inclusion. Tous les patients ambulatoires stabilisés (définis par un traitement de fond stable, c'est-à-dire un antipsychotique et/ou un antidépresseur pendant au moins 8 semaines sans changement ou modification de dose) avec un diagnostic de schizophrénie/trouble schizo-affectif (F20*, F25*) selon la CIM-10, ayant subi une perfusion cérébrale SPECT au 99mTc-HMPAO et une mesure de la protéine C-réactive ultrasensible (hs-CRP) ont été consécutivement inclus.

Critères d'exclusion. Les patients ayant des antécédents de troubles neurologiques (notamment accident vasculaire cérébral, épilepsie et traumatisme crânien) ou toute maladie concomitante non psychiatrique affectant le système nerveux central (comme le lupus, la polyarthrite rhumatoïde, la sclérose en plaques ou un trouble infectieux aigu) et les patients ne parlant pas français ont été exclus.

Variables sociodémographiques, cliniques et de traitement

L'évaluation clinique comprenait la confirmation du diagnostic par deux psychiatres formés des Centres Expert Schizophrénie à l'aide d'un entretien clinique structuré [9] et des données sur l'âge, le sexe, le niveau d'éducation (niveau universitaire défini par >12 ans d'éducation : oui/non), la durée de la maladie (années), la prise d'antidépresseurs (oui/non), le tabagisme quotidien actuel (oui/non), l'obésité (oui/non définie par un indice de masse corporelle ≥ 30). Les doses équivalentes de chlorpromazine (CPZ100eq) ont été calculées selon la méthode de la dose minimale efficace [10]. La symptomatologie schizophrénique a été évaluée à l'aide de l'échelle du syndrome positif et négatif (PANSS) [11]. Les symptômes dépressifs actuels ont été évalués à l'aide de l'échelle de dépression de Calgary pour la schizophrénie (CDSS) [12].

Mesures biologiques

La Hs-CRP a été mesurée à partir d'échantillons de sang de routine en utilisant des tests immunologiques réguliers sensibles (ELISA). Les résultats ont été exprimés en milligramme par litre, et la limite de détection était de 0,08 $\mu\text{g/ml}$. Un seuil de 3 mg/L a été utilisé pour classer les patients ayant une "inflammation périphérique de bas grade" ($\geq 3\text{mg/L}$) par rapport à une "absence d'inflammation périphérique" ($< 3\text{mg/L}$), en utilisant un seuil précédemment rapporté [13].

Procédure de perfusion cérébrale SPECT

Tous les examens de perfusion SPECT ont été réalisés à l'AP-HM, France, dans les mêmes conditions pour tous les patients inclus dans cette étude, dans un délai moyen de 16,1 jours $\pm 27,5$ par rapport à l'évaluation clinique/biologique. Les patients ont reçu une injection intraveineuse de 740 MBq de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO après une période de repos de 15 minutes dans le calme et les yeux fermés. L'acquisition a été réalisée 20 minutes plus tard après une période supplémentaire de repos sensoriel.

L'acquisition SPECT a été réalisée avec la même gamma-caméra rotative à double tête (E.cam, Siemens, Erlangen, Allemagne) équipée d'un collimateur à faisceau en éventail pour améliorer la sensibilité. La durée totale du balayage était de 25 minutes avec soixante

projections par tête de 25 s recueillies au format 128 x 128. La reconstruction tomographique 3D a été réalisée à l'aide d'un algorithme de rétroprojection filtrée.

Analyses de perfusion cérébrale SPECT

Une analyse basée sur les voxels du cerveau entier a été réalisée à l'aide de SPM8 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging) fonctionnant sur MATLAB (Mathworks Inc.). Les images ont d'abord été converties du format DICOM au format Nifti à l'aide de MRICro (<https://people.cas.sc.edu/rorden/mricro/mricro.html>), puis transférées au Statistical parametric mapping (SPM). Les données ont été normalisées avec l'atlas de l'Institut neurologique de Montréal (MNI) basé sur le modèle SPECT 99mTc-HMPAO de SPM en utilisant une transformation affine à 12 paramètres suivie de transformations non linéaires et d'une interpolation trilineaire. Les dimensions des voxels résultants étaient de 2 × 2 × 2 mm. Les données normalisées ont été lissées à l'aide d'un filtre gaussien (largeur maximale à mi-hauteur de 8 mm) afin d'estomper les variations individuelles de l'anatomie gyrale et d'augmenter le rapport signal/bruit. Une analyse de régression multiple a été réalisée sur l'ensemble du groupe de patients en incluant les variables suivantes : âge, sexe, niveau d'éducation (niveau universitaire défini par >12 ans d'éducation : oui/non), durée de la maladie (années), antidépresseur (oui/non), dose équivalente de chlorpromazine (mg/j), tabagisme quotidien actuel (oui/non), obésité (oui/non selon un indice de masse corporelle de 30), et protéine réactive C hautement sensible (hs-CRP) (mg/L). Dans l'hypothèse d'une possible relation non linéaire entre l'inflammation périphérique et la perfusion cérébrale, une seconde analyse a été réalisée entre les groupes selon un seuil de hs-CRP < ou ≥ 3 mg/L, incluant toutes les autres covariables mentionnées. Ces deux analyses étaient bilatérales explorant les corrélations positives/négatives et l'augmentation/diminution de la perfusion.

Nous avons utilisé la routine de " mise à l'échelle proportionnelle " pour vérifier les variations individuelles de la perfusion cérébrale globale. Les corrélations/associations positives et négatives ont été recherchées pour chaque variable en utilisant les cartes SPM (T) à un seuil de signification au niveau du voxel de $p < 0,001$, non corrigé, avec une étendue de cluster d'au moins 80 voxels déterminée par SPM après des simulations de Monte Carlo. Les valeurs de perfusion de chaque cluster ont été extraites au niveau individuel en utilisant MARSBAR (<http://marsbar.sourceforge.net/>). Les coordonnées MNI ont été converties en

coordonnées Talairach, et les structures cérébrales ont été identifiées à l'aide de la base de données Talairach Daemon (<http://ric.uthscsa.edu/projects/talairachdaemon.html>).

Questions éthiques

La collecte des données a été approuvée par la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (numéro CNIL 1223715). L'étude a été conçue conformément à la Déclaration d'Helsinki et aux bonnes pratiques cliniques françaises. Tous les patients ont été informés de l'étude et ont donné leur consentement éclairé par écrit.

5. Résultats

Un total de 137 patients ambulatoires stabilisés souffrant de schizophrénie a été inclus dans l'étude. Les caractéristiques de l'échantillon sont présentées dans le tableau 1.

Tous les résultats SPECT significatifs ont été trouvés en utilisant un p -voxel $< 0,001$, non corrigé, et une taille de cluster d'au moins 80 voxels (Figure 1). Le tableau 2 énumère les voxels les plus significatifs. Une corrélation négative a été établie entre le niveau de hs-CRP et la perfusion de 4 clusters : le gyrus frontal inférieur droit, le gyrus temporal moyen/supérieur droit, le lobe pariétal supérieur gauche et le gyrus temporal postcentral/transversal droit. Une perfusion accrue de l'amygdale gauche a été mise en évidence chez les patients dont le taux de hs-CRP était au moins supérieur à 3 mg/l, par rapport aux patients dont le taux de hs-CRP était inférieur à 3. Aucun autre groupe significatif n'a été trouvé dans l'analyse SPM.

Les corrélations de la perfusion cérébrale avec la symptomatologie psychotique et dépressive et les niveaux sanguins de hs-CRP sont présentées dans le tableau 3. La perfusion du cluster frontal inférieur droit était négativement corrélée avec la gravité globale de la maladie (score total PANSS), les symptômes positifs (facteur positif PANSS), négatifs (facteur négatif PANSS) et d'excitation (facteur d'excitation PANSS).

6. Discussion

Chez des patients ambulatoires stabilisés atteints de schizophrénie, l'inflammation périphérique était associée à des modifications de la perfusion cérébrale des régions frontale, temporale et pariétale. Une corrélation négative a été trouvée entre la perfusion du gyrus frontal inférieur droit et la persistance des symptômes psychotiques sous traitement antipsychotique, plus spécifiquement des symptômes positifs, négatifs et d'excitation.

L'inflammation périphérique a d'abord été corrélée négativement avec la perfusion des zones fronto-temporales droites et pariétales bilatérales. La perfusion cérébrale est un biomarqueur du fonctionnement global du cerveau à travers l'activité synaptique globale. L'inflammation périphérique induit une activation microgliale dans le cerveau (ce qu'on appelle la neuro-inflammation) [14], qui a été largement explorée dans la schizophrénie au cours de la dernière décennie. Chez les patients schizophrènes, l'inflammation périphérique peut altérer la barrière hémato-encéphalique, augmentant sa perméabilité et son impact sur la perfusion cérébrale, soutenant l'hypothèse d'une "encéphalite légère" de la schizophrénie [15]. Il a été suggéré que la neuro-inflammation accélère la neuro-progression et le vieillissement du cerveau (le processus dit "d'inflammation") [16]. Cette neuro-progression peut induire une augmentation de la densité de la microglie signalée dans les études post-mortem sur le cerveau des patients schizophrènes [17]. Sur la base de nos résultats, on peut supposer que les changements de perfusion cérébrale associés à l'inflammation peuvent être la conséquence à long terme du processus d'"inflammation cérébrale" en cours. Cette hypothèse est cohérente avec une durée moyenne de la maladie de 13 ans dans notre échantillon, alors que l'inflammation est souvent identifiée dans les premières phases de ces maladies [18], ce qui suggère que les cerveaux des participants ont probablement été exposés à une inflammation chronique de faible intensité pendant plusieurs années.

Le gyrus frontal inférieur droit était la seule zone dont la perfusion était corrélée à la fois à l'inflammation périphérique et à la persistance de symptômes positifs sous traitement. Le cortex frontal est la zone du cerveau la plus riche en neurones dopaminergiques et est responsable du traitement du langage et de la production de la parole, ce qui a été

récemment démontré comme un marqueur fiable de la schizophrénie [19]. Le gyrus frontal inférieur droit est également impliqué dans la reconnaissance des émotions de peur, de dégoût et de colère [20]. Les déficits de reconnaissance des émotions, en particulier des émotions négatives, se sont révélés être un prédicteur utile du risque de schizophrénie [21]. Ce lobe est connecté au cortex préfrontal qui est impliqué dans les interactions sociales, ce qui peut expliquer la corrélation entre la diminution de la perfusion de cette zone et l'augmentation du retrait émotionnel et social [21]. Nos patients étaient traités par des antipsychotiques, ce qui suggère que les changements de perfusion frontale corrélés à l'inflammation étaient également corrélés à la persistance des symptômes psychotiques sous traitement. L'association de l'inflammation avec la persistance des symptômes psychotiques sous traitement a déjà été bien établie [22], et les stratégies anti-inflammatoires ont montré leur efficacité pour améliorer la symptomatologie de la schizophrénie [23].

De plus, nous avons constaté que les niveaux de hs-CRP les plus élevés (ceux $\geq 3\text{mg/L}$) étaient associés à une augmentation de la perfusion de l'amygdale gauche. Ce seuil a été utilisé, comme précédemment montré, pour définir une " inflammation périphérique de bas grade " [13], sur l'hypothèse complémentaire d'une relation non linéaire entre les niveaux de hs-CRP et la perfusion cérébrale. Cet effet dose pourrait être le résultat d'une réaction synergique du glutamate et de l'acide quinolinique, un produit de la neuroinflammation [24]. L'amygdale est classiquement associée à l'anxiété, qui est peu étudiée dans les échelles de la schizophrénie. Ceci peut expliquer l'absence de corrélation entre la perfusion amygdalienne et la symptomatologie psychotique dans nos résultats. Cependant, ce résultat est cohérent avec les altérations de l'amygdale régulièrement retrouvées chez les patients atteints de schizophrénie [25]. Des modifications de la perfusion de l'amygdale ont été associées à une activité accrue de la moelle osseuse, à une inflammation artérielle et au risque d'événements cardiovasculaires ultérieurs chez des hommes d'âge moyen sans maladie identifiée [26]. Des études futures devraient déterminer si les modifications de la perfusion de l'amygdale des patients atteints de schizophrénie peuvent aider à prédire leur risque d'événements cardiovasculaires, car il s'agit de la deuxième cause de décès dans cette population après 35 ans [27].

Alors que l'inflammation périphérique a été associée aux symptômes dépressifs dans la schizophrénie [28], nous n'avons trouvé aucune association significative entre la perfusion cérébrale de nos 5 zones et la symptomatologie dépressive. Cela suggère que d'autres mécanismes peuvent médier l'association entre l'inflammation et la dépression dans la schizophrénie, par exemple le régime alimentaire, l'activité physique, la maladie physique ou l'isolement social.

Points forts. Bien que le rôle de l'inflammation périphérique ait été largement exploré dans la schizophrénie au cours des deux dernières décennies, sa corrélation avec la perfusion cérébrale est rapportée pour la première fois dans cette étude. Tous les patients ont été évalués selon le même protocole afin de limiter l'hétérogénéité. Ils ont été recrutés dans une large zone géographique régionale afin de limiter le biais de sélection. Nos résultats ont été ajustés pour tenir compte d'importants facteurs de confusion, notamment l'âge, le sexe, le niveau d'éducation, la durée de la maladie, la prise d'antidépresseur, la dose équivalente de chlorpromazine, le tabagisme et l'obésité.

Limites et perspectives. Bien que notre échantillon soit important et permette l'ajustement pour de multiples facteurs de confusion, nos résultats devraient être reproduits dans d'autres populations, y compris des patients schizophrènes avec des caractéristiques sociodémographiques et de maladies différentes. Notre échantillon était composé de patients d'âge moyen avec une durée moyenne de la maladie assez longue (environ 13 ans), ce qui suggère que les changements de perfusion cérébrale dans nos résultats sont probablement les biomarqueurs de processus inflammatoires à moyen et long terme. Des explorations plus poussées des stades antérieurs de la maladie (tels que la maladie précoce et la phase prodromique) pourraient aider à comprendre la trajectoire de la maladie associée aux processus inflammatoires dans la schizophrénie. Il est bien connu que l'inflammation à long terme est associée à la déficience cognitive dans la schizophrénie [29], cependant nous n'avons pas effectué de batterie de tests cognitifs dans la présente étude pour explorer les associations avec la déficience cognitive. Les dysfonctionnements mitochondriaux et le stress oxydatif pourraient également participer aux anomalies de perfusion cérébrale observées. Les perturbations inflammatoires sont souvent associées au stress oxydatif, mais aucun marqueur de stress oxydatif et de dysfonctionnement

mitochondrial n'était disponible en pratique quotidienne. La question de la définition d'une inflammation périphérique de bas grade reste ouverte, d'autres marqueurs pro-inflammatoires comme l'IL-6, le TNF et l'IL-1 seraient potentiellement plus enclins à capturer une inflammation de bas grade. Cependant, ces marqueurs ne sont pas disponibles dans la pratique clinique quotidienne.

7. Conclusion

L'inflammation périphérique est associée à des modifications des régions frontale, temporale et pariétale chez les patients stabilisés atteints de schizophrénie. La perfusion du gyrus frontal inférieur droit était négativement corrélée avec la persistance des symptômes positifs, négatifs et d'excitation sous traitement antipsychotique. Comme les stratégies anti-inflammatoires ont montré une possible efficacité dans la schizophrénie, les études futures devraient déterminer si une telle intervention thérapeutique est médiée par des changements de perfusion cérébrale, et par conséquent si la SPECT cérébrale pourrait être utilisée comme biomarqueur.

8. Declaration

Financement

Aucun

Conflits d'intérêts/Intérêts concurrents

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont pas de conflits d'intérêts.

Approbation éthique

Les observations rétrospectives n'ont nécessité aucune approbation éthique autre que le consentement éclairé.

Consentement à la participation

Le consentement éclairé a été obtenu de tous les participants individuels inclus dans l'étude.

Consentement pour la publication

Le consentement éclairé a été obtenu de tous les participants individuels inclus dans l'étude.

Disponibilité des données et du matériel

Les données SPECT qui soutiennent les résultats sont disponibles auprès de l'auteur correspondant sur demande raisonnable.

Code de disponibilité

Non applicable

9. REFERENCES

1. Lally J, Ajnakina O, Di Forti M, Trotta A, Demjaha A, Kolliakou A, et al. Two distinct patterns of treatment resistance: clinical predictors of treatment resistance in first-episode schizophrenia spectrum psychoses. *Psychol Med*. 2016;46:3231–40.
2. Siskind D, Siskind V, Kisely S. Clozapine Response Rates among People with Treatment-Resistant Schizophrenia: Data from a Systematic Review and Meta-Analysis. *Can J Psychiatry*. 2017;706743717718167.
3. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*. 2014;511:421–7.
4. van Kesteren CFMG, Gremmels H, de Witte LD, Hol EM, Van Gool AR, Falkai PG, et al. Immune involvement in the pathogenesis of schizophrenia: a meta-analysis on postmortem brain studies. *Transl Psychiatry*. 2017;7:e1075.
5. Sutherland AL, Fond G, Kuin A, Koeter MWJ, Lutter R, van Gool T, et al. Beyond the association. *Toxoplasma gondii* in schizophrenia, bipolar disorder, and addiction: systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand*. 2015;
6. Orlovska-Waast S, Köhler-Forsberg O, Brix SW, Nordentoft M, Kondziella D, Krogh J, et al. Cerebrospinal fluid markers of inflammation and infections in schizophrenia and affective disorders: a systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2019;24:869–87.
7. Trépanier MO, Hopperton KE, Mizrahi R, Mechawar N, Bazinet RP. Postmortem evidence of cerebral inflammation in schizophrenia: a systematic review. *Mol Psychiatry*. 2016;21:1009–26.
8. Sukumar N, Sabesan P, Anazodo U, Palaniyappan L. Neurovascular Uncoupling in Schizophrenia: A Bimodal Meta-Analysis of Brain Perfusion and Glucose Metabolism. *Front Psychiatry*. 2020;11:754.
9. First M. Structured Clinical interview for the DSM-IV Axis I Disorders. American Psychiatric association; 1996.
10. Leucht S, Samara M, Heres S, Patel MX, Woods SW, Davis JM. Dose equivalents for second-generation antipsychotics: the minimum effective dose method. *Schizophr Bull*. 2014;40:314–26.
11. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1987;13:261–76.
12. Addington D, Addington J, Maticka-Tyndale E, Joyce J. Reliability and validity of a depression rating scale for schizophrenics. *Schizophrenia research*. 1992;6:201–8.

13. Fond G, Lançon C, Auquier P, Boyer L. C-Reactive Protein as a Peripheral Biomarker in Schizophrenia. An Updated Systematic Review. *Front Psychiatry*. 2018;9:392.
14. Marques TR, Ashok AH, Pillinger T, Veronese M, Turkheimer FE, Dazzan P, et al. Neuroinflammation in schizophrenia: meta-analysis of in vivo microglial imaging studies. *Psychol Med*. 2019;49:2186–96.
15. Najjar S, Pahlajani S, De Sanctis V, Stern JNH, Najjar A, Chong D. Neurovascular Unit Dysfunction and Blood–Brain Barrier Hyperpermeability Contribute to Schizophrenia Neurobiology: A Theoretical Integration of Clinical and Experimental Evidence. *Front Psychiatry* [Internet]. 2017 [cited 2021 Feb 28];8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5440518/>
16. Martínez-Cengotitabengoa M, Carrascón L, O'Brien JT, Díaz-Gutiérrez M-J, Bermúdez-Ampudia C, Sanada K, et al. Peripheral Inflammatory Parameters in Late-Life Depression: A Systematic Review. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016 [cited 2021 Feb 28];17. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5187822/>
17. Khandaker GM, Cousins L, Deakin J, Lennox BR, Yolken R, Jones PB. Inflammation and immunity in schizophrenia: implications for pathophysiology and treatment. *Lancet Psychiatry*. 2015;2:258–70.
18. Fraguas D, Díaz-Caneja CM, Ayora M, Hernández-Álvarez F, Rodríguez-Quiroga A, Recio S, et al. Oxidative Stress and Inflammation in First-Episode Psychosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Schizophr Bull*. 2019;45:742–51.
19. Corcoran CM, Carrillo F, Fernández-Slezak D, Bedi G, Klim C, Javitt DC, et al. Prediction of psychosis across protocols and risk cohorts using automated language analysis. *World Psychiatry*. 2018;17:67–75.
20. Sprengelmeyer R, Rausch M, Eysel UT, Przuntek H. Neural structures associated with recognition of facial expressions of basic emotions. *Proc Biol Sci*. 1998;265:1927–31.
21. Martin D, Croft J, Pitt A, Strelchuk D, Sullivan S, Zammit S. Systematic review and meta-analysis of the relationship between genetic risk for schizophrenia and facial emotion recognition. *Schizophr Res*. 2020;218:7–13.
22. Potkin SG, Kane JM, Correll CU, Lindenmayer J-P, Agid O, Marder SR, et al. The neurobiology of treatment-resistant schizophrenia: paths to antipsychotic resistance and a roadmap for future research. *NPJ Schizophr*. 2020;6:1.
23. Çakici N, van Beveren NJM, Judge-Hundal G, Koola MM, Sommer IEC. An update on the efficacy of anti-inflammatory agents for patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Psychol Med*. 2019;49:2307–19.
24. Dantzer R, Walker AK. Is there a role for glutamate-mediated excitotoxicity in inflammation-induced depression? *J Neural Transm*. 2014;121:925–32.

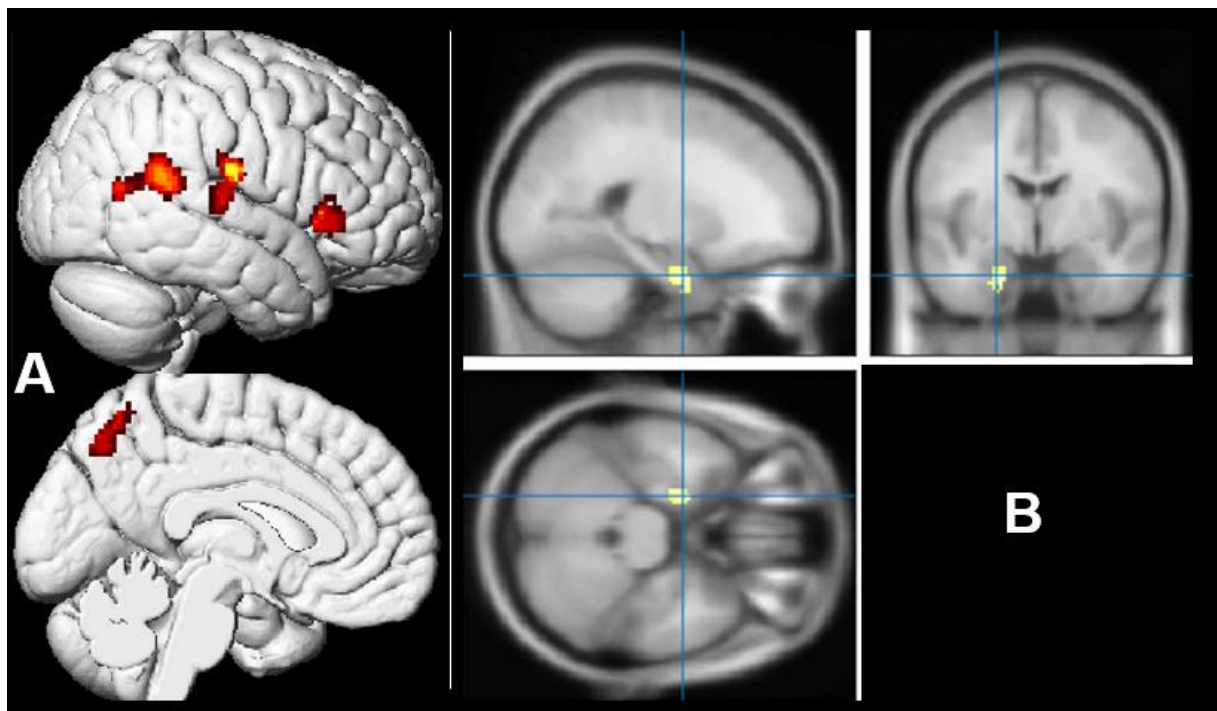
25. Ho NF, Li Hui Chong P, Lee DR, Chew QH, Chen G, Sim K. The Amygdala in Schizophrenia and Bipolar Disorder: A Synthesis of Structural MRI, Diffusion Tensor Imaging, and Resting-State Functional Connectivity Findings. *Harv Rev Psychiatry*. 2019;27:150–64.
26. Tawakol A, Ishai A, Takx RA, Figueroa AL, Ali A, Kaiser Y, et al. Relation between resting amygdalar activity and cardiovascular events: a longitudinal and cohort study. *Lancet*. 2017;389:834–45.
27. Samaras K, Correll CU, Curtis J. Premature Mortality and Schizophrenia-The Need to Heal Right From the Start. *JAMA Psychiatry*. 2016;
28. Fond G, Faugere M, Richieri R, Cermolacce M, Korchia T, Micoulaud-Franchi JA, et al. Depressive symptoms and chronic peripheral inflammation are associated with impaired functional remission in schizophrenia independently of psychotic remission. *J Affect Disord*. 2021;280:267–71.
29. Bora E. Peripheral inflammatory and neurotrophic biomarkers of cognitive impairment in schizophrenia: a meta-analysis. *Psychol Med*. 2019;49:1971–9.

II. FIGURES ET TABLEAUX

1. **Figure 1. Résultats de perfusion SPECT (p-voxel < 0,001, p-cluster < 0,05, k > 80 ; non corrigé).** Hs-CRP : Protéine C-Réactive hautement sensible.

A. Corrélation négative entre le niveau de hs-CRP et la perfusion : gyrus frontal inférieur droit BA47, gyrus temporal moyen/supérieur droit BA13 & BA19, lobe pariétal supérieur gauche BA7, gyrus temporal postcentral et transversal droit BA43.

B. Augmentation de la perfusion chez les patients ayant un taux de hs-CRP $\geq 3\text{mg/L}$: Amygdale gauche



2. **Tableau 1. Variables sociodémographiques et cliniques des 137 patients atteints de schizophrénie. CDSS Échelle d'évaluation de la dépression de Calgary**

Caractéristiques socio-démographiques	
Sexe (femme) (N, %)	39 (28.5)
Age (années), (mean, SD)	36.02 (11.82)
Niveau universitaire (niveau d'éducation >12 ans) (N, %)	78 (56.9)
Caractéristiques de la maladie	
Durée de la maladie (années) (mean, SD)	13.40 (10.09)
Gravité actuelle de la maladie (PANSS score total mean, SD)	76.31 (21.07)
Trouble dépressif majeur actuel (CDSS score ≥ 6) (N, %)	37 (27.0)
Variables de traitements	
Traitement antidépresseur (N, %)	39 (28.5)
Dose quotidienne d'antipsychotique (CPZ100eq) (mean, SD)	902.61 (693.48)
Variables métaboliques	
Tabagisme quotidien actuel (N, %)	69 (50.4)
Indice de Masse Corporelle (mean, SD)	26.47 (5.57)
Obésité (Indice de Masse Corporelle ≥ 30)	34 (24.8)
Taux sanguin de la protéine C-réactive (mg/L) (mean, SD)	3.74 (5.38)
Taux sanguin de la protéine C-réactive ≥ 3 mg/L	52 (38.0)

3. **Tableau 2.** Résultats de perfusion SPECT (p-voxel < 0.001, p-cluster < 0.05, k > 80; uncorrected).

	Cluster	voxel	Coordonnées de Talairach			Localisation
	k	T-score	x	Y	z	
Corrélation négative entre le niveau de hs-CRP et la perfusion	276	4.90	36	27	0	Gyrus frontal inférieur droit, BA47
	324	4.70	53	-42	19	Gyrus temporal supérieur droit, BA13
		3.59	53	-60	14	Gyrus temporal moyen droit, BA19
	228	4.07	-24	-64	46	Lobule pariétal supérieur gauche, BA7
	238	4.05	57	-15	19	Gyrus postcentral droit, BA43
Augmentation de la perfusion chez les patients ayant un niveau de hs-CRP ≥ 3mg/L	107	4.02	-22	-5	-23	Amygdale gauche

La valeur k représente le nombre de voxels à l'intérieur d'un cluster particulier. Les coordonnées de Talairach sont exprimées en mm. BA : Aire de Brodmann.

4. **Tableau 3. Corrélations de la perfusion cérébrale avec la symptomatologie psychotique et dépressive et les taux sanguins de protéine C-réactive hautement sensible (hs-CRP).**

	Gyrus Frontal Inférieur Droit BA47		Gyrus temporal moyen/supérieur droit BA13 & BA19		Lobe pariétal supérieur gauche BA7		Gyrus postcentral et temporal transversal droit BA43		Amygdale gauche	
	Pearson	(p)	Pearson	(p)	Pearson	(p)	Pearson	(p)	Pearson	(p)
Sévérité de la maladie (score PANSS total)	-0.231	0.007	0.022	0.800	0.012	0.890	-0.075	0.387	0.019	0.823
PANSS facteur positif	-0.209	0.014	0.134	0.119	-0.022	0.799	0.021	0.810	0.055	0.520
PANSS facteur négatif	-0.172	0.044	0.002	0.982	0.017	0.842	-0.163	0.057	0.015	0.866
PANSS facteur d'excitation	-0.180	0.036	-0.083	0.334	0.035	0.688	0.016	0.848	-0.068	0.427
PANSS facteur cognitif	-0.132	0.125	0.053	0.536	0.030	0.730	0.001	0.988	-0.078	0.366
PANSS facteur dépressif	-0.080	0.351	-0.075	0.386	0.002	0.979	-0.037	0.667	0.101	0.241
CDSS score de dépression	0.030	0.729	0.035	0.685	0.022	0.796	-0.032	0.709	0.136	0.114
Hs-CRP	-0.371	<0.001	-0.215	0.011	-0.260	0.002	-0.293	0.001	0.221	0.009

PANSS Échelle du syndrome positif et négatif de la schizophrénie. CDSS : échelle d'évaluation de la dépression de Calgary. Hs-CRP : Protéine C-Réactive hautement sensible. Les corrélations significatives sont en gras.

III. ANNEXES

1. Annexe 1: Article original

Peripheral inflammation is associated with brain SPECT perfusion changes in schizophrenia

Running title: Inflammation and SPECT perfusion in schizophrenia

FOND Guillaume^{1,2}, GAROSI Alexandra³, FAUGERE Mélanie^{1,3}, CAMPION Jacques-Yves⁴, LANCON Christophe^{1,3}, BOYER Laurent^{1,2}, RICHERI Raphaëlle^{1,3,4}, GUEDJ Eric^{4,5}

1. EA 3279 – EA 3279: CERESS, Health Service Research and Quality of Life Center, Aix Marseille Univ, 27 Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France.

2. Department of Medical Information and Public Health, APHM, Aix Marseille Univ, 27 Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France.

3. Department of Psychiatry, APHM, La Conception University Hospital, 147 Boulevard Baille, 13005 Marseille, France.

4. Aix Marseille Univ, CNRS, Ecole Centrale Marseille, UMR 7249, Institut Fresnel, CERIMED, 27 Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France.

5. Nuclear Medicine Department, APHM, La Timone University Hospital, 264 rue Saint Pierre, 13005 Marseille, France.

Category: Original Research.

Word count. Abstract = 240; Manuscript = 4,117

*** Correspondence should be sent to:**

Eric Guedj, MD, PhD

eric.guedj@ap-hm.fr

Service Central de Biophysique et Médecine Nucléaire, Hôpital de la Timone, 264 rue Saint Pierre, 13005 Marseille, France.

Tel.:+33-491385558;

Fax:+33-491384769

Abstract

Purpose. Peripheral inflammation is frequent in schizophrenia, and plays a major role in pathophysiology, prognosis, and persistence of psychotic symptomatology under treatment.

Aim. To determine the correlation between peripheral inflammation and brain SPECT perfusion in stabilized antipsychotic-treated outpatients with schizophrenia, and to determine whether such perfusion changes are correlated to persistent symptoms.

Methods. Highly sensitive C-reactive protein blood level (hs-CRP) and brain SPECT perfusion were assessed in 137 stabilized outpatients with schizophrenia. Whole-brain voxel-based associations were searched with SPM between SPECT perfusion and hs-CRP (correlation analysis to quantitative levels and between-group analysis according to a threshold of 3mg/L). The identified clusters were secondarily correlated with clinical symptoms.

Results. After adjustment for age, sex, educational level, illness duration, antidepressant, chlorpromazine equivalent dose, tobacco smoking and obesity, a negative correlation was found between hs-CRP level and the perfusion of 4 brain areas: the right inferior frontal gyrus, the right middle/superior temporal gyrus, the left superior parietal lobe and the right postcentral/transverse temporal gyrus ($p\text{-voxel} < 0.001$, $k > 80$, uncorrected). An increased perfusion of the left amygdala was found in patients with $\text{hs-CRP} \geq 3 \text{ mg/L}$ compared to those with $\text{hs-CRP} < 3 \text{ mg/L}$. A negative correlation was found between perfusion of the right inferior frontal gyrus and the persistence of positive, negative and excitement symptoms under antipsychotic treatment.

Conclusion. In stabilized patients with schizophrenia, peripheral inflammation is associated with brain perfusion changes that are correlated with the persistence of psychotic symptomatology.

Keywords: Psychiatry; schizophrenia; mental health; SPECT; brain perfusion; neuroimaging

Introduction

Elucidating the underlying pathophysiology of schizophrenia may aid in better selection and development of treatments. In the 1970s, monoaminergic theory was the leading nosological theory, hypothesizing that schizophrenia was due to dopamine dysfunctions. This approach has shown its limits as first-line anti-dopaminergic antipsychotics are effective in only 34% of the patients[1] and as clozapine, the most effective antipsychotic, has the lower antidopaminergic potency with an efficiency of only 60% in patients not responding to previous antipsychotic[2]. Current biological hypotheses on persistent psychotic symptoms under treatment focus on differences in the functioning of dopaminergic pathways or changes in glutamate or other neurotransmitter pathways. These views are not mutually exclusive, with several pathways converging and possibly contributing to the neurobiology of persistence of psychotic symptoms under treatment.

In addition to these possible explanations, we have now more than two decades of data highlighting the role of immune-inflammatory processes in schizophrenia. Among them, genome wide studies have shown that the mutation of the Human leukocyte antigen was the most consistent pattern of schizophrenia[3]. An overall increase in expression of proinflammatory genes has been found on transcript and protein level in schizophrenia brain postmortem histology[4]. Schizophrenia patients have multiple sources of inflammation including Toxoplasma infection and overweight[5]. All these results have boosted the immune-inflammatory hypothesis in schizophrenia[6]. While microglial activation induced by peripheral inflammation has been well documented in the post-mortem brain studies of schizophrenia[4,7], little is known on the consequences of inflammation on living brain perfusion. Our hypothesis is that inflammation may induce alterations of the neurovascular unit (including astrocytes, endothelial cells, and neurons) which could lead to brain perfusion changes[8]. We also hypothesized that these functional changes would be an indirect marker of persistent psychotic symptoms under antipsychotic treatment.

The main objective of this study is to determine the impact of peripheral inflammation on brain SPECT (single-photon emission computed tomography) perfusion in patients with schizophrenia. The secondary objective is to determine whether these perfusion changes are associated with persistence of psychotic symptomatology under antipsychotic treatment.

Methods

Study design

All outpatients were recruited in the regional psychiatric academic hospital from Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille (AP-HM) academic hospital (<http://fr.ap-hm.fr/>), Marseille, France, from April 2011. The patients were referred from the whole Provence-Alpes Cotes d'Azur region (South of

France) by their general practitioner or psychiatrist, who subsequently received a detailed evaluation report with suggestions for personalized interventions.

Study population

Inclusion criteria. All stabilized outpatients (defined by stable background treatment, i.e., antipsychotic and/or antidepressant for at least 8 weeks without change or dose modification) with an ICD-10 diagnosis of schizophrenia/schizoaffective disorder (F20*, F25*) having had a brain SPECT perfusion with ^{99m}Tc -HMPAO and measurement of highly sensitive C-reactive protein (hs-CRP) were consecutively included.

Exclusion criteria. Patients with a history of neurological disorders (including stroke, epilepsy and head injury) or any non-psychiatric concurrent illnesses affecting the central nervous system (such as lupus, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis or acute infectious disorder) and patients not speaking French were excluded.

Sociodemographic, clinical, and treatment variables

The clinical evaluation included diagnostic confirmation by two trained psychiatrists of the Schizophrenia Expert Centres using a structured clinical interview [9] and data on age, sex, educational level (university level defined by >12 years of education: yes/no), illness duration (years), antidepressant (yes/no), current daily tobacco smoking status (yes/no), obesity (yes/no defined by a body mass index ≥ 30). Chlorpromazine equivalent doses (CPZ100eq) were calculated according to the minimum effective dose method [10]. Schizophrenic symptomatology was assessed using the Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS) [11]. Current depressive symptoms were evaluated using the Calgary Depression Rating Scale for Schizophrenia (CDSS) [12].

Biological measurements

Hs-CRP was measured by routine blood samples using sensitive regular immunoassays (ELISA). The results were expressed as milligram per litre, and the detection limit was 0.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$. A cut-off of 3 mg/L was used to classify patients as “low-grade peripheral inflammation” ($\geq 3\text{mg}/\text{L}$) vs. “no peripheral inflammation” ($< 3\text{mg}/\text{L}$), using a threshold previously reported [13].

Brain SPECT perfusion procedure

All SPECT perfusion exams were carried out at AP-HM, France, under the same conditions for all patients included in this study, with a mean delay of 16.1 days ± 27.5 with the clinical/biological evaluation. The patients received an intravenous injection of 740 MBq of ^{99m}Tc -HMPAO after a rest period of 15 minutes in quiet surroundings with their eyes closed. The acquisition was performed 20

minutes later after an additional period of sensorial rest.

SPECT acquisition was performed using the same double-headed rotating gamma-camera (E.cam, Siemens, Erlangen, Germany) equipped with fan-beam collimator to improve sensitivity. The total scan time was 25 minutes with sixty projections per head of 25 s collected in 128 x 128 format. Tomographic 3D reconstruction was performed using a filtered back-projection algorithm.

Brain SPECT perfusion analyses

A whole-brain voxel-based analysis was performed using SPM8 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging) running on MATLAB (Mathworks Inc.). Images were initially converted from DICOM to NifTi format using MRIcro (<https://people.cas.sc.edu/rorden/mricro/mricro.html>) and transferred to Statistical parametric mapping (SPM). Data were standardized with the Montreal Neurological Institute (MNI) atlas based on the ^{99m}Tc -HMPAo SPECT template of SPM using a 12-parameter affine transformation followed by nonlinear transformations and trilinear interpolation. The dimensions of the resulting voxels were $2 \times 2 \times 2$ mm. Standardized data were smoothed with a Gaussian filter (full-width at half-maximum of 8 mm) to blur individual variations in gyral anatomy and to increase the signal-to-noise ratio. Multiple regression analysis was performed on the whole group of patients including the following variables: age, sex, educational level (university level defined by >12 years of education: yes/no), illness duration (years), antidepressant (yes/no), chlorpromazine equivalent dose (mg/d), current daily tobacco smoking status (yes/no), obesity (yes/no according to a body mass index of 30), and highly sensitive C reactive protein (hs-CRP) (mg/L). On the hypothesis of possible non-linear relationship between peripheral inflammation and brain perfusion, a second analysis was performed between groups according to a hs-CRP threshold < or ≥ 3 mg/L, including all other mentioned covariables. These two analyses were two-sided exploring positive/negative correlations and increase/decrease in perfusion.

We used the “proportional scaling” routine to check for individual variations in global brain perfusion. Positive and negative correlations/associations were searched for each variable using SPM (T) maps at a height threshold voxel-level significance of $p < 0.001$, uncorrected, with a cluster extent of at least 80 voxels determined by SPM after Monte Carlo simulations. The perfusion values of each cluster were extracted at the individual level using MARSBAR (<http://marsbar.sourceforge.net/>). MNI coordinates were converted into Talairach coordinates, and brain structures were identified using the Talairach Daemon database (<http://ric.uthscsa.edu/projects/talairachdaemon.html>).

Ethical concerns

The data collection was approved by the Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL number 1223715). The study was designed in accordance with the Declaration of Helsinki and French good clinical practice. All patients were informed of the study and gave written informed consent.

Results

A total of 137 stabilized outpatients with schizophrenia were included in the study. The sample characteristics are presented in **Table 1**.

All significant SPECT results were found using $p\text{-voxel} < 0.001$, uncorrected, and a cluster size of at least 80 voxels (**Figure 1**). The **Table 2** lists the most significant voxels. A negative correlation was found between hs-CRP level and perfusion of 4 clusters: the right inferior frontal gyrus, the right middle/superior temporal gyrus, the left superior parietal lobe, and the right postcentral/transverse temporal gyrus. An increased perfusion of the left amygdala was found in patients with hs-CRP at least higher than 3 mg/L, in comparison to patients with hs-CRP level inferior to 3. No other significant cluster was found on SPM analysis.

The correlations of brain perfusion with psychotic and depressive symptomatology and hs-CRP blood levels are presented in **Table 3**. The perfusion of the right inferior frontal cluster was negatively correlated with global illness severity (PANSS total score), positive (PANSS positive factor), negative (PANSS negative factor) and excitement (PANSS excitement score) symptoms.

Discussion

In stabilized outpatients with schizophrenia, peripheral inflammation was associated with brain perfusion changes of frontal, temporal and parietal regions. A negative correlation was found between perfusion of the right inferior frontal gyrus and persistence of psychotic symptoms under antipsychotic treatment, more specifically of positive, negative and excitement symptoms.

Peripheral inflammation was first negatively correlated with perfusion of the right fronto-temporal and bilateral parietal areas. Brain perfusion is a biomarker of global brain functioning through global synaptic activity. Peripheral inflammation induces microglial activation in the brain (the so-called neuroinflammation) [14], which has been extensively explored in schizophrenia in the last decade. In schizophrenia patients, peripheral inflammation can alter the blood-brain barrier, increasing its permeability and the impact on brain perfusion, supporting the “mild encephalitis” hypothesis of schizophrenia [15]. Neuroinflammation has been suggested to accelerate brain neuroprogression and ageing (the so-called “inflammaging” process) [16]. This neuro-progression may induce an increase in the microglia density reported in post-mortem schizophrenia brain studies [17]. Based on our results, one could hypothesize that inflammation-associated brain perfusion changes may be the long-term consequence of the ongoing “braininflammaging” process. This assumption is consistent with a mean illness duration of 13 years in our sample, while inflammation is often identified in the early phases of these illnesses [18], suggesting that the brains of the participants were probably exposed to chronic low-grade inflammation for several years.

The right inferior frontal gyrus was the only area which perfusion was correlated to both peripheral inflammation and persistence of positive symptoms under treatment. The frontal cortex is the richest brain area in dopaminergic neurons and is responsible for language processing and speech production, which has been recently demonstrated as a reliable marker of schizophrenia[19]. The right inferior frontal gyrus is also involved in the recognition of emotions of fear, disgust and anger[20]. Emotion recognition deficits, particularly to negative emotions, has been found as a useful predictor of schizophrenia risk[21]. This lobe is connected to prefrontal cortex that is involved in social interactions, which may explain the correlation between decreased perfusion of this area and increased emotional and social withdrawal[21]. Our patients were treated by antipsychotics, which suggests that frontal perfusion changes correlated to inflammation were also correlated to persistence of psychotic symptoms under treatment. The association of inflammation with persistence of psychotic symptoms under treatment has been well-established elsewhere[22], and anti-inflammatory strategies have shown effectiveness in improving schizophrenia symptomatology[23].

In addition, we found that the higher hs-CRP levels (those $\geq 3\text{mg/L}$) were associated with increased

perfusion of the left amygdala. This cut-off was used as previously shown to qualify “low-grade peripheral inflammation” [13], on the complementary hypothesis of non-linear relationship between hs-CRP levels and brain perfusion. This dose effect may be the result of a synergistic reaction of glutamate and quinolinic acid, a product of neuroinflammation [24]. Amygdala is classically associated with anxiety, which is poorly investigated in the schizophrenia scales. This may explain the absence of correlation between amygdala perfusion and psychotic symptomatology in our results. However, this result is consistent with amygdala alterations consistently found in patients with schizophrenia[25]. Changes in the perfusion of amygdala have been associated with increased bone-marrow activity, arterial inflammation and risk of later cardiovascular events in middle-aged men without identified disease[26]. Future studies should determine whether perfusion changes in amygdala perfusion of patients with schizophrenia may help predicting their risk of cardiovascular events, as this is the second cause of death in this population after 35 years[27].

While peripheral inflammation has been associated with depressive symptoms in schizophrenia[28], we found no significant association between brain perfusion of our 5 areas and depressive symptomatology. This suggests that other mechanisms may mediate the association between inflammation and depression in schizophrenia, e.g. diet, physical activity, physical illness or social isolation.

Strengths. Although the role of peripheral inflammation has been extensively explored in schizophrenia in the last two decades, its correlation with brain perfusion is reported for the first time in this study. All patients were assessed using the same protocol to limit heterogeneity. They were recruited through a large regional geographical area to limit the selection bias. Our results were adjusted for important confounding factors including age, sex, educational level, illness duration, antidepressant, chlorpromazine equivalent dose, tobacco smoking and obesity.

Limits and perspectives. Although our sample was large, enabling adjustment for multiple confounding factors, our results should be replicated in other populations including schizophrenia patients with different sociodemographic and illness characteristics. Our sample consisted of middle-aged patients with a mean illness duration that was quite long (approximately 13 years), suggesting that the brain perfusion changes in our results are probably the biomarkers of mid- to long-term inflammatory processes. Further explorations of earlier stages of the illness (such as early illness and the prodromic phase) may help understanding the illness trajectory associated with inflammatory processes in schizophrenia. It is well known that long-term inflammation is associated with cognitive impairment in schizophrenia[29], however we did not carry out a cognitive test battery in the present study to explore the associations with cognitive impairment. Mitochondrial dysfunctions and oxidative stress could also participate to the observed brain perfusion abnormalities. Inflammatory disturbances are often associated with oxidative stress, however no marker of oxidative stress and mitochondrial

dysfunction was available in daily practice. The question of the definition of low-grade peripheral inflammation remains open, other pro-inflammatory markers like IL-6, TNF and IL-1 would be potentially more prone to capture low-grade inflammation. However, these markers are not available in daily clinical practice.

Conclusion

Peripheral inflammation is associated with changes of frontal, temporal and parietal regions in stabilized patients with schizophrenia. The perfusion of the right inferior frontal gyrus was negatively correlated with the persistence of positive, negative and excitement symptoms under antipsychotic treatment. As anti-inflammatory strategies have shown possible effectiveness in schizophrenia, future studies should determine whether such therapeutic intervention is mediated by brain perfusion changes, and consequently whether brain SPECT could be used as biomarker.

Declaration

Funding

None

Conflicts of interest/Competing interests

The authors declare that they have no conflicts of interest

Ethics approval

The retrospective observations required no ethical approval requirement other than informed consent.

Consent to participate

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study

Consent for publication

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study

Availability of data and material

The SPECT data that support the findings are available from the corresponding author upon reasonable request

Code availability

Not applicable

REFERENCES

1. Lally J, Ajnakina O, Di Forti M, Trotta A, Demjaha A, Kolliakou A, et al. Two distinct patterns of treatment resistance: clinical predictors of treatment resistance in first-episode schizophrenia spectrum psychoses. *Psychol Med*. 2016;46:3231–40.
2. Siskind D, Siskind V, Kisely S. Clozapine Response Rates among People with Treatment-Resistant Schizophrenia: Data from a Systematic Review and Meta-Analysis. *Can J Psychiatry*. 2017;70:6743717718167.
3. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*. 2014;511:421–7.
4. van Kesteren CFMG, Gremmels H, de Witte LD, Hol EM, Van Gool AR, Falkai PG, et al. Immune involvement in the pathogenesis of schizophrenia: a meta-analysis on postmortem brain studies. *Transl Psychiatry*. 2017;7:e1075.
5. Sutherland AL, Fond G, Kuin A, Koeter MWJ, Lutter R, van Gool T, et al. Beyond the association. *Toxoplasma gondii* in schizophrenia, bipolar disorder, and addiction: systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand*. 2015;
6. Orlovska-Waast S, Köhler-Forsberg O, Brix SW, Nordentoft M, Kondziella D, Krogh J, et al. Cerebrospinal fluid markers of inflammation and infections in schizophrenia and affective disorders: a systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2019;24:869–87.
7. Trépanier MO, Hopperton KE, Mizrahi R, Mechawar N, Bazinet RP. Postmortem evidence of cerebral inflammation in schizophrenia: a systematic review. *Mol Psychiatry*. 2016;21:1009–26.
8. Sukumar N, Sabesan P, Anazodo U, Palaniyappan L. Neurovascular Uncoupling in Schizophrenia: A Bimodal Meta-Analysis of Brain Perfusion and Glucose Metabolism. *Front Psychiatry*. 2020;11:754.
9. First M. Structured Clinical interview for the DSM-IV Axis I Disorders. American Psychiatric association; 1996.
10. Leucht S, Samara M, Heres S, Patel MX, Woods SW, Davis JM. Dose equivalents for second-generation antipsychotics: the minimum effective dose method. *Schizophr Bull*. 2014;40:314–26.
11. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1987;13:261–76.
12. Addington D, Addington J, Maticka-Tyndale E, Joyce J. Reliability and validity of a depression rating scale for schizophrenics. *Schizophrenia research*. 1992;6:201–8.
13. Fond G, Lançon C, Auquier P, Boyer L. C-Reactive Protein as a Peripheral Biomarker in Schizophrenia. An Updated Systematic Review. *Front Psychiatry*. 2018;9:392.
14. Marques TR, Ashok AH, Pillinger T, Veronese M, Turkheimer FE, Dazzan P, et al. Neuroinflammation in schizophrenia: meta-analysis of in vivo microglial imaging studies. *Psychol Med*. 2019;49:2186–96.
15. Najjar S, Pahlajani S, De Sanctis V, Stern JNH, Najjar A, Chong D. Neurovascular Unit Dysfunction and Blood–Brain Barrier Hyperpermeability Contribute to Schizophrenia Neurobiology: A Theoretical Integration of Clinical and Experimental Evidence. *Front Psychiatry* [Internet]. 2017 [cited 2021 Feb 28];8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5440518/>
16. Martínez-Cengotitabengoa M, Carrascón L, O'Brien JT, Díaz-Gutiérrez M-J, Bermúdez-Ampudia C, Sanada K, et al. Peripheral Inflammatory Parameters in Late-Life Depression: A Systematic Review. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016 [cited 2021 Feb 28];17. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5187822/>
17. Khandaker GM, Cousins L, Deakin J, Lennox BR, Yolken R, Jones PB. Inflammation and immunity in schizophrenia: implications for pathophysiology and treatment. *Lancet Psychiatry*. 2015;2:258–70.
18. Fraguas D, Díaz-Caneja CM, Ayora M, Hernández-Álvarez F, Rodríguez-Quiroga A, Recio S, et al. Oxidative Stress and Inflammation in First-Episode Psychosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Schizophr Bull*. 2019;45:742–51.
19. Corcoran CM, Carrillo F, Fernández-Slezak D, Bedi G, Klim C, Javitt DC, et al. Prediction of psychosis across protocols and risk cohorts using automated language analysis. *World Psychiatry*. 2018;17:67–75.
20. Sprengelmeyer R, Rausch M, Eysel UT, Przuntek H. Neural structures associated with recognition

of facial expressions of basic emotions. *Proc Biol Sci.* 1998;265:1927–31.

21. Martin D, Croft J, Pitt A, Strelchuk D, Sullivan S, Zammit S. Systematic review and meta-analysis of the relationship between genetic risk for schizophrenia and facial emotion recognition. *Schizophr Res.* 2020;218:7–13.

22. Potkin SG, Kane JM, Correll CU, Lindenmayer J-P, Agid O, Marder SR, et al. The neurobiology of treatment-resistant schizophrenia: paths to antipsychotic resistance and a roadmap for future research. *NPJ Schizophr.* 2020;6:1.

23. Çakici N, van Beveren NJM, Judge-Hundal G, Koola MM, Sommer IEC. An update on the efficacy of anti-inflammatory agents for patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Psychol Med.* 2019;49:2307–19.

24. Dantzer R, Walker AK. Is there a role for glutamate-mediated excitotoxicity in inflammation-induced depression? *J Neural Transm.* 2014;121:925–32.

25. Ho NF, Li Hui Chong P, Lee DR, Chew QH, Chen G, Sim K. The Amygdala in Schizophrenia and Bipolar Disorder: A Synthesis of Structural MRI, Diffusion Tensor Imaging, and Resting-State Functional Connectivity Findings. *Harv Rev Psychiatry.* 2019;27:150–64.

26. Tawakol A, Ishai A, Takx RA, Figueroa AL, Ali A, Kaiser Y, et al. Relation between resting amygdalar activity and cardiovascular events: a longitudinal and cohort study. *Lancet.* 2017;389:834–45.

27. Samaras K, Correll CU, Curtis J. Premature Mortality and Schizophrenia-The Need to Heal Right From the Start. *JAMA Psychiatry.* 2016;

28. Fond G, Faugere M, Richieri R, Cermolacce M, Korchia T, Micoulaud-Franchi JA, et al. Depressive symptoms and chronic peripheral inflammation are associated with impaired functional remission in schizophrenia independently of psychotic remission. *J Affect Disord.* 2021;280:267–71.

29. Bora E. Peripheral inflammatory and neurotrophic biomarkers of cognitive impairment in schizophrenia: a meta-analysis. *Psychol Med.* 2019;49:1971–9.

Figure 1. SPECT perfusion findings (p-voxel < 0.001, p-cluster < 0.05, k > 80; uncorrected). Hs-CRP: highly sensitive C-Reactive Protein.

A. Negative correlation between hs-CRP level and perfusion: Right Inferior Frontal Gyrus BA47, Right middle/superior temporal gyrus BA13 & BA19, Left superior parietal lobe BA7, Right postcentral and transverse temporal gyrus BA43

B. Increased perfusion in patients with hs-CRP level $\geq 3\text{mg/L}$: Left amygdala

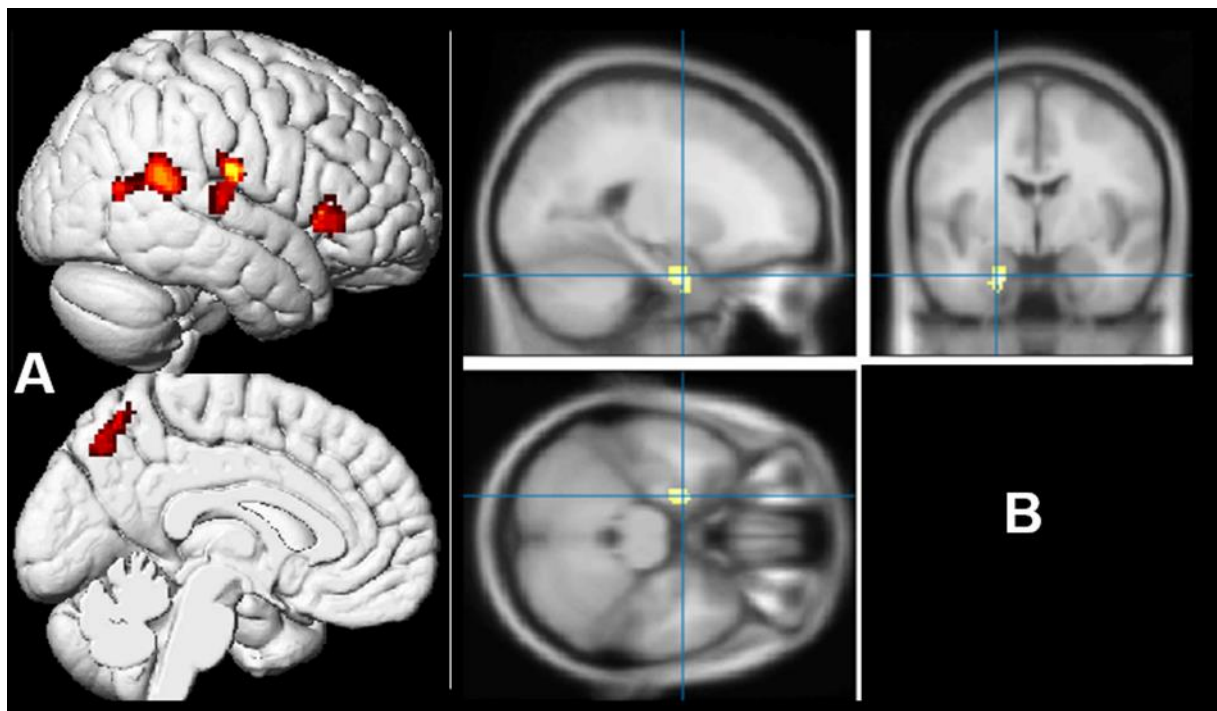


Table 1 Socio-demographic and clinical variables of the 137 patients with schizophrenia. CDSS Calgary Depression Rating Scale.

Socio-demographic characteristics	
Sex (female) (N, %)	39 (28.5)
Age (years), (mean, SD)	36.02 (11.82)
Academic level (education level>12 years) (N, %)	78 (56.9)
Illness characteristics	
Illness duration (years) (mean, SD)	13.40 (10.09)
Current illness severity (PANSS total score mean, SD)	76.31 (21.07)
Current major depressive disorder (CDSS score ≥ 6) (N, %)	37 (27.0)
Treatment variables	
Antidepressant treatment (N, %)	39 (28.5)
Daily antipsychotic dose (CPZ100eq) (mean, SD)	902.61 (693.48)
Metabolic variables	
Current daily tobacco smoking (N, %)	69 (50.4)
Body Mass Index (mean, SD)	26.47 (5.57)
Obesity (Body Mass Index ≥ 30)	34 (24.8)
C-reactive protein blood level (mg/L) (mean, SD)	3.74 (5.38)
C-reactive protein blood level ≥ 3 mg/L	52 (38.0)

Table 2. SPECT perfusion findings (p-voxel < 0.001, p-cluster < 0.05, k > 80; uncorrected).

	Cluster	voxel	Talairach coordinates			Localization
	k	T-score	x	y	z	
Negative correlation between hs-CRP level and perfusion	276	4.90	36	27	0	Right Inferior Frontal Gyrus, BA47
	324	4.70	53	-42	19	Right Superior Temporal Gyrus, BA13
		3.59	53	-60	14	Right Middle Temporal Gyrus, BA19
	228	4.07	-24	-64	46	Left Superior Parietal Lobule, BA7
	238	4.05	57	-15	19	Right Postcentral Gyrus, BA43
Increased perfusion in patients with hs-CRP level \geq 3mg/L	107	4.02	-22	-5	-23	Left Amygdala

The k-value represents the number of voxels inside a particular cluster. Talairach coordinates are expressed in mm. BA: Brodmann Area.

Table 3. Correlations of brain perfusion with psychotic and depressive symptomatology and highly sensitive C-reactive-protein (hs-CRP) blood levels.

	Right Inferior Frontal Gyrus BA47		Right middle/superior temporal gyrus BA13 & BA19		Left superior parietal lobe BA7		Right postcentral and transverse temporal gyrus BA43		Left amygdala	
	Pearson	(p)	Pearson	(p)	Pearson	(p)	Pearson	(p)	Pearson	(p)
Illness severity (total PANSS score)	-0.231	0.007	0.022	0.800	0.012	0.890	-0.075	0.387	0.019	0.823
PANSS Positive factor	-0.209	0.014	0.134	0.119	-0.022	0.799	0.021	0.810	0.055	0.520
PANSS Negative factor	-0.172	0.044	0.002	0.982	0.017	0.842	-0.163	0.057	0.015	0.866
PANSS Excited factor	-0.180	0.036	-0.083	0.334	0.035	0.688	0.016	0.848	-0.068	0.427
PANSS Cognitive factor	-0.132	0.125	0.053	0.536	0.030	0.730	0.001	0.988	-0.078	0.366
PANSS Depressive factor	-0.080	0.351	-0.075	0.386	0.002	0.979	-0.037	0.667	0.101	0.241
CDSS depressive score	0.030	0.729	0.035	0.685	0.022	0.796	-0.032	0.709	0.136	0.114
Hs-CRP	-0.371	<0.001	-0.215	0.011	-0.260	0.002	-0.293	0.001	0.221	0.009

PANSS Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenia. CDSS Calgary Depression Rating Scale. Hs-CRP: highly sensitive C-Reactive Protein.

Significant correlations are in bold.

2. Annexe 2 : Critères diagnostiques de la schizophrénie selon le DSM-5

A. Deux ou plus des symptômes suivants sont présents pendant une partie significative du temps sur une période d'un mois (ou moins quand elles répondent favorablement au traitement). Au moins l'un des symptômes doit être 1, 2 ou 3 :

- Idées délirantes
- Hallucinations
- Discours désorganisé (c.-à-d., coq-à-l'âne fréquents ou incohérence)
- Comportement grossièrement désorganisé ou catatonique
- Symptômes négatifs (c.-à-d., réduction de l'expression émotionnelle, aboulie)

B. Pendant une partie significative du temps depuis la survenue du trouble, un ou plusieurs domaines majeurs du fonctionnement tels que le travail, les relations interpersonnelles ou les soins personnels sont nettement inférieurs au niveau atteint avant la survenue de la perturbation (ou en cas de survenue dans l'enfance, ou dans l'adolescence, incapacité à atteindre le niveau de réalisation interpersonnelle, scolaire, ou dans d'autres activités auxquelles on aurait pu s'attendre).

C. Des signes permanents de la perturbation persistent pendant au moins 6 mois. Cette période de 6 mois doit comprendre au moins 1 mois de symptômes (ou moins quand ils répondent favorablement au traitement) qui répondent aux critères A (c.-à-d. symptômes de la phase active), et peut comprendre des périodes de symptômes prodromiques ou résiduels. Pendant ces périodes prodromiques et résiduelles, les signes de la perturbation peuvent se manifester uniquement par des symptômes négatifs ou par deux ou plus des symptômes figurants dans le critère A présents sous une forme atténuée (p.ex., croyances bizarres, perceptions inhabituelles).

D. Un trouble schizo-affectif et un trouble dépressif ou bipolaire avec caractéristiques psychotiques ont été éliminés soit 1) parce qu'aucun épisode dépressif majeur ou maniaque n'a été présent simultanément aux symptômes de la phase active, soit 2) parce que si des épisodes thymiques ont été présents pendant les symptômes de la phase active, ils ne l'ont été que pour une faible proportion de la durée des périodes actives et résiduelles.

E. La perturbation n'est pas due aux effets physiologiques directs d'une substance (c.-à-d. une drogue donnant lieu à abus, un médicament) ou d'une affection médicale.

F. En cas d'antécédents d'un trouble du spectre autistique ou d'un trouble de la communication débutant dans l'enfance, le diagnostic additionnel de schizophrénie n'est fait que si les idées délirantes ou les hallucinations sont prononcées et sont présentes avec les autres symptômes requis pour le diagnostic pendant au moins 1 mois (ou moins quand elles répondent favorablement au traitement).

Spécification de l'évolution

La spécification de l'évolution ne se fait qu'après un recul d'au moins 1 an après les symptômes initiaux et s'ils ne sont pas en contradiction avec le critère évolutif.

Premier épisode, actuellement en phase aiguë (spéculatif : ~F20.x1 ou ~F20.x2) : première manifestation du trouble remplissant les critères symptomatiques et de durée pour le diagnostic. Un épisode aigu correspond à la période de temps durant laquelle les critères symptomatiques sont remplis.

Premier épisode, actuellement en rémission partielle (~F20.x4) : Une rémission partielle est une période de temps durant laquelle une amélioration se maintient après un premier épisode et durant laquelle les critères diagnostics symptomatiques ne sont que partiellement remplis.

Premier épisode, actuellement en rémission complète (~F20.x5) : Une rémission complète est une période de temps après un premier épisode durant laquelle aucun symptôme spécifique du trouble n'est présent.

Épisodes multiples, actuellement en phase aiguë : On ne parle d'épisodes multiples qu'après un minimum de 2 épisodes (c.à.d., après un premier épisode, une rémission et un minimum d'une rechute).

Épisodes multiples, actuellement en rémission partielle (F20.x4)

Épisodes multiples, actuellement en rémission complète (F20.x3 ou F20.x5)

Continue (F20.x0) : Les critères symptomatiques du diagnostic sont présents pendant toute l'évolution ou presque de la maladie, avec des périodes de temps durant lesquelles les symptômes peuvent passer en dessous du seuil diagnostique (bien que non précisé, cela doit

durer au moins 1 an pendant lequel les symptômes sont présents > 4/5 du temps).

Non spécifié (F20.x8 et F20.x9)

3. **Annexe 3 : Feuille de cotation pour l'échelle PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale)**

12 POSITIVE AND NEGATIVE SYNDROME SCALE

PANSS

KAY S.R., OPLER L.A. et FISZBEIN A.

Traduction française : J.P. Lépine



NOM:

PRENOM:

SEXE: ☐ AGE: DATE:

EXAMINATEUR:

CONSIGNES

Entourer la cotation appropriée à chaque dimension, à la suite de l'entretien clinique spécifique. Se reporter au Manuel de Cotation pour la définition des items, la description des différents degrés et la procédure de cotation

Absence
Minimale
Légère
Moyenne
Mod. Sévère
Sévère
Extrême

Echelle positive

P 1	Idées délirantes.	1	2	3	4	5	6	7
P 2	Désorganisation conceptuelle.	1	2	3	4	5	6	7
P 3	Activité hallucinatoire.	1	2	3	4	5	6	7
P 4	Excitation.	1	2	3	4	5	6	7
P 5	Idées de grandeur.	1	2	3	4	5	6	7
P 6	Méfiance/Persécution.	1	2	3	4	5	6	7
P 7	Hostilité.	1	2	3	4	5	6	7

Echelle négative

N 1	Emoussement de l'expression des émotions	1 2 3 4 5 6 7
N 2	Retrait affectif.	1 2 3 4 5 6 7
N 3	Mauvais contact.	1 2 3 4 5 6 7
N 4	Repli social passif/apathique.	1 2 3 4 5 6 7
N 5	Difficultés d'abstraction.	1 2 3 4 5 6 7

N 6	Absence de spontanéité et de fluidité dans la conversation.	1 2 3 4 5 6 7
N 7	Pensée stéréotypée.	1 2 3 4 5 6 7

Echelle psychopathologique générale

G 1	Préoccupations somatiques.	1 2 3 4 5 6 7
G 2	Anxiété	1 2 3 4 5 6 7
G 3	Sentiments de culpabilité.	1 2 3 4 5 6 7
G 4	Tension	1 2 3 4 5 6 7
G 5	Maniérisme et troubles de la posture.	1 2 3 4 5 6 7
G 6	Dépression.	1 2 3 4 5 6 7
G 7	Ralentissement psychomoteur.	1 2 3 4 5 6 7
G 8	Manque de coopération.	1 2 3 4 5 6 7
G 9	Contenu inhabituel de la pensée.	1 2 3 4 5 6 7
G 10	Désorientation.	1 2 3 4 5 6 7
G 11	Manque d'attention.	1 2 3 4 5 6 7
G 12	Manque de jugement et de prise de conscience de la maladie.	1 2 3 4 5 6 7
G 13	Trouble de la volition.	1 2 3 4 5 6 7
G 14	Mauvais contrôle pulsionnel.	1 2 3 4 5 6 7
G 15	Préoccupation excessive de soi (tendances autistiques).	1 2 3 4 5 6 7
G 16	Evitement social actif.	1 2 3 4 5 6 7

INTERPRETATION :

Échelle "positive" :	/49
Échelle "négative" :	/49
Échelle "psychopathologique générale" :	/112

Total : /210

Selon votre total, vous serez classé (2) :

- 40 à 65 : "Légèrement malade"
- 66 à 85 : "Modérément malade"
- 86 à 105 : "Notoirement malade"
- 106 et plus : "Sévèrement malade"

Référence : <http://www.departement-information-medicale.com/wp-content/uploads/2010/09/echelle-PANSS-POSITIVE-AND-NEGATIVE-SYNDROME-SCALE.pdf>

4. Annexe 4 : Feuille de cotation pour l'échelle de dépression de Calgary pour la schizophrénie

Le cadre temporel concerne les 2 dernières semaines.

	Absent	Léger	Modéré	Sévère
	0	1	2	3
1) Dépression				
Comment pourriez-vous décrire votre humeur durant les 2 dernières semaines : avez-vous pu demeurer raisonnablement gai ou est ce que vous avez été très déprimé ou plutôt triste ces derniers temps ? Combien de fois vous êtes-vous senti ainsi, tous les jours ? toute la journée ?				
2) Désespoir				
Comment entrevoyez-vous le futur pour vous-même ? Est ce que vous pouvez envisager un avenir pour vous ? Ou est-ce que la vie vous paraît plutôt sans espoir ? Est ce que vous avez tout laissé tomber ou est ce qu'il vous paraît y avoir encore des raisons d'essayer ?				
3) Auto-dépréciation				
Quelle est votre opinion de vous-même, en comparaison avec d'autres personnes ? Est ce que vous vous sentez meilleur ou moins bon, ou à peu près comparable aux autres personnes en général ? Vous sentez-vous inférieur ou même sans aucune valeur ? Si oui quel serait le pourcentage de temps durant lequel vous ressentez ce sentiment ?				
4) Idées de référence associées à la culpabilité				
Avez-vous l'impression que l'on vous blâme pour certaines choses ou même qu'on vous accuse sans raison ? A propos de quoi ? (ne pas inclure ici des blâmes ou des accusations justifiés. Exclure les délires de culpabilité ou les propos des hallucinations en tant que tels).				
5) Culpabilité pathologique				
Avez-vous tendance à vous blâmer vous-même pour des petites choses que vous pourriez avoir faites dans le passé ? Pensez-vous que vous méritez d'être aussi préoccupé de cela ?				
6) Dépression matinale				
Lorsque vous vous êtes senti déprimé au cours des deux dernières semaines, avez-vous remarqué que la dépression était pire à certains moments de la journée ?				
7) Éveil précoce				
Vous réveillez-vous plus tôt le matin qu'à l'accoutumée ? Combien de fois par semaine cela vous arrive-t-il ?				
8) Suicide				
Avez-vous déjà eu l'impression que la vie ne valait pas la peine d'être vécue ? Avez-vous déjà pensé mettre fin à tout cela ? Qu'est ce que vous pensez que vous auriez pu faire ? Avez-vous effectivement essayé ?				

9) Dépression observée

Se baser sur l'ensemble de l'entretien. Est-ce que vous ressentez parfois l'envie de pleurer ?

Référence : http://cercle-d-excellence-psy.org/OLD/images/Calgary_fiche_CEP.pdf

Serment d'Hippocrate

« Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque. »

