

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
DEPARTAMENTO DE PSIQUIATRÍA Y SALUD MENTAL**

**INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGIA Y
NEUROCIRUGÍA: MANUEL VELAZCO SUÁREZ**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN PSIQUIATRÍA

**ÓXIDO NÍTRICO Y ESQUIZOFRENIA:
MEDICION DE SU VIA METABÓLICA EN EL LÍQUIDO
CEFALORRAQUÍDEO DE PACIENTES
ESQUIZOFRÉNICOS**

Autor:

Juan Enrique Vélez Escalante González

Tutor Metodológico:

Dr. Carlos Campillo Serrano

Tutor Teórico:

Dra. Ana Luisa Sosa Ortiz

Coautores:

Dr. Camilo Ríos Castañeda

Dr. Jesús Ramírez Bermúdez

M. en C. Iván Pérez Neri



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

- I. Resumen
- II. Planteamiento del Problema
- III. Antecedentes
 - 1. La Esquizofrenia
 - 2. La Teoría Dopaminérgica
 - 3. Teoría Serotoninérgica
 - 4. Teoría Noradrenérgica
 - 5. Teoría Gabaérgica
 - 6. Teoría Glutamatérgica
 - 7. El Oxido Nítrico
 - 8. Oxido Nítrico y Esquizofrenia
- IV. Objetivos
- V. Hipótesis
- VI. Justificación
- VII. Metodología
 - 1. Área de Estudio
 - 2. Diseño
 - 3. Población y Muestra
 - 4. Especificación de Variables
 - 5. Instrumentos
 - a. Escala de Síntomas Positivos y Negativos
 - b. Cromatografía de Líquidos Fluorimétrica
 - 6. Procedimientos
 - 7. Duración del Estudio
 - 8. Tamaño de la Muestra
 - 9. Análisis Estadístico
- VIII. Resultados
- IX. Discusión
- X. Anexos
 - 1. Anexo I. Criterios Diagnósticos para Esquizofrenia: DSM-IV
 - 2. Anexo II. Escala de Síntomas Positivos y Negativos (PANSS)
- XI. Referencias

RESUMEN

Antecedentes: el óxido nítrico ha sido propuesto como uno de los posibles mecanismos implicados en la fisiopatología de la esquizofrenia, hasta la fecha solo un estudio ha intentado evaluarlo a través de sus metabolitos principales (nitritos y nitratos) en el líquido cefalorraquídeo de pacientes esquizofrénicos en comparación a controles no esquizofrénicos, con resultados promisorios; sin embargo hasta la fecha no tenemos idea de cómo se comporta su vía metabólica en el cerebro de estos pacientes.

Objetivo: explorar el comportamiento de la vía metabólica del óxido nítrico en pacientes esquizofrénicos mediante muestras de su líquido cefalorraquídeo, en comparación con pacientes no esquizofrénicos.

Diseño: estudio piloto, observacional, transversal, comparativo.

Centro de estudio: Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía: Manuel Velasco Suárez, Ciudad de México, México.

Pacientes: 9 pacientes esquizofrénicos y 10 controles no esquizofrénicos.

Mediciones principales de comparación: comparación de las mediciones de arginina, citrulina y nitratos en el líquido cefalorraquídeo entre los pacientes esquizofrénicos y los controles no esquizofrénicos.

Resultados: las medias +/- DE entre ambos grupos no fueron estadísticamente significativas para dos colas: **citrulina** en esquizofrénicos 29.88 +/- 3.12 y en controles 23.76 +/- 3.8 (p= 0.071), **arginina** para esquizofrénicos 22.11 +/- 1.44 y en controles 18.94 +/- 0.9 (p=0.174) y **nitratos** para esquizofrénicos 331.21 +/- 67.8 y en controles 688.17 +/- 195.4 (p= 0.210), finalmente no hubo asociación entre el comportamiento de estas sustancias y la escala de PANSS.

Conclusiones: a pesar de no tener una diferencia estadísticamente significativa nuestros resultados muestran una tendencia en dirección a una diferencia entre ambos grupos, sin embargo para estar seguros que dicha diferencia no es debida al azar será necesario incrementar el tamaño de la muestra del estudio. Por otro lado suponiendo los estudios muestran la dirección correcta la significancia a una cola para citrulina fue de 0.0355, suficiente para no considerar dicha diferencia debida al azar.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existen cambios en la vía metabólica del óxido nítrico de los pacientes esquizofrénicos en comparación con los controles sugerentes de una deficiencia de ON en el SNC de los pacientes con esquizofrenia?

ANTECEDENTES

LA ESQUIZOFRENIA

La esquizofrenia es un trastorno crónico del sistema nervioso definido clínicamente por alteraciones mentales y conductuales que producen un deterioro psicosocial significativo. Los signos y síntomas característicos del trastorno aparecen agrupados en dos amplias categorías, los *síntomas positivos*, que parecen constituir la expresión de un exceso o distorsión de las funciones mentales normales: trastornos del pensamiento y el lenguaje (ideas delirantes, lenguaje desorganizado), la percepción (alucinaciones) y la organización del comportamiento (conducta desorganizada o catatónica) y los *síntomas negativos*, que parecen consistir en una disminución o pérdida de las funciones mentales normales: trastornos de la expresión emocional (aplanamiento afectivo), de la fluidez y productividad del pensamiento y el lenguaje (alogia) y de la conducta voluntaria (avolición) (DSM-IV-TR) (**Anexo I**).

En cuanto al diagnóstico de esquizofrenia, este puede ser realizado de manera clínica mediante los criterios del DSM-IV o la CIE-10 para esquizofrenia los que se consideran actualmente las autoridades para el diagnóstico de esta enfermedad, Jagger en una comparación de ambas clasificaciones encontró un valor de kappa de 0.82 entre ambas. (Jagger M 2004).

Ambos grupos de síntomas pueden evaluarse mediante la Escala de los Síndromes Positivo y Negativo (PANSS, por sus siglas en inglés), desarrollada por Kay y Opler, la cual es utilizada en la actualidad en las principales investigaciones clínicas (Garnica, 1996).

La división fenomenológica de la esquizofrenia en dos grandes síndromes ha sido cuestionada por los trabajos de varios autores (Arndt, 1991; Schroeder, 1992; Kulhara, 1986; Malla, 1993; Peralta, 1992; Liddle, 1999), quienes han mostrado que las manifestaciones clínicas persistentes de la esquizofrenia se segregan en tres síndromes: positivo, negativo y desorganizado. Cada uno de los cuales se correlaciona con marcadores neurobiológicos específicos:

1) Síndrome positivo: en un estudio con 30 pacientes esquizofrénicos, utilizando tomografía por emisión de positrones, se encontró una correlación entre este síndrome y un incremento del flujo sanguíneo cerebral regional en el lóbulo temporal medial izquierdo, el estriado ventral izquierdo y la corteza prefrontal inferolateral, así como una disminución del flujo en la corteza del cíngulo posterior y la corteza temporoparietal lateral izquierda (Liddle, 1992).

2) Síndrome negativo: se encontró asociado con hipoactividad en la corteza lateral prefrontal y en la corteza asociativa parietal, e hiperactividad en el estriado, en el mismo estudio (Wolkin, 1992).

3) Síndrome desorganizado: El estudio de Liddle mostró que los pacientes con este síndrome tenían un menor flujo cerebral en las siguientes regiones: corteza ventrolateral prefrontal, ínsula y corteza asociativa parietal, así como un incremento en el cíngulo anterior y el tálamo (Liddle, 1992).

Además del estudio de citado, múltiples investigadores han medido el flujo sanguíneo cerebral regional de pacientes esquizofrénicos; el dato fisiopatológico más consistente es la hipoperfusión en zonas frontales (especialmente en la corteza dorsolateral prefrontal), la cual muestra una correlación repetida con la presencia o el predominio clínico de síntomas negativos (Franzen, 1975; Andreasen, 1992; Wolkin, 1992; Rubin, 1994; Liddle, 1992; Lewis, 1992; Ebmeier 1993).

La evidencia actual apoya la idea de que los síntomas esquizofrénicos están relacionados con alteraciones en varios sistemas neurobioquímicos, principalmente los dopaminérgicos, serotoninérgicos, gabaérgicos y glutamatérgicos. Otras sustancias o neurotransmisores, con resultados no concluyentes, incluyen: acetilcolina, noradrenalina, neurotensina, colecistoquinina, somatostatina y péptidos opiáceos. Un factor neuroquímico poco estudiado en pacientes esquizofrénicos es el óxido nítrico. Se ha propuesto que una alteración de esta sustancia en la esquizofrenia, podría explicar el fenómeno de hipoperfusión frontal observado en pacientes con este trastorno (Bachneff, 1995).

LA TEORIA DOPAMINERGICA

La dopamina ha sido el neurotransmisor mas ampliamente estudiado para la esquizofrenia y mantiene su papel central en las teorías bioquímicas. Por más de tres décadas la “hipótesis dopaminérgica” de la esquizofrenia propuso una actividad dopaminérgica excesiva en el cerebro de los pacientes esquizofrénicos, Esta teoría nació a partir de la evidencia de que las anfetaminas y otros fármacos con impacto dopaminérgico inducían un estado similar a la sintomatología psicótica en individuos sanos (Harris, 2000). En segundo lugar los fármacos antipsicóticos, efectivos en el manejo de los síntomas psicóticos, tienen en común el bloqueo de las neuronas dopaminérgicas. (Johnstone, 1978). Sin embargo los intentos por medir directamente este supuesto exceso de dopamina en SNC no ha sido corroborado desde la búsqueda de su metabolito, el ácido homovanílico, (Sumiyoshi, 1990) hasta estudios en cerebros postmortem.

Posteriormente se sugirió que más que un incremento en la dopamina, podría haber una hipersensibilidad de los receptores a la misma, actualmente sabemos que de éstos, el receptor D2 parece ser el más abundante en los cerebros de los pacientes esquizofrénicos, lo que no sabemos es si esto se relaciona primariamente a la patología o al uso de antipsicóticos que en su mayoría parecen tener una afinidad particular por el receptor D2. (Cross, 1978) Las nuevas técnicas de imágenes cerebrales como la tomografía por emisión de positrones (PET) y la tomografía por emisión de fotón único (SPECT), se han utilizado para evaluar los receptores en humanos vivos, con lo que se han reportado incrementos mayores en los receptores D2 en cerebros de pacientes esquizofrénicos sin exposición previa a tratamiento antipsicótico. (Pearlson, 1993)

Avances recientes en la biología molecular, han descubierto al menos 5 subtipos de receptores para dopamina (D1-D5) y un trabajo pionero por Seeman y colaboradores utilizando PET, encontró una elevación de 6 veces para la densidad del receptor D4 en la esquizofrenia. (Seeman 1993)

TEORIA SEROTONINERGICA

Originalmente atribuida a Wooley y Shaw, la teoría de disfunción serotoninérgica en esquizofrenia se basó en la similitud estructural a algunas drogas, particularmente el LSD, a la serotonina. (Wooley, 1954)}

Una vez más los estudios de metabolitos, no confirmaron estas especulaciones (Potkin, 1983) y los intentos de incrementar la actividad serotoninérgica con dosis orales de su precursor fallaron en producir mejoría de los síntomas esquizofrénicos. (Gillin, 1976)

La biología molecular identificó subtipos del receptor de serotonina y los estudios reportaron una reducción significativa de los receptores 5HT-2 en la corteza prefrontal. (Laurelle, 1993) Ohouha y sus colaboradores han argumentado que la subactividad serotoninérgica en la corteza prefrontal lleva a una falla en la inhibición de la actividad en la subcorteza, llevando a su vez a un incremento de la actividad dopaminérgica. (Ohouha, 1993)

TEORIA NORADRENERGICA

Wise y Stein sugirieron que los síntomas negativos en particular podrían ser causados por un déficit de noradrenalina, la que ha sido implicada en el sistema de recompensa o centros del placer del cerebro. (Wise, 1973) Estudios posteriores no encontraron reducciones en los sistemas de actividad noradrenérgica en muestras cerebrales de esquizofrénicos (Wyatt, 1975), sin embargo estudios subsecuentes han propuesto que el tratamiento antipsicótico crónico a largo plazo puede reducir por sí mismo la actividad noradrenérgica. (Cross, 1978)

TEORIA GABAERGICA

El ácido gamma aminobutírico (GABA) es uno de los neurotransmisores inhibidores en el cerebro, que se conoce interactúan con los sistemas dopaminérgicos particularmente en el sistema límbico, lo que ha hecho a la asociación de una deficiencia de GABA con hiperactividad dopaminérgica una hipótesis atractiva. De nuevo los estudios postmortem no han mostrado consistencia (Perry, 1979) y, en general, la evidencia bioquímica no apoya la teoría de la deficiencia de GABA en los cerebros de las personas con esquizofrenia, por lo que no es sorprendente que los intentos de probar un agonista GABA hayan sido negativos, como tratamiento para los síntomas positivos. (Tamminga, 1978)

TEORIA GLUTAMATERGICA

El glutamato es un neurotransmisor excitatorio que se encuentra particularmente en las neuronas corticales, este sistema une sistemas dentro de la corteza con proyecciones del mesencéfalo y sistema límbico, esto es de interés ya que se ha propuesto a la esquizofrenia como una falla en la integración de las funciones corticales con áreas claves funcionales del cerebro.

Algunos estudios han sugerido que áreas vecinas al lóbulo temporal, incluyendo al sistema límbico tienen déficit de actividad glutamatérgica (Deakin, 1989), mientras en la áreas prefrontales parece haber una hiperactividad. Estudios posteriores sugieren que estos déficits en el lóbulo temporal, nacen como resultado de atrofia del tejido cerebral lateralizada al hemisferio izquierdo. (Deakin, 1990)

EL OXIDO NITRICO

El óxido nítrico (NO), cuya estructura química es la de un gas radical simple soluble en agua y lípidos, actúa en el cerebro como un segundo mensajero intraneuronal así como neurotransmisor. El NO cerebral se forma del aminoácido arginina por acción de la sintasa de óxido nítrico tipo I (NOS-1). La NOS-1 esta presente en algunas regiones del cerebro, particularmente: el estriado, el hipotálamo, el lóbulo orbitario y el cerebelo. La vía metabólica más conocida como productora de NO, comienza con la activación del receptor para glutamato del N-metil-D aspartato (NMDA). La activación de este receptor, ocasiona el influjo de calcio hacia la neurona y la activación por calcio de la NOS-1, que genera NO a partir de la arginina (**Figura 1**), la cual a su vez se forma a partir de la citrulina. El NO intraneuronal actúa en la molécula de hierro contenida en la guanilato ciclasa e interviene en la formación de guanosin monofosfato cíclico (GMPc), una potente molécula que actúa como segundo mensajero, ésta activa a proteíncinasas específicas y conduce en última instancia a la desfosforilación de las cadenas ligeras de miosina produciendo relajación muscular, lo cual, se traduce en mayor perfusión regional (Moncada, 1993; Anggard, 1994; Morikawa, 1994; Gally, 1990; Iadecola 1994). Debido a sus propiedades gaseosas, el NO puede difundir también a las neuronas adyacentes, en las que también resulta en la formación de GMPc. El metabolismo del óxido nítrico, da lugar a nitritos y nitratos, los cuales pueden medirse en plasma y orina, si bien tales mediciones no sólo corresponden a los metabolitos del óxido nítrico formados en el sistema nervioso central, sino también aquellos producidos a nivel sistémico (en los sistemas: cardiovascular, inmunológico, y nervioso periférico), por lo cual es preferible la medición de los nitritos y nitratos directamente en líquido cefalorraquídeo cuando se investiga el rol del óxido nítrico en enfermedades cerebrales.

Eventos tales como el ejercicio, la diarrea y la fiebre incrementan los niveles de dichos metabolitos (Moncada, 1993); así mismo, se elevan en enfermedades inflamatorias; los resultados obtenidos en padecimientos neurodegenerativos son controvertidos (Farrel, 1992; Milstien, 1994; Ikeda, 1995). A diferencia de otros neurotransmisores, el NO no se almacena en vesículas sinápticas, ni se libera necesariamente con la despolarización. Sus receptores, son posiblemente el hierro y otras moléculas reactivas y no los receptores proteicos convencionales.

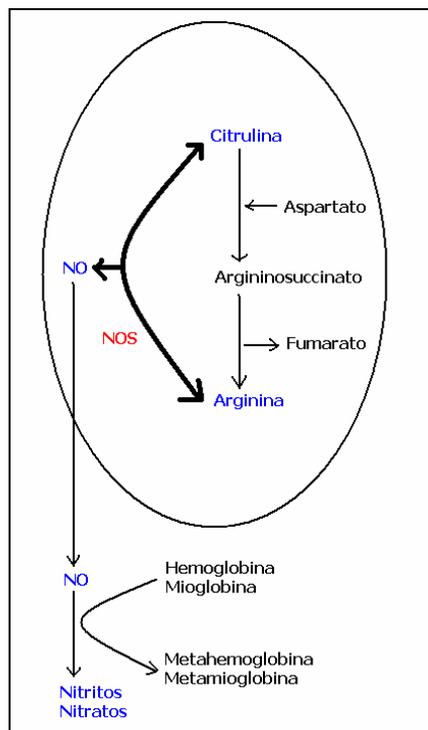


Figura 1 Vía del Óxido Nítrico

En la actualidad, un método utilizado con frecuencia para evaluar si existe participación del óxido nítrico en las enfermedades del sistema nervioso central es la medición de sus metabolitos (nitritos y nitratos), en líquido cefalorraquídeo, mediante la técnica conocida como cromatografía de fase reversa con detección ultravioleta (Zecca, 1998).

Por otro lado, dado que la idea del presente estudio es la medición de la vía metabólica completa del NO, será necesario medir también la citrulina y L-arginina, que como ya vimos son el paso inicial e intermedio respectivamente. La medición de citrulina y L-arginina pueden realizarse, ya sea con un ensayo enzimático (Mira de Orduna R, 2001) o bien mediante un método colorimétrico donde las muestras extraídas son convertidas a derivados fluorescentes con o-ftalaldehído (OPA) en un medio alcalino y posteriormente se realiza la separación cromatográfica de alta eficiencia, con una columna ODS (de poro amplio, 300 Å) en un sistema isocrático de fase móvil (Pi J, 2000).

En cuanto a la estabilidad de los aminoácidos tras su almacenaje, las concentraciones varían considerablemente dependiendo de la temperatura en que se almacenan, a 4°C hay un incremento en las concentraciones desde los primeros días de almacenaje de la muestra, excepto para citrulina. La degradación proteica podría ser el mecanismo principal para esta variación; la mayor variación se muestra para aspartato y glutamato, y la menor para arginina y citrulina; probablemente debido a la proporción con que forman parte de las proteínas del LCR, manteniéndose más estables a bajas temperaturas. (Iván PN, 2004)

OXIDO NITRICO Y ESQUIZOFRENIA

Cada vez son más los autores que a la fecha han destacado la asociación entre alteraciones en la vía del óxido nítrico y la esquizofrenia; las primeras referencias que hacen alusión a dicho dilema son las de Akbarian en 1993, quién postulaba que: “hay evidencia de que en cerebros de pacientes esquizofrénicos, las neuronas de la corteza prefrontal y estructuras temporolímbicas, que son las últimas en migrar, parecen ser deficitarias, especialmente en capas superficiales que contienen nicotin-adenil-dinucleótido-fosfato (NADPH) diaforasa (Akbarian, 1993)”; ahora bien, la NADPH diaforasa neuronal y la sintasa de óxido nítrico son idénticas en el cerebro y el nervio periférico (Dawson, 1991).

En otras palabras, los estudios neuropatológicos de Akbarian muestran una deficiencia de las neuronas que contienen la sintasa de óxido nítrico en regiones frontales, por otro lado, múltiples estudios muestran alteraciones del flujo sanguíneo cerebral en sujetos esquizofrénicos. El hallazgo más consistente es la hipoperfusión prefrontal. Como hemos mencionado anteriormente, el óxido nítrico es uno de los factores reguladores de la circulación sanguínea en el sistema nervioso central y su deficiencia podría ser responsable de la hipoperfusión frontal esquizofrénica. En tal caso sería inevitable pensar que la deficiencia de óxido nítrico no es homogénea topográficamente en el cerebro de los pacientes, sino que tiene un predominio en la corteza prefrontal y en regiones temporolímbicas, como lo sugieren los estudios neuropatológicos de Akbarian.

Los estudios acerca de este mediador químico en la esquizofrenia son escasos y con resultados difíciles de interpretar; no hay trabajos publicados sobre el estado de los metabolitos del óxido nítrico en líquido cefalorraquídeo, con excepción del artículo de Ramírez y colaboradores de 2004, el cual demostró niveles inferiores de nitritos y nitratos en el líquido cefalorraquídeo de pacientes esquizofrénicos en comparación a pacientes con padecimientos neurológicos en que se descartó presencia de síntomas psiquiátricos, así como trastornos inflamatorios o degenerativos, este estudio fue realizado con una muestra de 10 pacientes esquizofrénicos y 12 controles neurológicos y encontró una media \pm error estándar para nitritos y nitratos en LCR de 23.96 \pm 2.4 para los esquizofrénicos y 39.94 \pm 4.81 para los controles neurológicos, se realizó una prueba de t para muestras independientes encontrando una con una p de 0.009. Hay, sin embargo algunos estudios en plasma de pacientes esquizofrénicos, uno de ellos mostró niveles de nitritos significativamente mayores a aquellos de los sujetos control ($P=0.03$) (Zoroglu SS, 2002), otro estudio mostró una actividad disminuida de la arginasa (reguladora de la transformación de la L-arginina a NO) con niveles de nitritos mayores en esquizofrénicos al compararlos con controles (Yanik M, 2003); sin embargo otro grupo de investigadores realizó mediciones en plasma de sujetos con esquizofrenia, y encontró niveles bajos de nitritos y nitratos, así como niveles elevados de un inhibidor endógeno de la NOS.

El tratamiento farmacológico en tres de los pacientes estudiados provocó un aumento en los niveles de nitritos y nitratos y una disminución del inhibidor endógeno. Estos resultados, a juicio de los investigadores, pueden reflejar anomalías en la producción cerebral de óxido nítrico (Das, 1996).

Entre los estudios neuropatológicos: uno de ellos mostró un incremento en la concentración de sintasa del óxido nítrico en el vermis cerebeloso y en tallo cerebral, en cerebros de pacientes esquizofrénicos; lo anterior fue interpretado por los autores como congruente con las evidencias previas de una distribución anormal de las neuronas que contienen esta enzima en el sistema nervioso de sujetos esquizofrénicos, con incremento de estas neuronas en regiones subcorticales (Karson, 1996). Por otro lado, este hallazgo no ha sido replicado por otros investigadores, quienes no encontraron diferencias en las cantidades de sintasa del óxido nítrico entre el tejido cerebeloso de pacientes esquizofrénicos y controles (Doyle, 1995). Estudios más recientes, mostraron niveles de actividad de NOS constitutiva dependiente de calcio, menores en la corteza prefrontal de cerebros post-mortem de pacientes esquizofrénicos y con trastorno depresivo mayor (Xing G, 2002); otro estudio más mostró un incremento marcado de las neuronas de Purkinje que expresan NOS en esquizofrénicos, confirmando reportes previos de inmunoreactividad cerebelosa incrementada de NOS en esquizofrenia, apuntando a posibles disturbios del neurodesarrollo (Bernstein HG).

Se han abordado otros campos de investigación, entre ellos se ha mostrado una elevación significativa de la NOS plaquetaria en pacientes esquizofrénicos vírgenes al tratamiento, en comparación con aquellos que habían recibido tratamiento, con controles sanos y personas con trastorno de pánico (Das, 1995). Un estudio con fenilciclidina (PCP), una molécula ampliamente usada como un modelo animal de esquizofrenia y nitroprusiato de sodio (NPS), un donador del NO; mostró que el NPS elimina los efectos de la PCP, sugiriendo que los fármacos con acción en el sistema glutamato-NO podrían representar una aproximación novel al tratamiento de la psicosis inducida por PCP y esquizofrenia, implicando una vez más a la vía del óxido nítrico (Bujas-Bovanovic M, 2000).

Se han realizado también investigaciones a nivel génico, donde la asociación genética entre un polimorfismo nucleotídico único (una transición C-T 276 pares hacia abajo del codón de terminación) del gen humano del NOS-1, que se localiza en el cromosoma 12q24 y la esquizofrenia, difirió significativamente entre los pacientes esquizofrénicos y los controles sugiriendo que el gen del NOS-1 puede conferir una mayor susceptibilidad a la esquizofrenia.

Hasta ahora, la investigación al respecto del NO nos proporciona una imagen imprecisa y contradictoria del papel del óxido nítrico en la esquizofrenia, dejando sin embargo en claro la necesidad de mayor investigación al respecto, en aras de una nueva esperanza para nuestros pacientes.

En el presente estudio, planteamos que los pacientes esquizofrénicos pueden cursar con una deficiencia de óxido nítrico en el sistema nervioso central; asociándose esto a las alteraciones del flujo sanguíneo cerebral observadas en estos pacientes, principalmente con la presencia de sintomatología negativa (que se medirá mediante la escala de PANSS), de manera que la deficiencia de óxido nítrico puede estar asociada con la presencia de estos.

OBJETIVOS

I. Objetivo principal:

Identificar la existencia de una deficiencia de ON en el SNC de los pacientes esquizofrénicos a partir de diferencias significativas de [citrulina, L-arginina y nitratos] en el líquido cefalorraquídeo de pacientes esquizofrénicos en comparación con los controles.

II. Objetivo secundario:

Identificar diferencias para el comportamiento del ON entre diferentes pacientes esquizofrénicos mediante la comparación de su escala de PANSS y sus resultados en el análisis de citrulina. L-arginina y nitratos.

HIPOTESIS

Hipótesis alterna: hay una deficiencia de ON en el SNC de los pacientes esquizofrénicos, demostrada por niveles de citrulina, L-arginina, y nitratos diferentes significativamente entre el líquido cefalorraquídeo de pacientes esquizofrénicos en comparación con un grupo de pacientes control.

- Suponemos que habrá una deficiencia de oxido nítrico en los pacientes esquizofrénicos e intentaremos atestiguarlo a través de las sustancias que constituyen su vía metabólica [L-arginina, citrulina y nitratos], las posibilidades en cuanto al comportamiento de la vía en un sistema deficiente de oxido nítrico dependen de lo que sabemos actualmente de la vía del ON:
 - **Disminución en la producción de ON:** esperamos encontrar una disminución en los niveles de nitratos (metabolito principal del ON), que en caso de ser debida a una **deficiencia de arginina** mostraría una disminución de los niveles de arginina y citrulina podría; en cambio si la **deficiencia** fuera **a nivel de la NOS** encontraríamos una disminución unicamente en los niveles de citrulina con una arginina normal o incluso elevada por su acumulación en un sistema de transformación deficiente

- Cabe mencionar que este es finalmente un esquema muy simple, hay evidencias de que una deficiencia de ON puede elevar los niveles de citrulina (ya que normalmente inhibe su producción) (James Leiper, 2002), y la elevación de la citrulina a su vez podría mantener elevados los niveles de arginina a través de la sintetasa de argininosuccinato su enzima de restricción (Wiesinger H, 2001), generando una elevación de arginina y citrulina en presencia de disminución de nitratos.

Hipótesis nula: los niveles de citrulina, L-arginina y nitratos en el líquido cefalorraquídeo de los pacientes esquizofrénicos no son diferentes significativamente de los pacientes del grupo control, lo que no permite la inferencia de una deficiencia de ON en el SNC de los pacientes esquizofrénicos.

JUSTIFICACION

La esquizofrenia es un trastorno mental crónico grave de etiología desconocida. La evidencia actual indica una asociación con alteraciones en varios sistemas de neurotransmisión. Un factor neuroquímico poco estudiado en este trastorno es el óxido nítrico (ON), sustancia al parecer alterada en enfermedades degenerativas e inflamatorias del sistema nervioso central (SNC), y que participa en la regulación fisiológica del flujo sanguíneo cerebral.

Diversos estudios, realizados en sujetos esquizofrénicos han mostrado deficiencias del flujo sanguíneo cerebral en regiones prefrontales (especialmente en relación a la sintomatología negativa del trastorno), así como evidencia neuropatológica de una disminución de las células que contienen la enzima encargada de sintetizar ON en la corteza frontal dorsolateral.

De encontrar una alteración en el sistema del ON en la esquizofrenia se contribuirá a un mayor conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad y, eventualmente, la posibilidad de nuevos abordajes terapéuticos, que contribuyan a disminuir el costo humano y económico de este devastador padecimiento.

METODOLOGIA

A. Área de estudio:

Causalidad.

B. Diseño:

Observacional, transversal, comparativo

C. Población y muestra:

Criterios de Inclusión para los Sujetos:

1. Pacientes con primer brote psicótico que posteriormente cumplan los criterios del DSM-IV-TR para el diagnóstico de esquizofrenia en cualquiera de sus subtipos, atendidos en el INNNMVS.
2. Sexo masculino o femenino, de 18 años o mayores y menores de 45 años de edad (se excluirá a los pacientes mayores de 45 años de edad para evitar confusores relacionados a los cambios degenerativos propios del envejecimiento y el incremento en la proporción de enfermedades degenerativas en dicho grupo).
3. Aceptación a participar en el estudio mediante lectura y firma de la carta de consentimiento informado por parte del paciente y/o el familiar (**Anexo**).

Criterios de Exclusión para los Sujetos:

1. Contraindicación para la realización de punción lumbar (infecciones en la zona de punción, hipertensión intracraneal, trastornos de la coagulación).

Criterios de Inclusión para los Controles:

1. Ausencia de padecimientos infecciosos, inflamatorios, degenerativos, neurológicos o psiquiátricos con sintomatología similar a la esquizofrenia
2. Aceptación de participación en el estudio mediante lectura y firma de la carta de donación de líquido cefalorraquídeo.

Criterios de exclusión para los controles:

1. Existencia de sintomatología psiquiátrica similar a la esquizofrenia.
2. Edad mayor a 45 años.
3. Contraindicación para la realización de punción lumbar.

D. Especificación de variables:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Categoría	Escala
Nitratos	Uno de los 2 metabolitos del ON	Se medirá mediante cromatografía	Cuantitativa dimensional	Cuantitativa Continua
Citrulina	Aminoácido generado simultáneamente al ON a partir de L-arginina mediante NOS-1	Se medirá mediante cromatografía	Cuantitativa dimensional	Cuantitativa Continua
L-arginina	Aminoácido precursor del ON	Se medirá mediante cromatografía	Cuantitativa dimensional	Cuantitativa Continua
Esquizofrenia	Trastorno crónico del SN definido por: alteraciones mentales y conductuales que producen deterioro psicosocial	Determinada por diagnóstico clínico [criterios diagnósticos del DSM-IV-TR (ver anexo II)]	Cualitativa binaria	Nominal Categórica
Síntomas negativos	Disminución o pérdida de las funciones mentales normales	Determinada a través de la PANSS	Ordinal	Cuantitativa Ordinal
Síntomas positivos	Exceso o distorsión de las funciones mentales normales	Determinada a través de la PANSS	Ordinal	Cuantitativa Ordinal

E. Instrumentos

a. Escala de síntomas positivos y negativos

La escala de PANSS (**Anexo II**) es un instrumento desarrollado para permitir una mejor evaluación clínica de los síntomas positivos y negativos, así como para incluir en esa evaluación una serie de datos clínicos denominados en conjunto “psicopatología general”, que, si bien no son específicos de la esquizofrenia, sí son de la mayor relevancia en el paciente esquizofrénico individual.

Presentada por Stanley R. Kay y colaboradores en la revista *Schizophrenia bulletin* (1987), se trata de un instrumento compuesto por 30 reactivos, cada uno de los cuales tiene a su vez siete grados de intensidad; siete de estos reactivos constituyen la escala de síntomas positivos; hay una escala de síntomas negativos compuesta por 7 reactivos, y los 16 reactivos restantes conforman la escala de psicopatología general (ver apéndice 2). La confiabilidad de la escala fue examinada usando un coeficiente alfa para analizar su consistencia interna y la contribución de cada reactivo; cada uno de estos reactivos correlacionó fuertemente con el total de la escala ($p < 0.001$). Los coeficientes alfa para las escalas positiva y negativa fueron 0.73 y 0.83, respectivamente ($p < 0.001$). La escala de psicopatología general mostró una consistencia interna elevada, con un coeficiente alfa de 0.79 ($p < 0.001$). Cada uno de los reactivos contribuyó de manera homogénea a la escala. Para las escalas positiva, negativa, compuesta y de psicopatología general, respectivamente, las correlaciones de Pearson para la prueba-reprueba fueron de 0.80 ($p < 0.001$), 0.68 ($p < 0.01$), 0.66 ($p < 0.01$), y 0.60 ($p < 0.02$).

Con respecto a la validez de constructo, una vez que la influencia de la severidad de la enfermedad fue removida estadísticamente, las escalas positiva y negativa tendieron a ser mutuamente excluyentes. En cuanto a la validez de criterio de la PANSS, fue apoyada por sus correlaciones con una serie de evaluaciones clínicas, genealógicas, psicométricas, e históricas, tal como fue reportado por los autores. Los resultados indicaron que las escalas positiva, negativa y compuesta de la PANSS no están influenciadas por variables externas como la raza, el grupo cultural, la cronicidad de la enfermedad, los síntomas depresivos o el tono afectivo triste, la inteligencia verbal, la atención temporal y el desarrollo perceptual-motor (Kay y cols, 1987).

En nuestro país, Herrera-Estrella y colaboradores, realizaron un estudio de confiabilidad de la traducción al español de la PANSS; la correlación interobservadores fue de 0.81 a 0.99 ($p < 0.001$). Se realizó el mismo análisis a las subescalas de síntomas positivos, negativos y de psicopatología general, resultando igualmente significativos ($p < 0.001$).

Se realizó también un estudio de consistencia interna con alfa de Cronbach para cada observador, que tuvo un rango entre 0.9250 y 0.9285 (Herrera-Estrella, 1993).

b. Cromatografía de líquidos fluorimétrica

El análisis de la composición de aminoácidos para el estudio de las enfermedades SNC hace uso del LCR debido a que su composición refleja el metabolismo global de este sistema y es útil en la determinación de los mecanismos bioquímicos subyacentes a dicha patología. (Iván PN, 2004)

Existen varias maneras de analizar a los aminoácidos, para dichos fines uno de los reactivos más utilizados para la derivación de aminoácidos es el o-ftalaldehido/2-mercaptoetanol (OPA/ME) (Roth M, 1971). Un método relativamente simple para la separación y purificación de aminoácidos es la cromatografía de líquidos de alta resolución que utiliza el reactivo OPA/ME fue desarrollado inicialmente por Turnell y Cooper (Turnell DC, 1982), desde entonces muchos otros métodos han sido descritos, pero solo unos cuantos se han desarrollado especialmente para el LCR.

La cromatografía de fase reversa separa a los aminoácidos de acuerdo al tiempo en que tardan en filtrarse en una columna de fase reversa que contiene microfiltros para estas sustancias, debido a que por su estructura, tamaño y peso molecular específicos tardan un tiempo predecible en cruzar los filtros, los tiempos específicos con que lo hacen (y mediante los cuales se distinguen) se encuentran altamente estandarizados. (**Figura 2**)

Se ha desarrollado en México un método específico para LCR por Iván Pérez-Neri y colaboradores (Iván PN, 2004) que ha demostrado su eficacia para la separación y medición en LCR de aspartato, glutamato, glutamina, glicina, citrulina, arginina y taurina; basado en el descrito por Jarret y colaboradores que utiliza la reacción con OPA/ME en un gradiente lineal simple de 10 a 65% de metanol en 15 minutos con una columna octilsilica mediante cromatografía de fase reversa (Jarrett HW 1986).

El método de Pérez-Neri diseñado específicamente para LCR utiliza un gradiente de 10 a 30% en 12 minutos, los aminoácidos se separan a su vez mediante una columna de fase reversa Adsorbosphere OPA HS y fue elegido para la realización del estudio debido a su estabilidad y repetibilidad con variaciones menores al 5%. (Iván PN, 2004)

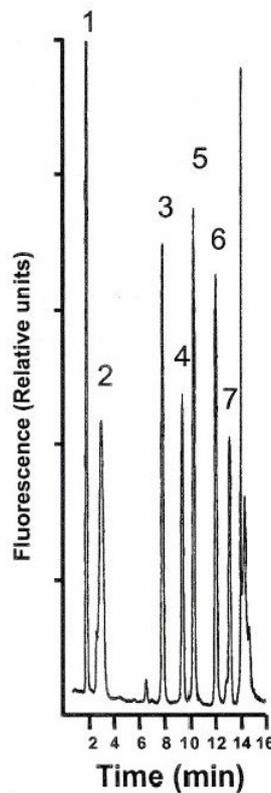


Figura 2. Cromatografía obtenida de una mezcla estandarizada de aminoácidos. El último pico observado se debe al reactivo OPA, los picos numerados representan: (1) aspartato, (2) glutamato, (3) glutamina, (4) glicina, (5) citrulina, (6) arginina y (7) taurina

F. Procedimientos (Figura 3)

Para los **sujetos**, inicialmente se evaluará al paciente en el área de urgencias donde se determinará a través de la entrevista clínica la presencia del primer brote psicótico en el paciente, en este caso se procederá a explicar a los familiares el presente estudio solicitando su consentimiento informado, en caso de su aceptación se procederá con los siguientes pasos (independientemente de estar o no medicado):

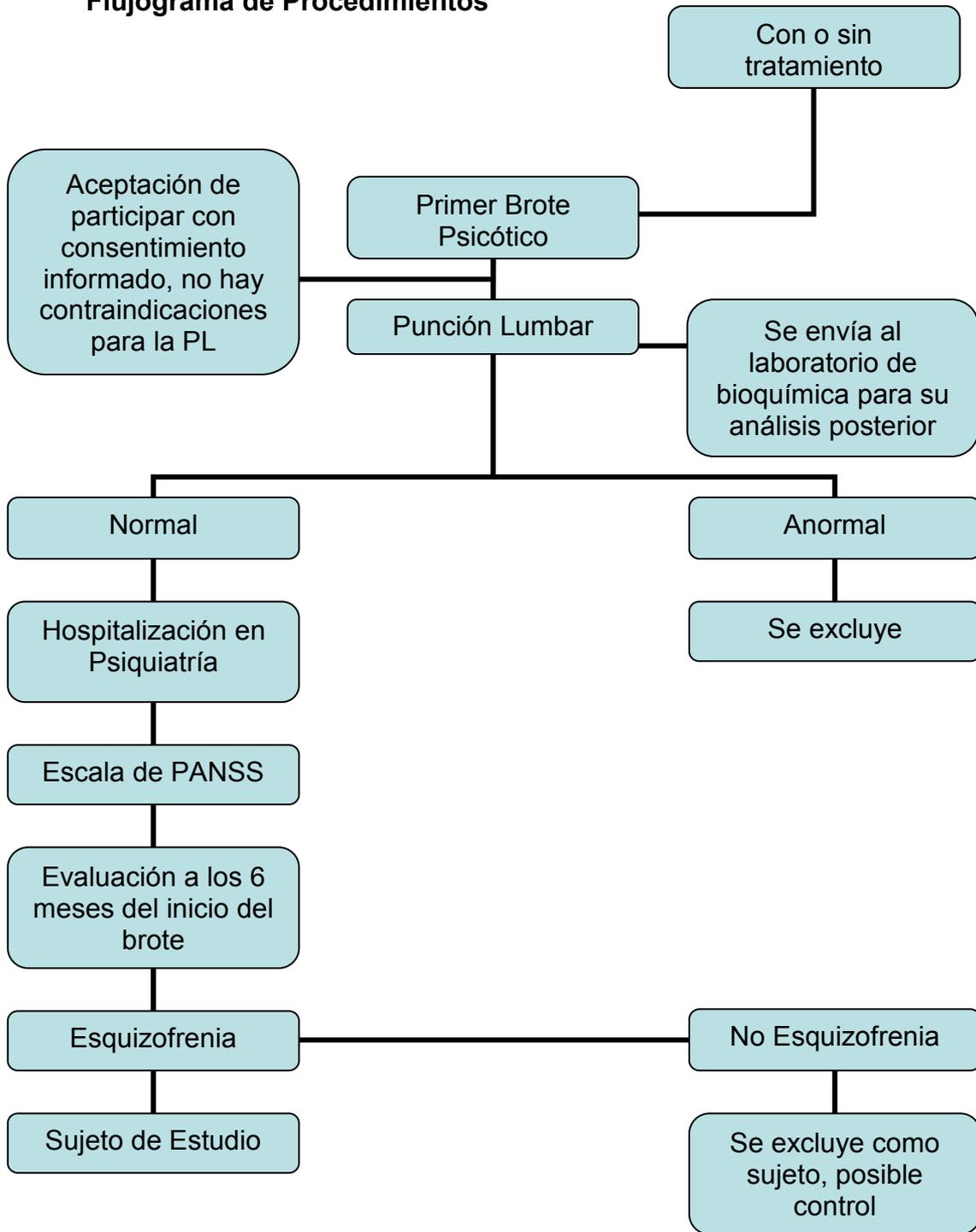
1. Realización de TAC y PL (En caso de no existir ninguna contraindicación) con una muestra extra de 3mL designada para las mediciones del estudio
2. Si el resultado de la PL no demuestra infección la muestra extra se envía al laboratorio de bioquímica del INNN:MVS para su análisis, refrigerándola a -8°C en el Revco® (refrigerador para el almacenaje de muestras biológicas) y continuando con los siguientes pasos
3. Se entrevistará al paciente nuevamente a los 6 meses para determinar el diagnóstico de esquizofrenia mediante los criterios del DSM-IV

En el caso de los **controles** se realizarán los mismos procedimientos con excepción del tercer paso, para asegurar la homogeneidad de los datos del estudio.

G. Duración del Estudio.

La planeación del estudio y reclutamiento de los pacientes inició en Junio de 2003 y finalizó en Marzo de 2005 con el análisis estadístico y generación de conclusiones.

Figura 3.
Flujograma de Procedimientos



H. Tamaño de la Muestra.

El tamaño de la muestra fue calculado a manera de un análisis comparativo con el estudio de Ramírez et. al., esto mediante la tabla para tamaño de la muestra para comparar dos promedios con un nivel de significancia (α) de 0.05 de Natrella MG, obteniéndose al cruzar una potencia ($1 - \beta$) de 0.8 con la diferencia (d) obtenida del estudio de Ramírez y colaboradores de 0.8457 calculada con la siguiente fórmula $d = \delta/\sqrt{2\sigma^2}$, donde δ = magnitud de alejamiento y σ^2 = varianza; resultando una muestra de 13 sujetos caso, aclarando que dicho estudio solo analizó el comportamiento de los nitritos y nitratos en estos pacientes, de modo que no contamos con un cálculo preciso para las otras dos sustancias que deseamos analizar (arginina y citrulina) (**Tabla 3**).

Tabla 3. Cálculo del Tamaño de la Muestra
Tamaños de las muestras para comparar dos promedios

		$\alpha = 0.05$						
d\1 - β	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	0.95	0.99	
0.1	385	490	618	785	1051	1300	1838	
0.2	97	123	155	197	263	325	460	
0.4	25	31	39	50	66	82	115	
0.6	11	14	18	22	30	37	52	
0.8	7	8	10	13	17	21	29	
1.0	4	5	7	8	11	13	19	
1.2	3	4	5	6	8	10	13	
1.4	2	3	4	5	6	7	10	
1.6	2	2	3	4	5	6	8	
1.8	2	2	2	3	4	5	6	
2.0	1	2	2	2	3	4	5	
3.0	1	1	1	1	2	2	3	

I. Análisis estadístico

Para la realización del análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico del SPSS en su versión 12.0

Se realizó inicialmente un análisis exploratorio para las variables epidemiológicas (edad y sexo).

Realizamos un análisis de frecuencias para valorar la distribución de la muestra, encontrando lo siguiente:

	Skewness	Skewness (DE)	Kurtosis	Kurtosis (DE)
Citrulina	0.348	0.564	0.547	1.091
Arginina	0.521	0.564	0.108	1.091
Nitratos	1.412	0.564	1.718	1.091

Estos resultados muestran una desviación a la derecha en el comportamiento de la muestra tanto por skewness como por kurtosis, específicamente para el caso de los nitratos el Skewness está mas allá del doble de su DE por lo que se considera su comportamiento como claramente anormal, debido a esto decidimos utilizar la prueba de U de Mann Whitney por sus características no paramétricas.

RESULTADOS

La exploración de los datos demográficos de nuestra muestra encontró los siguientes datos:

Sexo: con 5 mujeres y 4 hombres en el grupo de pacientes esquizofrénicos (E) y 8 mujeres y 2 hombres en el grupo de pacientes control (C)

Sexo	Frecuencia	Porcentaje
Masculino (E)	4	45%
Femenino (E)	5	55%
Masculino (C)	2	20%
Femenino (C)	8	80%

Edad: con una media +/- DE de 26.22 +/- 4.92 para el grupo de pacientes esquizofrénicos y 35.92 +/- 7.8 para el grupo de pacientes controles, una prueba de t para muestras independientes encontró un coeficiente de Pearson (p) de 0.004

En cuanto a los sujetos del estudio la muestra esta constituida por:

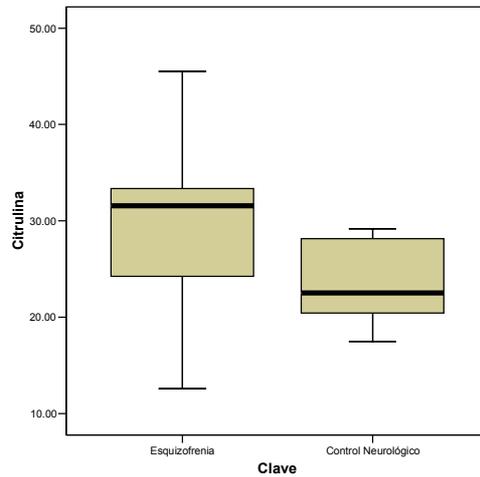
- 9 pacientes con diagnóstico de esquizofrenia
- 10 pacientes para el grupo control, con los siguientes diagnósticos:
 - Vitreitis (1)
 - Neuropatía por malabsorción intestinal (1)
 - Miopatía (1)
 - Pseudotumor cerebri (2)
 - NCC calcificada (2)
 - TS Disociativo (2)
 - Cefalea tensional (1)

Se realizó un análisis exploratorio para las variables citrulina, arginina y nitratos entre ambos grupos encontrando lo siguiente:

Citrulina

Encontramos una media de 29.88 con una desviación estándar de 3.12 para los pacientes de esquizofrenia y en el caso de los controles una media de 23.76 y desviación estándar de 1.78 (**Figura 4**)

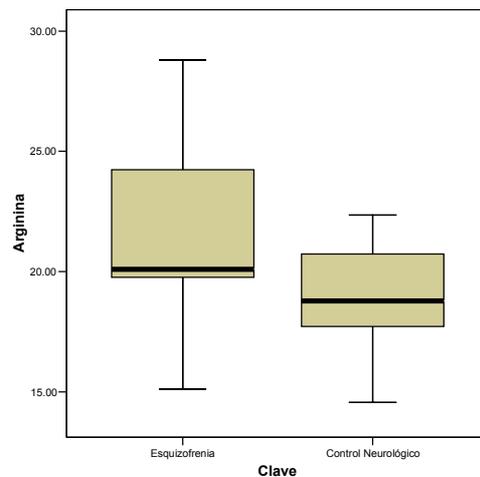
Figura 4. Distribución de la Citrulina



Arginina

Encontramos una media de 22.11 con una desviación estándar de 1.44 para los pacientes de esquizofrenia y en el caso de los controles una media de 18.94 y desviación estándar de .99 (**Figura 5**)

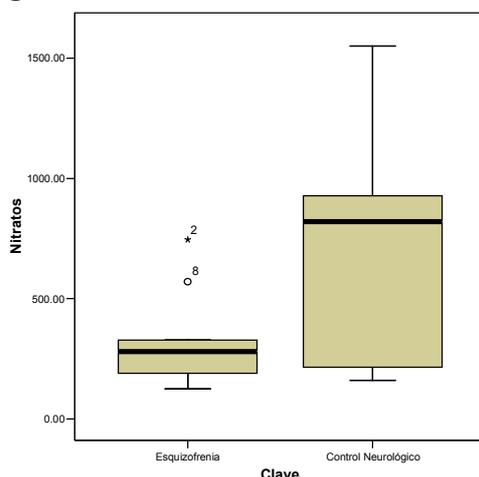
Figura 5. Distribución de la Arginina



Nitratos

Encontramos una media de 331.21 con una desviación estándar de 67.80 para los pacientes de esquizofrenia y en el caso de los controles una media de 688.17 y desviación estándar de 195.40 (**Figura 6**)

Figura 6. Distribución de los Nitratos



Dichos resultados fueron analizados mediante la prueba de U de Mann-Whitney, la que arrojó los siguientes datos:

Sustancia	Esquizofrénicos	Controles	Significancia exacta	Significancia (1 cola)
Citrulina	29.88 +/- 3.12	23.76 +/- 1.78	0.071	0.0355
Arginina	22.11 +/- 1.44	18.94 +/- 0.99	0.174	0.087
Nitratos	331.21 +/- 67.8	688.17 +/- 195.4	0.210	0.105

Nota: Agregamos la prueba de significancia a una cola, que con base a los resultados de estudios previos (Ramírez J, 2004) suponemos existe una disminución del óxido nítrico en los pacientes esquizofrénicos.

En cuanto a los puntajes de la escala de PANSS no hubo diferencias estadísticamente significativas en el comportamiento de ninguna de las tres sustancias entre los pacientes esquizofrénicos.

DISCUSION

Los resultados de este estudio muestran un grupo de tendencias en cuanto al comportamiento de la vía metabólica del óxido nítrico, de manera que la citrulina y la arginina parecen encontrarse elevados en los pacientes con esquizofrenia a comparación con los controles; a su vez, los nitratos parecen encontrarse disminuidos en los pacientes esquizofrénicos en comparación con los controles.

Antes de analizar dicha relación llama la atención un diferencia significativa de la edad entre los pacientes esquizofrénicos y los pacientes del grupo control siendo mas jóvenes los pacientes esquizofrénicos, ya que se sabe que al menos la NOSi disminuye conforme aumenta la edad (Pie Y, 2002), de manera que de manera natura podríamos esperar menor cantidad de NO conforme se incremente la edad de los pacientes.

La relación de arginina, citrulina y nitratos no ha sido explicada previamente en la literatura médica, de manera que para entenderla tendremos que echar mano de las ciencias básicas. Aunque ya hemos explicado la vía metabólica del óxido nítrico es necesario centrarnos un poco en su aminoácido precursor: la arginina, ésta se obtiene en su mayor parte de la dieta y cuando se acumula es degradada por la arginasa en el ciclo de la urea, una hidrolasa que la transforma en ornitina, se ha mencionado en la literatura que existe una regulación recíproca de la arginasa y la sintasa de óxido nítrico en las vías que metabolizan la L-arginina, así mismo se han encontrado niveles de arginasa significativamente menores en plasma de pacientes esquizofrénicos. Yanik M 2003.

Esto nos habla de un posible problema con la degradación de la arginina. Ahora bien, como muestran los resultados del estudio, encontramos también elevados los niveles de citrulina que como habíamos mencionado se genera al actuar la NOS-I sobre la arginina en su transformación a óxido nítrico, probablemente como una respuesta a la acumulación de arginina en estos pacientes.

En cuanto a los nitratos, aunque otros estudios han reportado niveles altos de nitritos en plasma (Yanik M, 2003), un estudio previo en LCR de pacientes esquizofrénicos encontró también niveles significativamente menores de nitritos y nitratos en estos pacientes (Ramírez J, 2004); un resultado similar al nuestro que aunque no significativo tiende a mostrar una disminución en los niveles de nitratos en los esquizofrénicos.

Esto nos coloca ante un modelo muy complejo, donde existe una disminución de nitratos en el LCR que nos habla de una probable disminución del NO, coexistente con una elevación de su precursor, la arginina, y la citrulina, una sustancia que se libera tras la síntesis del NO, dicho modelo es biológicamente plausible dadas las siguientes consideraciones de un modelo experimental de su vía (**Figura 6**):

1. El paso limitante para la biosíntesis de **arginina** es la **argininosuccinato sintetasa**, enzima que requiere de **citrulina** y aspartato para su biosíntesis. (Wiesinger H, 2001) [Esto genera más arginina en presencia de elevaciones de citrulina]
2. Una vía alterna para la generación de **citrulina** es a partir de la **monometilarginina** y **dimetilarginina** que utilizan como enzima a la **dimetilargininasa**, la que normalmente es inhibida por el NO. (James Leiper, 2002) [Esto genera más citrulina en un sistema deficiente de NO]
3. El incremento de **arginina** genera retroalimentación negativa en el sistema de la **sintetasa de argininosuccinato**, limitando su propia síntesis por esta vía. (Wiesinger H, 2001) [Manteniendo la elevación de **citrulina** que no se degrada por este medio]

Anexo I. Criterios Diagnósticos para Esquizofrenia: DSM-IV

■ Criterios para el diagnóstico de esquizofrenia

A. *Síntomas característicos*: Dos (o más) de los siguientes, cada uno de ellos presente durante una parte significativa de un período de 1 mes (o menos si ha sido tratado con éxito):

- (1) ideas delirantes
- (2) alucinaciones
- (3) lenguaje desorganizado (p. ej., descarrilamiento frecuente o incoherencia)
- (4) comportamiento catatónico o gravemente desorganizado
- (5) síntomas negativos, por ejemplo, aplanamiento afectivo, alogia o abulia

Nota: Sólo se requiere un síntoma del Criterio A si las ideas delirantes son extrañas, o si las ideas delirantes consisten en una voz que comenta continuamente los pensamientos o el comportamiento del sujeto, o si dos o más voces conversan entre ellas.

B. *Disfunción social/laboral*: Durante una parte significativa del tiempo desde el inicio de la alteración, una o más áreas importantes de actividad, como son el trabajo, las relaciones interpersonales o el cuidado de uno mismo, están claramente por debajo del nivel previo al inicio del trastorno (o, cuando el inicio es en la infancia o adolescencia, fracaso en cuanto a alcanzar el nivel esperable de rendimiento interpersonal, académico o laboral).

C. *Duración*: Persisten signos continuos de la alteración durante al menos 6 meses. Este período de 6 meses debe incluir al menos 1 mes de síntomas que cumplan el Criterio A (o menos si se ha tratado con éxito) y puede incluir los períodos de síntomas prodrómicos y residuales. Durante estos períodos prodrómicos o residuales, los signos de la alteración pueden manifestarse sólo por síntomas negativos o por dos o más síntomas de la lista del Criterio A, presentes de forma atenuada (p. ej., creencias raras, experiencias perceptivas no habituales).

D. *Exclusión de los trastornos esquizoafectivo y del estado de ánimo*: El trastorno esquizoafectivo y el trastorno del estado de ánimo con síntomas psicóticos se han descartado debido a: 1) no ha habido ningún episodio depresivo mayor, maníaco o mixto concurrente con los síntomas de la fase activa; o 2) si los episodios de alteración anímica han aparecido durante los síntomas de la fase activa, su duración total ha sido breve en relación con la duración de los períodos activo y residual.

E. *Exclusión de consumo de sustancias y de enfermedad médica*: El trastorno no es debido a los efectos fisiológicos directos de alguna sustancia (p. ej., una droga de abuso, un medicamento) o de una enfermedad médica.

F. *Relación con un trastorno generalizado del desarrollo*: Si hay historia de trastorno autista o de otro trastorno generalizado del desarrollo, el diagnóstico adicional de esquizofrenia sólo se realizará si las ideas delirantes o las alucinaciones también se mantienen durante al menos 1 mes (o menos si se han tratado con éxito).

Anexo II. Escala de Síntomas Positivos y Negativos (PANSS)

1=AUSENTE, 2=MINIMO, 3=LEVE, 4=MODERADO, 5=MODERADAMENTE SEVERO, 6=SEVERO, 7=EXTREMO

1) SUBESCALA POSITIVA

P1	Delirios	1	2	3	4	5	6	7
P2	Desorganización conceptual	1	2	3	4	5	6	7
P3	Conducta alucinatoria	1	2	3	4	5	6	7
P4	Excitación	1	2	3	4	5	6	7
P5	Grandiosidad	1	2	3	4	5	6	7
P6	Susplicacia/Persecución	1	2	3	4	5	6	7
P7	Hostilidad	1	2	3	4	5	6	7

2) SUBESCALA NEGATIVA

N1	Aplanamiento afectivo	1	2	3	4	5	6	7
N2	Retraimiento emocional	1	2	3	4	5	6	7
N3	Empatía limitada	1	2	3	4	5	6	7
N4	Retraimiento social	1	2	3	4	5	6	7
N5	Dificultad para el pensamiento abstracto	1	2	3	4	5	6	7
N6	Dificultad para la conversación fluida	1	2	3	4	5	6	7
N7	Pensamiento estereotipado	1	2	3	4	5	6	7

3) SUBESCALA DE PSICOPATOLOGIA GENERAL

G1	Preocupación somática	1	2	3	4	5	6	7
G2	Ansiedad	1	2	3	4	5	6	7
G3	Sentimientos de culpa	1	2	3	4	5	6	7
G4	Tensión	1	2	3	4	5	6	7
G5	Manerismos y actitud postural	1	2	3	4	5	6	7
G6	Depresión	1	2	3	4	5	6	7
G7	Retardo motor	1	2	3	4	5	6	7
G8	Falta de cooperación	1	2	3	4	5	6	7
G9	Contenidos de pensamientos inusuales	1	2	3	4	5	6	7
G10	Desorientación	1	2	3	4	5	6	7
G11	Atención deficiente	1	2	3	4	5	6	7
G12	Falta de juicio	1	2	3	4	5	6	7
G13	Alteración de la voluntad	1	2	3	4	5	6	7
G14	Pobre control de impulsos	1	2	3	4	5	6	7
G15	Preocupación	1	2	3	4	5	6	7
G16	Evitación social	1	2	3	4	5	6	7

ESCALA	TOTAL	PERCENTIL	RANGO
Positiva	_____	_____	_____
Negativa	_____	_____	_____
Compuesta	_____	_____	_____
Psicopatología General	_____	_____	_____
Número de síntomas de la escala positiva con calificación menor de 3	_____		
Número de síntomas de la escala negativa con calificación menor de 3	_____		
Calificación sindromática	_____		

REFERENCIAS

1. AKBARIAN S, Bunney WE Jr, Potkin SG, Wigal SB, Hagman JO, Sandman CA, Jones EG: Altered distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate-diaphorase cells in frontal lobe of schizophrenics implies disturbances of cortical development. *Arch Gen Psychiatry* 1993, 50: 169-177.
2. ANDREASEN NC, Rezai K, Alliger R, Swayzell VW, Flaum M, Kirchner P, Cohen G, O'Leary DS: Hypofrontality in neuroleptic-naive patients and in patients with chronic schizophrenia. Assessment with xenon-133 single-photon emission computed tomography and the tower of London. *Arch Gen Psychiatry* 1992, 49:943-958.
3. ANGGARD, Erik. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 1994, 343: 1199-206.
4. ARNDT S, Alliger RJ, Andreasen NC: The distinction of positive and negative symptoms: the failure of a two-dimensional model. *Br J Psychiatry* 1991; 158:317-322.
5. BACHNEFF SA: Regional Cerebral Blood Flow in Schizophrenia and the Local Circuit Neurons Hypothesis. *Schizophr Bull* 1995, 22:163-182.
6. BERMAN KF, Zec RF, Weinberger DR: Physiologic dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia: II. Role of neuroleptic treatment, attention, and mental effort. *Arch Gen Psychiatry* 1986; 43: 126-135.
7. BERNSTEIN HG; Krell D; Braunewell KH; Baumann B; Gundelfinger ED; Diekmann S; Danos P; Bogerts B: Increased number of nitric oxide synthase immunoreactive Purkinje cells and dentate nucleus neurons in schizophrenia. *J Neurocytol* 2001 Aug; 30(8): 661-70.
8. BUJAS-BOBANOVIC M; Bird DC; Robertson HA; Dursun SM: Blockade of phencyclidine-induced effects by a nitric oxide donor. *Br J Pharmacol* 2000 Jul; 130(5): 1005-12.
9. CROSS AJ, Crow TJ, Killpack WS, Longden A, Owen F, Riley GJ: The activities of brain dopamine β -hydroxylase and catechol-o-methyltransferase in schizophrenia and controls. *Psychopharmacology* 1978, 59: 117-121

10. DAS I, Khan NS, Puri BK, Sooranna SR, de-Belleroche J, Hirsch SR: Elevated platelet calcium mobilization and nitric oxide synthase activity may reflect abnormalities in schizophrenic brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1995, 212 (2): 365-380.
11. DAS I, Khan NS, Puri BK, Hirsch SR: Elevated endogenous nitric oxide synthase inhibitor in schizophrenic plasma may reflect abnormalities in brain nitric oxide production. *Neurosci Lett* 1996, 215 (3): 209-211.
12. DAWSON TM, Bredt DS, Fotuhi M, Hwang PM, Snyder SH. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaforase are identical in brain and peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci* 1999. 88: 7797-7801.
13. DEAKIN JFW, Slater P, Simpson MDC, Gilchrist AC, Skan WJ, Royston MC, Reynolds GP, Cross AJ: Frontal cortical and left temporal glutamatergic dysfunction in schizophrenia. *Journal of neurochemistry* 1989, 52: 7-1781-1786
14. DEAKIN JFW, Slater P, simpson MDC, Royston MC: Disturbed brain glutamate and GABA mechanisms in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 1990, 3(1): 33
15. DEUTSCH SI, Rosse RB, Schwartz BL, Fay-McCarthy M, Rosenberg PB, Fearing K: Methylene blue adjuvant therapy of schizophrenia. *Clin Neuropharmacol* 1997, 20 (4): 357-63.
16. DOYLE CA, Slater P: Application of 3H L-N (G)-nitro-arginine labelling to measure cerebellar nitric oxide synthase in patients with schizophrenia. *Neurosci Lett* 1995; 202 (1-2): 49-52.
17. DSM-IV-TR. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, Fourth Edition, Text Revision, Washington, DC, American Psychiatry Association, 2000.
18. EBMEIER KP, Blackwood DHR, Murray C: Single photon emission tomography with 99mTc-exametazime in unmedicated schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 1993; 33: 487-495.
19. FARREL AJ, Blake DR, Palmer RMJ, Moncada S: Increased concentration of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Annu Rheum Dis* 1992; 51: 1219-1222.

20. FRANZEN G, Ingvar DH: Absence of activation in frontal structures during psychological testing of chronic schizophrenics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1975; 38:1027-1032.
21. GALLY JA, Montague P, Reeke GN, Edelman GM. The NO hypothesis: Possible effects of a short-lived, rapidly diffusible signal in the development and function of the nervous system. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:3547-3551.
22. GARNICA, Rodrigo: Esquizofrenia. Diagnóstico y tratamiento en la práctica médica. Segunda edición. JGH editores, México DF, 1996, p. 49-52.
23. HARRIS D, Bakti SL: Stimulant psychosis: Symptom profile and acute clinical course. *American Journal on Addictions*, 2000; (9): 28-37
24. HERRERA-ESTRELLA M, Torner C, González G, Olivares M, Calzada JL, Guzmán I, Delgado V, Vázquez S, Castañeda-González CJ: Estudio de confiabilidad de la traducción al español de la escala de síntomas positivos y negativos (PANSS) para valorar esquizofrenia. *Psiquis* 1993; 2 (2): 47-51.
25. IADECOLA C, Pelligrino DA, Moskowitz MA, Lassen NA. Nitric oxide synthase inhibition and cerebrovascular regulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14: 175-192.
26. IKEDA M, Sato I, Yuasa T, Miyatake T, Murota S. Nitrite, nitrate and GMPc in the cerebrospinal fluid in degenerative neurologic diseases. *J Neural Transm (Gen Sect)* 100: 263-267.
27. JAGGER M, Bottlender R, Strauss A, Moller HJ. Classification of functional psychoses and its implication for prognosis: comparison between ICD-10 and DSM-IV. *Psychopathology*. 2004 May-Jun;37(3):110-7.
28. JARRETT HW, Cooksy KD, Ellis B, Anderson JM: The separation of o-phthalaldehyde derivatives of amino acids by reversed-phase chromatography on octylsilica columns. *Anal Biochem*. 1986 Feb 15; 153(1):189-98.
29. JOHNSTONE EC, Crow TJ, Frith CD, Husband J, Kreel L: cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia. *Lancet* 1976; (2): 924-926

30. KARSON CN, Griffin WS, Mrak RE, Husain M, Dawson TM, Snyder SH, Moore NC, Sturner WQ: Nitric oxide synthase (NOS) in schizophrenia: increases in cerebellar vermis. *Mol Chem Neuropathol* 1996, 27 (3): 275-284.
31. KAY SR, Fazbein A, Opler LA: The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for Schizophrenia. *Schizophr Bull* 1987; 13: 261-275.
32. KULHARA P, Kota SK, Joseph S: Positive and negative subtypes of schizophrenia: a study from India. *Acta Psychiatr Scand* 1986. 74: 353-379.
33. LARUELLE M, Abi-Dargham A, Gasanova M, Toti R, Weisenberger DR, Kleinman JE: Selective abnormality of prefrontal serotonergic receptors in schizophrenia: A postmortem study. *Archives of General Psychiatry*, 50: 810-818
34. LEIPER J, Murray-Rust J, Mc Donald N, Vallance P: S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: Further interactions between nitric oxide synthase and dimethylaminohydrolase. *PNAS*, 2002, 21(99): 13528-13532.
35. LEWIS SW, Ford RA, Syed GM, Revely AM, Toone BK: A controlled study of 99m Tc-HMPAO single-photon emission imaging in chronic schizophrenia. *Psychol Med* 1992, 22:27-35.
36. LIDDLE PF, Friston KJ, Frith CD, Hirsch SR, Jones T, Frackowiack. Patterns of cerebral blood flow in schizophrenia. *Br J Psychiatry* 1992; 160; 179-186.
37. LIDDLE PF: The multidimensional phenotype of schizophrenia. En Tamminga CA (de.): Schizophrenia in a Molecular Age (Review of Psychiatry Series; Oldham JO and Riba MB, series eds.). Washington, DC, American Psychiatric Press 1999, p. 5-17.
38. MALLA AK, Norman RMG, Williamson P: Three-syndrome concept of schizophrenia, a factor analytic study. *Schizophr Res* 1993; 10:143-150.
39. MILSTEIN S, Sakai N, Brew BJ, Krieger C, Vickers JH, Saito K, Heyes MP: Cerebrospinal fluid nitrite/nitrate levels in neurologic disease. *J Neurochem* 1994; 63: 1178-1180.

40. MIRA DE ORDUNA R: Quantitative determination of L-arginine by enzymatic end-point analysis. *J Agric Food Chem* 2001 Feb; 49(2):549-52.
41. MONCADA S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-2012.
42. MORIKAWA e, Moskowitz MA, Huang Z, Yoshida T, Irikura K, Dalkara T: L-arginine infusion promotes nitric oxide dependent vasodilatation, increases regional cerebral blood flow, and reduces infarction volume in the rat. *Stroke* 1994; 25 (2): 429-35.
43. NATRELLA MG: "Experimental Statics" *National Bureau of Standards Handbook* 91. Washington, 1963.
44. OHOUHA DC, Hyde TM, Kleinman JE: The role of serotonin in schizophrenia: an overview of the nomenclature, distribution and alterations of serotonin receptors in the central nervous system. *Psychopharmacology*, 1993, 112, S5-S15
45. PAULMAN RG, Devous MD, Gregory RR, Herman JH, Jenings L, Bonte FJ, Nasrallah, HA, Raese JD: Hypofrontality and cognitive impairment in schizophrenia: Dynamic single-photon tomography and neuropsychological assesment of schizophrenic brain function. *Biol psychiatry* 1990, 27:377-399.
46. PEARLSON GD, Tune LE, Wong DF, Aylwand EH, Barta PE, Powers RE, Tien AY, Chase GA, Harris GJ, Rabins PV: Quantitative D₂ dopamine receptor PET and structural MRI changes in late onset schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1993, 19: 783-795
47. PERALTA V, deLeon J, Cuesta MJ: Are there more than two syndromes in schizophrenia? A critique of the positive-negative dichotomy. *Br J Psychiatry* 1992; 161: 335-343.
48. PEREZ-NERI IVAN, Sergio Montes, Marie-Catherine Boll, Jesús Ramírez-Bermúdez, Camilo Ríos: Liquid chromatographic-fluorimetric method for the estimation of nitric oxide biosíntesis in the central nervous system. *Journal of Chromatography B* 2004; 806: 133-139

49. PERRY TL, Kish SJ, Buchanan J, Hansen S: Aminobutyric-acid deficiency in brain of schizophrenic patients. *Lancet* 1979, 237-239
50. PI J; Kumagai Y; Sun G; Shimojo N: Improved method for simultaneous determination of L-arginine and its mono- and dimethylated metabolites in biological samples by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2000 May 26; 742(1):199-203.
51. PIE JE; Baek SY; Kim HP; Ryu SD; Chung WG; Cha YN; Park CS: Age-related decline of inducible nitric oxide synthase gene expression in primary cultured rat hepatocytes. *Mol Cells* 2002 Jun 30;13(3):399-406
52. POTKIN SG, Weinberger DR, Linnoila M, Wyatt RJ: Low CSF 5-hydroxyindoeacetic acid in schizophrenic patients with enlarged ventricles. *American Journal of Psychiatry* 1983, 140:21-25
53. RAMIREZ J, Garnica R, Boll MC, Montes S, Rios C: Low concentration of nitrite and nitrate in the cerebrospinal fluid from schizophrenic patients: a pilot study. *Schizophrenia Research* 68 (2004): 357-361
54. RAESE JD, Paulman RG, Steinberg JL, Devous MD, Judd CR, Gregory RR: Wisconsin Card Sort activated blood flow in dorsolateral frontal cortex in never medicated and previously medicated schizophrenics and normal controls. *Biol Psychiatry* 1989, 25:100.
55. ROTH M: Fluorescence reaction for amino acids. *Anal. Chem.* 1971 Jun;43(7):880-2.
56. RUBIN P, Hemmingsen R, Holm S, Moller-Madsen S, Hertel C, Polvsen UJ, Karle A: Relationship between brain structure and function in disorders of the schizophrenic spectrum: Single positron emission computerized tomography and psychopathology of first episodes. *Acta Psychiat Scand* 1994, 90:281-289.
57. SEEMAN P, Hong-Chang G, van Tol HHM: Dopamine D4 receptors elevated in schizophrenia. *Nature*, 1993; 365: 441-445
58. SCHROEDER J, Geider FJ, Binkert M: Subsyndromes in chronic schizophrenia: do their psychopathological characteristics correspond to cerebral alterations? *Psychiatry Res* 42: 209-220, 1992.
59. SHINKAI T; Ohmori O; Hori H; Nakamura J: Allelic association of the neuronal nitric oxide synthase (NOS1) gene with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2002; 7(6): 560-3

60. SUMIYOSHI T, Hasegawa M, Jayathilake K: Sex differences in plasma homovanillic acid levels in schizophrenia and normal controls: Relation to neuroleptic resistance. *Biologica Psychiatry* 1990; 41: 560-66
61. TAMMINGA CA, Crayton JW, Chase TN: Muscimol: GABA agonist therapy in schizophrenia. *American journal of Psychiatry* 1978, 135: 746-747
62. TURNELL DC, Cooper JD: Rapid assay for amino acids in serum or urine by pre-column derivatization and reversed-phase liquid chromatography. *Clin Chem.* 1982 Mar;28(3):527-31
63. WEINBERGER DR, Berman KF, Zec RF: Physiologic dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia: I. Regional cerebral flow evidence. *Arch Gen Psychiatry* 1986, 43: 114-124.
64. WIESINGER H: Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Prog Neurobiol.* 2001 Jul;64(4):365-91.
65. WISE CD, Stein L: Dopamine hydroxylase deficits in the brains of schizophrenic patients. *Science* 1973, 181: 344-347
66. WOLKIN A, Sanfilippo M, Wolf AP, Angrist B, Brodie JD, Rotrosen J: Negative 25-symptoms and hypofrontality in chronic schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1992, 49: 959-965.
67. WOOLEY DW, Shaw E: A biochemical and pharmacological suggestion about certain mental disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1954, 40:228
68. WYATT RJ, Schwarz MA, Erdelyi E, Barchas JD: Dopamine-hydroxylase activity in brains of chronic schizophrenic patients. *Science* 1975, 187: 368-370
69. YANIK M, Vural H; Kocyigit A; Tutkun H; Zoroglu SS; Herken H; Savas HA; Koylu A; Akyol O: Is the arginine-nitric oxide pathway involved in the pathogenesis of schizophrenia? [In Process Citation]. *Neuropsychobiology* 2003; 47(2): 61-5.
70. YANIK M, Vural H, Tutkun H, Zoroglu SS, Savas HA, Herken H, Kocyigit A, Keles H, Akyol O. Is the arginine-nitric oxide pathway involved in the pathogenesis of schizophrenia? *Neuropsychobiology.* 2003;47(2):61-5.

71. ZECCA L, Rosati M, Renella R, Galimberti M, Ambrosini A, Fariello RG. Nitrite and nitrate levels in cerebrospinal fluid of normal subjects. *Journal of Neural Transmission* 1998; 105; 627-633.
72. ZOROGLU SS; Herken H; Yurekli M; Uz E; Tutkun H; Savas HA; Bagci C; Ozen ME; Cengiz B; Cakmak EA; Dogru MI; Akyol O: The possible pathophysiological role of plasma nitric oxide and adrenomedullin in schizophrenia. *J Psychiatr Res* 2002 Sep-Oct; 36(5): 309-15.