

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO**

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

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS MÉDICAS

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

Investigador Principal:

Juan Enrique Vélez Escalante González

Tutor:

Dr. Camilo Ríos Castañeda

Colaboradores:

Jesús Ramírez Bermúdez

Iván Pérez Neri

Ana Luisa Sosa Ortiz



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.

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 mostraron diferencias estadísticamente significativas: **citrulina** en esquizofrénicos 29.88 +/- 3.12nm y en controles 23.76 +/- 3.8nm ($p=0.071$), **arginina** para esquizofrénicos 22.11 +/- 1.44nm y en controles 18.94 +/- 0.9nm ($p=0.174$) y **nitratos** para esquizofrénicos 331.21 +/- 67.8nm y en controles 688.17 +/- 195.4nm ($p=0.210$), finalmente no hubo asociación entre el comportamiento de estas sustancias y la escala de PANSS.

Conclusiones: aunque la diferencia no es estadísticamente significativa, existe una tendencia en dirección a diferencias entre ambos grupos, reforzado al analizar la citrulina a una cola, que resulta estadísticamente significativa ($p=0.0355$). Para evitar un error tipo II es necesario incrementar el tamaño de la muestra.

CONTENIDO

- TÍTULO
- RESÚMEN
- ANTECEDENTES
 - LA ESQUIZOFRENIA
 - TEORIA DOPAMINERGICA
 - TEORIA SEROTONINERGIA
 - TEORIA GLUTAMATERGICA
 - TEORIA GABAERGICA
 - EL OXIDO NITRICO
 - OXIDO NITRICO Y ESQUIZOFRENIA
- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN
- JUSTIFICACIÓN
- HIPÓTESIS
- OBJETIVOS
- METODOLOGÍA
 - AREA DE ESTUDIO
 - DISEÑO
 - POBLACION Y MUESTRA
 - ESPECIFICACION DE VARIABLES
 - INSTRUMENTOS
 - CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS FLUORIMETRICA
 - PROCEDIMIENTOS
 - DURACION DEL ESTUDIO
 - CONSIDERACIONES ECONOMICAS Y FINANCIERAS
 - TAMAÑO DE LA MUESTRA
 - ANALISIS ESTADISTICO
- RESULTADOS
 - DEMOGRAFICOS
 - CITRULINA
 - ARGININA
 - NITRATOS
- DISCUSIÓN
- REFERENCIAS
- ANEXOS
 - ANEXO I. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS PARA ESQUIZOFRENIA: DSM-IV
 - ANEXO II. ESCALA DE SÍNTOMAS POSITIVOS Y NEGATIVOS (PANSS)
 - ANEXO III. CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN
 - ANEXO IV. CONSENTIMIENTO PARA DONACIÓN DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO
 - ANEXO V. FORMULARIO DE LLENADO DE DATOS

ANTECEDENTES

LA ESQUIZOFRENIA

La esquizofrenia es un trastorno neuropsiquiátrico crónico, definido clínicamente por alteraciones mentales y conductuales que producen un deterioro psicosocial significativo.

En las últimas dos décadas, se ha postulado que el síndrome de la esquizofrenia está en realidad integrado por síntomas que pueden agruparse en cinco grandes dimensiones: síntomas positivos, síntomas negativos, síntomas de cognoscitivos, síntomas afectivos y ansiosos y síntomas agresivos. (Liddle, 1987, Andreasen y cols. 1995).

A pesar de esto, en la práctica clínica 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**), esta división fenomenológica de la esquizofrenia en dos grandes síndromes ha sido cuestionada por los trabajos de varios autores (Arndt y cols. 1991; Schroeder y cols. 1992; Kulhara y cols. 1986; Malla y cols. 1993; Peralta y cols. 1992; Liddle y cols. 1999).

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 y cols. 2004).

La esquizofrenia ha sido descrita como “la peor enfermedad de la especie humana” (Editorial, 1988). Debido a la penetrancia de los déficits asociados y frecuente curso crónico se encuentra entre las diez principales causas de discapacidad relacionada a enfermedad en el mundo (Murray y cols. 1996).

A pesar de un vigoroso estudio el siglo pasado, su etiología y fisiopatología se mantienen relativamente ocultas y los tratamientos actuales solo son modestamente efectivos, y no por falta de búsqueda, varios cientos de miles de artículos publicados sobre la esquizofrenia hasta la fecha describen miles de discretos descubrimientos (Tandon y cols. 2008).

Respecto a su epidemiología, la incidencia anual es de 8-40/100,000/año, con incidencia relativamente similar entre continentes (Jablensky y cols. 1992), incrementándose con la urbanicidad y la migración (Fearon y cols. 2006). La prevalencia a lo largo de la vida es de 0.7% (Saha y cols. 2006), con mayor riesgo para los varones (McGrath y cols. 2004). Es una enfermedad altamente hereditaria y los factores genéticos parecen contribuir hasta en un 80% a la presentación de la enfermedad (Crow TJ, 2007), en gemelos monocigotos la incidencia es hasta de 50%, para un solo padre o hermano esquizofrénico es de 7% y con dos familiares de primer grado hasta 14%, debido a la existencia de una gran heterogeneidad genética con múltiples regiones cromosómicas de pequeño efecto a lo largo del genoma ligadas a la presentación de la enfermedad. Por otro lado numerosos factores ambientales de pequeño efecto (abuso de cannabis, nacimiento en verano o primavera, infecciones prenatales y desnutrición, complicaciones obstétricas y perinatales, estrés social, mayor edad paterna, etc.) se asocian a un riesgo incrementado para desarrollar esquizofrenia (Munk Laursen y cols. 2007).

La Escala de Síntomas Positivos y Negativos de Esquizofrenia (PANSS, por sus siglas en inglés), desarrollada por Kay y Opler, es el estándar actual para la clasificación y estudio de los signos y síntomas en los pacientes esquizofrénicos y es utilizada en la actualidad en las principales investigaciones clínicas (Garnica, 1996).

De esta manera muchos de los marcadores biológicos estudiados para esta enfermedad se han agrupado bajo diferentes dimensiones de la enfermedad de acuerdo a la escala de PANSS:

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 de los estudios citados, 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 y cols. 1975; Andreasen y cols. 1992; Wolkin y cols. 1992; Rubin y cols. 1994; Liddle y cols. 1992; Lewis y cols. 1992; Ebmeier y cols. 1993).

La evidencia actual apoya la idea de que los síntomas de la esquizofrenia 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).

TEORIA DOPAMINERGICA

La dopamina ha sido el neurotransmisor más 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.

La psicosis inducida por anfetaminas es uno de los primeros antecedentes en la teoría dopaminérgica de la esquizofrenia (Harris, 2000), aunque llegó a mencionarse en 1938 (Young y cols. 1938) no fue reconocida claramente como una posible consecuencia del uso crónico de anfetaminas hasta 1958 con la publicación de 42 casos monográficos por Connell (Connell, 1958), en su artículo describe la psicosis por anfetaminas como “una psicosis paranoide con ideas de referencia, ideas delirantes de persecución, alucinaciones auditivas y visuales sin alteración de la conciencia” y concluye “el cuadro mental puede ser indistinguible de una esquizofrenia paranoide aguda o crónica”.

Aunque el primer fármaco antipsicótico, la clorpromazina comienza a utilizarse para los pacientes esquizofrénicos en 1952, no es sino 25 años después que se describe puntualmente que los fármacos antipsicóticos tienen en común el bloqueo de las neuronas dopaminérgicas. (Johnstone, 1978). Intentos por medir directamente este supuesto exceso de dopamina en SNC no han podido corroborarlo, desde la búsqueda de su metabolito, el ácido homovanílico, (Sumiyoshi, 1990) hasta estudios en cerebros postmortem.

El grueso de la evidencia para la teoría dopaminérgica es aún indirecto (la evidencia del bloqueo de los antipsicóticos, el efecto psicótico-mimético de los agonistas dopaminérgicos como las anfetaminas) (Guillin y cols. 2007).

Por otro lado, datos de la tomografía por emisión de positrones (PET) y post-mortem sugieren un incremento de la unión a receptores D2 en los cerebros de los pacientes con esquizofrenia, con un tamaño de efecto medio de 1.5, sin embargo la potencial contribución de la exposición previa a fármacos antipsicóticos es difícil de excluir (Zakzanis y cols. 1998), aunque hay estudios de PET en pacientes esquizofrénicos sin exposición previa a medicamentos antipsicóticos que reportan un incremento en los receptores D2 de los cerebros de estos pacientes (Pearlson, 1993). Otros estudios han reportado incremento de los receptores D4 con elevaciones de hasta 6 veces su densidad en los pacientes con esquizofrenia mediante PET (Seeman, 1993).

La principal limitación de la hipótesis dopaminérgica, como fue formulada originalmente, era su gran afinidad por un solo aspecto de la enfermedad, los síntomas positivos. Se ha sugerido que el deterioro cognitivo de la esquizofrenia puede estar relacionado a déficit prefrontal de D1 (Weinberger, 1987). Una mayor cantidad de receptores D1 ha sido relacionada con deterioro en la memoria de trabajo en esquizofrenia (Abi-Dargham y cols. 2002). Aunque la literatura aún se mantiene controversial, ha sido postulado un sistema dopaminérgico mesocortical hipoactivo (subyacente a los síntomas negativos y cognitivos) y un sistema mesolímbico hiperactivo (subyacente a los síntomas positivos) (Weinberger, 1987) (Davis y cols. 1991) Se ha sugerido que la actividad dopaminérgica tónica en realidad podría estar disminuída, mientras la respuesta fásica al estrés puede estar exagerada (Grace, 1991).

TEORIA SEROTONINERGICA

Originalmente atribuida a Wooley y Shaw, la teoría de disfunción serotoninérgica en esquizofrenia se basó en la similaridad estructural a algunas drogas, particularmente el LSD, con 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). Ouhouha 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. (Ouhouha, 1993)

Estas sospechas fueron confirmadas por Kapur y Remington en 1996, en un estudio sin precedentes que demuestra que el sistema serotoninérgico inhibe la función dopaminérgica a nivel del origen del sistema dopaminérgico en el mesencéfalo, así como en los campos terminales dopaminérgicos en la corteza prefrontal. Los antagonistas serotoninérgicos liberan al sistema dopaminérgico de esta inhibición. Esta desinhibición del sistema dopaminérgico en el estriado puede aliviar los síntomas extrapiramidales inducidos por neurolépticos, y una desinhibición similar en la corteza prefrontal puede aminorar los síntomas negativos. (Kapur y cols. 1996)

Aunque se carece de evidencia directa para la disfunción serotoninérgica en la patogénesis de la esquizofrenia continúa existiendo un interés significativo por explorar el papel de los diferentes receptores serotoninérgicos (principalmente 5HT-3 y 5HT-6) en la esquizofrenia (Abi-Dargham, 2007).

TEORIA GABAERGICA

El ácido gamma amino butírico (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.

Estudios post-mortem en pacientes esquizofrénicos, han mostrado consistentemente niveles reducidos de expresión de GABA en la corteza frontal, medidos a través de niveles de RNAm de la descarboxilasa de ácido glutámico, el determinante principal de la síntesis de GABA (Lewis y cols. 2005). Adicionalmente, los receptores de GABA A podrían encontrarse regulados a la alta, posiblemente reflejando una respuesta compensatoria a niveles reducidos de GABA (Jarskog y cols. 2007). Las neuronas afectadas pertenecen al subtipo de candelabro de las neuronas GABA. Estos cambios parecen ser específicos a la enfermedad (Benes y cols. 2007) y estas intrigantes observaciones pueden explicar las alteraciones en la sincronía neuronal y consecuentemente el deterioro de la memoria de trabajo en la esquizofrenia (Lewis y cols. 2006).

TEORIA GLUTAMATERGICA

El glutamato es un neurotransmisor excitatorio ubicuo de las neuronas corticales, este sistema une a otros 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.

Observaciones de glutamato reducido en líquido cefalorraquídeo de pacientes con esquizofrenia (Kim y cols. 1980) llevaron inicialmente a la hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia, aunque esta hallazgo no pudo ser replicado posteriormente (Perry, 1982). Subsecuentemente se propuso que la esquizofrenia podría estar relacionada a una neurotransmisión excitatoria glutamatérgica deficiente mediada a través de receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) (Moghaddam, 2003). Esta teoría ha sido apoyada por la observación de síntomas psicóticos disparados por los antagonistas NMDA: fenilciclidina (PCP) y ketamina (Javitt y cols. 1991).

Los estudios post-mortem en pacientes esquizofrénicos han reportado expresión reducida en los receptores de glutamato, especialmente de la subunidad del receptor NMDA en varias regiones cerebrales, notablemente la corteza prefrontal y el hipocampo (Harrison y col. 2003). Sin embargo estos hallazgos no han sido replicados consistentemente (Lewis y cols. 2006). El glutamato se distribuye de manera ubicua en el sistema nervioso, y un deterioro en este sistema no explica fácilmente los trastornos relativamente localizados de la esquizofrenia (Crow, 1995).

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.

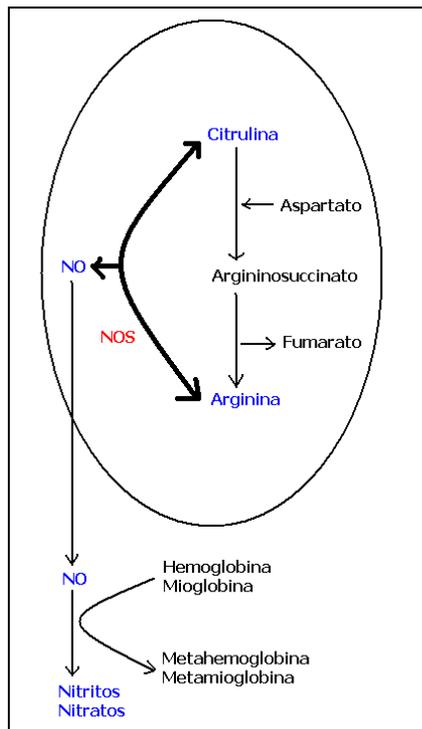


Figura 1 Vía del Óxido Nítrico

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 A) 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 temporo-límbicas, que son las últimas en migrar, parecen ser escasas, 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 +/- error estándar para nitritos y nitratos en LCR de 23.96 +/- 2.4 para los esquizofrénicos y 39.94 +/- 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.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿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?

JUSTIFICACION

La esquizofrenia es un trastorno mental crónico grave cuya etiología aún no es del todo clara, cuya evidencia apunta hacia un modelo multifactorial que incluye componentes genéticos, alteraciones del neurodesarrollo y de diversos sistemas de neurotransmisores cerebrales, con posibles mecanismos desencadenantes e involucrados con las recaídas en la esfera sociofamiliar.

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.

HIPOTESIS

Existe 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 óxido 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 óxido 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 traves 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.

OBJETIVOS

I. Objetivo principal:

Identificar si existe 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.

METODOLOGIA

A. Áreas de estudio:

Clínica, neuropsiquiatría, 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 esquizofrenia, atendidos en el INNNMVS, independientemente de ser o no vírgenes al tratamiento.
2. Sexo masculino o femenino, de 18 años o mayores y menores de 45 años de edad (se excluyen los mayores de 45 años para evitar confusores relacionados a los cambios degenerativos propios del envejecimiento).
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).
2. Psicosis esquizofreniformes debidas a alcohol, otras sustancias de abuso o secundarias a otras patologías médicas.

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 característica de 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 y cols. 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 y cols. 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-ftalaldehído/2-mercaptoetanol (OPA/ME) (Roth y cols. 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 y cols. 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 y cols. 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 y cols. 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 y cols. 2004)

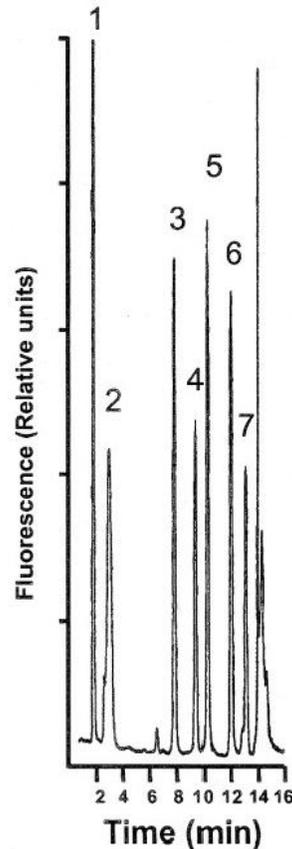


Figura 2. Cromatografía obtenida de una mezcla estandarizada de aminoácidos. El último pico observado se debe al reactivo OPA, los picos numerados representan: (1) aspartato, (2) glutamato, (3) glutamina, (4) glicina, (5) citrulina, (6) arginina y (7) taurina

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):

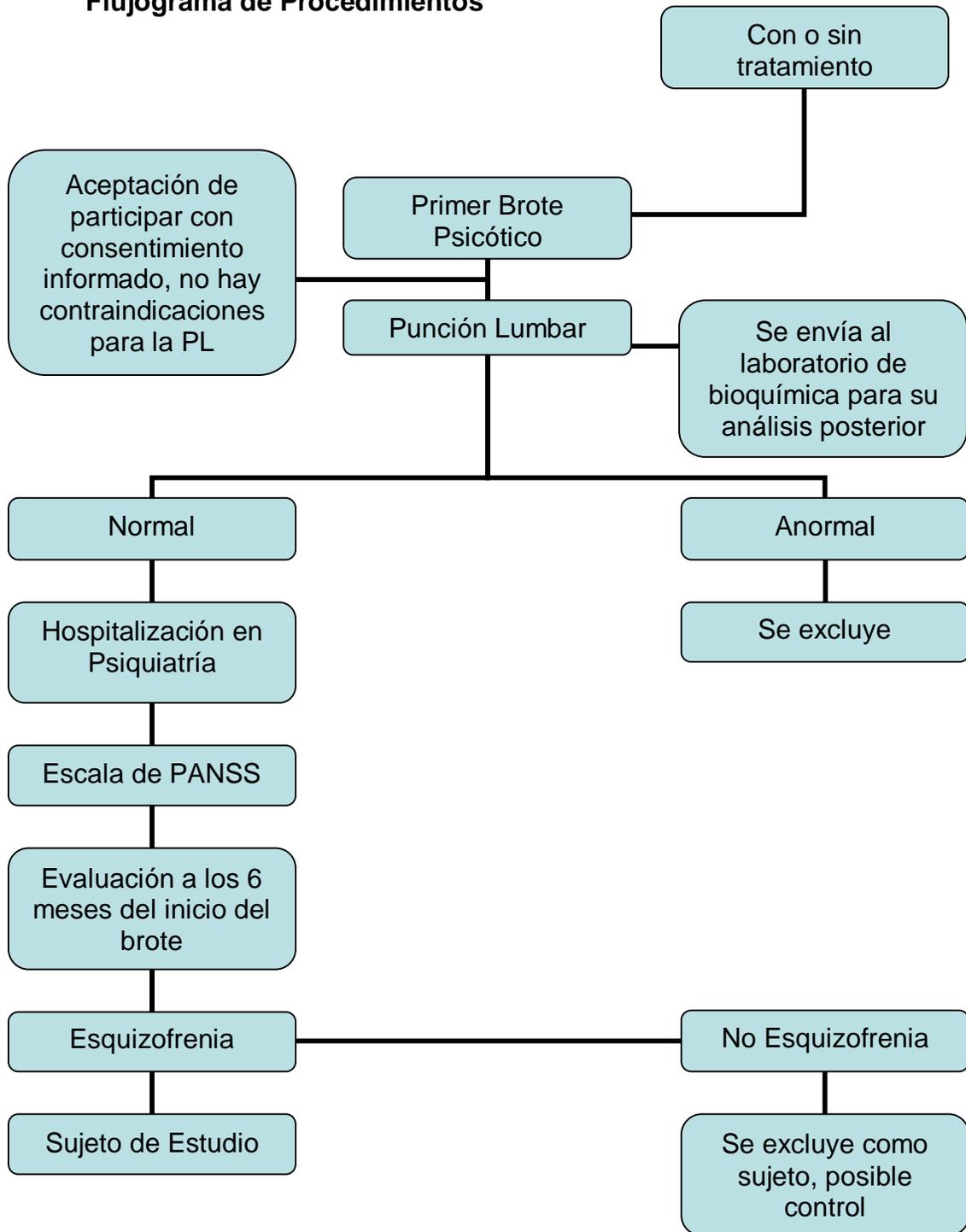
1. Realización de TAC y PL (En caso de no existir ninguna contraindicación) con una muestra extra de 3mL designada para las mediciones del estudio
2. Si el resultado de la PL no demuestra infección la muestra extra se envía al laboratorio de bioquímica del INNN:MVS para su análisis, refrigerándola a -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 diferente (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

$\alpha = 0.05$							
$d \setminus 1 - \beta$	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:

	Pendiente	Pendiente (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 pendiente como por kurtosis, específicamente para el caso de los nitratos la pendiente está más 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:

- a. **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%

- b. **Edad:** con una media +/- DE de 26.22 +/- 4.92nm para el grupo de pacientes esquizofrénicos y 35.92 +/- 7.8nm para el grupo de controles, una prueba de t de Student para muestras independientes encontró un valor de probabilidad (p) de 0.004.

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

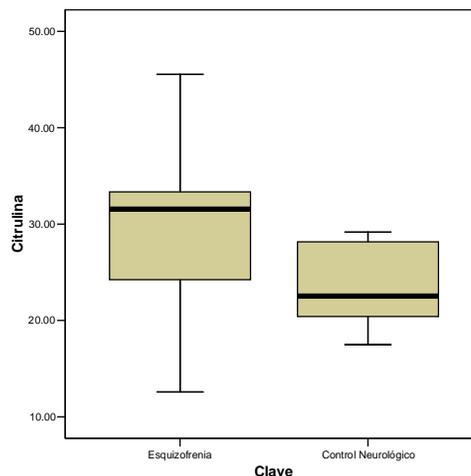
- 9 pacientes con diagnóstico de esquizofrenia
- 10 pacientes para el grupo control, con los siguientes diagnósticos:
 - Vitreitis (1)
 - Neuropatía por malabsorción intestinal (1)
 - Miopatía (1)
 - Pseudotumor cerebri (2)
 - Neurocisticercosis calcificada (2)
 - Trastorno Disociativo (2)
 - Cefalea 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 29.88nm con una desviación estándar de 3.12nm para los pacientes de esquizofrenia y en el caso de los controles una media de 23.76nm y desviación estándar de 1.78nm (**Figura 4**)

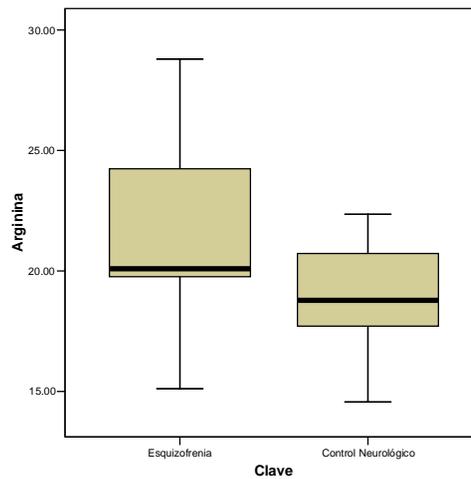
Figura 4. Distribución de la Citrulina



Arginina

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

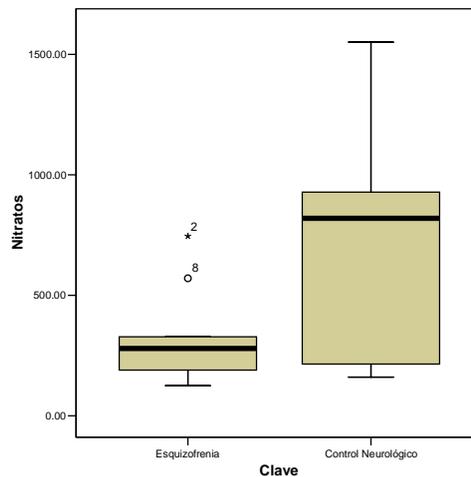
Figura 5. Distribución de la Arginina



Nitratos

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

* Significativa

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 una diferencia significativa de la edad entre los pacientes esquizofrénicos y los pacientes del grupo control siendo más jóvenes los pacientes esquizofrénicos, ya que se sabe que al menos la NOSi disminuye conforme aumenta la edad (Pie y cols. 2002), de manera que de manera natural podríamos esperar menor cantidad de NO conforme se incrementa 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 y cols. 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 y cols. 2003), un estudio previo en LCR de pacientes esquizofrénicos encontró también niveles significativamente menores de nitritos y nitratos en estos pacientes (Ramírez y cols. 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 y cols. 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 y cols. 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 y cols. 2001) [Manteniendo la elevación de **citrulina** que no se degrada por este medio]

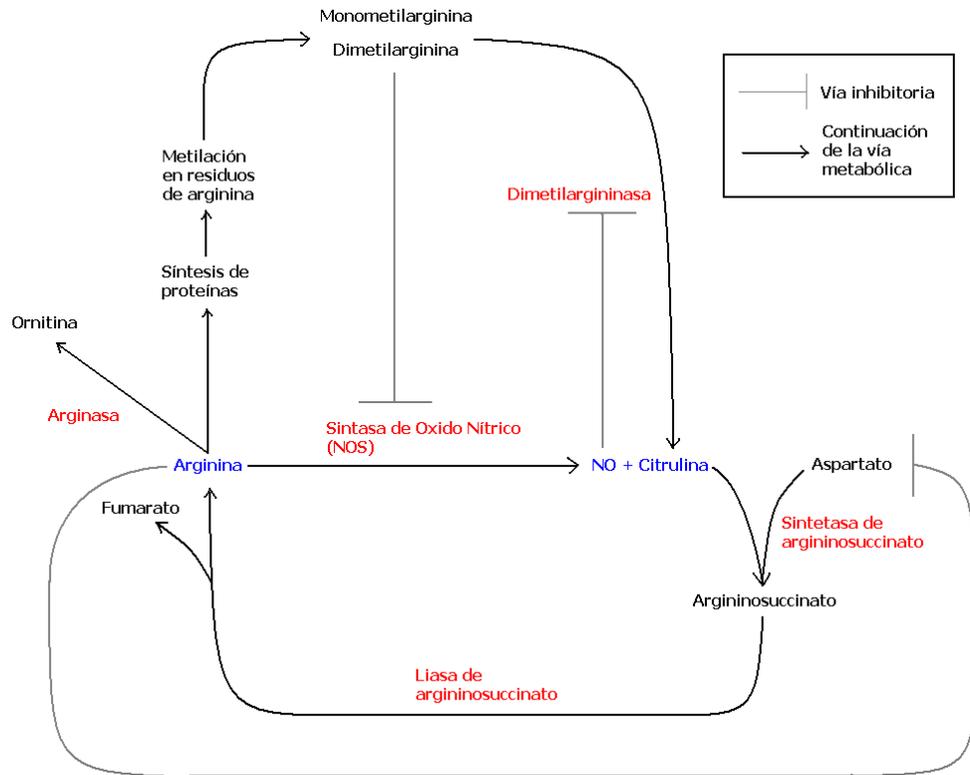


Figura 6. Modelo experimental de la vía del NO

Finalmente debido a los resultados significativos en estudios previos y la tendencia que encontramos en nuestro estudio, creemos que se puede alcanzar la significancia estadística incrementando el tamaño de la muestra para pacientes y controles.

Consideramos como deficiente a nuestro grupo control, por varias razones, principalmente el hecho de que cuente con padecimientos neurológicos de base, aunque no degenerativos, podría estar generando un sesgo en nuestros resultados por lo que recomendamos el reclutamiento de un grupo de pacientes sin patología neurológica para los controles, pudiendo obtener estos de pacientes sometidos a anestesia epidural en procedimiento de cirugía electiva que cumplan el resto de criterios para controles mencionados previamente.

REFERENCIAS

1. ABI-DRGHAM A, Alterations of serotonin transmission in schizophrenia International Review of Neurobiology 2007; 78: 133–164.
2. ABI-DARGHAM A, Mawlawi O, Lombardo I, Gil R, Martinez D, Huang Y, Hwang DR, Keilp J, Kochan L, VanHeertum R, Gorman JM, Laruelle M. Prefrontal dopamine D1 receptors and working memory in schizophrenia. Journal of Neuroscience. 2002; 22: 3708–3719.
3. 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.
4. ANDREASEN NC, Arndt S, Miller D, Flaum M, Nopoulos P, Correlational studies of the Scale for the Assessment of Negative Symptoms and the Scale for the Assessment of Positive Symptoms: an overview and update. *Psychopathology* 1995; 28: 7–17.
5. 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. Assesment with xenon-133 single-photon emission computed tomography and the tower of London. *Arch Gen Psychiatry* 1992, 49:943-958.
6. ANGGARD, Erik. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 1994, 343: 1199-206.
7. 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.
8. BACHNEFF SA: Regional Cerebral Blood Flow in Schizophrenia and the Local Circuit Neurons Hypothesis. *Schizophr Bull* 1995, 22:163-182.

9. BENES FM, Lim B, Matzilevich D, Walsh JP, Subburaju S, Minns M, Regulation of the GABA cell phenotype in hippocampus of schizophrenics and bipolars. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007; 104: 10164–10169.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. CONNELL PH. Amphetamine psychosis. London: Chapman and Hill, 1958.
14. 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
15. CROW TJ, Constraints on concepts of pathogenesis: language and the speciation process as the key to the etiology of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 1995; 52, 1011–1014.
16. CROW TJ, How and why genetic linkage has not solved the problem of psychosis: review and hypothesis. *Am. J. Psychiatry* 2007; 164: 13–21.
17. 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.
18. 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.

19. DAVIS KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M, 1991. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *The American Journal of Psychiatry* 148, 1474–1486.
20. DAWSON TM, Brecht DS, Fotuhi M, Hwang PM, Snyder SH. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci* 1999. 88: 7797-7801.
21. 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.
22. 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.
23. DSM-IV-TR. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, Fourth Edition, Text Revision, Washington, DC, American Psychiatric Association, 2000.
24. EBMEIER KP, Blackwood DHR, Murray C: Single photon emission tomography with 99mTc-exametazime in unmedicated schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 1993; 33: 487-495.
25. EDITORIAL. Where next with psychiatric illness? *Nature* 1988; 336: 95–96.
26. 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.
27. FEARON P, Kirkbride JB, Morgan C, Incidence of schizophrenia and other psychoses in ethnic minority groups: results from AESOP study. *Psychol. Med.* 2006; 36: 1541–1550.
28. FRANZEN G, Ingvar DH: Absence of activation in frontal structures during psychological testing of chronic schizophrenics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1975; 38:1027-1032.

29. 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.
30. GARNICA, Rodrigo: Esquizofrenia. Diagnóstico y tratamiento en la práctica médica. Segunda edición. JGH editores, México DF, 1996, p. 49-52.
31. GRACE AA, Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience* 1991; 41: 1–24.
32. GUILLIN O, Abi-Dargham A, Laruelle M, Neurobiology of dopamine in schizophrenia. *International Review of Neurobiology* 2007; 78: 1–39.
33. HARRIS D, Bakti SL: Stimulant psychosis: Symptom profile and acute clinical course. *American Journal on Addictions*, 2000; (9): 28-37
34. HARRISON PJ, Law AJ, Eastwood SL, Glutamate receptors and transporters in the hippocampus in schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2003;1003: 94–101.
35. 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.
36. IADECOLA C, Pelligrino DA, Moskowitz MA, Lassen NA. Nitric oxide synthase inhibition and cerebrovascular regulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14: 175-192.
37. 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.
38. JABLENSKY A., Sartorius N., Ernberg G., Schizophrenia: manifestations, incidence, and course in different cultures. *Psychol.Med.*1992; 22 (Suppl 20): 1–97.

39. 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.
40. 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.
41. JARSKOG LF, Miyamoto S, Lieberman JA, Schizophrenia: new pathological insights and therapies. *Annual Review of Medicine* 2007; 58: 49–61.
42. JAVITT DC, Zukin SR, Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry* 1991; 148: 1301–1308.
43. JOHNSTONE EC, Crow TJ, Frith CD, Husband J, Kreel L: cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia. *Lancet* 1976; (2): 924-926
44. KAPUR S, Remington G: Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1996; 153:466-476
45. 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.
46. KAY SR, Fazbein A, Opler LA: The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for Schizophrenia. *Schizophr Bull* 1987; 13: 261-275.
47. KIM JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmuller B, Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neuroscience Letters* 1980; 20, 379–382.
48. KULHARA P, Kota SK, Joseph S: Positive and negative subtypes of schizophrenia: a study from India. *Acta Psychiatr Scand* 1986. 74: 353-379.
49. 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

50. 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.
51. LEWIS DA, Gonzalez-Burgos G, Pathophysiologically based treatment interventions in schizophrenia. *Nature Medicine* 2006; 12, 1016–1022.
52. LEWIS DA, Hashimoto T, Volk DW, Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature Reviews* 2005; 6: 312–324.
53. 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.
54. LIDDLE PF, The symptoms of chronic schizophrenia: a re-examination of the positive–negative dichotomy. *British Journal of Psychiatry*. 1987; 151, 145–151.
55. 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.
56. 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.
57. MALLA AK, Norman RMG, Williamson P: Three-syndrome concept of schizophrenia, a factor analytic study. *Schizophr Res* 1993; 10:143-150.
58. McGRATH J, Saha S, Welham J, A systematic review of the incidence of schizophrenia. *BMC. Med.* 2004; 2: 13.
59. 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.
60. MIRA DE ORDUNA R: Quantitative determination of L-arginine by enzymatic end-point analysis. *J Agric Food Chem* 2001 Feb; 49(2):549-52.

61. MOGHADDAM B, Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. *Neuron* 2003; 40: 881–884.
62. MONCADA S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-2012.
63. 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.
64. MUNK LAURSEN T, Munk-Olsen T, Nordentoft M, Bo Mortensen P, A comparison of selected risk factors for unipolar depressive disorder, bipolar affective disorder, and schizophrenia from a Danish population-based cohort. *J. Clin. Psychiatry* 2007; 68: 1673–1681.
65. MURRAY CJL, LOPEZ AD (Eds): *The Global Burden of Disease: a Comprehensive Assessment of Mortality and Disability from Diseases, Injuries, and Risk Factors in 1990 and Projected to 2020*. Harvard University Press, Cambridge, MA, 1996.
66. NATRELLA MG: “Experimental Statics” *National Bureau of Standards Handbook* 91. Washington, 1963.
67. 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
68. 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.
69. 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

70. 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.
71. 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
72. PERRY TL, Normal cerebrospinal fluid and brain glutamate levels in schizophrenia do not support the hypothesis of glutamatergic neuronal dysfunction. *Neuroscience Letters* 1982; 28: 81–85.
73. 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.
74. 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
75. 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
76. 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
77. 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.
78. ROTH M: Fluorescence reaction for amino acids. *Anal. Chem.* 1971 Jun;43(7):880-2.

79. 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.
80. SAHA S, Welham J, Chant D, McGrath J, Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country. *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.* 2006; 41: 338–340.
81. SEEMAN P, Hong-Chang G, van Tol HHM: Dopamine D4 receptors elevated in schizophrenia. *Nature*, 1993; 365: 441-445
82. SCHROEDER J, Geider FJ, Binkert M: Subsyndromes in chronic schizophrenia: do their psychopathological characteristics correspond to cerebral alterations? *Psychiatry Res* 42: 209-220, 1992.
83. 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
84. 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
85. TANDON R, Keshavan MS, Nasrallah HA: Schizophrenia, “Just the Facts”:
What we know in 2008 Part 1: Overview. *Schizophrenia Research* 2008;
100: 4–19
86. 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
87. 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.
88. WEINBERGER DR, Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry.* 1987; 44: 660–669.

89. WICKHAMA H, Walshb C, Ashersonc P, Taylord C, Sigmundsona T, Gille M, Owenf MJ, McGuffinc P, Murraya R, Shama P, Familiarity of symptom dimensions in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 2001; Volume 47, Issue 2: 223-232
90. WIESINGER H: Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Prog Neurobiol.* 2001 Jul;64(4):365-91.
91. WISE CD, Stein L: Dopamine hydroxylase deficits in the brains of schizophrenic patients. *Science* 1973, 181: 344-347
92. WOLKIN A, Sanfilipo M, Wolf AP, Angrist B, Brodie JD, Rotrosen J: Negative 25-symptoms and hypofrontality in chronic schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1992, 49: 959-965.
93. WOOLEY DW, Shaw E: A biochemical and pharmacological suggestion about certain mental disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1954, 40:228
94. WYATT RJ, Schwarz MA, Erdelyi E, Barchas JD: Dopamine-hydroxylase activity in brains of chronic schizophrenic patients. *Science* 1975, 187: 368-370
95. 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.
96. 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.
97. YOUNG D, Scoville WB. Paranoid psychosis in narcolepsy and the possible dangers of benzedrine treatment. *Medical Clinics of North America* 1938; 22:637
98. ZAKZANIS KK, Hansen KT, Dopamine D2 densities and the schizophrenic brain. *Schizophrenia Research* 1998; 32: 201–206.

99. 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.
100. 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):30

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	_____		

ANEXO III

Consentimiento para Participar en un Estudio de Investigación

Título del Estudio de Investigación.

Óxido Nítrico y Esquizofrenia: Medición de su Vía Metabólica en el Líquido Cefalorraquídeo de Pacientes Esquizofrénicos

Investigador. Dr. Juan Enrique Vélez Escalante González, Departamento de Psiquiatría, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Ciudad de México, teléfono: 56064850

Propósito y Antecedentes. Este es un estudio para medir la cantidad de una sustancia (óxido nítrico), de manera indirecta en el líquido cefalorraquídeo de pacientes esquizofrénicos. El propósito de este estudio es conocer las alteraciones del óxido nítrico en el cerebro de los pacientes esquizofrénicos.

Procedimientos. Si aceptó participar, sucederán las siguientes cosas:

1. Responderé algunas preguntas sobre mi historial médico. Esto tomará cerca de 45 minutos.
2. Se me realizará un examen físico general y neurológico completo, para conocer mis condiciones generales y detectar o no la presencia de una enfermedad neurológica. Esto tomará cerca de 30 minutos.
3. Se me extraerá sangre del brazo con una aguja para pruebas de coagulación y otros estudios generales, que en cuanto al estudio tienen el propósito de conocer la calidad de coagulación de mi sangre, que de ser defectuosa impediría la realización de la punción lumbar. La aguja generalmente causa molestias que duran menos de un minuto; ocasionalmente pueden ocurrir una cortada o infección, pero esto es muy raro.
4. Se me realizará una imagen cerebral mediante una tomografía computada, para ver las condiciones de mi cerebro y determinar si es segura para mí la realización de la punción lumbar, ya que si la presión dentro de mi cráneo fuera alta, la punción lumbar podría causar daños a mi cerebro (herniación cerebelosa o tentorial), por lo que la punción lumbar no se realizaría. La tomografía computada produce radiación, y aunque esta es muy poca, no se recomienda su realización en pacientes embarazadas.
5. Se me extraerán 3mL extras de líquido cefalorraquídeo a través de una aguja en mi espalda (punción lumbar), además de lo requerido por las características de mi enfermedad, para analizar las sustancias que determinan el óxido nítrico en mi cerebro. La aguja se coloca después de poner anestesia local, sin embargo, a veces causa molestias que duran menos de cinco minutos, su principal complicación es dolor de cabeza, ocurriendo en 5 a 10 de cada 100 pacientes, este dolor de cabeza típicamente ocurre de 12 a 48 horas después del procedimiento y puede durar de varios días hasta 2 semanas; en manos experimentadas, la punción lumbar es un procedimiento seguro. Además de las complicaciones previamente mencionadas, ocasionalmente puede diseminar una infección a las cubiertas de mi sistema nervioso (meningitis), por

lo que se realiza bajo condiciones de esterilidad y nunca sobre sitios previamente infectados para evitar dicha complicación.

6. De ser necesario, se me hospitalizará, para recibir los cuidados y tratamiento adecuado de mi enfermedad, así como la prosecución del estudio de la misma. Esto por el tiempo que lo médicos crean conveniente para mi enfermedad.
7. Se me realizará una entrevista, para conocer la calidad de los síntomas de mi enfermedad. Esto se realiza entre 30 y 45 minutos.
8. Después de 6 meses del inicio de mi enfermedad se me realizará una nueva evaluación médica para determinar la naturaleza de dicha enfermedad. Esto llevará entre 30 y 45 minutos.

Beneficios. Puede no haber ningún beneficio directo para mí al participar en este estudio. Sin embargo, puedo contribuir a una mayor comprensión de los mecanismos causantes de la esquizofrenia. Todos los estudios requeridos para la investigación se me realizarán de manera gratuita.

Riesgos. Los únicos riesgos de este estudio son aquellos relacionados a las punciones lumbar y braquial, así como a la tomografía computada, los cuales ya fueron mencionados durante el apartado de procedimientos. Si fuese lesionado por los procedimientos de este estudio, se me ofrecerá el tratamiento adecuado dichas lesiones.

Confidencialidad. Los resultados del citoquímico, citología y cultivo de la punción lumbar, la punción braquial y la tomografía computada, me serán revelados y explicados por mi medico tratante, sin embargo los resultados para la determinación del óxido nítrico serán confidenciales. Mi identidad se mantendrá confidencial en tanto la ley lo permita.

Preguntas. _____, ha discutido esta información conmigo y respondió todas mis preguntas. Si tuviera más preguntas puedo contactar al Dr. Vélez, el investigador principal al 56064850.

Derecho a Negarse o Retirarse del Estudio. Mi participación en este estudio es por completo voluntaria, y soy libre de negarme a participar en el estudio o retirarme del mismo en cualquier momento sin que esto repercuta de ninguna manera en el tratamiento de mi enfermedad.

Consentimiento. He leído y comprendido correctamente el contenido de esta forma, de la que se me ha entregado una copia, por lo que aceptó voluntariamente participar en este estudio.

Paciente o familiar responsable

Firma de autorización

Fecha

Investigador

Firma de Investigador

Fecha

Nombre del Testigo

Firma del Testigo

Dirección

Teléfono

Fecha

Parentesco con el voluntario

Nombre del Testigo

Firma del Testigo

Dirección

Teléfono

Fecha

Parentesco con el voluntario

ANEXO IV

Consentimiento para Donación de Líquido Cefalorraquídeo

Título del Estudio de Investigación.

Óxido Nítrico y Esquizofrenia: Medición de su Vía Metabólica en el Líquido Cefalorraquídeo de Pacientes Esquizofrénicos

Investigador. Dr. Juan Enrique Vélez Escalante González, Departamento de Psiquiatría, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Ciudad de México, teléfono: 56064850

Propósito y Antecedentes. Este es un estudio para medir la cantidad de una sustancia (óxido nítrico), de manera indirecta en el líquido cefalorraquídeo de pacientes esquizofrénicos. El propósito de este estudio es conocer las alteraciones del óxido nítrico en el cerebro de los pacientes esquizofrénicos en comparación con las concentraciones de esta sustancia en las personas no esquizofrénicas

Procedimientos. Si aceptó participar, sucederán las siguientes cosas:

1. Durante el procedimiento anestésico al que será sometido por la cirugía que me será realizada se tomarán 3mL de mi líquido cefalorraquídeo.
2. Esta muestra de líquido cefalorraquídeo será congelada y enviada al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía para su utilización en proyectos de investigación en neurociencias
3. La principal complicación de la toma extra de líquido cefalorraquídeo puede ser dolor de cabeza, este ocurre en 5 a 10 de cada 100 pacientes, este dolor de cabeza típicamente ocurre de 12 a 48 horas después del procedimiento y puede durar de varios días hasta 2 semanas; en manos experimentadas, la punción lumbar que me será realizada por mi cirugía es un procedimiento seguro.

Beneficios. Puede no haber ningún beneficio directo para mí al participar en este estudio. Sin embargo, puedo contribuir a una mayor comprensión de los mecanismos causantes de la esquizofrenia. Todos los estudios requeridos para la investigación se me realizarán de manera gratuita.

Riesgos. Los únicos riesgos de este estudio son aquellos relacionados a la punción lumbar, los cuales ya fueron mencionados durante el apartado de procedimientos. Si fuese lesionado por los procedimientos de este estudio, se me ofrecerá el tratamiento adecuado dichas lesiones.

Confidencialidad. Los resultados del análisis de mí líquido cefalorraquídeo para el óxido nítrico serán confidenciales. Mi identidad se mantendrá confidencial en tanto la ley lo permita.

Preguntas. _____, ha discutido esta información conmigo y respondió todas mis preguntas. Si tuviera mas preguntas puedo contactar al Dr. Vélez, el investigador principal al (044) 5512955018.

Derecho a Negarse o Retirarse del Estudio. Mi participación en este estudio es por completo voluntaria, y soy libre de negarme a participar en el estudio o retirarme del mismo en cualquier momento sin que esto repercuta de ninguna manera en el tratamiento de mi enfermedad.

Consentimiento. He leído y comprendido correctamente el contenido de esta forma, de la que se me ha entregado una copia, por lo que aceptó voluntariamente participar en este estudio.

Paciente

Firma de autorización

Fecha

Investigador

Firma de Investigador

Fecha

Nombre del Testigo

Firma del Testigo

Dirección

Teléfono

Fecha

Parentesco con el voluntario

Nombre del Testigo

Firma del Testigo

Dirección

Teléfono

Fecha

Parentesco con el voluntario

ANEXO V

Formulario de llenado de datos

Registro	
Hospital de procedencia	
Nombre	
Edad	
Sexo	
Clasificación (caso o control)	
Fecha de toma de la muestra	

Información para casos	
PANSS total	
PANSS positiva	
PANSS negativa	
PANSS general	
Arginina	
Citrulina	
GMPc	
Nitritos	
Nitratos	

Información para controles	
Indicación de cirugía	
Enfermedades infecciosas	
Enfermedades inflamatorias	
Enfermedades degenerativas	
Enfermedades neurológicas	
Enfermedades psiquiátricas	
Arginina	
Citrulina	
GMPc	
Nitritos	
Nitratos	