



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

---

***“ALTERACIÓN DE LOS SISTEMAS DE NEUROTRANSMISIÓN  
ASOCIADOS A DELIRIOS Y ALUCINACIONES EN  
PACIENTES PSIQUIÁTRICOS”***

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**SABINO HAZAEL AVILA ROJAS**



**MÉXICO, D.F.**

**2014**



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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**      Profesor: ELIA BROSLA NARANJO RODRÍGUEZ

**VOCAL:**            Profesor: ANDRÉS NAVARRETE CASTRO

**SECRETARIO**      Profesor: IVAN PÉREZ NERI

**1er. SUPLENTE:**   Profesor: JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI

**2° SUPLENTE:**    Profesor: IGNACIO CAMACHO ARROYO

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA  
“MANUEL VELASCO SUÁREZ”**

**ASESOR DEL TEMA:**

DR. IVÁN PÉREZ NERI

---

**SUSTENTANTE:**

SABINO HAZAEL AVILA ROJAS

---

---

**ÍNDICE GENERAL**

|   |           |
|---|-----------|
| I. Lista de abreviaturas                                | V         |
| II. Índice de tablas y figuras                          | VIII      |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b>                                  | <b>1</b>  |
| 1.1 Psicosis  | 1         |
| 1.2 Ilusiones, alucinaciones e ideas delirantes         | 2         |
| 1.3 Alteraciones neuroanatómicas                        | 3         |
| 1.4 Alteraciones en los sistemas de neurotransmisión    | 4         |
| <b>2. ANTECEDENTES</b>                                  | <b>5</b>  |
| 2.1 Antecedentes generales                              | 5         |
| 2.1.1 Dopamina  | 5         |
| 2.1.2 Receptores dopaminérgicos                         | 7         |
| 2.1.3 Glutamato   | 7         |
| 2.1.4 Receptores glutamatérgicos                        | 9         |
| 2.1.4.1 Receptores ionotrópicos                         | 9         |
| 2.1.4.2 Receptores metabotrópicos                       | 10        |
| 2.1.5 L-Glicina   | 11        |
| 2.1.6 Vía del NO  | 11        |
| 2.2 Antecedentes particulares                           | 13        |
| 2.2.1 Dopamina y psicosis                               | 13        |
| 2.2.2 Glutamato y psicosis                              | 14        |
| 2.2.3 Glutamato-dopamina en psicosis                    | 16        |
| 2.2.4 Glicina y psicosis                                | 18        |
| 2.2.5 NO y psicosis                                     | 19        |
| <b>3. HIPÓTESIS</b>                                     | <b>21</b> |
| <b>4. OBJETIVOS</b>                                     | <b>21</b> |
| <b>5. MATERIAL Y MÉTODOS</b>                            | <b>22</b> |
| 5.1 Población y muestra                                 | 22        |
| 5.2 Reactivos   | 22        |
| 5.3 Metodología   | 23        |
| 5.3.1 Determinación de HVA por HPLC acoplado a detector |           |

|  |           |
|--|-----------|
| electroquímico   | 23        |
| 5.3.2 Determinación de aminoácidos por HPLC acoplado a fluorescencia   | 23        |
| 5.3.3 Determinación de marcadores de actividad del NO por HPLC-UV  | 23        |
| 5.4. Diseño experimental   | 24        |
| 5.5 Análisis estadístico   | 25        |
| <b>6. RESULTADOS</b>   | <b>27</b> |
| 6.1 Determinación de la concentración de HVA en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a detector electroquímico | 27        |
| 6.2 Determinación de la concentración de glutamato en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia     | 28        |
| 6.3 Determinación de la concentración de L-glutamina en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia   | 29        |
| 6.4 Determinación de la concentración de L-glicina en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia     | 30        |
| 6.5 Determinación de la concentración de L-citrulina en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia   | 31        |
| 6.6 Determinación de la concentración de L-arginina en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia    | 32        |
| 6.7 Determinación de la razón citrulina/arginina (marcador de actividad del NO)  | 33        |
| 6.8 Determinación de la concentración de NO <sub>x</sub> en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC-UV                     | 34        |
| 6.9 Determinación de la razón NO <sub>x</sub> /HVA   | 36        |
| 6.10 Determinación de las correlaciones entre los neurotransmisores y marcadores de actividad biológica                    | 37        |
| <b>7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>  | <b>39</b> |
| <b>8. CONCLUSIONES</b>   | <b>47</b> |
| <b>9. PERSPECTIVAS</b>   | <b>48</b> |
| <b>10. REFERENCIAS</b>   | <b>49</b> |
| <b>11. ANEXOS</b>  | <b>59</b> |

|              |    |
|--------------|----|
| 11.1 Anexo A | 59 |
| 11.2 Anexo B | 60 |
| 11.3 Anexo C | 61 |

**I. Lista de abreviaturas**

|                        |   |
|------------------------|---|
| <b>AC</b>              | Adenilato ciclasa                                       |
| <b>ADH</b>             | Alcohol deshidrogenasa                                  |
| <b>ALDH</b>            | Aldehído deshidrogenasa                                 |
| <b>AMPA</b>            | $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionato |
| <b>AMP<sub>c</sub></b> | Adenosín monofosfato cíclico                            |
| <b>ANDEVA</b>          | Análisis de varianza                                    |
| <b>Asc-1</b>           | Transportador de cisteína-serina-alanina tipo 1         |
| <b>ATP</b>             | Adenosín trifosfato                                     |
| <b>ATV</b>             | Área tegmental ventral                                  |
| <b>BH<sub>2</sub></b>  | Dihidrobiopterina                                       |
| <b>BH<sub>4</sub></b>  | Tetrahidrobiopterina                                    |
| <b>CA</b>              | California  |
| <b>CAT</b>             | Ciclo de los ácidos tricarbóxicos                       |
| <b>COMT</b>            | Catecol-O-metiltransferasa                              |
| <b>D<sub>1</sub></b>   | Receptor a dopamina subtipo 1                           |
| <b>D<sub>2</sub></b>   | Receptor a dopamina subtipo 2                           |
| <b>D<sub>3</sub></b>   | Receptor a dopamina subtipo 3                           |
| <b>D<sub>4</sub></b>   | Receptor a dopamina subtipo 4                           |
| <b>D<sub>5</sub></b>   | Receptor a dopamina subtipo 5                           |
| <b>DAMC</b>            | Células dopaminérgicas mesocorticales                   |
| <b>DAML</b>            | Células dopaminérgicas mesolímbicas                     |
| <b>DAT</b>             | Transportador de dopamina                               |
| <b>DCAA</b>            | Descarboxilasa de aminoácidos aromáticos                |
| <b>DOPAC</b>           | Ácido-3,4-dihidroxifenilacético                         |
| <b>DOPAL</b>           | 3,4-dihidroxifenilacetaldehído                          |
| <b>DOPET</b>           | 3,4-dihidroxifeniletanol                                |
| <b>DRS</b>             | Delirium Rating Scale                                   |
| <b>EAAT</b>            | Transportador de aminoácidos excitadores                |
| <b>EDTA</b>            | Ácido etilendiaminotetraacético                         |
| <b>EPSC</b>            | Corrientes postsinápticas excitadoras                   |

---

|                          |  |
|--------------------------|--|
| <b>EUA</b>               | Estados Unidos de América  |
| <b>GABA</b>              | Ácido- $\gamma$ -aminobutírico   |
| <b>GC</b>                | Guanilato ciclasa  |
| <b>Gln</b>               | Glutamina  |
| <b>Glu</b>               | Glutamato  |
| <b>GlyT<sub>1</sub></b>  | Transportador de glicina tipo 1  |
| <b>GlyT<sub>2</sub></b>  | Transportador de glicina tipo 2  |
| <b>HPLC</b>              | Cromatografía de líquidos de alta resolución                               |
| <b>HVA</b>               | Ácido homovanílico   |
| <b>INNN “MSV”</b>        | Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía<br>“Manuel Velasco Suárez” |
| <b>LCR</b>               | Líquido cefalorraquídeo  |
| <b>L-DOPA</b>            | L-3,4-dihidroxifenilalanina  |
| <b>LSD</b>               | Dietilamida de ácido lisérgico   |
| <b>LTD</b>               | Depresión a largo plazo  |
| <b>LTP</b>               | Potenciación a largo plazo   |
| <b>MAO<sub>A</sub></b>   | Monoamino oxidasa A  |
| <b>MDMA</b>              | 3,4-metilendioximetanfetamina  |
| <b>ME</b>                | 2-mercaptoetanol   |
| <b>MeOH</b>              | Metanol  |
| <b>mGluR<sub>1</sub></b> | Receptor metabotrópico a glutamato tipo 1                                  |
| <b>mGluR<sub>2</sub></b> | Receptor metabotrópico a glutamato tipo 2                                  |
| <b>mGluR<sub>3</sub></b> | Receptor metabotrópico a glutamato tipo 3                                  |
| <b>mGluR<sub>4</sub></b> | Receptor metabotrópico a glutamato tipo 4                                  |
| <b>mGluR<sub>5</sub></b> | Receptor metabotrópico a glutamato tipo 5                                  |
| <b>mGluR<sub>6</sub></b> | Receptor metabotrópico a glutamato tipo 6                                  |
| <b>mGluR<sub>7</sub></b> | Receptor metabotrópico a glutamato tipo 7                                  |
| <b>mGluR<sub>8</sub></b> | Receptor metabotrópico a glutamato tipo 8                                  |
| <b>NMDA</b>              | N-metil-D-aspartato  |
| <b>NO</b>                | Óxido nítrico  |
| <b>eNOS</b>              | Óxido nítrico sintasa endotelial   |



---

|                         |  |
|-------------------------|--|
| <b>iNOS</b>             | Óxido nítrico sintasa inducible              |
| <b>nNOS</b>             | Óxido nítrico sintasa neuronal               |
| <b>NOS</b>              | Óxido nítrico sintasa                        |
| <b>NOx</b>              | Nitritos + nitratos                          |
| <b>NY</b>               | Nueva York                                   |
| <b>OCB</b>              | Bloqueadores de la apertura del canal        |
| <b>OPA</b>              | o-ftalaldehído                               |
| <b>PCP</b>              | Fenciclidina                                 |
| <b>PDMC</b>             | Prueba de Dunns para múltiples comparaciones |
| <b>PIP<sub>2</sub></b>  | Fosfatidilinositol bifosfato                 |
| <b>PKA</b>              | Proteína cinasa A                            |
| <b>PLC</b>              | Fosfolipasa C                                |
| <b>RNS</b>              | Especies reactivas de nitrógeno              |
| <b>ROS</b>              | Especies reactivas de oxígeno                |
| <b>Ser-OH-MeT</b>       | Serina hidroximetiltransferasa               |
| <b>SNAT<sub>1</sub></b> | Transportador de aminoácidos neutros tipo 1  |
| <b>SNAT<sub>3</sub></b> | Transportador de aminoácidos neutros tipo 3  |
| <b>SNC</b>              | Sistema nervioso central                     |
| <b>SNP</b>              | Sistema nervioso periférico                  |
| <b>TH</b>               | Tirosina hidroxilasa                         |
| <b>VCFS</b>             | Síndrome velocardiofacial                    |
| <b>VIH</b>              | Virus de inmunodeficiencia humana            |
| <b>VMAT-2</b>           | Transportador vesicular de monoaminas tipo 2 |
| <b>VST</b>              | Estriado ventral                             |

## II. Índice de tablas y figuras

### Tablas

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>Tabla 1.</b>  | Condiciones médicas asociadas con psicosis  | 1  |
| <b>Tabla 2.</b>  | Sustancias asociadas con psicosis   | 2  |
| <b>Tabla 3.</b>  | Resumen de las correlaciones observadas en la “población general” y en los “pacientes neurológicos” | 38 |
| <b>Tabla 4.</b>  | Valor P de las correlaciones de la “población general” sin ningún síntoma                           | 61 |
| <b>Tabla 5.</b>  | Coefficiente de correlación de la “población general” sin ningún síntoma                            | 61 |
| <b>Tabla 6.</b>  | Valor P de las correlaciones de la “población general” con delirios                                 | 62 |
| <b>Tabla 7.</b>  | Coefficiente de correlación de la “población general” con delirios                                  | 62 |
| <b>Tabla 8.</b>  | Valor P de las correlaciones de la “población general” con alucinaciones                            | 63 |
| <b>Tabla 9.</b>  | Coefficiente de correlación de la “población general” con alucinaciones                             | 63 |
| <b>Tabla 10.</b> | Valor P de las correlaciones de la “población general” con delirios y alucinaciones                 | 64 |
| <b>Tabla 11.</b> | Coefficiente de correlación de la “población general” con delirios y alucinaciones                  | 64 |
| <b>Tabla 12.</b> | Valor P de las correlaciones de los “pacientes neurológicos” sin ningún síntoma                     | 65 |
| <b>Tabla 13.</b> | Coefficiente de correlación en “pacientes neurológicos” sin ningún síntoma                          | 65 |
| <b>Tabla 14.</b> | Valor P de las correlaciones de los “pacientes neurológicos” con delirios                           | 66 |
| <b>Tabla 15.</b> | Coefficiente de correlación de los “pacientes neurológicos” con delirios                            | 66 |
| <b>Tabla 16.</b> | Valor de P de las correlaciones de “pacientes neurológicos” con alucinaciones                       | 67 |
| <b>Tabla 17.</b> | Coefficiente de correlación de los “pacientes neurológicos” con alucinaciones                       | 67 |
| <b>Tabla 18.</b> | Valor P de las correlaciones de los “pacientes neurológicos” con delirios y alucinaciones           | 68 |
| <b>Tabla 19.</b> | Coefficiente de correlación de los “pacientes neurológicos” con delirios y alucinaciones            | 68 |

**Figuras**

|                   |   |    |
|-------------------|---|----|
| <b>Figura 1.</b>  | Alteraciones neuroanatómicas en pacientes psicóticos  | 3  |
| <b>Figura 2.</b>  | Estructura química de la dopamina   | 5  |
| <b>Figura 3.</b>  | Síntesis y metabolismo de la dopamina   | 6  |
| <b>Figura 4.</b>  | Síntesis del glutamato y componentes de su sinapsis   | 8  |
| <b>Figura 5.</b>  | Representación del receptor NMDA  | 10 |
| <b>Figura 6.</b>  | Modulación de la actividad dopaminérgica por proyecciones corticales  | 14 |
| <b>Figura 7.</b>  | Síntesis y reactividad del NO   | 20 |
| <b>Figura 8.</b>  | Determinación de la concentración de HVA en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”          | 27 |
| <b>Figura 9.</b>  | Determinación de la concentración de glutamato en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”    | 28 |
| <b>Figura 10.</b> | Determinación de la concentración de L-glutamina en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”  | 29 |
| <b>Figura 11.</b> | Determinación de la concentración de L-glicina en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”    | 30 |
| <b>Figura 12.</b> | Determinación de la concentración de L-citrulina en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”  | 31 |
| <b>Figura 13.</b> | Determinación de la concentración de L-arginina en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”   | 32 |
| <b>Figura 14.</b> | Razón del marcador de actividad del NO (citrulina/arginina) en la “población general” y en “pacientes neurológicos” | 33 |
| <b>Figura 15.</b> | Determinación de la concentración de NOx en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”          | 35 |
| <b>Figura 16.</b> | Determinación de la razón NOx/HVA en la “población general” y en “pacientes neurológicos”                           | 36 |

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Psicosis

La psicosis es una alteración del juicio de realidad que se caracteriza por la presentación de ideas delirantes que pueden ir acompañadas de alucinaciones de alguna modalidad sensorial (Pérez-Neri I, *et al.*, 2011), frecuentemente visuales o auditivas (Oorschot M *et al.*, 2012). La psicosis puede resultar de una amplia variedad de enfermedades o trastornos neurológicos (encefalitis viral, esclerosis múltiple, esquizofrenia). Asimismo, puede ser inducida químicamente (fenciclidina, alcohol, anfetaminas) (**Tabla 1-2**) (Freudenreich O & Goff DC, 2010).

**Tabla 1.** Condiciones médicas asociadas con psicosis.

|  |   |
|--|---|
| <b>Epilepsia</b>   | <b>Accidente cerebro-vascular</b>   |
| <b>Demencias</b><br>Enfermedad de Alzheimer<br>Demencia de cuerpos de Lewy<br>Enfermedad de Pick   | <b>Endocrinopatías</b><br>Hipoglucemia<br>Enfermedad de Addison<br>Síndrome de Cushing<br>Hipertiroidismo o hipotiroidismo                              |
| <b>Anormalidades estructurales del cerebro o lesiones que ocupan espacio</b><br>Tumor cerebral primario<br>Tumor cerebral secundario<br>Malformación cerebro vascular  | <b>Deficiencias nutricionales</b><br>Deficiencia de magnesio y zinc<br>Deficiencia de vitamina A<br>Deficiencia de vitamina D<br>Deficiencia de niacina |
| <b>Trastorno neuropsiquiátrico</b><br>Enfermedad de Huntington<br>Enfermedad de Wilson<br>Enfermedad de Parkinson  | <b>Enfermedades autoinmunes</b><br>Lupus eritematoso sistémico<br>Síndrome paraneoplásico<br>Miastenia gravis   |
| <b>Enfermedades desmielinizantes</b><br>Esclerosis múltiple<br>Leucodistrofia metacromática  | <b>Anormalidades cromosomales</b><br>Síndrome X frágil<br>Síndrome XXX<br>Síndrome velocardiofacial (VCFS)  |
| <b>Infecciones</b><br>Encefalitis viral<br>Neurosífilis<br>Infección por VIH<br>Infecciones parasitarias invasivas del SNC (neurocisticercosis, toxoplasmosis)<br>Tuberculosis<br>Sarcoidosis<br>Enfermedades priónicas<br>Criptococosis | <b>Trastornos metabólicos</b><br>Metabolismo de aminoácidos (homocistinuria, fenilcetonuria)<br>Gangliosidosis GM2<br>Enfermedad de Niemann-Pick tipo C |

Modificado de *Freudenreich O & Goff DC, 2010.*

**Tabla 2.** Sustancias asociadas con psicosis.

| Intoxicación por sustancias   | Inducido por medicamentos   | Tóxicos   |
|---|---|---|
| Alcohol<br>Anfetaminas<br>Esteroides anabólicos<br>Cocaína<br>Alucinógenos: LSD, MDMA<br>Inhalantes: pegamento y solventes<br>Opiodes (meperidina)<br>PCP, ketamina | Agentes anticolinérgicos<br>Agentes antihistamínicos<br>Antiepilépticos (altas dosis)<br>Agentes quimioterapéuticos<br>Corticosteroides<br>Agentes antiparkinsonianos | Monóxido de carbono<br>Metales pesados: arsénico, mercurio, talio<br>Organofosforados |

Modificado de *Freudenreich O & Goff DC, 2010*.

La identificación de los síntomas psicóticos no es complicada, pero su clasificación no es simple. Se han desarrollado criterios para distinguir entre las categorías de trastornos psicóticos. Estos criterios se basan en la duración, disfunción, sustancias de abuso relacionadas, presencia de depresión y manía. A pesar de que la presentación de psicosis es clínicamente similar, se desconoce si involucra mecanismos neurobiológicos distintos para cada situación (Os J & Kapur S, 2009).

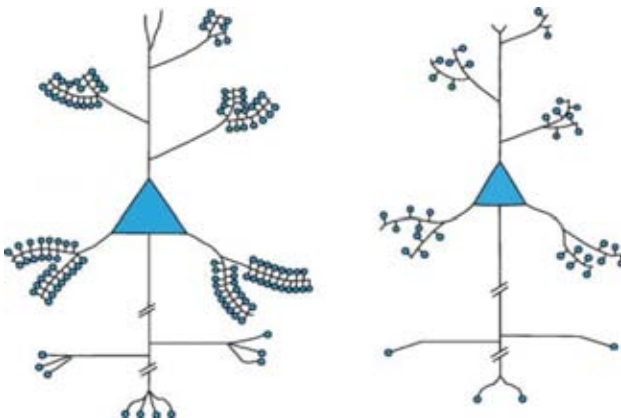
### 1.2 Ilusiones, alucinaciones e ideas delirantes

Las ilusiones son percepciones malinterpretadas de un estímulo real específico que puede ser experimentado por varias personas. A diferencia de ello, las alucinaciones son percepciones sensoriales aberrantes y espontáneas que se suscitan en ausencia de un estímulo real y que pocas personas experimentan (Boksa P, 2009; Rabey JM, 2009; Hoffman DD, 2012). Las alucinaciones pueden ser auditivas o visuales (Freudenreich O & Goff DC, 2010). Las alucinaciones auditivas involucran voces que van desde palabras o frases cortas hasta múltiples voces que conversan. Mientras tanto, las alucinaciones visuales implican experiencias como ver puntos, figuras o personas (Baethge C *et al.*, 2005). Asimismo, las alucinaciones no sólo están asociadas a una enfermedad e incluso individuos sanos pueden experimentarlas después de un evento trágico. No obstante, se desconoce si las alucinaciones se generan por mecanismos similares en pacientes enfermos e individuos sanos (Boksa P, 2009). Por otro lado, las ideas delirantes conciernen la conceptualización de paranoia y se caracterizan por

la presencia de experiencias que pueden ocurrir en la vida real, tales como ser perseguido (delirio de persecución), padecer otra enfermedad (tipo somático), estar poseído, poseer poderes o una identidad secreta. No obstante, los pacientes que la padecen no son conscientes de la naturaleza de su condición (Manschreck TC, 1996; Freudenreich O & Goff DC, 2010).

### 1.3 Alteraciones neuroanatómicas

Los pacientes esquizofrénicos con psicosis exhiben anomalías estructurales en el cerebro que incluyen un alargamiento de los ventrículos laterales y la pérdida de volumen de la corteza prefrontal, corteza temporal, hipocampo, amígdala y tálamo (Harrison PJ, 1999). Igualmente, los sujetos con riesgo a desarrollar psicosis también presentan anomalías estructurales previas a su desarrollo. Estudios por resonancia magnética revelaron una reducción adicional de la materia gris una vez establecida la enfermedad. A partir de esto surgió la polémica acerca de si el tratamiento antipsicótico influye sobre las modificaciones neuroanatómicas (Pantelis C *et al.*, 2003; Di Forti M *et al.*, 2007; Keshavan LS *et al.*, 2008). Adicionalmente, se ha descrito una reducción de marcadores sinápticos y del neuropilo. Dichas alteraciones comprenden una reducción en la densidad de espinas dendríticas, disminución de la longitud de las dendritas, reducción del volumen del soma en neuronas de la corteza prefrontal, disminución en la densidad de neuronas piramidales y no piramidales, en la corteza prefrontal y corteza anterior del cíngulo (**Figura 1**) (Glantz LA *et al.*, 2006).



**Figura 1. Alteraciones neuroanatómicas en pacientes psicóticos.** *Izquierda:* se representa una neurona cortical de un sujeto sano. *Derecha:* se representa una neurona cortical de un sujeto con psicosis (esquizofrénico). Se puede apreciar una disminución del volumen de soma, longitud de dendritas, espinas dendríticas y terminales presinápticas. Modificado de Glantz LA *et al.*, 2006.

#### **1.4 Alteraciones en los sistemas de neurotransmisión**

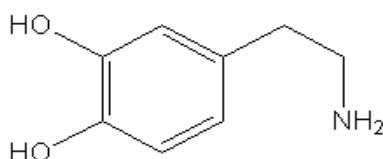
Los pacientes que sufren psicosis no sólo exhiben alteraciones neuroanatómicas, sino además alteraciones en la neurotransmisión de diferentes sistemas. Se han propuesto ciertas teorías que buscan explicar como estas alteraciones repercuten en el desarrollo e intensidad de la psicosis. Actualmente, las teorías más aceptadas proponen una sobreactivación del sistema dopaminérgico y una hipofunción del sistema glutamatérgico (Tuominen HJ *et al.*, 2005; Scott L & Aperia A, 2009; Lin CH *et al.*, 2012). Asimismo, otros componentes vinculados al procesamiento fisiopatológico de la psicosis son la vía del óxido nítrico (NO), así como el sistema GABAérgico, glicinérgico, serotoninérgico y colinérgico (Labrie V & Roder JC, 2010). Sin embargo, ninguna de estas propuestas distingue entre la presentación de delirios y alucinaciones. Por ello, el presente proyecto consistió en evaluar la concentración de neurotransmisores (glutamato, dopamina y L-glicina) y marcadores de actividad (L-arginina, L-citrulina, L-glutamina, nitritos y nitratos) en el LCR de pacientes psiquiátricos que manifestaron delirios, alucinaciones o ambos síntomas. Esto con el propósito de determinar si la concentración de neurotransmisores y marcadores de actividad está relacionada con el desarrollo de uno u otro síntoma. A continuación se describen brevemente los principales neurotransmisores involucrados y su relación con el desarrollo de la psicosis.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Antecedentes generales

#### 2.1.1 Dopamina

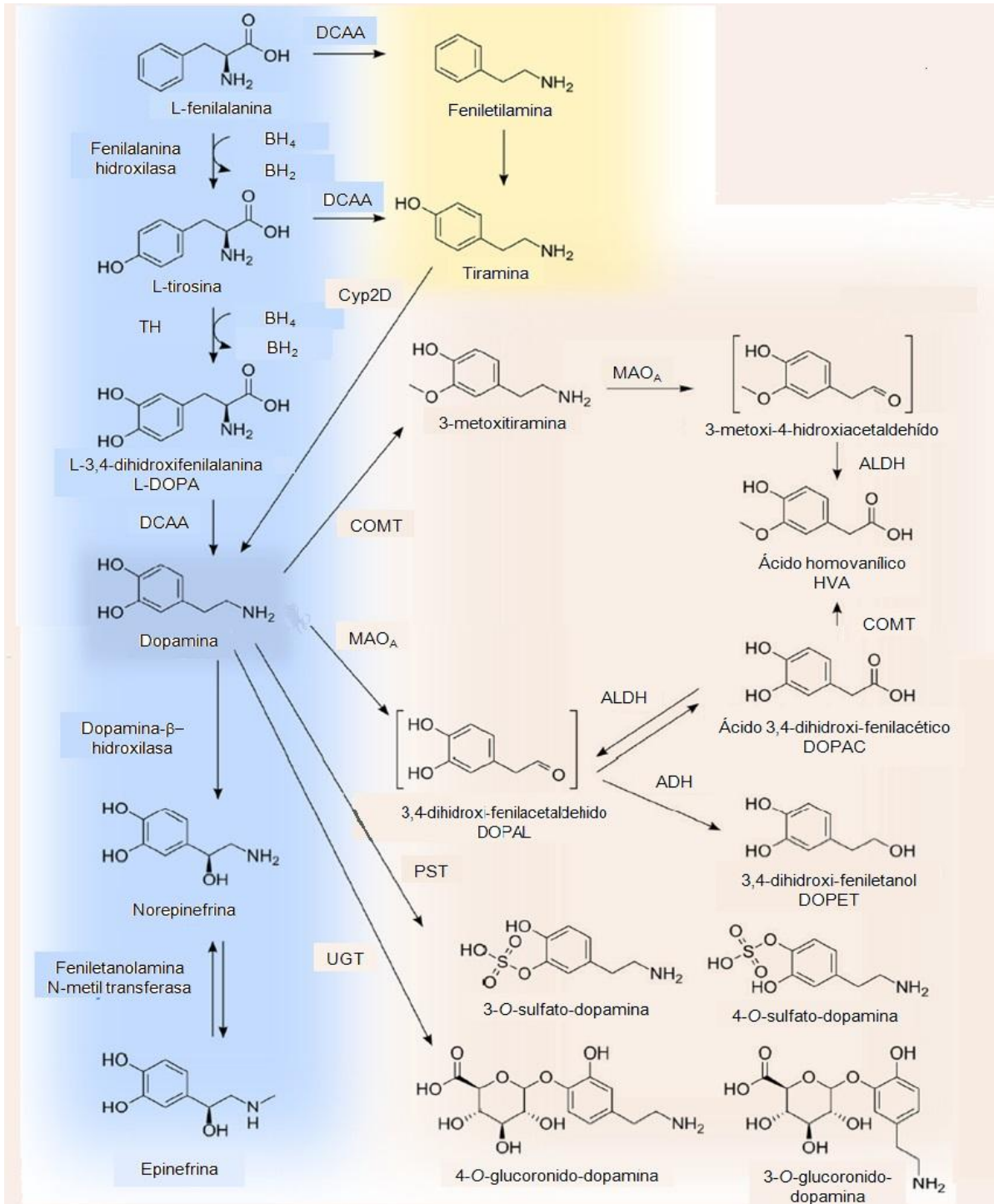
La dopamina es una amina biógena que se desempeña como neurotransmisor en el sistema nervioso central (SNC) (Kumar AM *et al.*, 2006). Se le clasifica como un neurotransmisor catecolaminérgico debido a su composición de un núcleo catecol y una cadena etilamina (**Figura 2**) (Bahena RT *et al.*, 2000). Dentro de las catecolaminas también se encuentran la noradrenalina y adrenalina (Daubner SC *et al.*, 2011).



**Figura 2.** Estructura química de la dopamina.

La dopamina en el SNC participa en la regulación de la función motora, emotividad y afectividad. Mientras tanto, en el sistema nervioso periférico (SNP) participa en la modulación de la función cardíaca, tono vascular y motilidad gastrointestinal (Bahena RT *et al.*, 2000). Se sintetiza a partir del aminoácido L-tirosina, lo que se lleva a cabo en dos pasos enzimáticos. En el primer paso, la enzima limitante, la tirosina hidroxilasa (TH) convierte la L-tirosina en L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA). Posteriormente, la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (DCAA) convierte la L-DOPA a 3,4-dihidroxifeniletilamina (dopamina) (Elsworth JD & Roth RH, 1997). Ambos pasos se llevan a cabo en el citosol de la terminal dopaminérgica (Bahena RT *et al.*, 2000). La dopamina se introduce en vesículas mediante el transportador vesicular de monoaminas (VMAT-2) y se libera por exocitosis para activar receptores postsinápticos, pero también puede actuar sobre autorreceptores presinápticos (Elsworth JD & Roth RH, 1997). Una vez que ejerce su efecto se recaptura a través del transportador de dopamina (DAT). Además, puede ser capturada por células gliales para su degradación (Meiser J *et al.*, 2013).





**Figura 3. Síntesis y metabolismo de la dopamina.** La vía principal para la síntesis de la dopamina es a partir del aminoácido L-tirosina. La L-tirosina puede provenir a su vez de la L-fenilalanina. Una vía alterna para la producción de dopamina es a través de la tiramina. La dopamina genera una serie de metabolitos por acción de la MAO<sub>A</sub>, COMT, ALDH y ADH. Igualmente, la dopamina puede sufrir reacciones de conjugación tanto en el SNC como en la periferia, pero estos metabolitos tienen menor relevancia clínica en comparación con HVA y DOPAC. Modificado de Meiser J et al., 2013.

Finalmente, la dopamina se metaboliza a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y 3,4-dihidroxifenilacetaldehído (DOPAL), por acción de la monoamino oxidasa A ( $MAO_A$ ). Posteriormente, el aldehído se inactiva por reducción a 3,4-dihidroxi-feniletanol (DOPET) o por oxidación a ácido-3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC), a través de la alcohol deshidrogenasa (ADH) o la aldehído deshidrogenasa (ALDH), respectivamente (Meiser J *et al.*, 2013). A su vez, DOPET se convierte en DOPAC y se expulsa de la terminal dopaminérgica para ser transformado a ácido homovanílico (HVA) por acción de la catecol-O-metiltransferasa (COMT) (**Figura 3**) (Bahena RT *et al.*, 2000).

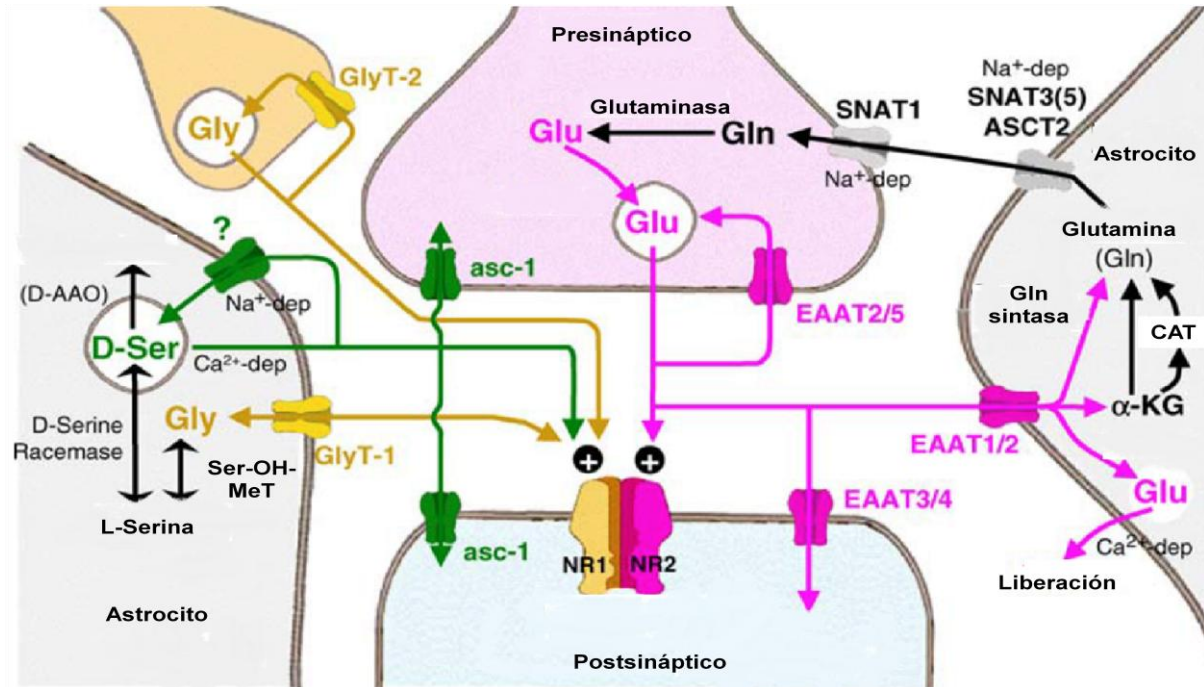
### 2.1.2 Receptores dopaminérgicos

Actualmente se conocen 5 receptores a dopamina. Todos ellos pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a una proteína G heterotrimérica. Se clasifican farmacológicamente en dos familias, tipo  $D_1$  y tipo  $D_2$ , que a su vez comprenden los subtipos  $D_1$  y  $D_5$ , y los subtipos  $D_2$ ,  $D_3$  y  $D_4$ , respectivamente (Scott L & Aperia A, 2009). La familia  $D_1$  está acoplada a una proteína  $G_s$  que incrementa la actividad de la adenilato ciclasa (AC). Su activación conduce a la generación de adenosín monofosfato cíclico ( $AMP_C$ ) y estimulación de la proteína cinasa A (PKA), lo que favorece la fosforilación de canales (apertura de canales de  $Ca^{2+}$  y cierre de canales de  $K^+$ ). Mientras tanto, la familia  $D_2$  está acoplada a proteína  $G_{oi}$  y  $G_{oo}$ , que reduce la actividad de la AC. Su activación disminuye los niveles de  $AMP_C$  y la actividad de la PKA. Asimismo, se favorece el cierre de canales de  $Ca^{2+}$  y la apertura de canales de  $K^+$  (Centonze D *et al.*, 2001).

### 2.1.3 Glutamato

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador y se sintetiza a partir del aminoácido L-glutamina (Millan MJ, 2005). El glutamato se libera por exocitosis y se recaptura mediante un transportador de aminoácidos excitadores (EAAT) que está localizado en neuronas y células gliales (Javitt DC *et al.*, 2007). Aunado a ello, se tiene conocimiento de un circuito de regeneración para el glutamato. Este circuito de regeneración involucra la recaptura de glutamato por los astrocitos y su conversión a L-glutamina por acción de la glutamina sintetasa. Posteriormente, la

L-glutamina se libera de los astrocitos por mecanismos dependientes e independientes de  $\text{Na}^+$  para ser recapturada por un transportador de aminoácidos neutros ( $\text{SNAT}_2$ ) que se localiza en las neuronas. En de la neurona la L-glutamina se convierte en glutamato por acción de la glutaminasa (**Figura 4**) (Marcaggi P & Attwell D, 2004; Millan MJ, 2005).



**Figura 4. Síntesis del glutamato y componentes de su sinapsis.** El glutamato se almacena en vesículas antes de ser liberado al espacio sináptico. El glutamato y su coagonista L-glicina se unen al receptor NMDA para ejercer su efecto. Posteriormente, el glutamato se recaptura mediante un transportador de aminoácidos excitadores ( $\text{EAAT}_{1-5}$ ) y se convierte en L-glutamina por acción de la glutamina sintetasa. A su vez, la L-glutamina se libera de los astrocitos a través de los transportadores inversos ( $\text{SNAT}_3$ ,  $\text{ASCT}_2$ ) y se recaptura por las neuronas ( $\text{SNAT}_{1/2}$ ) para ser convertido a glutamato por acción de la glutaminasa. Por otro parte, la L-glicina se sintetiza a través de la serina hidroximetiltransferasa (Ser-OH-MeT). Asimismo, la L-glicina se recaptura por diferentes transportadores ( $\text{GlyT}_1$ ,  $\text{GlyT}_2$ , Asc-1) para su reciclaje o depuración. Modificado de *Millan MJ, 2005*.

La alteración del sistema glutamatérgico es un componente central para el inicio y progresión de varios trastornos neurodegenerativos y psiquiátricos. Debido a la complejidad de la vía y la distribución de los receptores, es complicado interpretar el papel exacto del glutamato sobre los trastornos psiquiátricos (Benes MF, 2009).

## 2.1.4 Receptores glutamatérgicos

Los receptores a glutamato se clasifican en receptores ionotrópicos y receptores metabotrópicos (Chaki S, 2010). Los receptores ionotrópicos se subdividen en 3 tipos de receptores: NMDA, AMPA y kainato. Esto con base en la molécula que los activa preferentemente: N-metil-D-aspartato (NMDA),  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionato (AMPA) y kainato, respectivamente (Novelli A *et al.*, 2005). De manera general, los receptores AMPA participan en la generación de corrientes postsinápticas excitadoras (EPSC) que son las responsables de iniciar los potenciales de acción. Asimismo, los receptores NMDA tienen un papel crítico en la plasticidad sináptica. Mientras tanto, los receptores metabotrópicos a glutamato modulan la neurotransmisión glutamatérgica (Coyle JT, 2006).

### 2.1.4.1 Receptores ionotrópicos

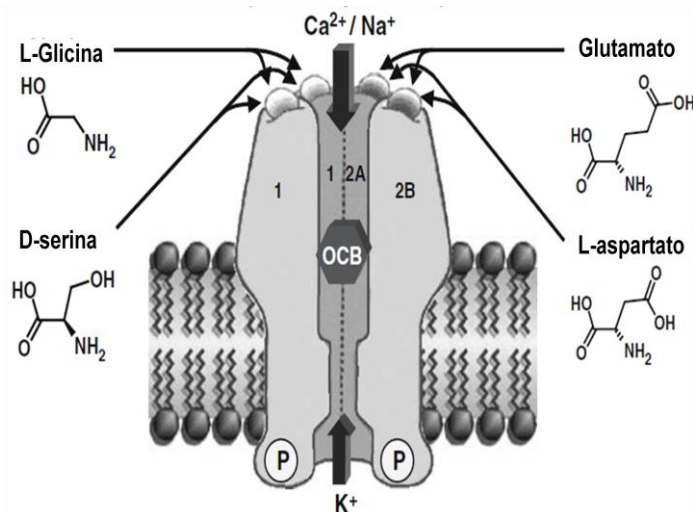
El receptor NMDA se caracteriza por tener múltiples sitios de unión. Además del sitio de unión a glutamato y NMDA, posee sitios de unión a L-glicina, D-serina,  $Zn^{2+}$ , poliaminas y un sitio de modulación rédox (Kretschmer BD, 2005; Lin CH *et al.*, 2012). Este receptor es permeable a iones  $Ca^{2+}$  y  $Na^{+}$ , pero presenta un bloqueo de  $Mg^{2+}$  sensible a voltaje (**Figura 5**) (Kantrowitz JT & Javitt DC, 2010).

La activación del receptor NMDA requiere una despolarización parcial mediada por los receptores AMPA y kainato, para lograr la remoción del bloqueo por  $Mg^{2+}$  y así permitir el flujo de iones (Tuominen HJ *et al.*, 2005; Coyle JT, 2006).

Existen 5 subunidades procedentes de 2 familias de genes para el receptor NMDA que han sido clonadas ( $NR_1$ ,  $NR_{2A-2D}$ ). La combinación de 2 subunidades  $NR_1$  y 2 subunidades  $NR_2$  conduce a una diferente funcionalidad del receptor NMDA (Gao XM *et al.*, 2000; Novelli A *et al.*, 2005). Además, existen dos subunidades adicionales denominadas  $NR_{3A}$  y  $NR_{3B}$ , que están distantemente relacionadas a las otras subunidades y están codificadas por una tercera familia de genes. Cada una de las subunidades altera de manera significativa las propiedades funcionales del receptor, tales como la sensibilidad al voltaje, conductancia y grado de influencia de los moduladores endógenos (Millan MJ, 2005; Javitt DC, 2007).

Por otro lado, existen 3 familias de genes que codifican a 9 subunidades y dan origen a los receptores AMPA y kainato. Los receptores AMPA están ensamblados

por las subunidades GluR<sub>1-4</sub> y tienen gran afinidad por AMPA y baja afinidad por kainato. Las combinaciones de subunidades ofrecen diferencias funcionales entre los receptores AMPA localizados tanto en diferentes áreas del cerebro como dentro una misma neurona (Novelli A *et al.*, 2005).



**Figura 5. Representación del receptor NMDA.** El receptor está conformado por subunidades que permiten la modulación por diferentes agonistas endógenos o fosforilación. Es permeable a iones  $\text{Na}^{+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$ , sin embargo, el flujo se restringe por un bloqueo de  $\text{Mg}^{2+}$  sensible a voltaje. Independientemente de la conformación se puede obstruir por bloqueadores de la apertura del canal (OCB) como PCP o ketamina. Modificado de Millan MJ, 2005.

Por otra parte, los receptores kainato resultan de la combinación de 5 subunidades que provienen de dos familias de genes. Una familia codifica las subunidades GluR<sub>5-7</sub> y otra familia codifica las subunidades KA<sub>1</sub> y KA<sub>2</sub> (Novelli A *et al.*, 2005).

#### 2.1.4.2 Receptores metabotrópicos

Los receptores metabotrópicos a glutamato (mGluR) modulan la excitabilidad neuronal y la transmisión sináptica (Gregory KJ *et al.*, 2013). Los mGluR incluyen 8 receptores divididos en 3 grupos en base a criterios funcionales, estructurales y transduccionales (Lin CH *et al.*, 2012). El grupo I está conformado por mGluR<sub>1</sub> y mGluR<sub>5</sub>. Están acoplados a una proteína  $G_{q/11}$  que activa a la fosfolipasa C (PLC) y produce la hidrólisis de fosfatidilinositol bifosfato ( $\text{PIP}_2$ ) y moviliza depósitos intracelulares de  $\text{Ca}^{2+}$ . Estos receptores se localizan a nivel presináptico y postsináptico de neuronas glutamatérgicas, por lo que facilitan la liberación de glutamato e incrementan la excitabilidad neuronal, respectivamente (Paz RD *et*

*al.*, 2008; Gregory KJ *et al.*, 2013). Por otro lado, el grupo II (mGluR<sub>2-3</sub>) y III (mGluR<sub>4</sub> y mGluR<sub>6-8</sub>) están acoplados a una proteína G<sub>γ/o</sub> (Chaki S, 2010). Se ubican preferentemente a nivel presináptico. Su activación reduce la actividad de PKA y los niveles de AMP<sub>C</sub>, por lo que inhibe la liberación de neurotransmisores como glutamato, acetilcolina, dopamina, serotonina, noradrenalina, acetilcolina, ácido γ-aminobutírico (GABA), entre otros (Kantrowitz JT & Javitt DC, 2010).

### 2.1.5 L-Glicina

La L-glicina es un aminoácido no esencial que se obtiene a partir del aminoácido L-serina por acción reversa de la enzima serina hidroximetiltransferasa (**Figura 4**) (Ser-OH-MeT) (Labrie V & Roder JC, 2010). La L-glicina es un modulador alostérico positivo del receptor NMDA y se requiere como coagonista para la activación de este receptor (Burnet PW *et al.*, 2008; Kantrowitz JT *et al.*, 2010). Se conoce que la L-glicina incrementa la afinidad y eficacia del glutamato sobre el receptor NMDA. Asimismo, retrasa su desensibilización e incrementa la duración y frecuencia de la apertura del canal (Millan MJ, 2005). Aunque se trata de un aminoácido abundante, está estrechamente regulado por los transportadores de glicina (GlyT<sub>1</sub>) en la sinapsis (Labrie V & Roder JC, 2010). La L-glicina puede ser removida adicionalmente por el transportador Asic-1 (transportador de alanina-serina-cisteína tipo 1) y el sistema de transportadores de aminoácidos neutros (SNAT) (Javitt DC, 2008; Burnet PW *et al.*, 2008). En el caso de astrocitos y neuronas, los transportadores responsables de remover L-glicina son SNAT<sub>5</sub> y SNAT<sub>1</sub>, respectivamente (Millan MJ, 2005). Además de GlyT<sub>1</sub> existe GlyT<sub>2</sub>. Estos transportadores comparten una homología del 50% en su secuencia de aminoácidos, pero difieren en su distribución. Mientras que GlyT<sub>2</sub> se encuentra en regiones con innervación inhibitoria glicinérgica como la médula espinal, tallo cerebral y cerebelo; el GlyT<sub>1</sub> se distribuye más ampliamente, incluso en áreas con neurotransmisión no glicinérgica como corteza y tálamo (Kretschmer BD, 2005).

### 2.1.6 Vía del NO

El óxido nítrico (NO) es una molécula biológicamente activa. Se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina por acción de la óxido nítrico sintasa (NOS) (Klamer D

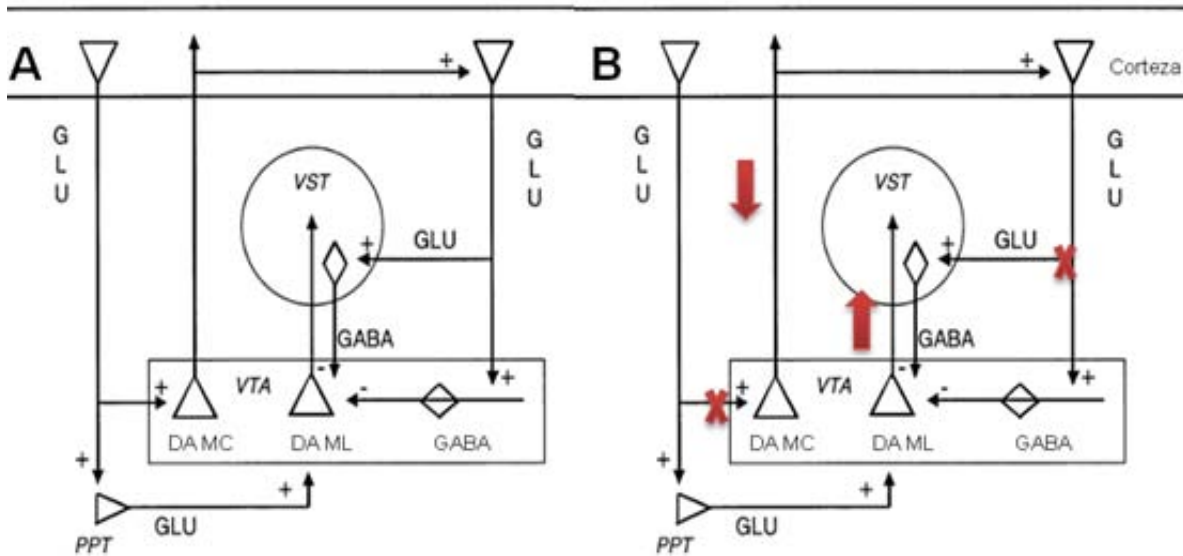
*et al.*, 2005; Lee BH & Kim YK, 2008). Esta molécula no se almacena en vesículas y no requiere unirse a un receptor de membrana para ejercer su acción sino que difunde a través ella y actúa directamente en componentes intracelulares (Baba H *et al.*, 2004). En relación con la NOS se han identificado 3 isoformas. La isoforma neuronal (nNOS o NOS I) y la endotelial (eNOS o NOS III) se expresan de manera constitutiva y se estimulan por incrementos de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. Además, existe una isoforma inducible independiente de  $\text{Ca}^{2+}$  (iNOS o NOS II) que participa en la respuesta inmune (Suzuki E *et al.*, 2002; Xu L *et al.*, 2007). El NO es un importante mensajero involucrado en varios procesos fisiológicos y fisiopatológicos (Pérez-Neri I *et al.*, 2004). El NO participa en la plasticidad sináptica que involucra los procesos de potenciación a largo plazo (LTP) y depresión a largo plazo (LTD), los cuales están estrechamente relacionados a la memoria y el aprendizaje (Tsutsuki H *et al.*, 2007). Estudios *in vivo* e *in vitro* han mostrado que el NO modula la liberación de múltiples neurotransmisores como aminoácidos excitadores e inhibidores, acetilcolina, catecolaminas, serotonina, histamina y adenosina (Suzuki E *et al.*, 2003; Lee BH & Kim YK, 2008). Otras funciones atribuidas al NO son la activación de la guanilato ciclasa (GC) para la producción de guanosín monofosfato cíclico ( $\text{GMP}_c$ ), inhibición de la citocromo oxidasa y catalasa. Se debe resaltar el hecho de que las dos últimas acciones se presentan a altas concentraciones de NO, probablemente producido por la iNOS; mientras que la primera ocurre a bajas concentraciones, inducido probablemente por eNOS o nNOS (Brown GC, 2010).

## 2.2 Antecedentes particulares

### 2.2.1 Dopamina y psicosis

El primer indicio que relacionó la psicosis con el incremento de la actividad dopaminérgica resultó del trabajo de Connell al inducir psicosis a partir de la administración de anfetaminas (Connell P, 1958). Sin embargo, la hipótesis dopaminérgica se propuso hasta 1963 cuando Carlsson A & Lindqvist M relacionaron la génesis de la psicosis con la hiperfunción del sistema dopaminérgico y la eficacia de los fármacos antipsicóticos basada en el bloqueo de los receptores D<sub>2</sub>. Adicionalmente, se ha demostrado que la administración de agonistas dopaminérgicos induce psicosis en pacientes no esquizofrénicos, lo cual confirma que el incremento en la transmisión dopaminérgica está relacionado a la generación de síntomas psicóticos (Seeman P, 2013). Igualmente, se ha encontrado un aumento en la densidad de receptores D<sub>2</sub> y D<sub>4</sub> en pacientes psicóticos esquizofrénicos (Keshavan MS *et al.*, 2008). De la misma manera, se ha observado un incremento en la acumulación de L-DOPA en estudios post mortem del estriado y ganglios basales (Laruelle M *et al.*, 2003) . Asimismo, Dean B & Hussain T, en 2001 registraron una reducción en la densidad de DAT en el estriado y sugirieron esto como parte de la explicación de la hiperactividad dopaminérgica. No obstante, aunque la alteración de la actividad dopaminérgica es un componente importante en desordenes psiquiátricos parece no ser la causa de misma. Se ha propuesto que las alteraciones en la neurotransmisión dopaminérgica son consecuencia de cambios regulatorios extrínsecos que influyen en la liberación de la dopamina a nivel del área tegmental ventral (ATV), corteza prefrontal y núcleo accumbens (**Figura 6**). Esto de acuerdo a lo encontrado por Usun Y *et al.*, en 2003 donde observaron que el bloqueo de los receptores NMDA en la corteza prefrontal aumenta la liberación de dopamina estriatal debido probablemente al bloqueo de los receptores NMDA que se localizan en interneuronas GABAérgicas.





**Figura 6. Modulación de la actividad dopaminérgica por proyecciones corticales.** *Panel A:* En condiciones normales aferencias glutamatergicas corticales modulan la actividad dopaminérgica en el ATV. Las células dopaminérgicas mesocorticales (DAMC) y mesolímbicas (DAML) son activadas de manera directa e indirecta, respectivamente. Las DAMC envían proyecciones de vuelta a la corteza para excitar a neuronas glutamatergicas responsables de activar neuronas GABAérgicas que inhiben el envío de eferencias al estriado ventral (VST) por parte de DAML. *Panel B:* A partir de la hipofunción glutamatergica se genera un desbalance a nivel de DAMC y DAML. Se genera una sobreactividad de la vía mesolímbica y una hipoactividad de la vía mesocortical. Modificado de *Laruelle M et al., 2003.*

### 2.2.2 Glutamato y psicosis

El primer trabajo que relacionó al glutamato con la psicosis lo realizó Kim JS et al., (1980), quienes registraron una reducción de los niveles de glutamato en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con psicosis en comparación con sujetos sanos. Así se formuló la hipótesis de la hipofunción glutamatergica que considera la hipofunción del receptor NMDA en la fisiopatología de la enfermedad. En ese sentido, se ha demostrado que la administración de antagonistas no competitivos del receptor NMDA como la ketamina y fenciclidina (PCP), inducen psicosis en sujetos sanos, mimetizan la esquizofrenia y precipitan los episodios psicóticos en pacientes con predisposición (Lahti AC et al., 2001). Adicionalmente, estudios *post mortem* han mostrado un incremento en la densidad de receptores NMDA en la corteza prefrontal, hipocampo y ganglios basales. Se ha sugerido esto como un mecanismo compensatorio a la reducción en la neurotransmisión glutamatergica

(Bleich S & Kornhuber J, 2005). También se ha reportado una adaptación de los receptores AMPA y kainato, Gao XM et al., en 2000 observaron una reducción en la expresión de receptores AMPA y kainato en el hipocampo y giro hipocampal. De acuerdo a lo anterior, se ha sugerido que la reducción en la expresión del receptor AMPA conduce a una sensibilización de la estimulación glutamatérgica, así como a una potenciación de los efectos neurotóxicos (Bleich S & Kornhuber J, 2005). Adicionalmente, se encontró una reducción de las vías excitadoras salientes del hipocampo y de la activación de la corteza anterior del cíngulo. De manera conjunta, se ha sugerido a ésta vía como uno de los componentes principales de la psicosis y del déficit cognitivo visto en los pacientes esquizofrénicos (Gao XM et al., 2000).

Por otro lado, parece incoherente sugerir que la excitotoxicidad inducida por glutamato participa en la psicosis de pacientes esquizofrénicos cuando en el LCR la concentración de glutamato está reducida o sin cambio en comparación con sujetos sanos (Kim JS et al., 1980). Sin embargo, se debe considerar la deficiencia en el metabolismo energético, la cual está presente en pacientes esquizofrénicos y torna a las neuronas más sensibles a concentraciones fisiológicas de glutamato y por consiguiente, las conduce a la muerte por excitotoxicidad (Pérez-Neri I et al., 2006). Esta deficiencia metabólica se asocia a una reducción en el número de mitocondrias en la corteza frontal, estriado y *substantia nigra* de pacientes esquizofrénicos (Ben-Shachar D, 2002). Dicha deficiencia involucra la presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS). Tales moléculas inhiben la cadena respiratoria mitocondrial y por tanto, reducen la disponibilidad de adenosín trifosfato (ATP). Esto disminuye la actividad de la ATPasa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , que a su vez es la responsable de mantener el potencial de membrana. De manera general, la disfunción conduce a una despolarización prolongada y al desbloqueo de los receptores NMDA; incrementándose así la actividad del receptor y la presencia de especies reactivas, volviéndose un círculo vicioso (Brown GC, 2010). Esta propuesta concuerda con el trabajo de Ben-Shachar D (2002) donde mostraron una reducción en la actividad del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial en la corteza frontal, estriado, hipocampo y

cerebelo de pacientes esquizofrénicos. Adicionalmente, la muerte por excitotoxicidad involucra la participación de interneuronas GABAérgicas. Reportes revelan que en la corteza prefrontal los receptores NMDA contribuyen a la activación de interneuronas GABAérgicas (Li Q *et al.*, 2002). A su vez, éstas inhiben a las neuronas glutamatérgicas corticales que estimulan a las neuronas piramidales corticales. No obstante, la hipofunción glutamatérgica en la corteza prefrontal reduce el tono de inhibición de las interneuronas GABAérgicas. Por lo tanto, la pérdida del tono inhibitorio incrementa la liberación de glutamato y conlleva a la muerte por excitotoxicidad de las neuronas piramidales (Tuominen HJ *et al.*, 2005). La idea de la muerte por excitotoxicidad se respalda en trabajos de otra índole. Se ha descrito que el bloqueo agudo del receptor NMDA tiene un efecto neuroprotector en modelos de daño neuronal (Pérez-Neri I *et al.*, 2006). Sin embargo, también se ha encontrado que el tratamiento con antagonistas no competitivos del receptor NMDA produce una sensibilización de las neuronas y muerte por excitotoxicidad. Por lo tanto, aunque el bloqueo del receptor NMDA tiene un efecto neuroprotector, los efectos negativos que derivan del tratamiento crónico con antagonistas del receptor NMDA producen un incremento en la expresión del receptor y se traduce en una predisposición a daño neuronal (Wang C *et al.*, 2000).

### **2.2.3 Glutamato-dopamina en psicosis**

Se ha propuesto que el déficit en la transmisión dopaminérgica no se debe a una alteración en la función de las neuronas dopaminérgicas sino que deriva de una modulación anormal de las influencias glutamatérgicas corticales, límbicas y prefrontales (Carlsson A *et al.*, 1999; Smith Y, 2005; Scott L & Aperia A, 2009). La propuesta se ha respaldado en trabajos (Miller DW & Abercrombie ED, 1996; Kegeles LS *et al.*, 2000) que demuestran que la administración de antagonistas no competitivos del receptor NMDA (MK-801, ketamina) potencializan la liberación de dopamina inducida por la administración de anfetaminas. Asimismo, otros autores reportaron una reducción de la actividad mesocortical y un incremento en la reactividad subcortical, lo cual concuerda con los postulados del desbalance dopaminérgico (Jentsch JD & Roth RH, 1999). Se ha planteado que la corteza

prefrontal modula la actividad de las neuronas dopaminérgicas tanto por una vía de activación como por una vía de inhibición, estableciéndose así una fina sincronización de la actividad dopaminérgica. La vía de activación implica proyecciones glutamatérgicas directas sobre las neuronas dopaminérgicas. En contraste, la vía de inhibición está compuesta por eferencias glutamatérgicas de la corteza prefrontal hacia las interneuronas GABAérgicas (Kegeles LS *et al.*, 2000; Jackson ME *et al.*, 2001; Javitt DC, 2007). Dentro de estas vías, las entradas glutamatérgicas juegan un papel crítico en el control del patrón de disparo de las neuronas dopaminérgicas en el ATV (Meltzer LT *et al.*, 1997; Moore M *et al.*, 1999). Las neuronas del ATV se proyectan a estructuras corticales y subcorticales que incluyen el núcleo accumbens y la corteza prefrontal (Smith Y, 2005). La estimulación de las aferencias glutamatérgicas del núcleo subtalámico o de la corteza prefrontal produce un aumento en los trenes de disparo de las neuronas dopaminérgicas del ATV y eleva la liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Kegeles LS *et al.*, 2000; Jackson ME *et al.*, 2001). Este conjunto de evidencias sugiere que el déficit en la neurotransmisión glutamatérgica deriva en la alteración de la neurotransmisión dopaminérgica y a su vez, ésta misma exacerba el déficit de la neurotransmisión glutamatérgica. A partir de esto surgió la paradoja del incremento en la liberación de dopamina en el estriado a partir de la administración de agonistas (local en el ATV) o antagonistas (sistémica) glutamatérgicos. No obstante, el modelo propuesto por Carlsson A *et al.*, (1999) y respaldado por Laruelle M *et al.*, (2003) define al sistema de activación e inhibición para comprensión de dicha paradoja (**Figura 6**).

Por otro lado, en relación con los efectos inducidos por excitotoxicidad como posible explicación del déficit glutamatérgico, Ben-Shachar D *et al.*, (2004) observaron que la incubación de cultivos celulares con dopamina [100  $\mu$ M] redujo los niveles intracelulares de ATP y concentraciones de 200  $\mu$ M redujeron la viabilidad celular; sugiriendo que la dopamina incrementa la sensibilidad al efecto neurotóxico del glutamato. Parte del efecto se le atribuyó a la disminución de la recaptura de dopamina por DAT debido a la reducción de ATP. Esto podría explicar en cierta medida el aumento en la concentración de dopamina en el espacio sináptico.

Aunado a ello, la degradación de la dopamina por la MAO<sub>A</sub> produce ROS que afectan a la cadena respiratoria mitocondrial y genera un círculo vicioso, al reducir la producción de ATP (Ben-Shachar D, 2002; Ben-Shachar D *et al.*, 2004). Dado que la vía mitocondrial regula la actividad de las caspasas mediante el control de la liberación del citocromo c por miembros pro y anti-apoptóticos de la familia de proteínas Bcl-2, la disfunción de la misma asociada a la presencia de radicales libres incrementa la proporción de miembros pro-apoptóticos (Bax, Bad) sobre anti-apoptóticos (Bcl-2, Bcl-X<sub>L</sub>), y a su vez activa la cascada de las caspasas (Glantz LA *et al.*, 2006). El citocromo c liberado forma un complejo con la caspasa-9 y Apaf-1 para formar el apoptosoma. A su vez, el complejo escinde la procaspasa-3 y forma la caspasa-3 activada para iniciar el desensamble celular (Friedlander RM, 2003). Es relevante mencionar que los mismos estímulos que desencadenan la liberación del citocromo c (disfunción mitocondrial, radicales libres, excitotoxicidad) también alteran la expresión de la familia Bcl-2 vía p53, promoviendo aún más liberación de citocromo c y subsecuentemente la activación de la caspasa-3 (Morrison RS *et al.*, 2003). No obstante, la apoptosis no induce una muerte neuronal inmediata, sino localizada, es decir, una activación apoptótica distal al cuerpo celular, lo cual podría explicar la reducción de espinas dendríticas. Esto concuerda con lo reportado por Mattson MP *et al.*, (1998) donde observaron que la administración de glutamato a una dendrita distal *in vitro* incrementó de manera localizada la actividad de la caspasa-3 sin propagarse al soma neuronal. En ese sentido, Jarskog LF *et al.*, en 2004 describieron un incremento del 50% en la proporción Bax/Bcl-2 en la corteza temporal de pacientes esquizofrénicos en comparación a sujetos sanos. Previamente, estos autores encontraron una reducción en los niveles de Bcl-2 en la corteza temporal de pacientes esquizofrénicos (Jarskog LF *et al.*, 2000).

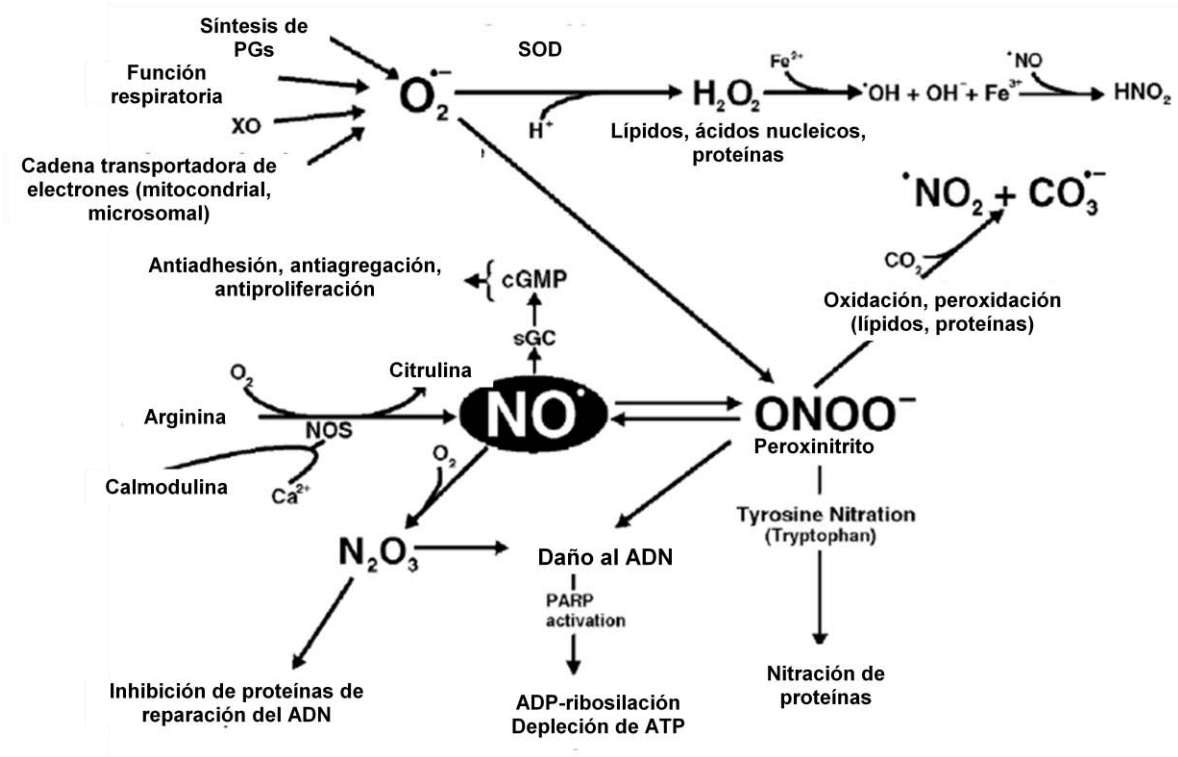
#### **2.2.4 Glicina y psicosis**

Aunado a la actividad glutamatérgica, se ha propuesto que la hipofunción del receptor NMDA se debe en cierta parte al deterioro del funcionamiento de los moduladores endógenos (Millan MJ, 2005). Estudios realizados por Hashimoto K *et al.*, (2003) encontraron que los niveles plasmáticos de L-glicina están en

equilibrio con los niveles en el cerebro, pero que tanto los niveles de L-glicina como de D-serina están reducidos en pacientes esquizofrénicos. Asimismo, Burnet PW et al., (2008) no encontraron una alteración en la expresión de GlyT<sub>1</sub>, tanto en glía como en neuronas de la corteza prefrontal dorsolateral y cerebelo. Por lo que se descartó que el exceso en la recaptura del coagonista L-glicina fuera la causa de la deficiencia en la sinapsis.

### **2.2.5 NO y psicosis**

Uno de los agentes que ha generado mayor interés recientemente sobre su posible participación en el desarrollo de psicosis es el NO. Se reconoce que el NO participa en la patogénesis de trastornos neuropsiquiátricos y neurológicos como esquizofrenia, depresión, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington y accidentes cerebro-vasculares (Bernstein HG *et al.*, 2005). Sin embargo, la manera a través de la cual participa no se ha esclarecido. Algunos autores sugieren que la participación del NO se da a través de la generación de RNS (**Figura 7**). El NO puede reaccionar con el superóxido para producir peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) y con  $\text{O}_2$  para generar dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ) y trióxido de di-nitrógeno ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) (Suzuki E *et al.*, 2003; Brown GC, 2010). Asimismo, los efectos del NO dependen de su concentración. A bajas concentraciones tiene un efecto citoprotector, mientras que a altas concentraciones resulta citotóxico (Suzuki E *et al.*, 2003; Thomas DD *et al.*, 2004). Asimismo, una de las evidencias que vincula al NO con la psicosis esquizofrénica resultó del trabajo de Baba H et al., (2004) donde observaron un aumento en la expresión nNOS en la corteza prefrontal de individuos con esquizofrenia en comparación con sujetos sanos. Por el contrario, Bujas-Bobanovic M et al., (2000) encontraron que la administración de donadores de NO bloquea el efecto inducido por PCP, mientras que los efectos de PCP se potencializan en presencia de un inhibidor de la nNOS, por lo cual los autores sugirieron que el NO participa en la actividad glutamatérgica. Igualmente, la posible participación de RNS, concuerda con lo propuesto en otro reporte donde se observa un aumento en la actividad de nNOS y generación de RNS, los cuales están relacionados a la excitotoxicidad por liberación de glutamato (Brown GC, 2010).



**Figura 7. Síntesis y reactividad del NO.** El NO se genera a partir de la conversión de L-arginina a L-citrulina por acción de la NOS. Asimismo, el NO puede reaccionar con otras moléculas y generar RNS. Las RNS tienen múltiples efectos deletéreos sobre las funciones celulares y potencializan el desarrollo de trastornos neuropsiquiátricos. Modificado de *Bernstein HG et al., 2005*.

Esto a partir de que la activación de los receptores NMDA que genera un influjo de  $Ca^{2+}$  y activa transitoriamente la nNOS para producir NO (Suzuki E *et al.*, 2003; Shang LH *et al.*, 2010). Asimismo, se ha demostrado que el uso de antagonistas no competitivos del receptor NMDA (AP-5, ketamina, MK-801) inhiben la síntesis de NO en el cerebro (Xu L *et al.*, 2007; Shang LH *et al.*, 2010).

### **3. HIPÓTESIS**

Los pacientes psiquiátricos que manifiestan delirios, alucinaciones o ambos síntomas tienen niveles incrementados de dopamina y niveles reducidos de glutamato, L-glutamina, L-glicina, L-arginina, L-citrulina, nitritos y nitratos, en el líquido cefalorraquídeo.

### **4. OBJETIVOS**

Determinar la concentración de los neurotransmisores glutamato, dopamina, óxido nítrico y L-glicina, así como de los marcadores L-glutamina, L-arginina, L-citrulina; en el líquido cefalorraquídeo de pacientes neuropsiquiátricos que manifiestan ideas delirantes, alucinaciones o ambos síntomas.

Determinar la correlación entre los neurotransmisores y marcadores de actividad biológica durante la presentación de ideas delirantes y/o alucinaciones.



## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 Población y muestra

Se utilizaron muestras de líquido cefalorraquídeo obtenidas de pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez” (INNN “MSV”). Cada uno de los pacientes se seleccionó de acuerdo a un muestreo no probabilístico de casos consecutivos. El LCR se obtuvo mediante una punción lumbar. Ninguna de las punciones se realizó con fines de estudio sino para diagnóstico diferencial o como tratamiento clínico estándar. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética Institucional. A cada uno de los pacientes se le proporcionó la información por escrito sobre la finalidad de este trabajo y aquellos que estuvieron de acuerdo firmaron un consentimiento informado. Este proyecto no incluyó voluntarios sanos debido a que la punción lumbar no está éticamente justificada. Adicionalmente, se excluyeron a aquellos pacientes contraindicados a una punción lumbar, así como a los pacientes con antecedentes de abuso de sustancias o alcohol. Las muestras de LCR recolectadas se almacenaron a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis bioquímico.

### 5.2 Reactivos

El metanol (MeOH) absoluto grado HPLC se adquirió de Mallinckrodt Baker (Kentucky, EUA). El o-ftalaldehído (OPA), 2-mercaptoetanol (ME), ácido-4-hidroxí-3-metoxi-fenilacético (HVA), octilamina, L-citrulina, ácido L-glutámico, L-glutamina, L-glicina y L-arginina se obtuvieron de Sigma (St. Louis, MO, EUA). El nitrito de sodio ( $\text{NaNO}_2$ ) y el nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ) se adquirieron de J. T. Baker (México). El MeOH se utilizó como componente de la fase móvil para la cuantificación de aminoácidos (glutamato, L-glutamina, L-glicina, L-citrulina y L-arginina) y HVA por HPLC acoplado a fluorescencia o mediante un detector electroquímico, respectivamente. La octilamina se usó como fase móvil para la cuantificación de nitritos y nitratos por HPLC-UV. El OPA/ME se utilizó para la derivatización de los aminoácidos. Todos los estándares se disolvieron en agua desionizada y se almacenaron a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## 5.3 Metodología

### 5.3.1 Determinación de HVA por HPLC acoplado a detector electroquímico

Para la determinación de HVA (principal metabolito de la dopamina) las muestras se descongelaron y se filtraron a través de una membrana de nitrocelulosa (diámetro de poro 0.45  $\mu\text{m}$ ). Posteriormente se mezclaron las muestras con un volumen equivalente de solución antioxidante de metabisulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{O}_5\text{S}_2$ ) en ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) para su inyección en una bomba isocrática (LC250, Perkin Elmer Inc.). La fase móvil consistió en un buffer de fosfatos (30 mM, pH 3.1) que contenía octil sulfato de sodio 2 mM y EDTA 1.6%. Esto en combinación con MeOH grado HPLC en relación 4:1. El volumen de flujo de la fase móvil se ajustó a 0.8 mL/min. Las señales se registraron con un detector electroquímico (Metrohm 656) estabilizado a 800 mV y con una sensibilidad de 0.5 nA. Asimismo, las señales se integraron mediante el software *Turbochrom 4.10* (Perkin Elmer Inc.). Previamente, se construyó una curva de calibración con la solución estándar de HVA para la interpolación de los datos obtenidos de las muestras. Esta curva incluyó valores de concentración dentro del intervalo de 150 a 1200 nM.

### 5.3.2 Determinación de aminoácidos por HPLC acoplado a fluorescencia

Para la cuantificación de los aminoácidos (L-glutamato, L-glutamina, L-glicina, L-arginina, L-citrulina) las muestras se descongelaron y se centrifugaron a 15000 g a 4°C durante 15 minutos. El sobrenadante se colectó en alícuotas de 25  $\mu\text{L}$  y se mezcló con un volumen equivalente del reactivo para derivatizar (reactivo OPA/ME). Posteriormente se inyectó la muestra en una bomba cuaternaria (serie 1100, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA). Asimismo, la fase estacionaria consistió en una columna Adsorbosphere OPA HS (100 x 4.6 mm, tamaño de partícula 5  $\mu\text{m}$ ). Mientras tanto, la fase móvil estuvo conformada por un buffer de acetatos (AcO 50 mmol/L, pH 5.9) con MeOH absoluto grado HPLC. El volumen de flujo de la fase móvil se ajustó a 1.5 mL/min. Es importante señalar que se estableció una relación para los disolventes, la cual consistió en una elución isocrática (0-5 minutos), seguida de un gradiente lineal (5-27 minutos); esto de acuerdo a los siguientes porcentajes: buffer de acetatos (89 % en el

intervalo de 0-5 minutos y posteriormente 89%-77% en el intervalo de 5-27 minutos) y MeOH (10% en el intervalo de 0-5 minutos y posteriormente 10%-22% en el intervalo de 5-27 minutos). Las señales se registraron a longitud de onda de excitación de 232 nm y una longitud de onda de emisión de 455 nm para ser integradas por el software *Agilent ChemStation 10.02* (serie 1100, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA). Previamente se construyó una curva de calibración con la solución estándar correspondiente para cada aminoácido. Esta curva de calibración incluyó valores de concentración dentro del intervalo de 1 a 40  $\mu\text{M}$  en todos los casos.

### **5.3.3 Determinación de marcadores de actividad del NO por HPLC-UV**

Para la determinación de nitritos + nitratos ( $\text{NO}_x$ ) (marcador de actividad de NO) las muestras se descongelaron y se centrifugaron a 15000 g a 4°C durante 15 minutos. El sobrenadante se colectó en alícuotas de 50  $\mu\text{L}$ . Posteriormente, las muestras se inyectaron en una bomba isocrática (serie 1200, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA) para su elución. La fase estacionaria consistió en una columna Lichrosorb C18 (250 x 4.6 mm, tamaño de partícula 5  $\mu\text{m}$ ). Mientras tanto, la fase móvil consistió en una solución de octilamina 0.5 mM que se ajustó a un pH 6.4 con ácido sulfúrico diluido. El volumen de flujo de la fase móvil se ajustó a 1.2 mL/min. Las señales se registraron a una longitud de onda de 228 nm y se integraron mediante el software *Agilent ChemStation A.10.02* (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA). Previamente, se construyó una curva de calibración con la solución estándar correspondiente. La curva de calibración incluyó valores de concentración dentro del intervalo de 20 a 200  $\mu\text{M}$ .

### **5.4 Diseño experimental**

Para este estudio se seleccionaron 226 pacientes del INNN “MSV”. Los pacientes se clasificaron en 4 grupos de acuerdo a los resultados obtenidos de la entrevista realizada por el personal capacitado del INNN “MSV”. Los pacientes se agruparon como delirios (n=18), alucinaciones (n=13), delirios y alucinaciones (n=72) o “control” (ningún síntoma) (n=122). Es importante señalar que el grupo “control” correspondió a pacientes sometidos a una punción lumbar para su diagnóstico

diferencial, pero que no manifestaron delirios o alucinaciones. Este estudio excluyó voluntarios sanos porque el procedimiento de punción lumbar no está éticamente justificado. Asimismo, la entrevista utilizó como criterio de clasificación al *Delirium Rating Scale* (DRS) (ver **Anexo B**). Una vez que se obtuvieron las muestras de LCR se procesaron por HPLC acoplado a diferentes sistemas (detector electroquímico, fluorescencia, UV) para su cuantificación. De manera adicional se realizó una segunda clasificación diferenciando entre los pacientes neurológicos y psiquiátricos. Dentro de los pacientes neurológicos se encontraron 9 pacientes con delirios, 8 pacientes con alucinaciones, 45 pacientes con alucinaciones y delirios, y 116 pacientes sin ningún síntoma (“control”). Para fines prácticos del estudio, la clasificación que no distinguió entre los pacientes neurológicos o psiquiátricos se denominó como “población general”, mientras que la clasificación que sí distinguió entre pacientes neurológicos o psiquiátricos se definió como “pacientes neurológicos”.

### **5.5 Análisis estadístico**

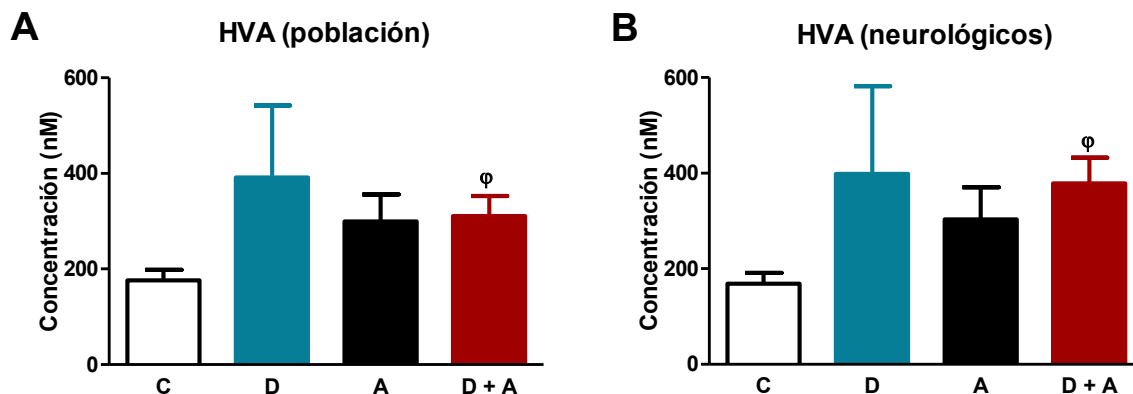
Los resultados obtenidos de la cuantificación de metabolitos y marcadores de actividad se agruparon de acuerdo a las clasificaciones previamente descritas. Los resultados se reportaron como el promedio  $\pm$  error estándar para grupo experimental en cada una de las determinaciones realizadas. Adicionalmente, se determinó la razón para la síntesis de NOx (citrulina/arginina) y la razón NO/HVA. Para establecer si había diferencia significativa entre los grupos se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la prueba de Dunns para múltiples comparaciones (PDMC). De manera simultánea, se llevaron a cabo todas las correlaciones posibles en cada subgrupo (delirios, alucinaciones, delirios y alucinaciones, control) tanto en la “población general” como en los “pacientes neurológicos”. Se realizó la correlación de Pearson o Spearman en función de la distribución de los datos. Los análisis de varianza de una vía se realizaron mediante el programa estadístico *Graph Prism 5.0* (software GraphPad Inc., San Diego, CA, EUA). Por otro lado, todas las correlaciones se realizaron mediante el programa estadístico *SPSS Statistics 20.0* (International Business

Machines Inc., Armonk, NY, EUA). Una  $P < 0.05$  se consideró significativa en todos los análisis.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Determinación de la concentración de HVA en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a detector electroquímico

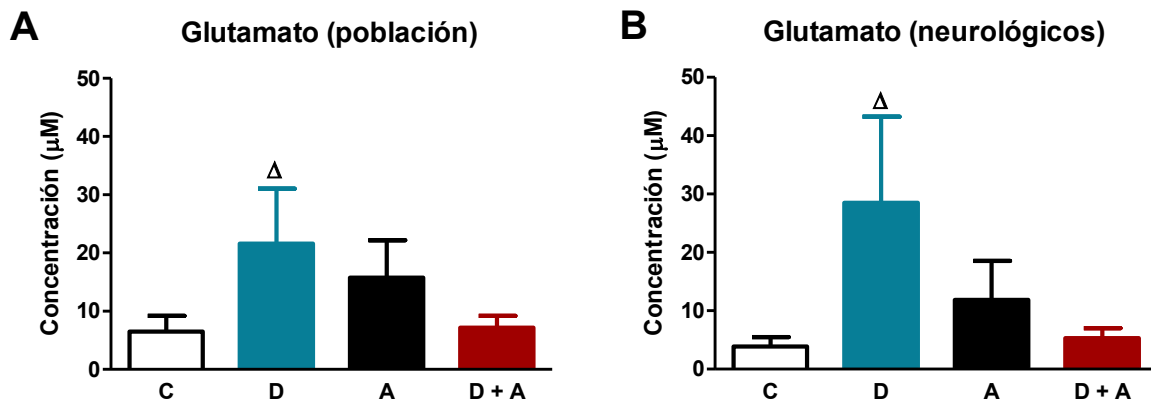
En la “población general” la concentración de HVA en el LCR sólo difirió de manera significativa en el grupo que presentó ambos síntomas ( $310.6 \pm 41.9$  nM) en relación con el grupo “control” ( $176.1 \pm 22.2$  nM). A pesar de que no hubo diferencia significativa entre los grupos de delirios ( $391.0 \pm 150.8$  nM) o alucinaciones ( $299.1 \pm 56.8$  nM) en comparación con el “control”, se observó una tendencia a incrementar los niveles de HVA en estos grupos (**Figura 8A**). Por otro lado, dentro de los “pacientes neurológicos” se conservó la diferencia significativa entre el grupo que presentó ambos síntomas ( $378.7 \pm 53.6$  nM) en relación con el “control” ( $168.8 \pm 22.4$  nM). Igualmente, se conservó la tendencia de niveles elevados de HVA en los grupos de delirios ( $398.0 \pm 183.7$  nM) o alucinaciones ( $303.1 \pm 67.0$  nM) respecto al “control” (**Figura 8B**).



**Figura 8. Determinación de la concentración de HVA en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”.** *Panel A:* representa la concentración de HVA en el LCR de la “población general” que presenta delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). *Panel B:* representa la concentración de HVA en el LCR de los “pacientes neurológicos” que presentan delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). φ Diferente en comparación con el “control” (C) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.01$ ).

## 6.2 Determinación de la concentración de glutamato en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia

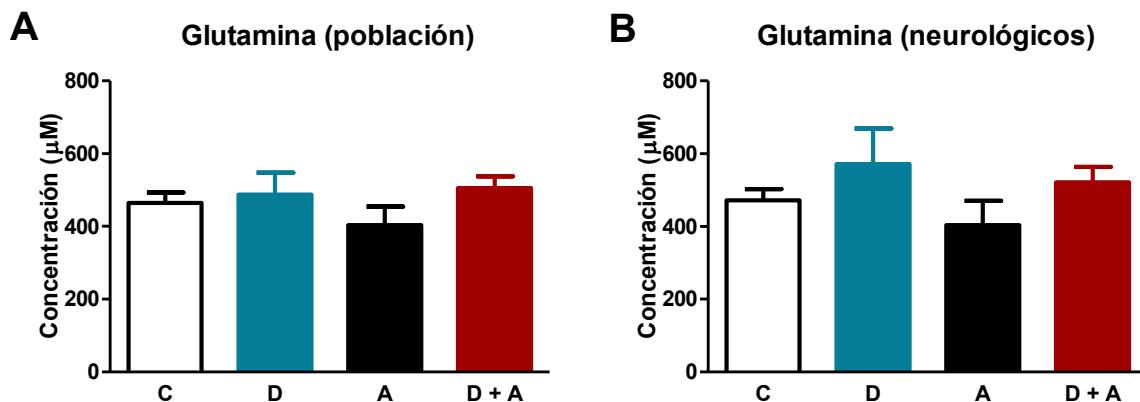
En la “población general” la concentración de glutamato en el LCR sólo difirió de manera significativa en el grupo que manifestó delirios ( $21.6 \pm 9.4 \mu\text{M}$ ) con respecto al grupo “control” ( $6.5 \pm 2.7 \mu\text{M}$ ). No se observó diferencia significativa entre el grupo de delirios en comparación con los grupos que manifestaron alucinaciones ( $15.8 \pm 6.4 \mu\text{M}$ ) o ambos síntomas ( $7.2 \pm 2.0 \mu\text{M}$ ) (**Figura 9A**). Por otro lado, dentro de los “pacientes neurológicos” se mantuvo el comportamiento observado en la “población general”, es decir, la concentración de glutamato en el LCR de los pacientes con delirio ( $28.4 \pm 14.8 \mu\text{M}$ ) difirió significativamente en comparación con el “control” ( $3.9 \pm 1.6 \mu\text{M}$ ), pero no en relación con el grupo de alucinaciones ( $11.8 \pm 6.7 \mu\text{M}$ ) o ambos síntomas ( $5.3 \pm 1.7 \mu\text{M}$ ) (**Figura 9B**).



**Figura 9. Determinación de la concentración de glutamato en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”.** *Panel A:* representa la concentración de glutamato en el LCR de la “población general” que presenta delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). *Panel B:* representa la concentración de glutamato en el LCR de los “pacientes neurológicos” que presentan delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). Δ Diferente en comparación con el “control” (C) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.05$ ).

### 6.3 Determinación de la concentración de L-glutamina en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia

En la “población general” la concentración de L-glutamina en el LCR no difirió de manera significativa entre los grupos, es decir, la concentración de L-glutamina en el grupo con delirios ( $487.7 \pm 59.7 \mu\text{M}$ ), alucinaciones ( $404.0 \pm 50.7 \mu\text{M}$ ) o ambos síntomas ( $505.4 \pm 32.3 \mu\text{M}$ ), no fue diferente en comparación con el grupo “control” ( $464.3 \pm 28.9 \mu\text{M}$ ) (**Figura 10A**). Asimismo, dentro de los “pacientes neurológicos” tampoco se observó diferencia significativa entre los pacientes con delirios ( $571.8 \pm 97.2 \mu\text{M}$ ), alucinaciones ( $403.6 \pm 66.8 \mu\text{M}$ ) o ambos síntomas ( $521 \pm 42.7 \mu\text{M}$ ) con respecto al “control” ( $471.6 \pm 30.9 \mu\text{M}$ ) (**Figura 10B**). Sin embargo, se percibió una ligera tendencia a incrementar los niveles de L-glutamina en “pacientes neurológicos” con delirios en relación con el grupo “control”.

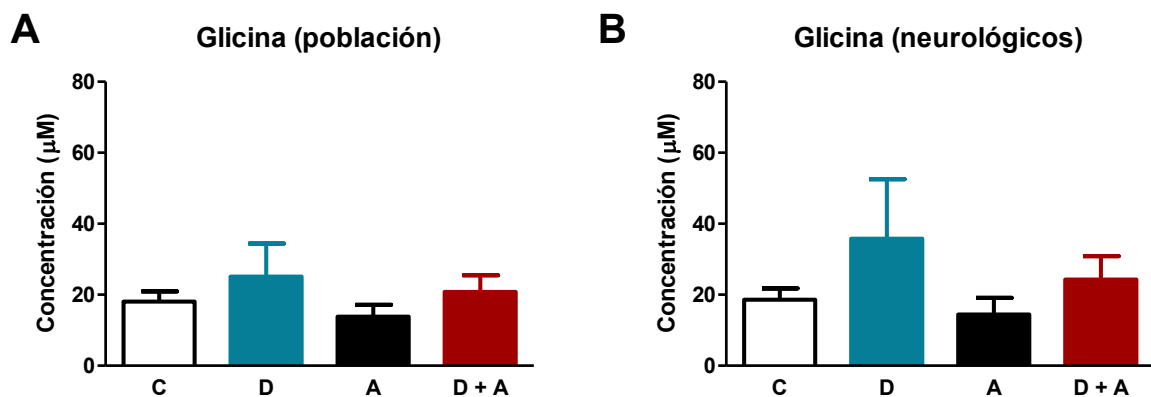


**Figura 10. Determinación de la concentración de L-glutamina en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”.** *Panel A:* representa la concentración de L-glutamina en el LCR de la “población general” que presenta delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). *Panel B:* representa la concentración de L-glutamina en el LCR de los “pacientes neurológicos” que presentan delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). \* Diferente en comparación con el “control” (C) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.01$ ).



#### 6.4 Determinación de la concentración de L-glicina en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia

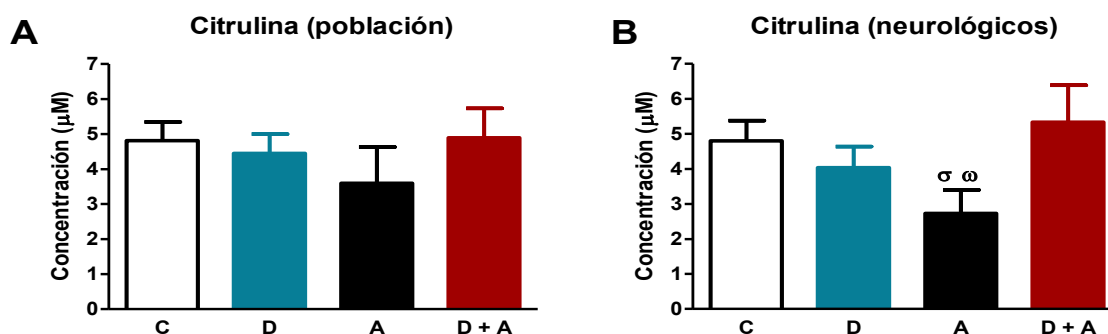
En la “población general” la concentración de L-glicina en el LCR no mostro diferencia significativa entre los grupos de delirios ( $25.1 \pm 9.4 \mu\text{M}$ ), alucinaciones ( $13.9 \pm 3.3 \mu\text{M}$ ) o ambos síntomas ( $20.8 \pm 4.8 \mu\text{M}$ ) en relación con el grupo “control” ( $18.0 \pm 2.9 \mu\text{M}$ ). No obstante, los resultados mostraron una ligera tendencia de aumento en la concentración de L-glicina en pacientes con delirios, así como una disminución en los pacientes con alucinaciones. Ambos en relación al “control”. La tendencia de aumento o disminución en la concentración de L-glicina desapareció en el grupo con ambos síntomas (**Figura 11A**). Con respecto al grupo de “pacientes neurológicos” no hubo diferencia significativa en la concentración de glicina entre los grupos de delirios ( $35.8 \pm 16.8 \mu\text{M}$ ), alucinaciones ( $14.4 \pm 4.7 \mu\text{M}$ ), ambos síntomas ( $24.3 \pm 6.6 \mu\text{M}$ ) en relación con el “control” ( $18.6 \pm 3.2 \mu\text{M}$ ). Las tendencias observadas en la “población general” se conservaron en los “pacientes neurológicos” con delirios o alucinaciones (**Figura 11B**).



**Figura 11. Determinación de la concentración de L-glicina en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”.** *Panel A:* representa la concentración de L-glicina en el LCR de la “población general” que presenta delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). *Panel B:* representa la concentración de L-glicina en el LCR de los “pacientes neurológicos” que presentan delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). \* Diferente en comparación con el “control” (C) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.01$ ).

### 6.5 Determinación de la concentración de L-citrulina en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia

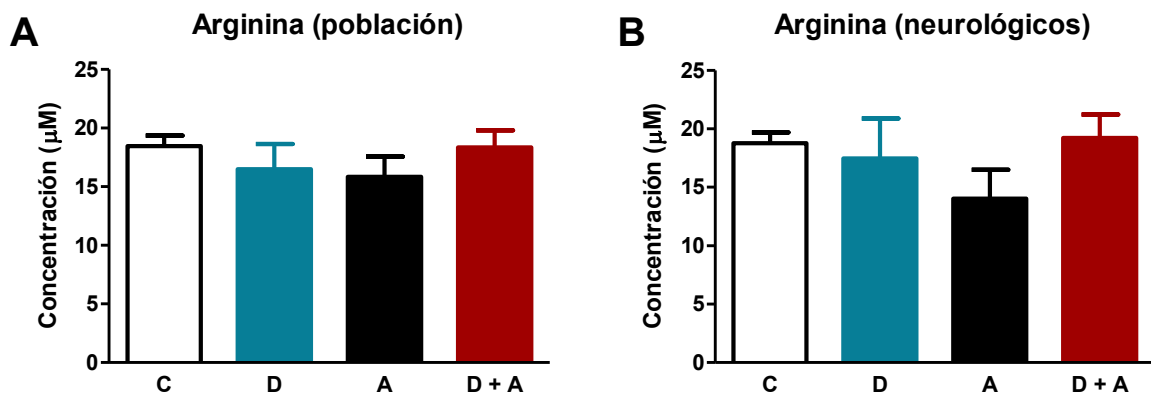
La concentración de L-citrulina en el LCR de la “población general” no difirió entre los grupos, es decir, no se encontró diferencia significativa entre los grupos de delirios ( $4.4 \pm 0.6 \mu\text{M}$ ), alucinaciones ( $3.6 \pm 1.0 \mu\text{M}$ ) o ambos síntomas ( $4.9 \pm 0.8 \mu\text{M}$ ) en comparación con el grupo “control” ( $4.8 \pm 0.5 \mu\text{M}$ ) (**Figura 12A**). En contraste, dentro de los “pacientes neurológicos” se mostro una reducción significativa en la concentración de L-citrulina en los pacientes con alucinaciones ( $2.7 \pm 0.7 \mu\text{M}$ ) en relación con el “control” ( $4.8 \pm 0.6 \mu\text{M}$ ). Adicionalmente, la concentración de L-citrulina en los pacientes con alucinaciones también fue diferente del grupo de pacientes que exhibieron ambos síntomas ( $5.3 \pm 1.0 \mu\text{M}$ ), pero no de aquellos que sólo manifestaron delirios ( $4.0 \pm 0.6 \mu\text{M}$ ). Por otro lado, se observó una ligera tendencia a disminuir la concentración de L-citrulina entre los pacientes que presentaron ya sea delirios o alucinaciones en relación con el “control”. Sin embargo, esta tendencia no se observó en los pacientes que presentaron ambos síntomas (**Figura 12B**).



**Figura 12. Determinación de la concentración de L-citrulina en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”.** *Panel A:* representa la concentración de L-citrulina en el LCR de la “población general” que presenta delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). *Panel B:* representa la concentración de L-citrulina en el LCR de los “pacientes neurológicos” que presentan delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C).  $\omega$  Diferente en comparación con el “control” (C) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.01$ ).  $\sigma$  Diferente en comparación con el grupo de delirios + alucinaciones (D + A) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.05$ ).

## 6.6 Determinación de la concentración de L-arginina en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC acoplado a fluorescencia

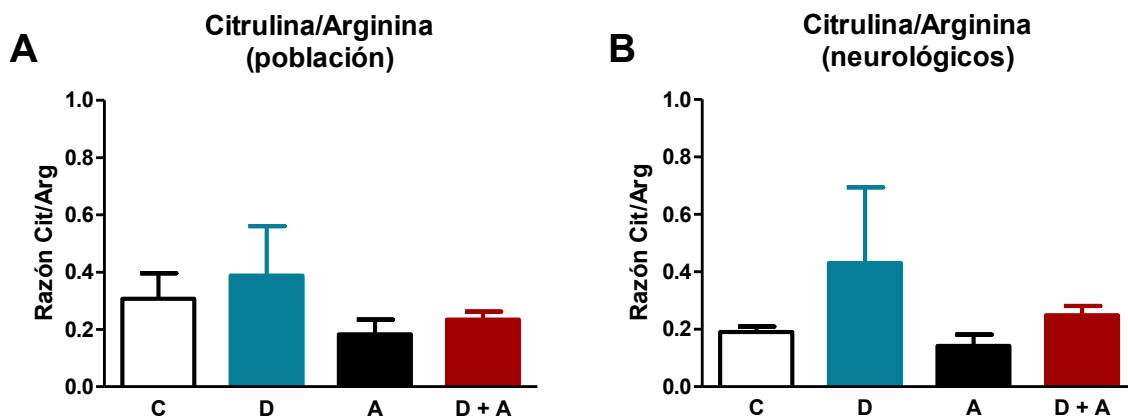
En la “población general” la concentración de L-arginina en el LCR no difirió entre los grupos, es decir, la concentración de L-arginina en el grupo con delirios ( $16.5 \pm 2.1 \mu\text{M}$ ), alucinaciones ( $15.8 \pm 1.7 \mu\text{M}$ ) o ambos síntomas ( $18.4 \pm 1.5 \mu\text{M}$ ), no fue diferente en comparación con el grupo “control” ( $18.5 \pm 0.9 \mu\text{M}$ ) (**Figura 13A**). Por otro lado, dentro de los “pacientes neurológicos” tampoco se observó diferencia significativa entre los grupos. Sin embargo, se pudo percibir una ligera reducción en la concentración de arginina en los pacientes con alucinaciones ( $14.0 \pm 2.5 \mu\text{M}$ ) en relación con el “control” ( $18.8 \pm 0.9 \mu\text{M}$ ). Esta tendencia no se observó entre los “pacientes neurológicos” que presentaron ambos síntomas ( $19.2 \pm 2.0 \mu\text{M}$ ) o sólo delirios ( $17.5 \pm 3.4 \mu\text{M}$ ) (**Figura 13B**).



**Figura 13. Determinación de la concentración de L-arginina en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”.** *Panel A:* representa la concentración de L-arginina en el LCR de la “población general” que presenta delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). *Panel B:* representa la concentración de L-arginina en el LCR de los “pacientes neurológicos” que presentan delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). \* Diferente en comparación con el “control” (C) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.01$ ).

## 6.7 Determinación de la razón citrulina/arginina (marcador de actividad del NO)

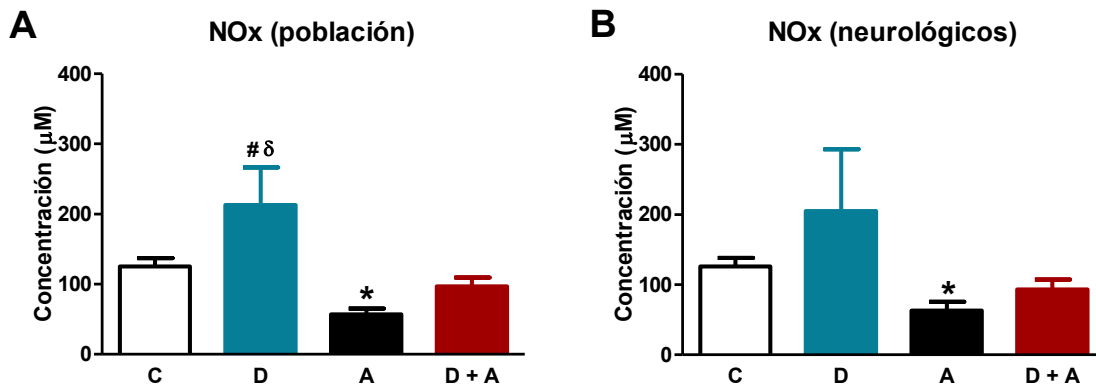
Adicional a la determinación de la concentración de marcadores de actividad se decidió definir la proporción entre los mismos. Para ello, se calculo el cociente del marcador de síntesis del NO, es decir, la proporción de citrulina/arginina. Después de establecer y comparar las proporciones no se observó diferencia significativa entre los grupos de la “población general”. Sin embargo, se visualizo una ligera tendencia a ser mayor la proporción en los pacientes con delirios ( $0.39 \pm 0.17$ ) y menor en pacientes con alucinaciones ( $0.18 \pm 0.05$ ). Ambas tendencias en comparación con el “control” ( $0.30 \pm 0.09$ ) (**Figura 14A**). Por otro lado, dentro de los “pacientes neurológicos” se conservó el mismo comportamiento observado en la “población general” (**Figura 14B**).



**Figura 14. Razón del marcador de actividad del NO (citrulina/arginina) en la “población general” y en “pacientes neurológicos”.** *Panel A:* representa la proporción de citrulina/arginina de la “población general” que presenta delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). *Panel B:* representa la proporción de citrulina/arginina en los “pacientes neurológicos” que presentan delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). \* Diferente en comparación con el “control” (C) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.01$ ).

### **6.8 Determinación de la concentración de NO<sub>x</sub> en el LCR de pacientes psicóticos por HPLC-UV**

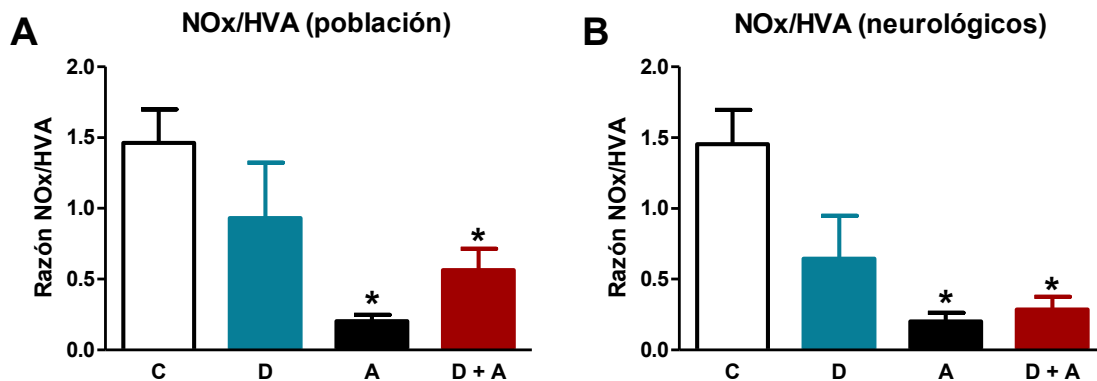
El NO tiene una vida media muy corta y es difícil de cuantificar directamente por lo que se decidió cuantificar de manera indirecta a través de sus metabolitos, nitritos y nitratos, los cuales son moléculas estables. Para fines prácticos se reportaron ambos metabolitos juntos como NO<sub>x</sub>. En la “población general” la concentración de NO<sub>x</sub> en el LCR mostro una disminución significativa en el grupo de alucinaciones ( $57.1 \pm 8.3 \mu\text{M}$ ) en relación con el “control” ( $125.1 \pm 12.1 \mu\text{M}$ ). No hubo diferencia en los niveles de NO<sub>x</sub> del grupo de delirios ( $213.0 \pm 53.4 \mu\text{M}$ ) en comparación con el “control”, pero si hubo diferencia significativa en relación los grupos que presentaron ambos síntomas ( $96.7 \pm 12.9 \mu\text{M}$ ) o sólo alucinaciones (**Figura 15A**). Por otro lado, dentro de los “pacientes neurológicos” la concentración de NO<sub>x</sub> del grupo con alucinaciones ( $63.3 \pm 12.5 \mu\text{M}$ ) continuo siendo significativamente menor en relación con el “control” ( $125.7 \pm 12.4 \mu\text{M}$ ), pero ya no se observó la diferencia entre el grupo de delirios ( $205.1 \pm 87.8 \mu\text{M}$ ) en relación con los grupos que manifestaron ambos síntomas ( $93.5 \pm 14.1 \mu\text{M}$ ) o solamente alucinaciones (**Figura 15B**).



**Figura 16. Determinación de la concentración de NOx en el LCR de la “población general” y en “pacientes neurológicos”.** *Panel A:* representa la concentración de NOx en el LCR de la “población general” que presenta delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). *Panel B:* representa la concentración de NOx en el LCR de los “pacientes neurológicos” que presentan delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). \* Diferente en comparación con el “control” (C) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.05$ ). # Diferente en comparación con el grupo de alucinaciones (A) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.01$ ).  $\delta$  Diferente en comparación con el grupo de alucinaciones + alucinaciones (D + A) por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.05$ ).

## 6.9 Determinación de la razón NOx/HVA

Anteriormente se ha reportado la existencia de un balance dinámico entre la dopamina y el NO. Por lo tanto, se decidió evaluar dicho balance a través de la determinación de la razón de sus metabolitos (NOx/HVA). Los resultados mostraron una reducción significativa de la proporción NOx/HVA en los grupos que presentaron alucinaciones ( $0.20 \pm 0.05$ ) o ambos síntomas ( $0.56 \pm 0.15$ ), pero no en aquellos que solo manifestaron delirios ( $0.93 \pm 0.39$ ). Los resultados se establecieron en comparación con el “control” ( $1.46 \pm 0.24$ ) (**Figura 17A**). Mientras tanto, dentro de los “pacientes neurológicos” se conservó la reducción significativa del grupo que presentó ambos síntomas ( $0.29 \pm 0.09$ ) o sólo alucinaciones ( $0.20 \pm 0.06$ ) en relación con el grupo “control” ( $1.46 \pm 0.24$ ). Asimismo, surgió una tendencia a disminuir la razón NOx/HVA en el grupo de delirios ( $0.64 \pm 0.30$ ) en relación con el grupo “control” (**Figura 17B**).



**Figura 17. Determinación de la razón NOx/HVA en la “población general” y en “pacientes neurológicos”.** *Panel A:* representa la razón NOx/HVA de la “población general” que presenta delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). *Panel B:* representa la razón NOx/HVA en los “pacientes neurológicos” que presentan delirios (D), alucinaciones (A), delirios + alucinaciones (D + A) o ningún síntoma “control” (C). \* Diferente en comparación con el “control” por análisis de varianza de una vía (ANDEVA-Kruskal-Wallis) seguido de la PDMC ( $P < 0.05$ ).

## 6.10 Determinación de las correlaciones entre los neurotransmisores y marcadores de actividad biológica

Debido a que no existe un indicio que sugiera la aparición de uno u otro síntoma psicótico (ideas delirantes o alucinaciones) se decidieron llevar a cabo todas las correlaciones posibles tanto en la “población general” como en los “pacientes neurológicos” en búsqueda de un indicio. Los resultados completos de las correlaciones se muestran en el **anexo C**. Mientras tanto, la **Tabla 3** resume sólo aquellos que mostraron correlación en al menos una condición. En el grupo “control” se observó correlación entre NO-glutamato ( $r=0.355$ ,  $p=0.010$ ), NO-Cit/Arg ( $r=0.327$ ,  $p=0.022$ ), HVA-citrulina ( $r=-0.382$ ,  $p=0.018$ ), glutamina-glicina ( $r=0.505$ ,  $p=0.001$ ), glutamina-citrulina ( $r=0.485$ ,  $p=0.001$ ), glutamina-arginina ( $r=0.694$ ,  $p=0.001$ ), glicina-citrulina ( $r=0.696$ ,  $p=0.001$ ), glicina-arginina ( $r=0.592$ ,  $p=0.001$ ), glicina-citrulina/arginina ( $r=0.594$ ,  $p=0.001$ ), citrulina-arginina ( $r=0.666$ ,  $p=0.05$ ), citrulina-NOx/HVA ( $r=0.470$ ,  $p=0.003$ ), citrulina-citrulina/arginina ( $r=0.881$ ,  $p=0.001$ ), arginina-NOx/HVA ( $r=0.343$ ,  $p=0.023$ ) y arginina-citrulina/arginina ( $r=0.307$ ,  $p=0.026$ ). Todas las correlaciones se observaron tanto en la “población general” como en los “pacientes neurológicos”. En el grupo de delirios tanto para la “población general” y como para “pacientes neurológicos” se observó correlación entre HVA-NOx/HVA ( $r=-0.927$ ,  $p=0.001$ ), glutamato-citrulina/arginina ( $r=0.645$ ,  $p=0.029$ ) y citrulina-citrulina/arginina ( $r=-0.845$ ,  $p=0.001$ ). Mientras tanto, dentro del grupo de alucinaciones se encontró correlación entre NOx-glutamato ( $r=-0.823$ ,  $p=0.003$ ), glicina-citrulina ( $r=0.886$ ,  $p=0.033$ ) y glicina-citrulina/arginina ( $r=-0.690$ ,  $p=0.017$ ). Por último, en el grupo que manifestó ambos síntomas se observó correlación entre NOx-NOx/HVA ( $r=0.392$ ,  $p=0.032$ ), HVA-NOx/HVA ( $r=-0.669$ ,  $p=0.001$ ), glutamato-glicina ( $r=0.467$ ,  $p=0.009$ ), glutamina-NOx/HVA ( $r=0.527$ ,  $p=0.012$ ), glicina-citrulina ( $r=0.609$ ,  $p=0.001$ ), glicina-citrulina/arginina ( $r=0.488$ ,  $p=0.006$ ) y citrulina-citrulina/arginina ( $r=0.840$ ,  $p=0.001$ ).



**Tabla 3.** Resumen de las correlaciones observadas en la “población general” y en los “pacientes neurológicos”.

| Factor A  | Factor B  | Población general |   |   |       | Pacientes neurológicos |   |   |       |
|-----------|-----------|-------------------|---|---|-------|------------------------|---|---|-------|
|           |           | C                 | D | A | D + A | C                      | D | A | D + A |
| NOx       | Glutamato | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
|           | Glutamina |                   |   | ✓ |       | ✓                      |   | ✓ | ✓     |
|           | NOx/HVA   | ✓                 |   |   | ✓     | ✓                      |   |   | ✓     |
|           | Cit/Arg   | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
| HVA       | Glutamina |                   | ✓ |   |       |                        |   |   |       |
|           | Glicina   |                   | ✓ |   |       |                        |   |   |       |
|           | Citrulina | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
|           | NOx/HVA   | ✓                 | ✓ |   | ✓     | ✓                      | ✓ |   | ✓     |
|           | Edad      |                   |   |   | ✓     |                        |   |   |       |
| Glutamato | Glicina   |                   | ✓ | ✓ | ✓     |                        |   |   | ✓     |
|           | Citrulina |                   |   |   |       |                        | ✓ |   | ✓     |
|           | Cit/Arg   |                   | ✓ |   |       |                        | ✓ |   |       |
| Glutamina | Glicina   | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
|           | Citrulina | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
|           | Arginina  | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
|           | NOx/HVA   |                   | ✓ |   | ✓     |                        |   |   | ✓     |
|           | Cit/Arg   | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
| Glicina   | Citrulina | ✓                 |   | ✓ | ✓     | ✓                      |   | ✓ | ✓     |
|           | Arginina  | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
|           | Cit/Arg   | ✓                 |   | ✓ | ✓     | ✓                      |   | ✓ | ✓     |
| Citrulina | Arginina  | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
|           | NOx/HVA   | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
|           | Cit/Arg   | ✓                 | ✓ |   | ✓     | ✓                      | ✓ |   | ✓     |
| Arginina  | NOx/HVA   | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |
|           | Cit/Arg   | ✓                 |   |   |       | ✓                      | ✓ |   |       |
| NOx/HVA   | Cit/Arg   | ✓                 |   |   |       | ✓                      |   |   |       |

D = delirios; A = alucinaciones; D+A = delirios y alucinaciones; C = control  
 ✓ = existencia de correlación entre el factor A y el factor B

## 7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Numerosos estudios señalan que el desarrollo de trastornos neurológicos que involucran síntomas psicóticos son consecuencia directa de una alteración en los sistemas neurobiológicos (Kegeles LS *et al.*, 2000; Ramírez-Bermúdez J *et al.*, 2008; Field JR *et al.*, 2011). Sin embargo, hasta la fecha no existe un reporte que indique cuáles son sistemas que diferencian la presentación de delirios o alucinaciones, es decir, la presencia de mecanismos comunes e independientes que regulen la aparición de uno u otro síntoma. Tomando como punto de partida la hiperactividad dopaminérgica (Carlsson A & Lindqvist M, 1963) y la hipoactividad glutamatérgica (Kim JS *et al.*, 1980) observada en pacientes psicóticos, este trabajo se planteó determinar la concentración de los neurotransmisores glutamato, dopamina, NO y L-glicina; y los marcadores de actividad, L-arginina, L-citrulina y L-glutamina; en el LCR de pacientes psiquiátricos. Además, este estudio busco esclarecer cuáles son los mecanismos comunes e independientes que diferencian la presentación de delirios, alucinaciones o ambos síntomas.

La psicosis es una enfermedad neuropsiquiátrica que se caracteriza por una alteración en el juicio de realidad (Pérez-Neri I *et al.*, 2011). Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) distingue entre estos dos tipos de trastornos; definiendo como “trastorno neurológico” a aquella enfermedad que afecte al SNC y SNP. Mientras tanto, los “trastornos psiquiátricos” son aquellas enfermedades que se manifiestan como trastornos del pensamiento, emociones y comportamiento (OMS, 2014). Al respecto, nuestros datos no muestran diferencia cuando son tratados de manera global (población general) o cuando son analizados de manera particular (pacientes neurológicos). Esto sugiere que los trastornos psiquiátricos derivan de un problema neurológico previo y no se trata de eventos independientes, por lo tanto, es válido hacer el análisis a partir de la “población general”. Por otra parte, nuestros datos mostraron un aumento en la concentración de HVA (principal metabolito de la dopamina) en los pacientes con delirios, alucinaciones o ambos síntomas, en comparación con el “control”. Aunque este aumento sólo resultó significativo en el grupo que manifestó ambos síntomas, hay una clara tendencia a aumentar en relación con el “control”. El aumento en la

actividad dopaminérgica coincide con lo obtenido en otros trabajos acerca de trastornos neurológicos con síntomas psicóticos (Pérez-Neri I *et al.*, 2006a; Ramírez-Bermúdez J *et al.*, 2008, 2009). A partir de estos datos se puede sugerir que la hiperactividad dopaminérgica es un mecanismo común para el desarrollo de delirios o alucinaciones. No obstante, autores señalan que la desregulación en la transmisión dopaminérgica no es el origen de los trastornos neurológicos sino que deriva de una modulación anormal de las influencias glutamatérgicas extrínsecas (Carlsson A *et al.*, 1999; Smith Y, 2005; Usun Y *et al.*, 2013). Estas influencias son capaces de conducir a una liberación excesiva de dopamina en el estriado o una liberación reducida en la corteza prefrontal (Kegeles LS *et al.*, 2000; Field JR *et al.*, 2011). Una de las principales vías involucradas es la pérdida de proyección cortico-estriatal proveniente de la corteza prefrontal que regula la liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Smith Y, 2005). En este sentido, Jackson ME *et al.*, (2001) mostraron que en condiciones normales la estimulación de aferencias glutamatérgicas provenientes de la corteza prefrontal produce una inhibición en la liberación de dopamina en el núcleo accumbens por activación de interneuronas GABAérgicas que proyectan en el ATV. No obstante, cuando existe una hipofunción del receptor NMDA se reduce el tono GABAérgico y se modifica la liberación de dopamina en el núcleo accumbens. Otras proyecciones involucradas son las amigdaló-estriatal e hipocampo-estriatal, pero la interpretación de su papel no se ha esclarecido (Smith Y, 2005; Chaki S, 2010). Con base en estos antecedentes, se necesita determinar la concentración de glutamato para los diferentes grupos. Nuestros datos muestran un aumento en la concentración de glutamato en los pacientes con delirios. Sin embargo, el resto de los grupos no mostró cambio en comparación con el "control". Estos resultados difieren con lo reportado en la literatura (Keshavan MS *et al.*, 2008; Lin CH *et al.*, 2012). Sin embargo, parte de los mismos coinciden con el trabajo original del cual derivó la teoría de la hipoactividad glutamatérgica (Kim JS *et al.*, 1980). Esta teoría fue corroborada por Lahti AC *et al.*, en 2001 al demostrar que la administración de antagonistas no competitivos del receptor NMDA inducía psicosis en sujetos sanos y exacerba los síntomas psicóticos en sujetos esquizofrénicos. Aunque nuestros

datos no son concisos acerca de si la actividad glutamatérgica regula la presentación de delirios o alucinaciones, no se debe descartar esta posibilidad. Por otra parte, se ha descrito que la actividad glutamatérgica mediada por el receptor NMDA está modulada por los coagonistas endógenos L-glicina y D-serina (Millan MJ, 2005). Ambos coagonistas son moduladores positivos del receptor NMDA (Kretschmer BD, 2005). Se ha propuesto que la modulación glicinérgica se encuentra reducida en los pacientes psicóticos esquizofrénicos (Burnet PW *et al.*, 2008), pero hasta el momento poco se conoce acerca de las alteraciones en los niveles de L-glicina. Después de cuantificar la concentración de L-glicina en los 4 grupos, nuestros resultados no mostraron diferencia entre ellos. Por lo tanto, se sugiere que la concentración de L-glicina no favorece la aparición de uno u otro síntoma psicótico. En relación con esto, Burnet PW *et al.*, en 2008 observaron que la expresión del principal transportador de glicina (GlyT<sub>1</sub>) no está alterada la corteza prefrontal de pacientes esquizofrénicos. Sin embargo, la expresión del transportador secundario SNAT<sub>2</sub> se encontró reducida. La importancia de este transportador que se expresa en neuronas radica en que además de transportar el aminoácido L-glicina puede transportar L-glutamina (Marcaggi P & Attwell D, 2004). La L-glutamina participa en el ciclo de regeneración del glutamato mediante las enzimas glutamina sintetasa y glutaminasa (Millan MJ, 2005). Dado que la disminución en la expresión de SNAT<sub>2</sub> pudiera alterar la síntesis de glutamato por limitación del sustrato, se decidió determinar la concentración de L-glutamina. Nuestros datos no encontraron ningún cambio significativo en la concentración de L-glutamina en comparación al “control”. Por lo tanto, se sugiere que la diferencia en la concentración de glutamato en los pacientes con delirios no deriva de una alteración en la síntesis de L-glutamina, pero no se descarta que sea consecuencia de una alteración en la recaptura del aminoácido L-glutamina por parte de las neuronas. Adicionalmente, se debe considerar que sólo una fracción de glutamato se convierte en L-glutamina (~33%). Otro porcentaje se transforma en  $\alpha$ -cetoglutarato (~ 20%) por acción de la glutamato deshidrogenasa y entra al ciclo de Krebs para la generación de energía. El resto se recaptura por las neuronas (EAAT<sub>2/5</sub>) o se recicla por otra vía. Se ha sugerido que dicha vía

involucra la generación de alanina por acción de la alanina aminotransferasa (ALAT) (Marcaggi P & Attwell D, 2004). Aunado a ello, la expresión de Asic-1, (transportador de L-alanina en la neurona) se encuentra también reducido en pacientes esquizofrénicos (Burnet PW *et al.*, 2008). Además, el reciclamiento de glutamato mediado por alanina no ha sido estudiado a detalle, por lo tanto, no se conoce cuál es el impacto que tiene sobre la síntesis de glutamato. Una vez evaluada la actividad dopaminérgica y glutamatérgica, así como sus precursores (L-glutamina) o moduladores (L-glicina), se puede sugerir que más agentes están involucrados en la diferenciación de uno u otro síntoma psicótico. Uno de los agentes que ha generado mayor interés recientemente es el NO. Esta molécula se genera a partir de la conversión de L-arginina a L-citrulina (Wegener G *et al.*, 2000) por acción de la NOS (Bernstein HG *et al.*, 2005). Múltiples autores (Yanik M *et al.*, 2003; Akyol O *et al.*, 2004) expresan que el NO participa en la fisiopatología de diferentes trastornos neurológicos, entre ellos la psicosis de pacientes esquizofrénicos. Asimismo, se describe que la participación de NO puede ser independiente de la activación del receptor NMDA (Hong JT *et al.*, 2005), pero la manera en la que actúa no ha sido descrita todavía. Dado que la vida media del NO es muy corta, resulta complejo la cuantificación directa de NO. Además, los escasos estudios que han logrado cuantificar el NO de manera directa muestran gran variabilidad en los resultados (Hall CN & Garthwaite J, 2009). Este inconveniente ha llevado a la cuantificación indirecta de NO a través de sus metabolitos, es decir, nitritos y nitratos (NOx). Estos metabolitos son marcadores confiables de la generación de NO (Ramírez J *et al.*, 2004; Akyol O *et al.*, 2004). Al respecto, nuestros resultados mostraron una disminución en la concentración de NOx en los pacientes con alucinaciones en comparación con el grupo "control". En contraste, la concentración de NOx en pacientes con delirios resultó significativamente mayor en comparación con los pacientes que manifestaron alucinaciones o ambos síntomas. Estos datos podrían ser la clave para la diferenciación de delirios o alucinaciones, es decir, la presentación de uno u otro síntoma dependería de la concentración de NO. En apoyo a la propuesta, se encontró que la concentración de glutamato correlaciona positivamente con la

concentración de NO ( $r=0.355$ ,  $p=0.010$ ) únicamente en el grupo “control”. En este sentido, se acepta que la generación de NO es un reflejo de la actividad glutamatérgica mediada por el receptor NMDA (Akyol O *et al.*, 2004; Bernstein HG *et al.*, 2005). El hecho de que glutamato no correlacione con NO para todos los grupos sugiere un desbalance entre NO y glutamato. Nuestros resultados también muestran una correlación entre citrulina-citrulina/arginina en todos los grupos con excepción del grupo de delirios, por lo tanto, se sugiere que al menos una parte de la síntesis de NO es independiente de la activación del receptor NMDA. Esta cuestión podría ser explicada a través del gran número de pacientes con infecciones en el SNC y que indirectamente favorecería la activación de iNOS, como se ha observado en otros trastornos neurológicos (Akyol O *et al.*, 2004). Considerando que el NO deriva de la conversión de L-arginina a L-citrulina (Baba H *et al.*, 2004) se determinó la concentración de estos dos aminoácidos. Primeramente, la concentración de L-arginina no mostro ningún cambio en comparación con el “control”. Sin embargo, se observó una tendencia a disminuir en los pacientes con alucinaciones. Del mismo modo, la cuantificación de L-citrulina mostro una disminución significativa en los pacientes con alucinaciones. De estos datos, se puede sugerir que la reducción de NO en los pacientes con alucinaciones resulta de una disponibilidad limitada de L-arginina o de una reducción en la actividad de la NOS. Esto último con base en la disminución significativa de L-citrulina. En relación con L-citrulina detectamos que correlaciona positivamente con L-glicina en todos los grupos con excepción del grupo de delirio, esto podría ser un indicio para la regulación de la presentación de delirios o alucinaciones, pero la relación entre L-citrulina y L-glicina, hasta el momento no está definida. Con respecto a la NOS, se conoce la existencia de 3 isoformas, dos de ellas se expresan de manera constitutiva y su activación depende de  $Ca^{2+}$  (eNOS y nNOS). Por otro lado, existe una isoforma inducible que es independiente de  $Ca^{2+}$  (iNOS) (Lee BH & Kim YK, 2008). De estas isoformas la nNOS está asociada a trastornos neurológicos. Como se menciono previamente, la actividad de la nNOS depende de la funcionalidad del receptor NMDA (Hong JT *et al.*, 2005). Esto se refleja en la disminución en la concentración de NO en los

pacientes con alucinaciones. Este resultado concuerda con lo visto en otros trabajos sobre trastornos neurológicos (Ramírez J *et al.*, 2004; Lee BH & Kim YK, 2008). Asimismo, la concentración de NO en los pacientes con delirios genera controversia. Si la concentración de NO en los pacientes con delirios fuera producto del aumento significativo en la concentración de glutamato, se esperaría una correlación entre ellos, pero al no registrarse esta correlación se puede sugerir que el aumento en la concentración de glutamato deriva del aumento del NO. Esto con base en la capacidad del NO para difundir a través del espacio sináptico y facilitar la liberación de glutamato de la neurona presináptica (Pereira M *et al.*, 2011). El hecho de que la presentación de delirios o alucinaciones dependa de la concentración de NO podría brindar cierta explicación a la variabilidad de resultados reportados. Dado que ningún trabajo ha diferenciado la presentación de uno u otro síntoma para la descripción de sus resultados. Además, nuestros datos confirman los resultados preliminares obtenidos por este mismo grupo de trabajo (Pérez-Neri I *et al.*, 2009b). Por otra parte, si el NO es el responsable de regular la presentación de delirios o alucinaciones, se generan nuevas incógnitas acerca de cómo y a qué nivel actúa, debido a que puede actuar como una hormona, neurotransmisor, modulador de otros neurotransmisores (acetilcolina, dopamina, glutamato, noradrenalina, GABA, L-glicina), mediador citoprotector o citotóxico (Akyol O *et al.*, 2004). Además, se ha reportado que influye sobre la actividad de factores de transcripción y modula cascadas de señalización (Pogun S *et al.*, 1994; Bernstein HG *et al.*, 2005). Por el momento no se puede describir claramente como el NO regula la presentación de delirios o alucinaciones. Parte de esto se debe a la controversia que existe alrededor del papel exacto del NO, por ejemplo, mientras unos autores señalan que la administración de donadores de NO reduce los efectos inducidos por PCP (Bujas-Bobanovic M *et al.*, 2000, 2000b), otros reportan que la administración de inhibidores de la NOS reduce los efectos inducidos por la administración de PCP (1998Klamer *et al.*, 2005). Dentro de lo poco que se puede sugerir está la participación de RNS y ROS que conlleva a un daño de la cadena respiratoria mitocondrial, disminución de los niveles de ATP y activación de la vía de las caspasas por liberación del citocromo c (Antunes

F *et al.*, 2005; Friedlander RM, 2003). Igualmente, se ha descrito que el NO modula positivamente la neurotransmisión dopaminérgica, a través de la inhibición de la recaptura de dopamina en el núcleo accumbens (Pogun S *et al.*, 1994). Esto concuerda con reportes que señalan que la administración de un inhibidor de la nNOS reduce los síntomas psicóticos inducidos por la administración de apomorfina (Hong JT *et al.*, 2005; Pereira M *et al.*, 2011). En contraste, Daubner SC *et al.*, (2011) mencionan que la formación de NO favorece la nitración de la TH e inhibe su actividad. De igual manera, Wegener G *et al.*, en 2000 describieron que el NO reduce los niveles de dopamina y serotonina en el hipocampo. Los mismos autores manifestaron que la reducción en los niveles de dopamina y serotonina es independiente de la activación de la GC, dado que la administración de un inhibidor de la GC no inhibió el efecto del NO. Por otro lado, Ramírez-Bermúdez J *et al.*, (2010) observaron una correlación inversa entre los niveles de dopamina y NO en pacientes neurológicos. Toda esta serie de controversias nos confirma que el NO es de las pocas moléculas que puede ejercer un efecto bifásico en función de su concentración (Thomas DD *et al.*, 2008).

En relación a los aspectos generales del estudio se deben considerar las limitaciones del estudio como el “control”, el cual no es el más adecuado, pero es el permitido por el comité de ética. Otros factores que podría estar afectando la concentración de los metabolitos o marcadores de actividad es la presencia de un tratamiento con fármacos antipsicóticos. Reportes señalan que los fármacos antipsicóticos clásicos reducen la actividad de la NOS, mientras que los fármacos antipsicóticos atípicos no influyen sobre la actividad de la NOS (Bernstein HG *et al.*, 2005; Lee BH & Kim YK, 2008). Aunado a ello, la administración crónica de haloperidol reduce el volumen de la materia gris, mientras que la administración crónica de olanzapina no tiene efecto sobre el volumen (Di Forti M *et al.*, 2007). Igualmente, se debe considerar la influencia de la etiología de la psicosis, esto con base en lo obtenido por Pérez-Neri I *et al.*, en 2009 donde observaron que los marcadores de actividad varían de acuerdo etiología de la psicosis (esquizofrenia o encefalitis viral). En último lugar, se debe ser prudente con la interpretación de los datos de NO considerando la gran variabilidad que se ha observado en los



reportes acerca de la concentración de NO en diferentes tejidos y condiciones fisiológicas (Hall CN & Garthwaite J, 2009).

## 8. CONCLUSIONES

1. La concentración de dopamina aumenta en pacientes que presentan uno o ambos síntomas psicóticos. Asimismo, la hiperactividad dopaminérgica es un mecanismo común para la presentación de delirios, alucinaciones o ambos síntomas.
2. La concentración de glutamato no se altero en pacientes que presentaron alucinaciones o ambos síntomas. Sin embargo, los pacientes con delirios si mostraron un aumento en la concentración de glutamato.
3. La concentración de L-glicina y L-glutamina no varió entre los pacientes que manifestaron delirios, alucinaciones o ambos síntomas. Por lo tanto, estos aminoácidos no están relacionados con el desarrollo de síntomas psicóticos.
4. La presentación de delirios y alucinaciones está en función de la concentración de NO. Aunado a ello, los resultados sugieren que la síntesis de NO no depende exclusivamente de la activación del receptor NMDA.
5. Los datos sugieren que la reducción de NO en los pacientes con alucinaciones deriva de una disponibilidad limitada de L-arginina o una reducción en la actividad de la nNOS.

## 9. PERSPECTIVAS

- Determinar la actividad de la actividad nNOS en pacientes que manifiestan delirios y/o alucinaciones.
- Determinar la concentración de los neurotransmisores GABA y serotonina (5-HT) en pacientes que manifiestan delirios, alucinaciones o ambos síntomas.
- Determinar la concentración de otros factores que pudieran estar modulando el desarrollo de delirios, alucinaciones o ambos síntomas (ácido quinurénico, L-aspartato, tetrahidrobiopterina (BH<sub>4</sub>), D-serina).

## 10. REFERENCIAS

- Akyol O, Zoroglu SS, Armutcu F, Sahin S, Gurel A (2004). Nitric oxide as a physiopathological factor in neuropsychiatric disorders. *In Vivo*; 18 (3): 377-390.
- Antunes F, Nunes C, Laranjinha J, Cadenas E (2005). Redox interactions of nitric oxide with dopamine and its derivatives. *Toxicology*; 208 (2): 207-212.
- Baba H, Suzuki T, Arai H, Emson PC (2004). Expression of nNOS and soluble guanylate cyclase in schizophrenic brain. *Neuroreport*; 15 (4): 677-680.
- Baethge C, Baldessarini RJ, Freudenthal K, Streeruwitz A, Bauer M, Bschor T (2005). Hallucinations in bipolar disorder: characteristics and comparison to unipolar depression and schizophrenia. *Bipolar Disorders*; 7 (2): 136–145.
- Bahena RT, Flores G, Arias JAM (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el sistema nervioso central. *Rev Biomed*; 11: 39-60.
- Benes MF (2009). Neural circuitry models of schizophrenia: is it dopamine, GABA, glutamate, or something else?. *Biological Psychiatry*, 65 (12): 1003-1005.
- Ben-Shachar D (2002). Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: a possible linkage to dopamine. *Journal of Neurochemistry*; 83 (6): 1241–1251.
- Ben-Shachar D, Zuk R, Gazawi H, Ljununcic P (2004). Dopamine toxicity involves mitochondrial complex I inhibition: Implications to dopamine-related neuropsychiatric disorders. *Biochemical Pharmacology*; 67 (10):1965–1974.
- Bernstein HG, Bogerts B, Keilhoff (2005). The many faces of nitric oxide in schizophrenia. A review. *Schizophrenia Research*; 78 (1): 69-86.
- Bleich S, Kornhuber J (2005). Glutamate and schizophrenia and the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis. *Dopamine and Glutamate in Psychiatric Disorders*; 7: 169-179.
- Brown GC (2010). Nitric oxide and neuronal death. *Nitric Oxide*; 23 (3): 153-165.
- Boksa P (2009). On the neurobiology of hallucinations. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*; 34 (4): 260-262.

- Bujas-Bobanovic M, Bird DC, Robertson HA, Dursun SM (2000). Blockade of phencyclidine-induced effects by a nitric oxide donor. *British Journal of Pharmacology*; 130 (5): 1005-1012.
- Bujas-Bobanovic Robertson HA, Dursun SM (2000b). Effects of nitric oxide synthase inhibitor  $N^G$ -nitro-L-arginine methyl ester on phencyclidine-induced effects in rats. *European Journal of Pharmacology*; 409 (1): 57-65.
- Burnet PW, Hutchinson L, von Hesling M, Gilbert EJ, Brandon NJ, Rutter AR, Hutson PH, Harrison PJ (2008). Expression of D-serine and glycine transporters in the prefrontal cortex and cerebellum in schizophrenia. *Schizophrenia Research*; 102 (1-3): 283-294.
- Calderón DG, Espitia IR, Villegas MO, Rodríguez RA, Hernández EG, Santamaría DA (2005). Nuevo método de cromatografía de líquidos para medición de nitritos y nitratos en cerebro de rata. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*; 36 (2): 10-15.
- Carlsson A, Lindqvist M (1963). Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacology et Toxicologica*; 20 (2): 140-144.
- Carlsson A, Waters N, Carlsson ML (1999). Neurotransmitter interactions in schizophrenia-therapeutic implications. *Biological Psychiatry*; 46 (10): 1388-1395.
- Centonze D, Picconi B, Gubellini P, Bernardi G, Calabresi P (2001). Dopaminergic control of synaptic plasticity in the dorsal striatum. *European Journal of Neuroscience*; 13 (6): 1071-1077.
- Chaki S (2010). Group II: metabotropic glutamate receptor agonists as a potential drug for schizophrenia. *European Journal of Pharmacology*; 639 (1-3): 59-66.
- Connell P (1958). Amphetamine Psychosis. Oxford University Press: London.
- Coyle JT (2006). Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis. *Cellular and Molecular Neurobiology*; 26 (4-6): 365-384.

- Daubner SC, Le T, Wang S (2011). Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*; 508 (1): 1-12.
- Dean B, Hussain T (2001). Studies on dopaminergic and GABAergic markers in striatum reveals a decrease in the dopamine transporter in schizophrenia. *Schizophrenia Research*; 52 (1-2): 107-114.
- Di Forti M, Lappin JM, Murray RM (2007). Risk factors for schizophrenia-all roads lead to dopamine. *European Neuropsychopharmacology*; 17 (2): S101-S107.
- Elsworth JD, Roth RH (1997). Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*; 144 (1): 4-9.
- Field JR, Walker AG, Conn PJ (2011). Targeting glutamate synapses in Schizophrenia. *Trends in Molecular Medicine*; 17 (12): 689-698.
- Friedlander RM (2003). Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *The New England Journal of Medicine*; 348 (14): 1365–1375.
- Freudenreich O, Goff DC (2010). Psychotic patients. *Massachusetts General Hospital Handbook of General Hospital Psychiatry*; 12: 119-132.
- Gao XM, Sakai K, Roberts RC, Conley RR, Dean B, Tamminga CA (2000). Ionotropic glutamate receptors and expression of N-methyl-D-aspartate receptor subunits in subregions of human hippocampus: effects of schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*; 157 (7): 1141–1149.
- Glantz LA, Gilmore JH, Lieberman JA, Jarskog LF (2006). Apoptotic mechanisms and the synaptic pathology of schizophrenia. *Schizophrenia Research*; 81 (1): 47-63.
- Gregory KJ, Noetzel MJ, Niswender CM (2013). Pharmacology of metabotropic glutamate receptor allosteric modulators: structural basis and therapeutic potential for CNS disorders. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*; 115: 61-121.
- Hall CN, Garthwaite J (2009). What is the real physiological NO concentration *in vivo*? *Nitric Oxide*; 21 (2): 92-103.

- Harrison PJ (1999). The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain*; 122(Pt 4):593–624.
- Hashimoto K, Fukushima T, Shimizu E, Komatsu N, Watanabe H, Shinoda N, Nakazato M, Kumakiri C, Okada S, Hasegawa H, Imai K, Iyo M (2003). Decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*; 60 (6): 572–576.
- Hoffman DD (2012). The construction of visual reality. *Hallucinations: Research and Practice*; 2: 7-15.
- Hong JT, Kim HC, Kim HS, Lee YM, Oh KW (2005). The role of nitric oxide on glutaminergic modulation of dopaminergic activation. *Pharmacological Research*; 52 (4): 298-301.
- Jackson ME, Frost AS, Moghaddam B (2001). Stimulation of prefrontal cortex at physiologically relevant frequencies inhibits dopamine release in the nucleus accumbens. *Journal of Neurochemistry*; 78 (4): 920-923.
- Jarskog LF, Gilmore JH, Selinger ES, Lieberman JA (2000). Cortical bcl-2 protein expression and apoptotic regulation in schizophrenia. *Biological Psychiatry*; 48 (7): 641–650.
- Jarskog LF, Selinger ES, Lieberman JA, Gilmore JH (2004). Apoptotic proteins in the temporal cortex in schizophrenia: high Bax/Bcl-2 ratio without caspase-3 activation. *The American Journal of Psychiatry*; 161 (1): 109–115.
- Javitt DC (2007). Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *International Review of Neurobiology*; 78: 69-108.
- Javitt DC (2008). Glycine transport inhibitors and the treatment of schizophrenia. *Biological Psychiatry*; 63: 6-8.
- Jentsch JD, Roth RH (1999). The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*; 20 (3): 201-225.

- Kantrowitz JT, Javitt DC (2010). N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor dysfunction o dysregulation: the final common pathway on the road to Schizophrenia?. *Brain Research Bulletin*; 83 (3-4): 108-121.
- Kantrowitz JT, Malhotra AK, Cornblatt B, Silipo G, Balla A, Suckow RF, D'Souza C, Saksa J, Woods SW, Javitt DC (2010). High dose D-serine in the treatment of schizophrenia. *Schizophrenia Research*; 121 (1-3): 125-130.
- Kegeles LS, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y, Rodenhiser-Hill J, Mann JJ, Van Heertum RL, Cooper TB, Carlsson A, Laruelle M (2000). Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans: Implications for schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 48 (7): 627-640.
- Keshavan MS, Tandon R, Boutros NN, Nasrallah HA (2008). Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008. Part 3. Neurobiology. *Schizophrenia Research*; 106 (2-3): 89-107.
- Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmüller B (1980). Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neuroscience Letters*; 20 (3): 379–382.
- Klamer D, Zhang J, Engel JA, Svensson L (2005). Selective interaction of nitric oxide synthase inhibition with phencyclidine: behavioural and NMDA receptor binding studies in the rat. *Behavioural Brain Research*; 159 (1): 95-103.
- Kretschmer BD (2005). Role of glycine in Schizophrenia. *Dopamine and Glutamate in Psychiatric Disorders*; 8:181-195.
- Kumar AM, Fernández JB, González L, Kumar M (2006). Ultra micro quantification of dopamine and homovanillic acid in human brain tissue: quest for higher recovery and sensitivity with coularray HPLC-ECD system. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*; 29 (6): 777–799.
- Labrie V, Roder JC (2010). The involvement of the NMDA receptor D-serine/glycine site in the pathophysiology and treatment of Schizophrenia. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 34 (3): 351-372.



- Lahti AC, Weiler MA, Michaelidis T, Parwani A, Tamminga CA (2001). Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. *Neuropsychopharmacology*; 25 (4): 455- 467.
- Laruelle M, Kegeles LS, Abi-Dargham A (2003). Glutamate, dopamine, and schizophrenia. From pathophysiology to treatment. *Annals of the New York Academy of Sciences*; 1003: 138-158.
- Lee BH, Kim YK (2008). Reduced plasma nitric oxide metabolites before and after antipsychotic treatment in patients with schizophrenia compared to controls. *Schizophrenia Research*; 104 (1-3): 36-43.
- Li Q, Clark S, Lewis DV, Wilson WA (2002). NMDA receptor antagonists disinhibit rat posterior cingulate and retrosplenial cortices: a potential mechanism of neurotoxicity. *The Journal of Neuroscience*; 22 (8): 3070-3080.
- Lin CH, Lane HY, Tsai GE (2012). Glutamate signaling in the pathophysiology and therapy of schizophrenia. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*; 100 (4): 665-677.
- Li Q, Clark S, Lewis DV, Wilson WA (2002). NMDA receptor antagonists disinhibit rat posterior cingulate and retrosplenial cortices: a potential mechanism of neurotoxicity. *The Journal of Neuroscience*; 22 (8): 3070–3080.
- Manschreck TC (1996). Delusional disorder: the recognition and management of paranoia. *The Journal of Clinical Psychiatry*; 57 (3): 32-38.
- Marcaggi P, Attwell D (2004). Role of glial amino acid transporters in synaptic transmission and brain energetics. *Glia*; 47 (3): 217-225.
- Mattson MP, Keller JN, Begley JG (1998). Evidence for synaptic apoptosis. *Experimental Neurology*; 153 (1): 35– 48.
- Meiser J, Weindl D, Hiller K (2013). Complexity of dopamine metabolism. *Cell Communication and Signaling*; 11 (1):34.
- Meltzer LT, Christoffersen CL, Serpa KA (1997). Modulation of dopamine neuronal activity by glutamate receptor subtypes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 21 (4): 511-518.

- Millan MJ (2005). N-methyl-D-aspartate receptors as a target for improved antipsychotic agents: novel insights and clinical perspectives. *Psychopharmacology*; 179 (1): 30-53.
- Miller DW, Abercrombie ED (1996). Effects of MK-801 on spontaneous and amphetamine-stimulated release in striatum measured with in vivo microdialysis in awake rats. *Brain Research Bulletin*; 40 (1): 57-62.
- Moore H, West AR, Grace AA (1999). The regulation of forebrain dopamine transmission: relevance to the pathophysiology and psychopathology of schizophrenia. *Biological Psychiatry*; 46 (1): 40–55.
- Morrison RS, Kinoshita Y, Johnson MD, Guo W, Garden GA (2003). p53-dependent cell death signaling in neurons. *Neurochemical Research*; 28 (1): 15–27.
- Novelli A, Pérez BM, Fernández SMT (2005). Glutamate and neurodegeneration. *Dopamine and Glutamate in Psychiatric Disorders*; 19: 447-472.
- OMS (2014). What are neurological disorders? *Online Q&A*.
- Oorschot M, Lataster T, Thewissen V, Bentall R, Delespaul P, Myin-Germeys I (2012). Temporal dynamics of visual and auditory hallucinations in psychosis. *Schizophrenia Research*; 140 (1-3): 77-82.
- Os J, Kapur S (2009). Schizophrenia. *Lancet*; 374: 635-645.
- Pantelis C, Velakoulis D, McGorry PD, Wood SJ, Suckling J, Phillips LJ, Yung AR, Bullmore ET, Brewer W, Soulsby B, Desmond P, McGuire PK (2003). Neuroanatomical abnormalities before and after onset of psychosis: a cross-sectional and longitudinal MRI comparison. *The Lancet*; 361 (9354): 281-288.
- Paz RD, Tardito S, Atzori M, Tseng KY (2008). Glutamatergic dysfunction in schizophrenia: from basic neuroscience to clinical psychopharmacology. *European Neuropsychopharmacology*; 18(11): 773-786.
- Pereira M, Siba IP, Chioca LR, Correia D, Vital MA, Pizzolatti MG, Santos AR, Andreatini R (2011). Myricitrin, a nitric oxide and protein kinase C inhibitor, exerts antipsychotic-like effects in animal models. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*; 35 (7): 1636-1644.

- Pérez-Neri I, Montes S, Boll MC, Ramírez-Bermúdez J, Ríos C (2004). Liquid chromatographic-fluorimetric method for the estimation of nitric oxide biosynthesis in the central nervous system. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*; 806 (2): 133-139.
- Pérez-Neri I, Ramírez-Bermudez J, Ruiz-Chow A, Soto-Hernández JL, Ríos C (2006a). Cambios en las concentraciones de ácido homovanílico y de los productos finales del óxido nítrico durante el *delirium* secundario a neuroinfección. *Resúmenes Reunión Médico Quirúrgica*; suplemento: 24-25.
- Pérez-Neri I, Ramírez-Bermúdez J, Montes S, Ríos C (2006). Possible mechanisms of neurodegeneration in schizophrenia. *Neurochemical Research*; 31(10): 1279-1294.
- Pérez-Neri I, Ramírez-Bermudez J, Ramírez-Abascal M, Montes S, Soto-Hernández JL, Ríos C (2009). La presentación de ideas delirantes asociada con esquizofrenia y encefalitis viral involucra diferentes sistemas de neurotransmission. *Resúmenes Reunión Médico Quirúrgica*; suplemento I: 24.
- Pérez-Neri I, Ramírez-Bermúdez J, Flores-Hernández R, Nente-Chávez F, Montes-López S, Soto-Hernández JS, Ríos C (2009b). Disminución de nitritos y nitratos en el líquido cefalorraquídeo de pacientes neurológicos que presentan alucinaciones. *Resúmenes Reunión Médico Quirúrgica XI*; suplemento II: smq1-2.
- Pérez-Neri, I, Ramírez-Bermúdez J, Montes S, Soto-Hernández JL, Ríos C (2011). Alteraciones en los sistemas de glutamato y óxido nítrico durante la presentación de delirios y alucinaciones en pacientes neurológicos. *Resúmenes Reunión Médico Quirúrgica XIII*; volumen 16 (suplemento II):21.
- Pogun S, Baumann MH, Kuhar MJ (1994). Nitric oxide inhibits [<sup>3</sup>H]dopamine uptake. *Brain Research*; 641: 83-91.
- Rabey JM (2009). Hallucinations and psychosis in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*; 15S (4): S105-S110.
- Ramírez J, Garnica R, Boll MC, Montes S, Ríos C (2004). Low concentration of nitrite and nitrate in the cerebrospinal fluid from schizophrenic patients: a pilot study. *Schizophrenia Research*; 68 (2-3): 357-361.

- Ramírez-Bermúdez J, Ruiz-Chow A, Pérez-Neri I, Soto-Hernández JL, Flores-Hernández R, Nente F, Montes S, Ríos C (2008). Cerebrospinal fluid homovanillic acid is correlated to psychotic features in Neurological patients with delirium. *General Hospital Psychiatry*; 30 (4): 337-343.
- Ramírez-Bermúdez J, Pérez-Neri I, Soto-Hernández JL, Ramírez-Abascal M, Nente-Chávez F, Ríos C (2009). Estados hiperdopaminérgicos en pacientes con infecciones del sistema nervioso. *Resúmenes Reunión Médico Quirúrgica XI*; suplemento II: 29.
- Ramírez-Bermúdez J, Pérez-Neri I, Montes S, Ramírez-Abascal M, Nente F, Abundes-Corona A, Soto-Hernández JS, Ríos C (2010). Imbalance between nitric oxide and dopamine may underly aggression in acute neurological patients. *Neurochemical Research*; 35: 1659-1665.
- Ramírez-Bermúdez J, Pérez-Neri I, Montes S, Soto-Hernández JS, Ríos C (2011). Bases neuroquímicas de la desorganización conceptual en pacientes neuropsiquiátricos. *Resúmenes Reunión Médico Quirúrgica XIII*; volumen 16 (suplemento II): 48-49.
- Scott L, Aperia A (2009). Interaction between N-methyl-D-aspartic acid receptors and D<sub>1</sub> dopamine receptors: an important mechanism for brain plasticity. *Neuroscience*; 158: 62-66.
- Seeman P (2013). Schizophrenia and dopamine receptors. *European Neuropsychopharmacology*; 23: 999-1009.
- Shang LH, Luo ZQ, Deng XD, Wang MJ, Huang FR, Feng DD, Yue SJ (2010). Expression of N-methyl-D-aspartate receptor and its effect on nitric oxide production of rat alveolar macrophages. *Nitric Oxide*; 23 (4): 327-331.
- Smith Y (2005). Glutamatergic Pathways: their relevance for psychiatric diseases. *Dopamine and Glutamate in Psychiatric Disorders*; 3: 65-77.
- Suzuki E, Nakaki T, Nakamura M, Miyaoka H (2003). Plasma nitrate levels in deficit versus non-deficit forms of Schizophrenia. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*; 28 (4): 288-292.
- Thomas DD, Graham ME, Ridnour LA, Hofseth LJ, Mancardi D, Harris CC, Wink DA (2004). Hypoxic inducible factor 1 $\alpha$ , extracellular signal-regulated

kinase, and p53 are regulated by distinct threshold concentrations of nitric oxide, *PNAS*; 101 (24): 8894–8899.

- Thomas DD, Ridnour LA, Isenberg JS, Flores-Santana W, Switzer CH, Donzellie S, Hussain P, Vecoli C, Paolocci N, Ambs S, Colton C, Harris C, Roberts DD, Wink DA (2008). The chemical biology of nitric oxide. Implications in cellular signaling. *Free Radical Biology & Medicine*; 45 (1): 18-31.
- Tsutsuki H, Kohda T, Hara M, Kozaki S, Ihara H (2007). Nitric oxide inhibits depolarization-evoked glutamate release from rat cerebellar granule cells. *Nitric Oxide*; 16 (2): 217-227.
- Tuominen HJ, Tiihonen J, Wahlbeck (2005). Glutamatergic drugs for schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Schizophrenia Research*; 72 (2-3): 225-234.
- Usun Y, Eybrard S, Meyer F, Louilot A (2013). Ketamine increases striatal dopamine release and hyperlocomotion in adults rats after postnatal functional blockade of the prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research*; 256: 229-237.
- Wang C, Kaufmann AJ, Sanchez-Ross GM, Johnson MK (2000). Mechanisms of N-methyl-D-aspartate-induced apoptosis in phencyclidine-treated cultured forebrain neurons. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 294 (1): 287–295.
- Wegener G, Volke V, Rosenberg R (2000). Endogenous nitric oxide decrease hippocampal levels of serotonin and dopamine in vivo. *British Journal of Pharmacology*, 130 (3): 575-580.
- Xu L, Mabuchi T, Katano T, Matsumura S, Okuda-Ashitaka E, Sakimura K, Mishina M, Ito S (2007). Nitric oxide (NO) serves as a retrograde messenger to activate neuronal NO synthase in the spinal cord via NMDA receptors. *Nitric Oxide*; 17 (1): 18–24.
- Yanik M, Vural H, Kocyigit A, Tutkun H, Zoroglu SS, Herken H, Savas HA, Köylü A, Akyol O (2003). Is the arginine-nitric oxide pathway involved in the pathogenesis of Schizophrenia? *Neuropsychobiology*; 47 (2): 61-65.

## 11. ANEXOS

### 11.1 Anexo A

- **Reactivo OPA/ME**

Se disuelven 25 mg de o-ftalaldehído (OPA) en 625  $\mu\text{L}$  de MeOH absoluto grado HPLC. Posteriormente se mezcla con 5.6 mL de buffer de boratos 0.3 M pH 9.5 y finalmente se añaden 25  $\mu\text{L}$  de 2-mercaptoetanol (ME). El reactivo OPA/SE ME prepara diariamente y se almacena protegido de la luz a 4 °C.

- **Solución antioxidante**

Cada litro de solución antioxidante contiene 8.6 mL de ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) al 70% (~100 mM), mezclado con 0.1% w/v de metabisulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{O}_5\text{S}_2$ ) y se afora con  $\text{H}_2\text{O}$  desionizada. La solución se prepara, filtra y desgasifica previo a la determinación de HVA por HPLC acoplado a un detector electroquímico.

- **Buffer de fosfatos**

Cada litro de buffer contiene fosfato dibásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 4.0 g, octil sulfato de sodio ( $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NaSO}_4$ ) 0.45 g, ácido etilendiaminotetraacético ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$ , EDTA) 0.16 g, disueltos en  $\text{H}_2\text{O}$  desionizada. La solución se ajusta a un pH 3.1 con ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) concentrado en agitación constante. El buffer se filtra y desgasifica previo a la determinación de HVA por HPLC acoplado a un detector electroquímico.

- **Buffer de acetatos**

Cada litro de buffer contiene 2.9 mL de ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) que es ajustado a pH 5.9 con pellets de NaOH en agitación constante. El buffer se filtra previo a la determinación de aminoácidos por HPLC acoplado a fluorescencia.

- **Solución de octilamina (5mM)**

Cada litro de solución contiene 827  $\mu\text{L}$  de octilamina ( $\text{C}_8\text{H}_{19}\text{N}$ ). La solución es ajustada a pH 6.4 con ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado en agitación constante. La solución se filtra y desgasifica previo a la determinación de  $\text{NO}_x$  por HPLC acoplado a UV.

11.2 Anexo B

46945

St. Vincent's Hospital Sydney Limited  
ACN 054 038 872

St Vincent's HOSPITAL SYDNEY LIMITED  
DELIRIUM RATING SCALE



Interviewee :

Date :

Time :

Score:

MRN

SURNAME

OTHER NAMES

DOB

SEX

AMO

WARD/CLINIC

(Please enter information or affix Patient information Label)

Note:

This form should be completed for all patients suspected of suffering from delirium, those at high risk for delirium (age, recent overdose, severe illness, CNS pathology, multiple system impairment, critical care setting etc), and for medical patients in whom psychiatric opinion is sought. It is both a screening tool and a test to discriminate between delirium and depression, psychosis, amnesic syndrome or dementia. It should be used in conjunction with a general medical assessment and mental state examination.

Interpretation:

Score above 12 are consistent with delirium. Scores below 7 can be considered as excluding delirium. Scores of 8-11 should be interpreted in the context of other clinical information. Serial assessments may be useful in clarifying the diagnosis and judging clinical improvement. Nocturnal assessments are particularly helpful. For more information, please contact the Consultation - Liaison Psychiatry Unit (02 8382 3433).

Score

Item (1): Temporal Onset of Symptoms

This item addresses the time course over which the symptoms appear. The maximum rating is for the most abrupt onset of symptoms - a cardinal feature of delirium. Dementia is usually more gradual. Other psychiatric disorders, such as affective disorders, may score 1 or 2 points on this item. Occasionally delirium may have an insidious onset (eg in geriatric nursing home patients) and will score 1 or 2 on this item.

- 0 No significant change from long standing behaviour
- 1 Gradual onset of symptoms, occurring within a six month period
- 2 Acute change in behaviour or personality occurring over a month
- 3 Abrupt change in behaviour, usually occurring over a 1 to 3 day period.

Score

Item (2): Sensory Disturbances.

This item rates the degree of perceptual disturbances. Extreme disturbances - the complete inability to discriminate between internal and external reality - are rated most highly. This may be reported by the patient or deduced if the patient appears to be responding to internal phenomena - such as muttering to self or looking around room at invisible objects. Intermittent problems such as illusions or misperception, are given two points.

- 0 None evident by history or observations
- 1 Feelings of being cut off or removed from reality ('derealisation') ...
- 2 Visual illusions or misperception eg may urinate in waste basket mistaking it for a toilet.
- 3 Evidence that the patient is markedly confused about external reality or is reporting hallucinations.

Score

Item (3): Hallucination Type

The presence of any type of hallucination is rated. Auditory hallucinations alone are rated with less weight because of their common occurrence in primary psychiatric disorders. Visual hallucinations are generally associated with organic syndromes and are given two points. Tactile/hallucinations are classically described in delirium, particularly anticholinergic toxicity.

- 0 Hallucinations not present.
- 1 Auditory hallucinations only.
- 2 Visual hallucinations present by the patient's history or inferred by observation, with or without auditory hallucinations.
- 3 Tactile, olfactory, or gustatory (taste) hallucinations with or without visual or auditory hallucinations.

Score

Item (4): Delusions.

Delusions can be present in many different psychiatric settings, but tend to be more constant, fixed and well organised when they occur in a primary psychiatric syndrome. In delirium, by contrast, they tend to be poorly systematised - constantly and rapidly changing and associated with fear and arousal. This item involves an assessment of the patient and a review of their psychiatric history if known.

- 0 Not present
- 1 Delusions are systematised, i.e. well organised and persistent.
- 2 Delusions are new and not part of a pre - existing primary psychiatric disorder.
- 3 Delusions are transient, disorganised, fluctuant, and mostly in response to misperceived cues. Eg paranoid delusions involving hospital staff.

C1000

DELIRIUM RATING SCALE

Score

Item (5): Motor Behaviour

This item describes the degree of altered psychomotor behaviour - non-purposeful movements such as rocking or pacing or fidgeting. Both hyperactive and hypoactive variants of delirium are recognised. Maximum points can be therefore given for either severe agitation or severe withdrawal. Changes should be compared to the patient's usual behaviour.

- 0 No significant restlessness or agitation.
- 1 Mild restlessness, tremulousness, or anxiety evident by observations.
- 2 Moderate agitation with pacing, removing I.V's fidgeting, etc.
- 3 Severe agitation, possibly combative and needing restraint. Alternatively, marked poverty of motor movement.

Score

Item (6): Clarity of Thinking

This item assesses confusion, disorientation and other cognitive problems. Low points are given to mild or isolated problems such as inattention attributable to pain or fatigue. More points should be awarded if the deficits are more severe or global. This item is best asked by a formal Mini Mental State Examination. The patient's cultural and educational background needs to be considered as does a history of developmental delay.

- 0 No cognitive deficits.
- 1 Mild cognitive deficits, such as inattention - possibly due to pain, fatigue, depression or anxiety.
- 2 Cognitive deficit restricted to one specific area (eg memory, recall).
- 3 Significant and diffuse deficits including disorientation, registration, recall and concentrations.
- 4 Severe cognitive deficits such as motor or verbal perseverations, contribution disorientation to person, or a complete inability to follow formal testing.

Score

Item (7): Physical Illness

Maximum points for this item are given when a specific lesion or physiological disturbance occurs at the same time as the altered behaviour. Dementias are often found to have a specific underlying cause, while delirium usually has at least one identifiably physical cause.

- 0 None present or active.
- 1 Presence of any disorder which might affect mental state.
- 2 Specific drug, infection, metabolic, CNS lesion or similar which coincides with the onset of other symptoms.

Score

Item (8): Sleep - Wake Cycle

Disruptions of the sleep - wake cycle is typical in delirium, but occurs to a lesser degree also in advanced dementias. It is often one of the earliest signs of a developing delirium and is thus often noted first by night staff. Severe delirium is on a continuum with and coma, and is likely to occur as these conditions resolve.

- 0 Awake and alert during the day, and sleeps without disruption at night.
- 1 Occasional daily drowsiness. Mild disruptions or nightmares nightly.
- 2 Frequent napping and nocturnal insomnia constituting a significant disruption or reversal of the cycle.
- 3 Drowsiness prominent with difficulty staying alert during interview.
- 4 Difficult to rouse with voice.

Score

Item (9): Variability of Mood.

Rapid changes in mood can occur in various settings but may be quite dramatic in delirium. Patients with delirium may be aware of their lack of emotional control. Symptoms of emotional arousal, such as fear, anger or aggression typically occur, although tearfulness is also seen. People with a manic psychosis may also score highly on this item.

- 0 Mood stable
- 1 Mood changes altered and change over hours. Patient states that mood changes are not under self control.
- 2 Significant and rapid mood changes including fear, anger, or tearfulness often not appropriate to situation.
- 3 Severe disinhibition of emotions, including anger, uncontrolled inappropriate laughter or crying.

Score

Item (10): Variability of Symptoms

The hallmark of delirium is the waxing and waning of symptoms - which scores highly on this item. Patients with dementia may also become increasingly confused after "sundown" and thus may score two points.

- 0 Symptoms stable and mostly present during the daytime
- 2 Symptoms worsen at night
- 4 Fluctuating intensity of symptoms, such as they wax and wane over a 24-hour period.

## 11.3 Anexo C

**Tabla 4.** Valor P de las correlaciones de la “población general” sin ningún síntoma.

| Valor P | NOx          | HVA          | Glu   | Gln          | Gly          | Cit          | Arg          | NOx/HVA      | Cit/Arg |
|---------|--------------|--------------|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| NOx     |              |              |       |              |              |              |              |              |         |
| HVA     | 0.283        |              |       |              |              |              |              |              |         |
| Glu     | <b>0.010</b> | 0.963        |       |              |              |              |              |              |         |
| Gln     | 0.137        | 0.409        | 0.871 |              |              |              |              |              |         |
| Gly     | 0.571        | 0.625        | 0.488 | <b>0.001</b> |              |              |              |              |         |
| Cit     | 0.144        | <b>0.018</b> | 0.773 | <b>0.001</b> | <b>0.001</b> |              |              |              |         |
| Arg     | 0.640        | 0.058        | 0.721 | <b>0.001</b> | <b>0.001</b> | <b>0.050</b> |              |              |         |
| NOx/HVA | <b>0.001</b> | <b>0.001</b> | 0.271 | 0.888        | 0.486        | <b>0.003</b> | <b>0.023</b> |              |         |
| Cit/Arg | <b>0.022</b> | 0.112        | 0.848 | 0.079        | <b>0.001</b> | <b>0.001</b> | <b>0.026</b> | <b>0.014</b> |         |
| Edad    | 0.248        | 0.184        | 0.241 | 0.398        | 0.676        | 0.784        | 0.581        | 0.259        | 0.847   |

**Tabla 5.** Coeficiente de correlación de la “población general” sin ningún síntoma.

| Coef. Corl. | NOx          | HVA           | Glu    | Gln          | Gly          | Cit          | Arg          | NOx/HVA      | Cit/Arg |
|-------------|--------------|---------------|--------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| NOx         |              |               |        |              |              |              |              |              |         |
| HVA         | 0.148        |               |        |              |              |              |              |              |         |
| Glu         | <b>0.355</b> | 0.007         |        |              |              |              |              |              |         |
| Gln         | -0.199       | -0.124        | -0.022 |              |              |              |              |              |         |
| Gly         | 0.076        | -0.073        | 0.097  | <b>0.505</b> |              |              |              |              |         |
| Cit         | 0.212        | <b>-0.382</b> | 0.043  | <b>0.485</b> | <b>0.696</b> |              |              |              |         |
| Arg         | 0.062        | -0.281        | -0.049 | <b>0.694</b> | <b>0.592</b> | <b>0.666</b> |              |              |         |
| NOx/HVA     | <b>0.472</b> | <b>-0.773</b> | -0.185 | 0.021        | 0.107        | <b>0.470</b> | <b>0.343</b> |              |         |
| Cit/Arg     | <b>0.327</b> | -0.262        | 0.028  | 0.024        | <b>0.594</b> | <b>0.881</b> | <b>0.307</b> | <b>0.405</b> |         |
| Edad        | 0.140        | 0.141         | -0.162 | 0.111        | 0.054        | 0.038        | -0.581       | -0.156       | 0.024   |



**Tabla 6.** Valor P de las correlaciones de la “población general” con delirios.

| Valor P | NOx   | HVA          | Glu          | Gln          | Gly   | Cit          | Arg          | NOx/HVA | Cit/Arg |
|---------|-------|--------------|--------------|--------------|-------|--------------|--------------|---------|---------|
| NOx     |       |              |              |              |       |              |              |         |         |
| HVA     | 0.150 |              |              |              |       |              |              |         |         |
| Glu     | 0.493 | 0.919        |              |              |       |              |              |         |         |
| Gln     | 0.458 | <b>0.033</b> | 0.821        |              |       |              |              |         |         |
| Gly     | 0.764 | <b>0.016</b> | <b>0.010</b> | 0.458        |       |              |              |         |         |
| Cit     | 0.575 | 0.919        | 0.116        | 0.924        | 0.339 |              |              |         |         |
| Arg     | 0.481 | 0.356        | 0.098        | 0.481        | 0.921 | 0.188        |              |         |         |
| NOx/HVA | 0.545 | <b>0.001</b> | 0.919        | <b>0.017</b> | 0.058 | 0.714        | 0.184        |         |         |
| Cit/Arg | 0.199 | 0.714        | <b>0.029</b> | 0.924        | 0.416 | <b>0.001</b> | <b>0.002</b> | 0.564   |         |
| Edad    | 0.964 | 0.878        | 0.098        | 0.143        | 0.352 | 0.296        | 0.609        | 0.590   | 0.575   |

**Tabla 7.** Coeficiente de correlación de la “población general” con delirios.

| Coef. Corl. | NOx    | HVA           | Glu          | Gln           | Gly    | Cit           | Arg           | NOx/HVA | Cit/Arg |
|-------------|--------|---------------|--------------|---------------|--------|---------------|---------------|---------|---------|
| NOx         |        |               |              |               |        |               |               |         |         |
| HVA         | 0.556  |               |              |               |        |               |               |         |         |
| Glu         | -0.203 | -0.058        |              |               |        |               |               |         |         |
| Gln         | -0.217 | <b>0.870</b>  | 0.063        |               |        |               |               |         |         |
| Gly         | -0.087 | <b>0.928</b>  | <b>0.676</b> | 0.217         |        |               |               |         |         |
| Cit         | -0.182 | -0.058        | 0.491        | 0.027         | 0.309  |               |               |         |         |
| Arg         | 0.209  | 0.464         | -0.473       | 0.209         | 0.027  | -0.418        |               |         |         |
| NOx/HVA     | -0.250 | <b>-0.927</b> | 0.085        | <b>-0.943</b> | -0.829 | 0.200         | -0.626        |         |         |
| Cit/Arg     | -0.409 | -0.174        | <b>0.645</b> | 0.027         | 0.264  | <b>-0.845</b> | <b>-0.791</b> | 0.314   |         |
| Edad        | 0.011  | 0.056         | 0.472        | 0.425         | 0.273  | 0.339         | 0.157         | -0.249  | 0.183   |

**Tabla 8.** Valor P de las correlaciones de la “población general” con alucinaciones.

| Valor P | NOx          | HVA   | Glu          | Gln   | Gly          | Cit   | Arg   | NOx/HVA | Cit/Arg |
|---------|--------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|-------|---------|---------|
| NOx     |              |       |              |       |              |       |       |         |         |
| HVA     | 0.916        |       |              |       |              |       |       |         |         |
| Glu     | 0.612        | 0.683 |              |       |              |       |       |         |         |
| Gln     | <b>0.003</b> | 0.902 | 0.775        |       |              |       |       |         |         |
| Gly     | 0.656        | 0.517 | <b>0.030</b> | 0.865 |              |       |       |         |         |
| Cit     | 0.282        | 0.242 | 0.103        | 0.458 | <b>0.033</b> |       |       |         |         |
| Arg     | 0.329        | 0.595 | 0.491        | 0.105 | 0.468        | 0.732 |       |         |         |
| NOx/HVA | 0.112        | 0.341 | 0.683        | 0.367 | 0.95         | 0.590 | 0.756 |         |         |
| Cit/Arg | 0.419        | 0.917 | 0.242        | 0.658 | <b>0.017</b> | 0.103 | 0.658 | 0.750   |         |
| Edad    | 0.610        | 0.702 | 0.749        | 0.377 | 0.407        | 0.168 | 0.813 | 0.237   | 0.133   |

**Tabla 9.** Coeficiente de correlación de la “población general” con alucinaciones.

| Coef. Corl. | NOx           | HVA    | Glu          | Gln    | Gly           | Cit    | Arg    | NOx/HVA | Cit/Arg |
|-------------|---------------|--------|--------------|--------|---------------|--------|--------|---------|---------|
| NOx         |               |        |              |        |               |        |        |         |         |
| HVA         | 0.065         |        |              |        |               |        |        |         |         |
| Glu         | 0.183         | 0.300  |              |        |               |        |        |         |         |
| Gln         | <b>-0.823</b> | -0.077 | -0.100       |        |               |        |        |         |         |
| Gly         | 0.152         | 0.400  | <b>0.700</b> | -0.054 |               |        |        |         |         |
| Cit         | -0.528        | 0.758  | 0.771        | 0.380  | 0.886         |        |        |         |         |
| Arg         | -0.345        | -0.324 | -0.250       | 0.543  | -0.248        | 0.181  |        |         |         |
| NOx/HVA     | 0.790         | -0.546 | -0.300       | -0.522 | 0.100         | -0.410 | -0.192 |         |         |
| Cit/Arg     | 0.429         | 0.200  | 0.600        | -0.257 | <b>-0.690</b> | 0.771  | -0.257 | 0.400   |         |
| Edad        | -0.185        | 0.202  | -0.119       | 0.336  | -0.300        | -0.723 | -0.092 | -0.763  | -0.800  |

**Tabla 10.** Valor P de las correlaciones de la “población general” con delirios y alucinaciones.

| Valor P | NOx          | HVA          | Glu          | Gln          | Gly          | Cit          | Arg   | NOx/HVA      | Cit/Arg |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------|--------------|---------|
| NOx     |              |              |              |              |              |              |       |              |         |
| HVA     | 0.078        |              |              |              |              |              |       |              |         |
| Glu     | 0.979        | 0.599        |              |              |              |              |       |              |         |
| Gln     | 0.125        | 0.121        | 0.987        |              |              |              |       |              |         |
| Gly     | 0.701        | 0.554        | <b>0.009</b> | 0.087        |              |              |       |              |         |
| Cit     | 0.758        | 0.788        | 0.142        | 0.155        | <b>0.001</b> |              |       |              |         |
| Arg     | 0.851        | 0.666        | 0.901        | 0.074        | 0.277        | 0.059        |       |              |         |
| NOx/HVA | <b>0.032</b> | <b>0.001</b> | 0.512        | <b>0.012</b> | 0.635        | 0.334        | 0.832 |              |         |
| Cit/Arg | 0.183        | 0.733        | 0.373        | 0.827        | <b>0.006</b> | <b>0.001</b> | 0.383 | 0.154        |         |
| Edad    | 0.712        | <b>0.014</b> | 0.368        | <b>0.022</b> | 0.583        | 0.227        | 0.671 | <b>0.042</b> | 0.237   |

**Tabla 11.** Coeficiente de correlación de la “población general” con delirios y alucinaciones.

| Coef. Corl. | NOx          | HVA           | Glu          | Gln           | Gly          | Cit          | Arg    | NOx/HVA       | Cit/Arg |
|-------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------|---------------|---------|
| NOx         |              |               |              |               |              |              |        |               |         |
| HVA         | 0.326        |               |              |               |              |              |        |               |         |
| Glu         | 0.004        | -0.123        |              |               |              |              |        |               |         |
| Gln         | -0.276       | 0.331         | 0.002        |               |              |              |        |               |         |
| Gly         | -0.070       | 0.128         | <b>0.467</b> | 0.293         |              |              |        |               |         |
| Cit         | 0.059        | 0.057         | 0.289        | 0.260         | <b>0.609</b> |              |        |               |         |
| Arg         | -0.034       | 0.093         | -0.230       | 0.305         | 0.188        | 0.343        |        |               |         |
| NOx/HVA     | <b>0.392</b> | <b>-0.669</b> | 0.158        | <b>-0.527</b> | -0.106       | 0.214        | 0.046  |               |         |
| Cit/Arg     | 0.258        | -0.074        | 0.181        | -0.041        | <b>0.488</b> | <b>0.840</b> | -0.164 | 0.312         |         |
| Edad        | 0.059        | <b>0.340</b>  | -0.173       | <b>0.393</b>  | 0.328        | 0.226        | -0.075 | <b>-0.380</b> | 0.226   |

**Tabla 12.** Valor P de las correlaciones de los “pacientes neurológicos” sin ningún síntoma.

| Valor P | NOx          | HVA          | Glu   | Gln          | Gly          | Cit          | Arg          | NOx/HVA      | Cit/Arg |
|---------|--------------|--------------|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| NOx     |              |              |       |              |              |              |              |              |         |
| HVA     | 0.216        |              |       |              |              |              |              |              |         |
| Glu     | <b>0.008</b> | 0.907        |       |              |              |              |              |              |         |
| Gln     | 0.056        | 0.340        | 0.417 |              |              |              |              |              |         |
| Gly     | 0.745        | 0.747        | 0.377 | <b>0.001</b> |              |              |              |              |         |
| Cit     | 0.239        | <b>0.015</b> | 0.737 | <b>0.001</b> | <b>0.001</b> |              |              |              |         |
| Arg     | 0.969        | 0.055        | 0.761 | <b>0.001</b> | <b>0.001</b> | <b>0.001</b> |              |              |         |
| NOx/HVA | <b>0.001</b> | <b>0.001</b> | 0.202 | 0.878        | 0.850        | <b>0.003</b> | <b>0.043</b> |              |         |
| Cit/Arg | <b>0.030</b> | 0.068        | 0.560 | <b>0.046</b> | <b>0.001</b> | <b>0.001</b> | <b>0.010</b> | <b>0.004</b> |         |
| Edad    | 0.160        | 0.140        | 0.659 | 0.614        | 0.508        | 0.478        | 0.453        | 0.262        | 0.401   |

**Tabla 13.** Coeficiente de correlación en “pacientes neurológicos” sin ningún síntoma.

| Coef. Corl. | NOx           | HVA           | Glu    | Gln          | Gly          | Cit          | Arg          | NOx/HVA      | Cit/Arg |
|-------------|---------------|---------------|--------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| NOx         |               |               |        |              |              |              |              |              |         |
| HVA         | 0.178         |               |        |              |              |              |              |              |         |
| Glu         | <b>-0.374</b> | -0.019        |        |              |              |              |              |              |         |
| Gln         | -0.267        | -0.150        | 0.116  |              |              |              |              |              |         |
| Gly         | -0.045        | -0.050        | 0.126  | <b>0.543</b> |              |              |              |              |         |
| Cit         | 0.179         | <b>-0.411</b> | -0.051 | <b>0.517</b> | <b>0.695</b> |              |              |              |         |
| Arg         | -0.005        | -0.299        | -0.043 | <b>0.694</b> | <b>0.593</b> | <b>0.706</b> |              |              |         |
| NOx/HVA     | <b>0.479</b>  | <b>-0.764</b> | -0.217 | 0.024        | 0.030        | <b>0.501</b> | <b>0.322</b> |              |         |
| Cit/Arg     | <b>0.324</b>  | -0.312        | -0.089 | <b>0.290</b> | <b>0.595</b> | <b>0.881</b> | <b>0.368</b> | <b>0.486</b> |         |
| Edad        | 0.176         | 0.161         | -0.062 | 0.069        | 0.090        | 0.104        | -0.102       | -0.160       | 0.124   |

**Tabla 14.** Valor P de las correlaciones de los “pacientes neurológicos” con delirios.

| Valor P | NOx   | HVA          | Glu          | Gln   | Gly   | Cit   | Arg          | NOx/HVA | Cit/Arg |
|---------|-------|--------------|--------------|-------|-------|-------|--------------|---------|---------|
| NOx     |       |              |              |       |       |       |              |         |         |
| HVA     | 0.333 |              |              |       |       |       |              |         |         |
| Glu     | 0.497 | 0.708        |              |       |       |       |              |         |         |
| Gln     | 1.00  | 1.00         | 0.919        |       |       |       |              |         |         |
| Gly     | 1.00  | 1.00         | 0.175        | 0.658 |       |       |              |         |         |
| Cit     | 0.714 | 1.00         | <b>0.017</b> | 0.803 | 0.297 |       |              |         |         |
| Arg     | 0.058 | 0.156        | 0.065        | 0.714 | 0.658 | 0.175 |              |         |         |
| NOx/HVA | 0.417 | <b>0.015</b> | 0.822        | 1.00  | 1.00  | 1.00  | 0.27         |         |         |
| Cit/Arg | 0.297 | 1.00         | <b>0.017</b> | 0.564 | 0.242 | 0.033 | <b>0.033</b> | 1.00    |         |
| Edad    | 0.720 | 0.882        | 0.093        | 0.658 | 0.919 | 0.175 | 0.557        | 0.754   | 0.419   |

**Tabla 15.** Coeficiente de correlación de los “pacientes neurológicos” con delirios.

| Coef. Corl. | NOx    | HVA           | Glu          | Gln    | Gly    | Cit    | Arg           | NOx/HVA | Cit/Arg |
|-------------|--------|---------------|--------------|--------|--------|--------|---------------|---------|---------|
| NOx         |        |               |              |        |        |        |               |         |         |
| HVA         | 0.738  |               |              |        |        |        |               |         |         |
| Glu         | -0.371 | -0.443        |              |        |        |        |               |         |         |
| Gln         | 0.028  | 0.500         | 0.085        |        |        |        |               |         |         |
| Gly         | 0.028  | 0.500         | 0.657        | 0.257  |        |        |               |         |         |
| Cit         | -0.200 | -0.500        | <b>0.943</b> | 0.143  | 0.543  |        |               |         |         |
| Arg         | 0.829  | 0.970         | -0.784       | -0.200 | -0.257 | -0.657 |               |         |         |
| NOx/HVA     | -0.600 | <b>-0.985</b> | 0.277        | -0.500 | -0.500 | 0.500  | -0.911        |         |         |
| Cit/Arg     | -0.543 | -0.500        | <b>0.943</b> | 0.314  | 0.600  | 0.886  | <b>-0.886</b> | 0.500   |         |
| Edad        | 0.144  | 0.078         | 0.740        | 0.203  | 0.058  | 0.638  | -0.305        | 0.246   | 0.377   |

**Tabla 16.** Valor de P de las correlaciones de “pacientes neurológicos” con alucinaciones.

| Valor P | NOx          | HVA   | Glu   | Gln   | Gly   | Cit   | Arg   | NOx/HVA | Cit/Arg |
|---------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|---------|
| NOx     |              |       |       |       |       |       |       |         |         |
| HVA     | 0.96         |       |       |       |       |       |       |         |         |
| Glu     | 1.00         | 0.333 |       |       |       |       |       |         |         |
| Gln     | <b>0.006</b> | 0.685 | 0.919 |       |       |       |       |         |         |
| Gly     | 0.491        | 0.750 | 0.136 | 0.720 |       |       |       |         |         |
| Cit     | 0.765        | 0.242 | 0.233 | 0.669 | 0.083 |       |       |         |         |
| Arg     | 0.550        | 0.443 | 0.919 | 0.334 | 0.217 | 0.528 |       |         |         |
| NOx/HVA | 0.186        | 0.395 | 0.750 | 0.437 | 0.917 | 0.590 | 0.802 |         |         |
| Cit/Arg | 0.233        | 0.917 | 0.683 | 0.517 | 0.083 | 0.233 | 0.233 | 0.750   |         |
| Edad    | 0.309        | 0.659 | 0.683 | 0.523 | 1.00  | 0.587 | 0.753 | 0.305   | 0.417   |

**Tabla 17.** Coeficiente de correlación de los “pacientes neurológicos” con alucinaciones.

| Coef. Corl. | NOx           | HVA    | Glu    | Gln    | Gly    | Cit    | Arg    | NOx/HVA | Cit/Arg |
|-------------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| NOx         |               |        |        |        |        |        |        |         |         |
| HVA         | -0.404        |        |        |        |        |        |        |         |         |
| Glu         | -0.028        | 0.800  |        |        |        |        |        |         |         |
| Gln         | <b>-0.895</b> | -0.315 | -0.085 |        |        |        |        |         |         |
| Gly         | 0.286         | 0.400  | 0.714  | -0.143 |        |        |        |         |         |
| Cit         | -0.185        | 0.758  | 0.700  | 0.263  | 0.900  |        |        |         |         |
| Arg         | -0.275        | -0.557 | -0.085 | 0.432  | -0.500 | -0.380 |        |         |         |
| NOx/HVA     | 0.814         | -0.605 | -0.400 | -0.563 | 0.200  | -0.410 | -0.198 |         |         |
| Cit/Arg     | 0.700         | 0.200  | 0.300  | -0.400 | 0.900  | 0.700  | -0.700 | 0.400   |         |
| Edad        | -0.503        | 0.271  | 0.300  | 0.330  | -0.028 | -0.413 | -0.166 | -0.887  | -0.600  |

**Tabla 18.** Valor P de las correlaciones de los “pacientes neurológicos” con delirios y alucinaciones.

| Valor P | NOx          | HVA          | Glu          | Gln          | Gly          | Cit          | Arg   | NOx/HVA | Cit/Arg |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------|---------|---------|
| NOx     |              |              |              |              |              |              |       |         |         |
| HVA     | 0.431        |              |              |              |              |              |       |         |         |
| Glu     | 0.355        | 0.382        |              |              |              |              |       |         |         |
| Gln     | 0.052        | 0.213        | 0.770        |              |              |              |       |         |         |
| Gly     | 0.171        | 0.610        | <b>0.001</b> | 0.200        |              |              |       |         |         |
| Cit     | 0.432        | 0.940        | 0.080        | 0.489        | <b>0.001</b> |              |       |         |         |
| Arg     | 0.812        | 0.843        | 0.383        | 0.123        | 0.214        | 0.306        |       |         |         |
| NOx/HVA | <b>0.001</b> | <b>0.025</b> | 0.242        | <b>0.006</b> | 0.869        | 0.668        | 0.811 |         |         |
| Cit/Arg | 0.759        | 0.715        | 0.219        | 0.557        | <b>0.046</b> | <b>0.001</b> | 0.170 | 0.234   |         |
| Edad    | 0.360        | 0.186        | 0.402        | <b>0.026</b> | 0.109        | 0.153        | 0.499 | 0.195   | 0.144   |

**Tabla 19.** Coeficiente de correlación de los “pacientes neurológicos” con delirios y alucinaciones.

| Coef. Corl. | NOx          | HVA           | Glu          | Gln           | Gly          | Cit          | Arg    | NOx/HVA | Cit/Arg |
|-------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------|---------|---------|
| NOx         |              |               |              |               |              |              |        |         |         |
| HVA         | 0.189        |               |              |               |              |              |        |         |         |
| Glu         | -0.210       | -0.223        |              |               |              |              |        |         |         |
| Gln         | -0.399       | 0.297         | 0.064        |               |              |              |        |         |         |
| Gly         | -0.287       | 0.122         | <b>0.724</b> | 0.264         |              |              |        |         |         |
| Cit         | -0.174       | 0.017         | 0.388        | 0.150         | <b>0.631</b> |              |        |         |         |
| Arg         | -0.050       | 0.046         | 0.194        | 0.315         | 0.256        | 0.221        |        |         |         |
| NOx/HVA     | <b>0.663</b> | <b>-0.509</b> | 0.306        | <b>-0.616</b> | -0.040       | 0.106        | -0.058 |         |         |
| Cit/Arg     | 0.068        | -0.087        | 0.278        | -0.127        | <b>0.419</b> | <b>0.805</b> | -0.294 | 0.292   |         |
| Edad        | -0.194       | 0.225         | -0.191       | <b>0.452</b>  | 0.334        | 0.313        | -0.144 | -0.317  | 0.320   |