



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS
Y DE LA SALUD

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA

**Cuantificación longitudinal *in vivo* del ácido gamma-amino butírico
en pacientes con primer episodio de psicosis**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:

PABLO LEÓN ORTÍZ

Director de Tesis

Dr. Francisco Camilo de la Fuente Sandoval

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Manuel Velasco Suárez

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

Noviembre 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE GENERAL	2
Resumen del protocolo	3
1. Introducción	4
1.1 Esquizofrenia	4
1.2 Teorías dopaminérgica, glutamatérgica y GABAérgica	5
1.3 Dopamina	5
1.4 Dopamina – glutamato	6
1.5 Ácido gamma-amino-butírico (GABA)–glutamato	7
1.6 Tratamiento de la esquizofrenia y respuesta clínica	8
1.6.1 Tratamiento	8
1.7 Espectroscopia por resonancia magnética de protón	9
1.8 Trabajo previo con ERM1H en esquizofrenia	10
2. Pregunta de investigación	12
3. Objetivos y metas	12
3.1 Objetivo primario	12
3.2 Objetivos específicos	12
3.3 Metas científicas	13
4. Hipótesis	14
5. Justificación	14
6. Metodología Científica	15
6.1 Diseño	15
6.2 Muestra clínica	15
6.2.1 Criterios de inclusión	17
6.2.2 Criterios de exclusión	18
6.2.3 Criterios de eliminación	18
6.2.4 Criterios de inclusión de controles	18
6.2.5 Criterios de exclusión de controles	19
6.3 Evaluación clínica	19
6.3.1 Escala PANSS	20
6.4 Espectroscopia por Resonancia Magnética de Protón	21
6.5 Justificación del tamaño de Muestra	22
6.6 Análisis estadístico	22
6.7 Aspectos éticos y de bioseguridad	23
6.7.1 Consentimiento informado	24
7. Resultados	24
7.1 Características clínicas y demográficas	24
7.2 Estabilidad de las mediciones	25
7.3 Niveles de GABA	25
7.4 Otros metabolitos	27
7.5 Composición tisular del voxel	29
7.6 Relación con mediciones clínicas	29
7.7 Neurotransmisores en la región estudiada	30
8. Limitaciones del estudio	30
9. Conclusiones	31

RESUMEN DEL PROTOCOLO

En este estudio, se realizó la medición de ácido γ -amino-butírico (GABA) en el estriado de asociación y corteza prefrontal medial, en pacientes con un primer episodio agudo de psicosis. Estas mediciones se realizaron por medio de una técnica no invasiva: Espectroscopia por resonancia magnética de protón (ERM¹H), antes de recibir tratamiento farmacológico y después de recibir, el mismo tratamiento farmacológico, durante 4 semanas. Los pacientes fueron tratados con un solo medicamento (antagonista del receptor D₂ de dopamina), y como parte del protocolo se cuantificaron los niveles séricos de la medicación antipsicótica. Los resultados de GABA fueron comparados con un grupo de sujetos sanos.

Se estima que en México hay aproximadamente 1 millón de personas con esquizofrenia, con una prevalencia poblacional estimada del 1%. Este trastorno se presenta entre los 15 y 25 años de edad, momento en el que el primer episodio de psicosis puede ocurrir, y su incidencia mundial por año, se ha estimado entre 0.16 a 0.42 por 1000 habitantes. En México se estima que el 20% los pacientes que la padecen se encuentran severamente discapacitados por la enfermedad.

La esquizofrenia se caracteriza por la presencia de síntomas psicóticos y síntomas llamados negativos-cognoscitivos, como son el aislamiento, la falta de motivación, el aplanamiento emocional, la disminución en la capacidad de sentir placer, alteraciones en la memoria, atención y memoria de trabajo. La psicosis se caracteriza por una pérdida del contacto con la realidad, la presencia de ideas irreductibles a la lógica (delirios), alucinaciones (experiencias perceptuales sin estímulo sensorial) y/o conductas erráticas.

Diferentes líneas de investigación, incluyendo estudios postmortem, estudios genéticos y de neuroimagen, sugieren que la disfunción del sistema γ -amino-butírico (GABA) contribuye de manera importante en la fisiopatología de la esquizofrenia. Estas alteraciones incluyen: 1) niveles reducidos del mensajero del ácido ribonucleico (ARN) para la descarboxilasa-67 de ácido glutámico, enzima encargada de la síntesis de GABA; 2) disminución en la densidad axonal GABAérgica (neuronas en candelabro); 3) disminución de la expresión genética del transportador de membrana 1 para GABA; y 4) incremento de la densidad de los receptores GABA-A. Sin embargo, el estudio de la vía GABAérgica, *in vivo*, en pacientes con esquizofrenia es muy escaso, debido a la falta de técnicas no

invasivas, seguras y reproducibles para su medición. En este sentido, la neuroimagen se ha posicionado como una herramienta útil y confiable. Particularmente, la espectroscopia por resonancia magnética de protón es una técnica que permite la medición de varias sustancias en zonas específicas del cerebro. La ERM¹H permite estudiar los cambios en las concentraciones de ciertos metabolitos o neurotransmisores, lo que a su vez puede proporcionar información útil para la realización de diagnósticos, ayudar en la elección de ciertos medicamentos y monitorizar la respuesta a los mismos, de manera más objetiva. Específicamente, la medición de GABA es posible por medio de esta técnica. En un estudio reciente, se logró cuantificar GABA en la corteza frontal medial de pacientes con esquizofrenia. Este estudio, de diseño transversal, se encontraron niveles de GABA aumentados, presumiblemente por un efecto de sobrecompensación a la hipofunción de los receptores a glutamato *N*-metil-*D*-aspartato (NMDA) ubicados en las interneuronas.

Por otro lado, estudios de ERM¹H que cuantificaron glutamato, un neurotransmisor excitatorio que se encuentra en íntima relación con el GABA, en pacientes con esquizofrenia han encontrado resultados dispares, especialmente por la heterogeneidad de los pacientes estudiados (cronicidad, medicamentos previos). De manera reciente, nuestro grupo demostró que los pacientes en un primer episodio de psicosis que nunca habían recibido tratamiento antipsicótico presentaron un aumento en los niveles de glutamato en el estriado de asociación (o caudado dorsal precomisural) al ser comparados con controles sanos. En este estudio se demuestra que los niveles de GABA, igualmente se encuentra elevados, en las regiones estudiadas y más aún se demuestra, por primera vez, que estos niveles disminuyen o se “normalizan”, después de tratamiento antipsicótico efectivo.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Esquizofrenia

La esquizofrenia es un trastorno mental crónico (1). Se estima que en México existen aproximadamente 1 millón de personas con la enfermedad, habiendo una prevalencia poblacional estimada del 1%(2). Este trastorno se presenta entre los 15 y 25 años de edad y su incidencia mundial por año se ha estimado entre 0.16 a 0.42 por 1000 habitantes (3). En México se estima que el 20% los pacientes están severamente discapacitados por esta condición (4).

En la actualidad se desconoce la causa de la esquizofrenia, sin embargo se ha propuesto como una enfermedad de origen multifactorial resultado de cierta susceptibilidad genética y ambiental (5, 6). El tratamiento convencional es mediante medicamentos que actúan como antagonistas o agonistas parciales en los receptores $D_{2/3}$ a dopamina; sin embargo este tratamiento tiene su efecto principal sobre los síntomas psicóticos o positivos, con un limitado efecto en los síntomas negativos (7). Por otro lado, se ha demostrado que actuando sobre el sistema glutamatérgico es factible una mejoría clínica de los síntomas, de forma equivalente que con un antagonista dopaminérgico (8).

1.2 Teorías dopaminérgica, glutamatérgica y GABAérgica de la esquizofrenia

La desregulación dopaminérgica ha sido un modelo útil para enlazar el efecto de los antipsicóticos con la esquizofrenia dado que todos antipsicóticos disponibles son antagonistas o agonistas parciales del receptor D_2 a dopamina. Los antipsicóticos son efectivos para tratar los síntomas psicóticos, sin embargo, son inefectivos para detener o revertir el deterioro en términos de cognición y funcionalidad (síntomas negativos-cognoscitivos). Por otro lado, se sugiere que la desregulación glutamatérgica podría modificar el deterioro cognitivo y funcional de la esquizofrenia. Teorías basadas en estudios en modelos animales sugieren que la desregulación glutamatérgica es secundaria a una anomalía en la neurotransmisión modulada por GABA. Sin embargo, hasta la fecha el rol del glutamato y GABA es incierto en la esquizofrenia.

1.3 Dopamina: asociada con síntomas psicóticos, pero no con síntomas negativos-cognoscitivos.

La dopamina se ha postulado como uno de los neurotransmisores fundamentales en la fisiopatología de la psicosis(9, 10). Las primeras evidencias del papel de la dopamina en la psicosis fue la observación de que los psicoestimulantes que ocasionan liberación de dopamina se asocian con la psicosis *de novo* (11, 12) y pueden desencadenar un incremento de los síntomas psicóticos en los pacientes en remisión parcial(13). Así mismo, se sabe que los antipsicóticos causan un aumento en el recambio de las monoaminas a nivel central (14) y que todos los antipsicóticos disponibles para uso clínico se unen al receptor D_2 (15-20).

Algunos estudios han mostrado que los pacientes con esquizofrenia, cuando están con síntomas psicóticos activos, presentan un aumento en la síntesis de dopamina(21-25), un nivel aumentado en la dopamina sináptica(26, 27) y un incremento en la liberación de dopamina en respuesta a un reto farmacológico con anfetamina(28, 29). Así mismo, la administración de anfetamina de manera

intermitente puede generar psicosis *de novo*, o bien exacerbar los síntomas en pacientes con esquizofrenia(30-32). Este incremento en la transmisión dopaminérgica tiene una relación directa con el receptor D₂ de dopamina, lo cual se ha podido corroborar mediante estudios de neuroimagen donde se observa que es necesario bloquear este receptor, mediante antagonistas o agonistas-parciales para producir un efecto antipsicótico(19, 33).

A pesar de que la hipótesis dopaminérgica ha sido un modelo útil para comprender y estudiar el estado de psicosis, ésta no explica el deterioro en términos de cognición y funcionalidad, visto desde los primeros años de la enfermedad. Se sabe que los antagonistas de glutamato (como la ketamina o la feniliciclidina) inducen síntomas psicóticos y negativos-cognoscitivos más parecidos a la esquizofrenia que aquellos inducidos por agonistas dopaminérgicos de manera aislada(34). Se ha propuesto que este deterioro puede ser parcialmente explicado por la toxicidad neuronal cortical secundaria al incremento en la exposición al glutamato(35), que a su vez podría reflejar un incremento compensatorio en la actividad glutamatérgica cortical debido al hipo funcionamiento del receptor de *N*-metil-*D*-aspartato (NMDA)(36).

1.4 Dopamina-glutamato: antagonistas al receptor de glutamato NMDA incrementan la dopamina e inducen síntomas psicóticos y negativos-cognoscitivos.

La interacción entre los sistemas dopaminérgicos y glutamatérgicos ha sido ampliamente documentada(37-41). El efecto del glutamato sobre la liberación de dopamina ha ocasionado resultados contradictorios, poniendo en evidencia una función dual, excitadora e inhibidora, sobre la liberación dopaminérgica(42). Se han encontrado niveles menores de glutamato en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con esquizofrenia(43, 44); de la misma manera, se han encontrado niveles menores de glutamato y aspartato en el tejido cortical de estos pacientes(45). Por otro lado, en la corteza del cíngulo en los pacientes con esquizofrenia se ha encontrado un incremento de los axones glutamatérgicos(45), probablemente como compensación a una disfunción en la dinámica de la liberación del glutamato. Esta disfunción en la liberación se pone en evidencia mediante una disminución en la liberación glutamatérgica en los sinaptosomas obtenidos de la corteza de tales pacientes(46).

Se sugiere que la desregulación dopaminérgica podría ser una vía final común y secundaria a una alteración en la neurotransmisión glutamatérgica(36, 47, 48). Se piensa que la neurotransmisión dopaminérgica ocurre a través de una liberación tónica y fásica. Los niveles tónicos median la inhibición de la liberación fásica de dopamina, lo que a su vez, se piensa está asociado con eventos

conductuales significativos(49, 50). Se propone que la liberación tónica de dopamina está regulada por aferencias glutamatérgicas, como las provenientes de la corteza prefrontal, la amígdala y el hipocampo(49). En este modelo, se esperaría que una interrupción anormal de las aferencias glutamatérgicas indujera una disminución en la liberación tónica de dopamina con una desinhibición subsecuente de la liberación fásica de la misma, provocando que el sistema respondiera de manera anormal a estímulos insignificantes(51). En la actualidad, ha sido posible cuantificar *in vivo*, mediante Tomografía por emisión de Fotón Único (SPECT - Single Photon Emission Computed Tomography) y Tomografía por Emisión de Positrones (PET - Positron Emission Tomography), la interacción del sistema glutamatérgico sobre el dopaminérgico(52-55), concluyendo que los antagonistas no competitivos del receptor NMDA, como la ketamina, incrementan la liberación de dopamina inducida por anfetaminas(56), disminuyen la unión al receptor D₂ en la corteza posterior del cíngulo(55) y el estriado(53, 57, 58), además de inducir o empeorar algunos de los síntomas psicóticos (alucinaciones y delirios) y negativos (aplanamiento afectivo, alogia, abulia, aislamiento social) observados en la esquizofrenia(52, 53, 55).

1.5 Ácido γ -amino-butírico (GABA)–glutamato: disminución de GABA asociada a incremento del glutamato y posible neurotoxicidad en esquizofrenia.

Diferentes líneas de investigación, incluyendo estudios postmortem(59-63), estudios genéticos(64) y de neuroimagen(65, 66), sugieren que la disfunción del sistema γ -amino-butírico (GABA) contribuye de manera importante en la fisiopatología de la esquizofrenia. Estas alteraciones incluyen: 1) niveles reducidos del mensajero del ácido ribonucleico (ARN) para la descarboxilasa-67 de ácido glutámico, enzima encargada de la síntesis de GABA(67, 68); 2) disminución en la densidad axonal GABAérgica (neuronas en candelabro)(69); 3) disminución de la expresión genética del transportador de membrana 1 para GABA(70); y 4) incremento de la densidad de los receptores GABA-A(61).

Desde el punto de vista neuroquímico, se sabe que el papel de las interneuronas GABAérgicas sobre la modulación de las neuronas piramidales corticales-glutamátérgicas, es vital para el procesamiento e integración de la información y se especula que es precisamente esta hipofunción de los receptores a glutamato NMDA ubicados en las interneuronas lo que genera un estado anormal de excitación o desinhibición de las neuronas glutamatérgicas corticales(36, 48, 71). Sin embargo, el estudio de la vía GABAérgica, *in vivo*, en pacientes con esquizofrenia es muy escaso, debido a la falta de técnicas no invasivas, seguras y reproducibles que lo permitan. En este sentido, la neuroimagen se ha posicionado como una herramienta útil y confiable. Particularmente, la espectroscopia por resonancia magnética

de protón (^1H) es una técnica que permite la medición de varios metabolitos en zonas específicas del cerebro en funcionamiento. De manera reciente, se han desarrollado secuencias específicas para la medición confiable de GABA en diferentes regiones cerebrales(72, 73).

1.6 Tratamiento de la esquizofrenia y respuesta clínica

El tratamiento farmacológico de la esquizofrenia (trastornos psicóticos) se basa en antagonistas o agonistas parciales de los receptores de dopamina(7, 74). Desde su introducción, los antipsicóticos se han vuelto los fármacos de primera elección para el tratamiento de los trastornos psicóticos(75). En la práctica clínica, el 84% de los pacientes con un primer episodio de psicosis responden de forma satisfactoria al tratamiento después de 4 semanas(76), siendo este el tiempo necesario para una prueba adecuada con un antipsicótico(77, 78); esto debido a la necesidad de titulación de la dosis y al tiempo requerido para ver la máxima respuesta(79, 80). Por ejemplo, el antipsicótico risperidona requiere 28 días para obtener una respuesta de los síntomas psicóticos en el 70% de los pacientes con un primer episodio de psicosis y sólo el 30% responden para el día 14(81).

1.6.1 Tratamiento con antagonistas y agonistas parciales de la dopamina

Todos los antipsicóticos funcionan bloqueando (antagonistas) o disminuyendo (agonistas parciales) el efecto de la dopamina en los receptores tipo D_2 (17, 18, 82). Esto puede sugerir que los cambios en glutamato y GABA, después del tratamiento con un antipsicótico, se relacionan al nivel de antagonismo sobre los receptores D_2 a dopamina.

Observaciones incidentales del efecto antipsicótico de la clorpromazina(83), llevaron al descubrimiento de su acción antidopaminérgica(14); con base a ellas es que posteriormente se inició la creación de fármacos diseñados con la intención específica de ejercer un efecto anti dopaminérgico. De manera general, puede decirse que los antipsicóticos funcionan inhibiendo de manera competitiva (con diferentes afinidades) la actividad de la adenilato ciclasa, estimulada por la unión de dopamina a los receptores conocidos como D_2 (84). Posterior al descubrimiento de la clorpromazina surgieron fármacos análogos a esta fenotiazina, además de un grupo estructuralmente distinto (butirofenonas) donde se incluye a fármacos como el haloperidol y que actualmente se denominan antipsicóticos de primera generación o antipsicóticos típicos. Este grupo de fármacos aún se usa en una gran cantidad de pacientes, logrando disminución de los síntomas positivos de la psicosis, pero pobre mejoría en los síntomas negativos y cognoscitivos de la enfermedad, además de presentar mayor incidencia de efectos adversos(7).

Los antipsicóticos de segunda generación o atípicos, son llamados así por tener un efecto terapéutico similar a los de primera generación, pero una menor incidencia de síntomas extrapiramidales, un menor aumento de la prolactina y mostrar cierto beneficio en los síntomas negativos y cognoscitivos de los pacientes a largo plazo(85). El mecanismo por el cual tiene menores efectos colaterales es aún incierto, pero todos requieren actuar como antagonistas en el receptor D₂ de dopamina(86). La mayoría de los antipsicóticos de segunda generación también actúan sobre algún receptor de serotonina(87-89); sin embargo, la pura acción sobre serotonina no tiene efecto antipsicótico. Un medicamento en este grupo es la risperidona con una alta afinidad por los receptores D₂ y 5HT_{2a}. En general, hoy se acepta que el tratamiento con antipsicóticos de segunda generación es preferible debido al menor riesgo de presentar efectos adversos indeseables.

De manera más reciente, han surgido los antipsicóticos de tercera generación, también conocidos como ‘agonistas parciales’ del receptor D₂. El fármaco prototipo de este grupo es el aripiprazol. Este antipsicótico tiene una alta afinidad a los receptores D₂ y presenta un mecanismo de acción diferente al del resto de los antipsicóticos(33). El aripiprazol no es un antagonista ‘completo’, tiene una modesta actividad agonista intrínseca sobre el receptor D₂(90) y se ha etiquetado como el primer ‘estabilizador de dopamina’(91-93). En situaciones en las que existe una alta concentración de dopamina (por ejemplo, en la psicosis), el aripiprazol bloquea la acción intrínseca de la dopamina, pero aun induciendo un discreto efecto como agonista del receptor D₂.

Los antipsicóticos de primera y segunda generación, como la risperidona, presentan características farmacodinámicas distintas de las observadas en los agonistas parciales como el aripiprazol, por lo que el tratamiento con uno u otro grupo de fármacos puede generar respuestas clínicas diferenciadas en pacientes con psicosis. Para fines de este protocolo se utilizará la risperidona, cuyo efecto de acción es el más común en la mayoría de los fármacos utilizados actualmente para el tratamiento de la psicosis.

1.7 Espectroscopia por resonancia magnética de protón (ERM¹H)

Avances recientes en la técnica de espectroscopia por resonancia magnética de protón (ERM¹H) han hecho posible la evaluación *in vivo* de GABA, haciendo factible su cuantificación, de forma no invasiva en humanos, y en una región cerebral determinada(94-96).

Como todas las formas de espectroscopia; la espectroscopia por resonancia magnética se fundamenta en la transición de las moléculas, desde un estado de reposo a uno de excitación y a la medición de la energía liberada por la partícula al volver al estado de reposo. En el caso de la espectroscopia por resonancia magnética, la partícula es el dipolo magnético dentro del núcleo de la molécula de interés.

Cuando se colocan los dipolos magnéticos dentro de un campo magnético intenso, estos asumen estados de alta y baja energía; la transición entre uno y otro estado puede ser inducida tras la aplicación de energía en forma de radiofrecuencia(97). Más aún, cada núcleo requiere de una frecuencia específica para inducir la transición; en este caso se utiliza un estímulo de radio frecuencia específico para protones (^1H). En resonancia magnética, el término ‘eco’ hace referencia a la emisión de energía en forma de una señal electromagnética de resonancia. El ‘tiempo eco’ (TE) representa el tiempo en milisegundos, entre la aplicación de un pulso electromagnético a 90° y el pico de la señal eco; este tiempo es modificable de acuerdo a la molécula que desee estudiarse.

1.8 Trabajo previo en nuestro laboratorio con ERM ^1H en esquizofrenia

Nuestro grupo de trabajo ha demostrado, mediante ERM ^1H , que el glutamato se encuentra elevado en el estriado de asociación (o caudado dorsal precomisural) en sujetos en primer episodio psicótico y en alto riesgo clínico de desarrollar la enfermedad (sujetos con síntomas pre psicóticos o prodrómicos)(98). Además, describimos por primera vez que los sujetos en alto riesgo clínico para desarrollar psicosis, que posteriormente desarrollaron un episodio psicótico, presentaban mayores niveles de glutamato (tamaño de efecto=1.4) en el estriado de asociación en comparación con aquellos sujetos en alto riesgo que no desarrollaron psicosis después de dos años de seguimiento(99). En ambos estudios se utilizó el cerebelo como región de control, no encontrándose diferencias entre los grupos.

El estriado de asociación o estriado cognoscitivo(100) consiste en la sección dorsal y precomisural del núcleo caudado y también se le conoce como neoestriado en el humano(101). Ésta es una estructura rica en aferencias y receptores D_2 a dopamina que es utilizada para cuantificar el efecto *in vivo* de los antipsicóticos(102, 103). Además, esta región del estriado es la que establece el mayor número de conexiones con la corteza prefrontal(104). Esto es de gran interés para el estudio de la esquizofrenia, ya que la corteza prefrontal se encuentra implicada en los déficits cognoscitivos que presentan los pacientes y con los síntomas negativos de la enfermedad. Por otro lado, la corteza del cerebelo es ampliamente utilizada como región de referencia por su mínima (o despreciable) cantidad de receptores a dopamina y la ausencia de aferencias dopaminérgicas(105-107). Al igual que el caudado

dorsal, la corteza del cerebelo es rica en células glutamatérgicas(101) y en aferencias corticales, incluyendo de la corteza prefrontal(104). De esta forma, una de las diferencias entre el caudado dorsal y el cerebelo son las aferencias dopaminérgicas presentes sólo en el caudado dorsal, por lo cual es posible proponer que los cambios observados en el glutamato del caudado dorsal se podrían relacionar con el tono dopaminérgico.

Nuestros resultados previos(98, 99) establecen de forma clara que el glutamato se encuentra incrementado en el estriado de asociación durante la psicosis y podría predecir la aparición de psicosis en sujetos en riesgo (familiares de pacientes con esquizofrenia o sujetos con síntomas pre psicóticos).

Previo a la publicación de este trabajo, no existían estudios longitudinales de ERM¹H que midieran GABA en el estriado de asociación y en corteza prefrontal medial, de sujetos con un trastorno psicótico. En este trabajo se llevó a cabo la medición de GABA en pacientes durante su primer episodio agudo de esquizofrenia, antes y después de recibir tratamiento antipsicótico. Este estudio nos permite un mejor entendimiento de la interacción entre glutamato y GABA con los síntomas (psicóticos y negativos-cognoscitivos), la evolución y la respuesta a tratamiento en pacientes durante su primer episodio de esquizofrenia. Nuestro grupo tiene ya experiencia en la medición, cuantificación y análisis de glutamato con ERM¹H(98, 99) (Figura 1). Además, de forma reciente, estandarizamos la medición y el análisis de GABA en nuestro laboratorio (Figura 2).

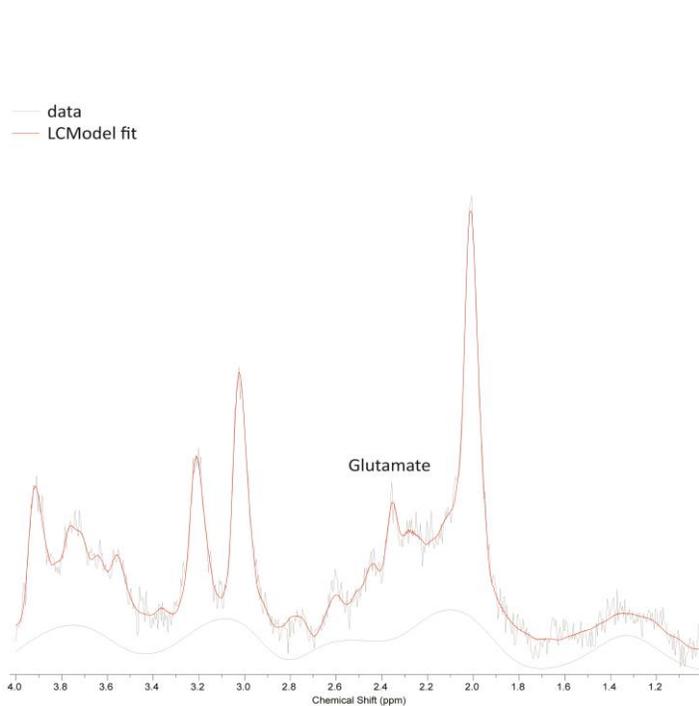


Figura 1. Análisis de glutamato

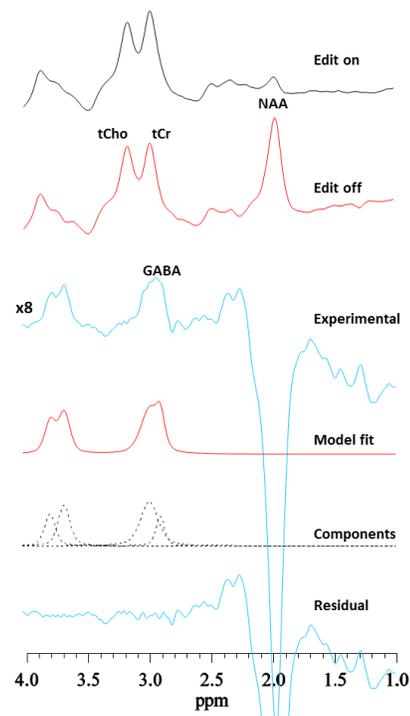


Figura 2. Análisis de GABA. En azul se muestra la curva de GABA, que en condiciones de medición estándar se encuentra por detrás de las curvas de creatinina y colina

Las mediciones de glutamato y GABA se realizaron por medio de ERM¹H, antes de recibir tratamiento farmacológico y posterior a ello. Los pacientes fueron tratados con el antagonista del receptor D2 a dopamina, risperidona. Esto sugiere que los cambios en glutamato y GABA, después del tratamiento, se relacionan al nivel de antagonismo sobre dopamina.

El objetivo principal del presente estudio fue evaluar los efectos de la medicación antipsicótica sobre los niveles de GABA, en la corteza prefrontal y el cuerpo estriado, por medio de espectroscopía de protón con resonancia magnética (1H MRS), utilizando un diseño de estudio que minimiza la variabilidad dentro de los sujetos. Los grupos estudiados fueron pacientes con un primer episodio de psicosis, que nunca hubieran recibido tratamiento antipsicótico; y las mediciones se realizaron antes y después de 4 semanas de tratamiento. Los datos fueron comparados un grupo de sujetos de control.

2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existirán diferencias entre los niveles de ácido gama-aminobutírico, cuantificados por ERM₁H en el núcleo caudado y la corteza prefrontal medial de pacientes en un primer episodio de psicosis, antes y después de recibir tratamiento antipsicótico efectivo, con una antagonista D2 de dopamina, por cuatro semanas y en comparación con grupo de sujetos sanos?

3. OBJETIVOS Y METAS

3.1 Objetivo primario

Caracterizar, mediante espectroscopia por resonancia magnética de protón (ERM¹H), las alteraciones en el ácido gama-amino butírico, en el estriado de asociación y la corteza prefrontal medial de sujetos que cursan un primer episodio de psicosis, antes y después de recibir tratamiento antipsicótico efectivo.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar las diferencias entre los niveles de GABA y glutamato-glutamina (Glx) en sujetos que cursan un primer episodio de psicosis antes de recibir tratamiento en contraste con sujetos sanos.

- Caracterizar si diferentes niveles de GABA y Glx previo a tratamiento, se asocian con la respuesta farmacológica al tratamiento antipsicótico con un antagonista al receptor D₂ de dopamina (risperidona).
- Caracterizar el cambio de GABA y Glx asociado al tratamiento antipsicótico con un antagonista al receptor D₂ de dopamina (risperidona).

3.3 Metas científicas

Los avances y resultados preliminares de este estudio, fueron presentados en los siguientes foros:

1. **León-Ortiz P**, de la Fuente-Sandoval C, Mao X, Reyes-Madrigal F, Rodríguez-Mayoral O, Alvarado-Alanis P, Favila R, Solís-Vivanco R, Graff-Guerrero A, Shungu D. Alteraciones en la regulación cortico-estriatal del ácido gama amino butírico en fases tempranas de la esquizofrenia. XIX Encuentro Nacional de Investigadores de la Secretaría de Salud. Acapulco, Guerrero, 22-25 de octubre de 2014.
 2. **León-Ortiz P**, de la Fuente-Sandoval C, Reyes-Madrigal F, Mao X, Rodríguez-Mayoral O, Jung-Cook H, Solís-Vivanco R, Graff-Guerrero A, Shungu DC. 1H MRS measurement of brain GABA in antipsychotic-naive first-episode psychosis patients before and after 4 weeks of antipsychotic treatment. XVth International Congress on Schizophrenia Research, Colorado Springs, Colorado, EUA; 28 de marzo al 1 de abril de 2015. Resumen en Schizophrenia Bulletin, 41 (Suppl. 1): S52, 2015.
- Se generó una base de datos longitudinal normativa de GABA y glutamato en controles.
 - Se generó una base de datos longitudinal de pacientes y controles de variables neuropsicológicas.
 - Publicación de 1 artículo en revistas internacionales indizadas.

4. HIPÓTESIS

Los niveles de GABA cuantificados por ERM1H, en el núcleo caudado y la corteza prefrontal medial de pacientes en un primer episodio de psicosis se encontrarán elevados al menos en un 10% en comparación a sujetos sanos pareados. Así mismo los niveles de GABA disminuirán de manera estadísticamente significativa, tras recibir tratamiento antipsicótico efectivo con un antagonista D2 de dopamina, por 4 semanas.

5. JUSTIFICACIÓN

La esquizofrenia tiene una prevalencia del 1% en la población general, afectando a un aproximado de 70 millones de personas en el mundo, de las cuales una gran parte se encuentran en países en vías de desarrollo como México. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud más del 50% de los pacientes con esta patología no reciben tratamiento, generando costos indirectos debido a pérdida de productividad y la morbi-mortalidad prematura de los pacientes y cuidadores. En México se estima que existen un millón de personas que padecen esquizofrenia y aproximadamente un 20% de ellos se encuentran severamente discapacitados (108), algunos incluso a pesar de estar recibiendo tratamientos antipsicóticos efectivos; en gran medida por la persistencia de los síntomas negativos y cognitivos, que son predictores clave del nivel de funcionalidad que puede alcanzar un paciente afectado (109-112).

Se ha sugerido que una gran cantidad de sistemas y neurotransmisores están involucrados en la fisiopatología de la esquizofrenia; todos los medicamentos que existen en la actualidad para su tratamiento se centran en la acción antidopaminérgica. El antipsicótico más eficaz que existe actualmente es la clozapina, desarrollado en 1961; hasta el momento han fallado todos los intentos de desarrollar un compuesto igualmente efectivo, libre de los efectos adversos ortostáticos y hematológicos. No solo los compuestos dirigidos hacia los receptores D2 de dopamina han fallado en mejorar los síntomas nucleares de la esquizofrenia en muchos pacientes, también los fármacos dirigidos a receptores serotoninérgicos, por ejemplo a los 5-HT_{2A}, han demostrado la misma o incluso menor eficacia, comparados con antipsicóticos típicos como el haloperidol (113-115).

Los estudios encaminados a comprender las vías bioquímicas y sus interacciones, son de vital importancia para el entendimiento de la etiología y el curso de esta enfermedad; más aún, a más de medio siglo del descubrimiento del primer antipsicótico, es necesaria la búsqueda de nuevos blancos

terapéuticos y en general la intensificación de la investigación sobre nuevas vías fisiopatológicas. La neurotransmisión glutamatérgica y GABAérgica, ha emergido como uno de los blancos más prominentes en este contexto (116, 117), debido en parte a la evidencia biológica que apoya la participación del glutamato y el ácido gama amino butírico en la etiología de la esquizofrenia. La hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia deriva principalmente de la evidencia de que la hipofunción del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA) de glutamato inducida por drogas, es capaz de producir síntomas psicóticos similares a los vistos en la esquizofrenia (34, 36). Se piensa que la disfunción del receptor NMDA es particularmente importante en las células GABAérgicas, pues está bien establecido que la actividad de las neuronas piramidales hipocampales y neocorticales se encuentra bajo el control regulatorio de las interneuronas productoras de GABA; sin esta inhibición GABAérgica, perdida o dañada por la falta de activación a través de receptores NMDA disfuncionales, las señales excitatorias que llegan a las neuronas piramidales podrían causar una reacción en cadena que genera una activación cada vez mayor, generando una falta de coordinación de los sistemas corticales que regulan el comportamiento (118). De esta forma utilizar la cuantificación en los niveles de GABA y su respuesta al tratamiento antipsicótico convencional puede aportar al conocimiento de las vías neuroquímicas asociadas a la psicosis en esquizofrenia.

6. METODOLOGÍA CIENTÍFICA

6.1 Diseño

Se realizó un estudio de casos y controles en sujetos que presentaron un primer episodio de psicosis (PEP) sugestivo de esquizofrenia. Se incluyeron 28 individuos con un primer episodio de psicosis vírgenes a tratamiento antipsicótico, de ambos sexos, mayores de 15 y con una escolaridad mínima de primaria. Estos sujetos fueron captados de la clínica de primer episodio psicótico a cargo del Laboratorio de Psiquiatría Experimental y de los departamentos de urgencias y neuropsiquiatría del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez (INNN). Los datos obtenidos se compararon con un grupo de 18 sujetos sanos pareado por edad y sexo.

6.2 Muestra clínica

Todos los sujetos del grupo de PEP cumplieron con los criterios clínicos para un trastorno psicótico no afectivo (trastorno psicótico breve, esquizofreniforme o esquizofrenia) de acuerdo a los criterios

de la Asociación Psiquiátrica Americana(1), DSM IV-TR y corroborado con una entrevista estructurada para la evaluación clínica en psiquiatría – SCID-I(119). Todos los pacientes estuvieron internados en la Unidad Emil Kraepelin, de neuropsiquiatría del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Se excluyeron aquellos sujetos que, de acuerdo a la evaluación clínica, o a exámenes de gabinete o laboratorio, presentaron evidencia de enfermedad médica que condicionara la presencia de los síntomas psicóticos; aquellos que hubieran recibido tratamiento farmacológico específico para el manejo de estos síntomas, que presentaran abuso y/o dependencia a sustancias en los 3 meses previos al estudio (a excepción de nicotina y cafeína), que utilizaran fármacos que pudieran condicionar cuadros psicóticos (p. ej. esteroides, hormonas tiroideas, levodopa etc.) o que tuvieran implantes metálicos y/o marcapaso que imposibilitaran un estudio de imagen por espectroscopia por resonancia magnética de protón (ERM¹H).

Los pacientes con PEP fueron evaluados mediante ERM¹H durante las primeras 24-48 horas a su ingreso y antes de recibir tratamiento antipsicótico. Así mismo, se aplicaron las escalas: de Impresión Clínica Global (CGI), la Escala de Síntomas Positivos y Negativos de la Esquizofrenia (PANSS) (120-122). Posterior a estas evaluaciones, se inició tratamiento con risperidona, de manera gradual, hasta llegar a 3mg/día durante los primeros 3 días. Esta dosis se mantuvo hasta el día 14, los pacientes que mostraron “gran mejoría” (reflejada por una calificación >3 en la CGI o una disminución ≤25% de la escala de PANSS con respecto al basal) al día 14, continuaron con la dosis mencionada hasta el final del estudio. A los pacientes que presentaron “poca” o “ninguna” mejoría (reflejada por una calificación <2 en la CGI) se les aumentó la dosis de risperidona a 4mg/día el día 14, o de ser necesario a 5mg/día de risperidona al día 21. Los pacientes fueron entonces reevaluados mediante ERM¹H al día 28, momento en que les dio el alta hospitalaria. Antes de los estudios longitudinales de ERM¹H se midieron los niveles séricos de la medicación antipsicótica, de acuerdo a métodos validados en el INNN(123), con la finalidad de corroborar el correcto apego al tratamiento.

El grupo control también fue evaluado por ERM¹H en dos ocasiones, los días 1 y 28 del estudio, con la finalidad de establecer la variabilidad normal de las mediciones de metabolitos, a través de este método.

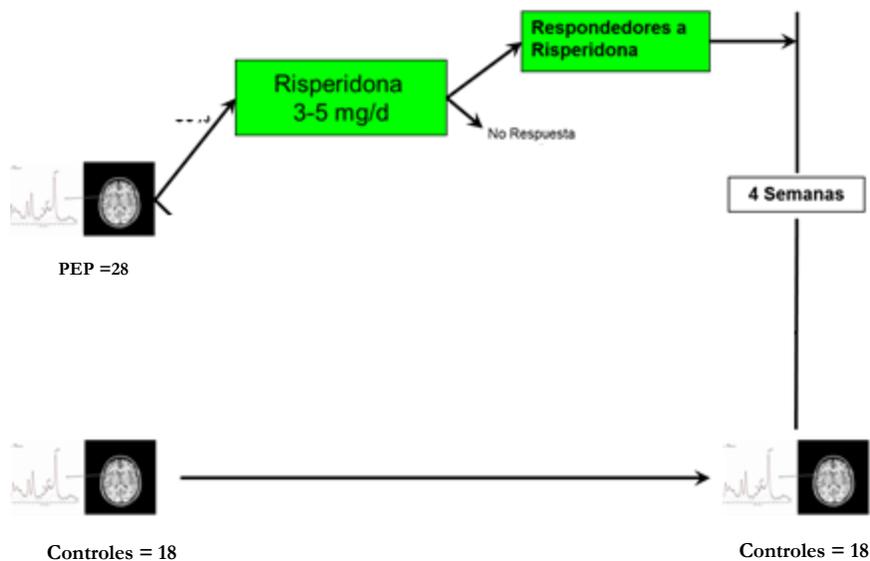


Figura 3. Diseño general del estudio

6.2.1 Criterios de Inclusión de los Pacientes:

1. Cumplir con criterios de psicosis de acuerdo a los criterios de la asociación psiquiátrica americana (124) y corroborado con una entrevista clínica estructurada, SCID-I (125)
2. Edad de 15 a 35 años
3. Ambos sexos
4. No haber tomado nunca medicamentos antipsicóticos
5. Al momento de inclusión los pacientes tuvieron una puntuación ≥ 4 (moderadamente enfermo) en la escala de Impresión Clínica Global (CGI)
6. Presencia de síntomas psicóticos agudos, cuantificados por la escala de síntomas positivos y negativos para la esquizofrenia, PANSS (126), con un puntaje en la subescala positiva de al menos 16 puntos, con dos reactivos calificados con al menos 4 puntos.
7. Tener un nivel de comprensión suficiente para aceptar y consentir los procedimientos realizados como parte del estudio.
8. Firmar de manera personal y voluntaria el consentimiento informado, siendo capaces de entender la naturaleza del estudio.

6.2.2 Criterios de Exclusión de los Pacientes:

1. Ser personal del sitio de investigación o familiares de primer grado de estos.
2. Estar participando actualmente, o en los últimos 6 meses en algún ensayo clínico controlado que incluya algún producto farmacéutico de investigación.
3. Contar con algún otro diagnóstico psiquiátrico bien definido, en el Eje I (124)
4. Criterios diagnósticos por DSM-IV (124) de abuso o dependencia a sustancias en los 6 meses previos al estudio (excluyendo nicotina y cafeína).
5. Pacientes que requirieran tratamiento farmacológico concomitante, además de antipsicóticos. Exceptuando el uso de benzodiazepinas (clonazepam).
6. Antecedente de enfermedad médica o neurológica establecida con estudios de laboratorio o gabinete.
7. Antecedente de alguna condición de dolor crónico previo y dolor agudo actual.
8. Tener implantes metálicos y/o marcapaso que imposibiliten un estudio de ERM¹H.

6.2.3 Criterios de eliminación de los pacientes:

1. Evento adverso severo o alteraciones en estudios de laboratorio clínicamente significativas.
2. Pacientes que no respondan al tratamiento farmacológico utilizado (hasta 6 mg de risperidona).
3. Pacientes que suspendan el tratamiento farmacológico antes de 4 semanas.
4. Pacientes que soliciten ser retirados del protocolo de investigación
5. Pacientes que durante el estudio muestren incapacidad para cooperar en el estudio de ERM¹H o en cualquiera de los procedimientos, esto incluye pacientes que a juicio del investigador presentaran conductas agresivas.
6. Pacientes que mostraran algún tipo de respuesta alérgica al tratamiento farmacológico.

6.2.4 Criterios de Inclusión de los Controles:

1. Edad de 15 a 35 años
2. Ambos sexos
3. Firma de carta de consentimiento informado para su participación en el estudio.

6.2.5 Criterios de Exclusión de los Controles:

1. Cualquier diagnóstico en el EJE I y/o II de acuerdo al DSM-IV.
2. Antecedentes de familiares de primer grado con el diagnóstico de algún trastorno psicótico según criterios DSM-IV.
3. Criterios diagnósticos por DSM-IV (124) de abuso o dependencia a sustancias en los 6 meses previos al estudio (excluyendo nicotina y cafeína).
4. Antecedente de enfermedad médica o neurológica establecida con estudios de laboratorio o gabinete.
5. Tener implantes metálicos y/o marcapaso que imposibiliten un estudio de ERM¹H.
6. Incapacidad para cooperar en el estudio de ERM¹H.

6.3 Evaluación clínica

Ya que la sintomatología en la psicosis puede ser subjetiva, es complicado evaluar la severidad y características de la enfermedad. A través de los años y desde la descripción de Eugen Bleuler de las cuatro A's de la esquizofrenia; se han intentado diseñar distintas encuestas para la evaluación de los pacientes. Estas herramientas son de suma importancia ya que de la evaluación del paciente depende el tratamiento que se instaurará y el impacto en cada uno de los síntomas. Comúnmente estos métodos de evaluación están dirigidos a la presencia o ausencia de los síntomas (síntomas positivos y negativos) e instrumentos como la PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) han probado ser esenciales para la evaluación de la severidad de los síntomas.

De manera específica la Escala del Síndrome Positivo y Negativo (PANSS) es una escala que permite evaluar los cambios en respuesta al tratamiento. Aunque diferentes investigadores han dado evidencia de que los síntomas psicóticos comprenden múltiples dimensiones; éstas varían de un estudio a otro. Miller (Miller 1996) desarrolló una entrevista semi estructurada que evalúa las alucinaciones en pacientes bajo tratamiento en 12 dimensiones valorando aspectos como frecuencia, duración, alteraciones del comportamiento, convicción y que tan predecibles pueden ser los síntomas psicóticos. En otro estudio (Carter, Mackinnon et al. 1995) se elaboró una entrevista para valorar la experiencia alucinatoria auditiva de 365 ítems, evaluando frecuencia, duración, forma, procesos cognitivos y cuestiones psicosociales relacionadas. Existen otras escalas como el Inventario de Maudsley para la Evaluación de las Ideas Delirantes, donde se examinan ocho dimensiones de la experiencia delirante como la convicción, la preocupación y la sistematización; o la escala de Jones & Watson (1997) que fue diseñada para evaluar ideas religiosas, paranoides o anoréxicas.

6.3.1 PANSS

La Escala para el Síndrome Positivo y negativo de la Esquizofrenia, desarrollada por Kay y col (1987), es una escala que mide la severidad de los distintos síntomas presentes en la esquizofrenia, y permite evaluar los cambios en respuesta al tratamiento. Incluye 30 variables agrupadas en 3 subescalas: de síntomas positivos, de síntomas negativos y de psicopatología general. Tales variables son las siguientes; delirios, alucinaciones, desorganización conceptual, excitación, hostilidad, suspicacia, grandiosidad, afecto aplanado, falta de espontaneidad, retirada emocional, empatía limitada, retirada social apática, dificultades en el pensamiento abstracto, pensamiento estereotipado, preocupación, ansiedad, tensión, depresión, sentimientos de culpa, retraso motor, manierismos, falta de atención, evitación social activa, falta de juicio, alteración de la voluntad, falta de cooperación, contenido inusual de pensamiento, desorientación, deficiente control de impulsos, preocupación somática. Cada variable se califica de acuerdo a la severidad desde 1 igual a ausente, hasta 7, extremadamente severo. El punto de corte es 60.

La validación en México fue realizada en 150 pacientes Las diferencias entre las calificaciones positivas y negativas forman una escala compuesta que expresa el grado de predominancia de un síndrome sobre el otro (Fresan, De la Fuente-Sandoval et al. 2005).

La PANSS tiene criterios operacionales estrictos para conducir una entrevista clínica, definiciones específicas para cada uno de las 30 variables, criterios de calificación más detallados para cada nivel de psicopatología.

El coeficiente alfa de Cronbach indicó una consistencia interna elevada de las subescalas: 0.73, 0.83 y 0.79 para las sub escalas positiva, negativa y general respectivamente.

Los índices de confiabilidad en la prueba contraprueba aplicada a pacientes que no remitieron su sintomatología durante un intervalo de 3 a 6 meses, fue de 0.80, 0.68, 0.60 0 para las subescalas positivas, negativa y de psicopatología general respectivamente. Estudios recientes han encontrado la confiabilidad inter observador del PANSS de 0.83 a 0.87. Tiene una correlación elevada Con el método de Andreasen para la valoración de síntomas positivos ($r= 0.77$) y síntomas negativos.

6.4 Espectroscopia por Resonancia Magnética de Protón (ERM¹H)

Los estudios de ERM¹H se llevaron a cabo en el resonador magnético de alto campo 3T (Signa Excite HDxt, General Electric Co, Milwaukee, Wis) y con una antena en arreglo de fase y un receptor de cabeza de 8 canales de alta resolución (Invivo, Orlando, Flo.). Los sujetos fueron centrados a lo largo de la línea canto meatal e inmovilizados por medio de una cinta en la frente para prevenir movimiento durante la adquisición.

Para la adquisición de los espectros de GABA, se utilizó una secuencia de espectroscopia de punto resuelto (PRESS) utilizando el método de diferencia J editado, aplicando un pulso de inversión selectivo a frecuencia, que evita la excitación del pico C-3 de GABA localizado en 1.9 ppm en adquisiciones alternadas (MEGAPRESS; TE=68 ms, TR=1500 ms, con 256 excitaciones intercaladas con el pulso encendido de un total de 512 excitaciones).

Los espectros para la adquisición de Glutamato se obtuvieron, usando una secuencia PRESS estándar (TE=35 ms, TR=2000 ms, ancho espectral=5000 Hz, 4096 puntos de datos utilizados, 128 promedios suprimidos a agua y 16 promedios no suprimidos a agua). Todos los espectros fueron adquiridos en elementos de volumen (voxels) centrados en el núcleo caudado dorsal derecho y la corteza prefrontal medial

Los voxels para la adquisición J editada, fueron de 18 ml (2x3x3 cm) y para la adquisición PRESS fueron de 8 ml (2x2x2 cm). Los espectros fueron homogeneizados para obtener un ancho espectral máximo (FWHM) ≤ 12 Hz (medido en la señal no suprimida de agua en el voxel); los espectros con un FWHM mayor fueron excluidos para en análisis. Los voxels fueron definidos sobre una imagen volumétrica adquirida con secuencia T1 en proyección axial (SPGR, TE=5.7 ms, TR=13.4 ms, TI=450 ms, ángulo de flip=20°, FOV=25.6 cm, matriz de 256x256, grosor del corte=1.2 mm) y orientada sobre una horizontal de la comisura anterior (CA) a la posterior (CP). El voxel del caudado dorsal o estriado de asociación(100) se localizó 3 mm dorsal a la CA y el voxel de la corteza prefrontal medial se localizó por delante de la rodilla del cuerpo caloso, evitando las fibras de la sustancia blanca. Las imágenes de SPGR fueron reformateadas en vistas coronal y sagital para asegurar la colocación óptima de los voxels.

Para los estudios longitudinales de ERM¹H, en sujetos sanos, se utilizarán los mismos parámetros. Además, se guardaron las imágenes de la colocación original de los voxels en las vistas axial, sagital y coronal, para ser utilizadas como referencia gráfica, utilizando los patrones locales de los giros y los surcos específicos de cada sujeto(127, 128).

6.5 Justificación del tamaño de Muestra

La meta inicial fue de 20 pacientes y de 20 controles sanos con todos los procedimientos del estudio, considerando una deserción aproximada del 30% de la muestra, de acuerdo a experiencia previa en estudios clínicos longitudinales. Con un total de reclutamiento (inclusión) de 26 participantes por grupo. Consideramos que este número de pacientes y controles era un número suficiente de acuerdo a publicaciones previas de ERM¹H en controles sanos con EMTr (129). Considerando, por otro lado, nuestros resultados preliminares en los cuales la diferencia media para glutamato entre pacientes y controles fue del 12% en el caudado dorsal y el coeficiente de variación (test-retest) es de ~10%, en estudios similares de ERM¹H (130). Ocho sujetos nos darán un 99% de confianza ($p=0.01$) para detectar cambios con un poder del 80% estimado con la siguiente ecuación para muestras pareadas (<http://www.tufts.edu/~gdallal/sizenotes.htm>): $N = \left(\frac{(Z(\alpha/2) + Z\rho)^2 * \Delta CV^2}{E^2} \right)$ en donde N es el tamaño de muestra; $Z(\alpha/2)$ es el valor crítico, en nuestro caso es 2.57; $Z\rho$ es el percentil de la distribución normal del poder esperado (0.84 para un poder de 80%); ΔCV es el porcentaje de variación test-retest; E, es el porcentaje de la diferencia esperada (12%).

$$\text{Por lo tanto, } N=20 \approx 19.65 \text{ cuando: } N = \left(\frac{(2.56 + 0.84)^2 * 0.17^2}{.1^2} \right)$$

6.6 Análisis estadístico

Los resultados se presentan en medias y desviaciones estándar. Las comparaciones de las variables sociodemográficas entre ambos grupos se realizaron con la prueba de Chi-cuadrada (χ^2) para las variables categóricas y la prueba t de Student para las variables continuas. Para el análisis del espectro de MEGAPRESS, se utilizó el dominio de frecuencia de cada resonancia ajustado a una función lineal de Gauss-Lorentz, utilizando el algoritmo no lineal de Marquardt para cuadrados mínimos, el cual se encuentra escrito en el programa IDL8 (Exelis Visual Information Solutions, Boulder, CO). Los niveles de GABA son expresados en razones relativas a la señal no suprimida de agua, de cada voxel, método que ha dado una alta confiabilidad test-retest(131). Mediante el análisis del espectro PRESS se obtuvieron los espectros suprimidos a agua de glutamato y GABA. Estos fueron analizados mediante el Modelo de Combinación Lineal incluido en el programa LCModel, versión 6.2.1T (LCModel Inc, Oakville, ON), el cual utiliza el método de análisis de cuadrados mínimos para estimar

las concentraciones de los metabolitos(132). Se utilizó para el análisis, un set base o estándar de metabolitos (L-alanina, aspartato, creatina, fosfocreatina, GABA, glucosa, glutamina, glutamato, glicero-fosfocolina, fosfocolina, glutatión, L-lactato, mioinositol, N-acetil-aspartato, ácido N-acetil-aspartil-glutamato, *Scylo*-inositol, taurina, grupo creatina metileno, guanidinoacetato, lípidos (Lip), y macromoléculas (MM): Lip13a, Lip13b, Lip09, MM09, Lip20, MM20, MM12, MM14 y MM17) incluido en el programa.

Los resultados de la medición de metabolitos, de los sujetos estudiados que presentaron un índice de Cramer-Rao mayor a 20% fueron excluidos. Las imágenes volumétricas del SPGR fueron segmentadas posteriormente en materia gris, blanca y líquido cefalorraquídeo (LCR), utilizando el programa Statistical Parametric Mapping 8(133) (SPM8, Wellcome Department of Cognitive Neurology, London) y que funciona sobre la base del programa MATLAB, versión R2011a (MathWorks, Natick, Mass). Después, el tamaño y localización de cada área fueron extraídos de los encabezados del archivo de espectroscopia para calcular el porcentaje de materia gris, blanca y LCR contenidos en el voxel, lo que permitió la corrección de la fracción de LCR en todos los valores de espectroscopia(128, 134).

Los niveles de GABA, el metabolito de interés, se transformaron logarítmicamente y se analizaron mediante un análisis de varianza de medidas repetidas, con 1 factor intragrupo (grupo diagnóstico) y 2 factores intergrupales (regiones y tiempo). Se aplicó la corrección de Greenhouse-Geisser. Para las comparaciones dentro de los grupos, se usaron Pruebas t de muestras independientes; Para el resto de las medidas de calidad espectral, metabolitos y composición tisular, se usaron pruebas t de muestras pareadas. Para el análisis de varianza de medidas repetidas, la significación estadística fue fijada en $p < .05$.

Se utilizó la correlación de Pearson para examinar la asociación entre las puntuaciones de la escala clínica y los niveles de GABA para cada región. Para el análisis de las subescalas de la PANSS (psicopatología general, positivo y negativo) en el grupo de la FEP, el umbral estadístico se estableció en $p < .016$ ($p < 0.5/3$) para controlar por comparaciones múltiples. Por último, se exploraron las relaciones entre GABA y Glx entre condiciones (medición inicial y en 4 semanas) y regiones (MPFC y dorsal caudado). El umbral estadístico de estas correlaciones exploratorias fue fijado en $p < .012$ ($p < .05/4$).

6.7 Aspectos éticos y de bioseguridad

Este proyecto contó con la aprobación del comité de ética, investigación y resonancia del INNN, número 62/07. Los pacientes que no desearon participar en el estudio no tuvieron repercusiones en la atención que reciben en este instituto. Todos los procedimientos estuvieron de acuerdo con lo

estipulado en: el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. “Título segundo, capítulo I, artículo 17: fracción II: Investigación con riesgo mínimo”, los consensos de la Declaración de Helsinki y el Consejo para las Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS), Guías Éticas Internacionales.

6.7.1 Consentimiento informado

El investigador principal se aseguró de que los sujetos entendieran los riesgos potenciales y los beneficios posibles de participar en el estudio. El investigador fue el responsable de responder las preguntas que los participantes tuvieran durante su participación y compartió, en forma oportuna, aspectos relevantes que pudieran haber afectado la voluntad del sujeto para seguir participando en los procedimientos del protocolo.

El consentimiento informado se utilizó para explicar los riesgos potenciales y los beneficios de participar. La explicación se llevó a cabo en forma simple y en términos que los participantes comprendieran. El consentimiento también documentó que el sujeto estuviera satisfecho con su grado de comprensión acerca de los procedimientos, y documentó su deseo explícito e individual de participar en el estudio.

El investigador principal también fue responsable de incluir la firma del participante y dos testigos, en el documento, antes de realizar cualquier intervención que formara parte del protocolo.

7. RESULTADOS

7.1 Características clínicas y demográficas

El nivel educativo fue mayor en el grupo control, en comparación con el grupo de PEP ($t(44) = 2.68$, $p = .01$). El grupo de PEP tuvo una duración media (DE), de psicosis no tratada de 51.89 (71.01) semanas (rango, 1-312 semanas). El PEP y el grupo control fueron similares en edad, sexo, lateralidad y uso de cannabis y tabaco. La media (DE) en la puntuación total de la PANSS, para el grupo de PEP fue de 104.39 (14,9) al inicio y 66.64 (17.0) después de 4 semanas de tratamiento con antipsicóticos ($t(27) = 11.72$, $p < 001$; disminución de la media [DE], 36% [14%]). La dosis media (DE) diaria de risperidona, utilizada durante el estudio fue de 2.89 (1.62) mg (tabla 1). Después de 4 semanas de tratamiento, 23 pacientes presentaron adecuada respuesta clínica y 5 no lo hicieron.

Tabla 1.

	<u>PEP</u>	<u>Controles Sanos</u>
Edad (\pm DS) años	23.00 \pm 6.08 (rango 14-43)	23.56 \pm 3.79 (rango 19-34)
Educación (\pm SD) años	14.22 \pm 4.05	11.39 \pm 2.34*
Género (masc/fem)	20/8	9/9
Lateralidad (der./izq.)	28/0	18/0
Tabaco (Usado alguna vez)	7/28	1/18
Cannabis (Usado alguna vez)	1/28	0/18
Duración de psicosis no tratada (\pm DS) semanas	51.89 \pm 71.01 (rango 1-312)	N/A
PANSS Síntomas Positivos	26.86 \pm 5.06	N/A
PANSS Síntomas Negativos	25.50 \pm 5.73	N/A
PANSS Síntomas Generales	51.96 \pm 7.11	N/A

7.2 Estabilidad de las mediciones; resultados en sujetos control

A todos los sujetos control se les realizaron 2 estudios de ERM1H, con la finalidad de valorar la estabilidad de las mediciones en el tiempo.

Con los estudios realizados a los sujetos sanos se obtuvieron los coeficientes de correlación intraclassa (ICC). En el caudado se asoció, para Glx, este fue de 0.85 ($p < .001$) y en corteza prefrontal medial de 0.63 ($p = .02$). Para el NAA, el ICC en caudado fue de 0.87 ($p < .001$) y en corteza prefrontal medial de 0.83 ($p < .001$). De igual forma se obtuvieron los coeficientes de variación (CV) de las mediciones de los metabolitos en cada zona. El CV para la medición de Glx en el caudado fue de 7.2% y el de NAA de 7.8%. En la corteza prefrontal medial el CV para Glx fue de 16.7% y para NAA de 13.6%.

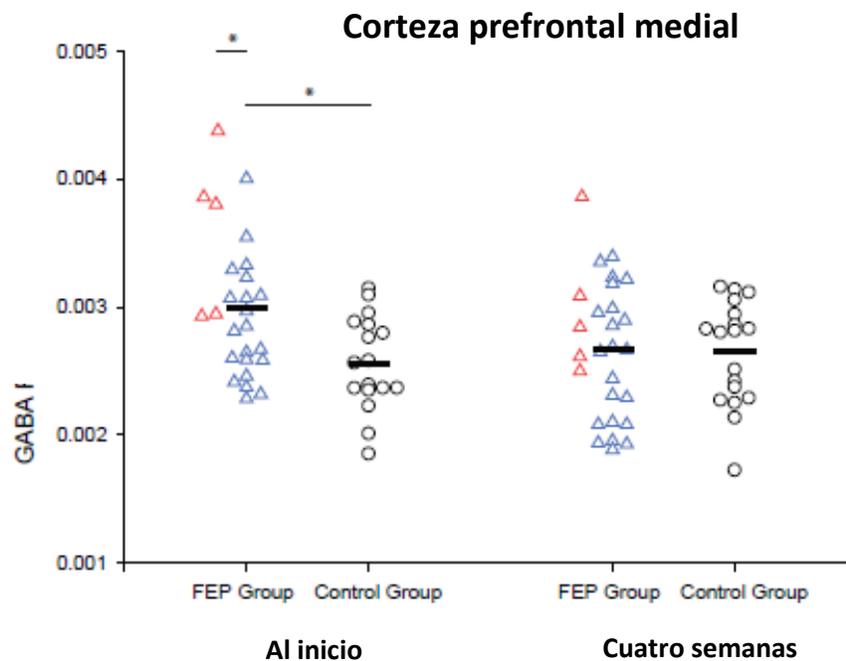
7.3 Niveles de GABA

El análisis incluyendo la muestra completa, reveló mayores niveles de GABA en la MPFC, en comparación con el caudado dorsal, en ambos grupos ($F(1,38) = 10.14, p = .003$). El factor tiempo reveló reducciones significativas de GABA, entre la medición basal y las mediciones después de 4 semanas ($F(1,38) = 7.03, p = .012$). La interacción grupo x tiempo, fue significativa, y ($F(1,38) = 7.60, p = .009$) reveló que los niveles de GABA se redujeron solamente en el grupo de pacientes

(pacientes en PEP: diferencia de medias = .12, $p < .0001$; Controles: diferencia de medias = -.002, $p = .95$). Las comparaciones post hoc, revelaron que los niveles de GABA en el MPFC y en el caudado dorsal, fueron mayores en los pacientes, comparados con los controles en la medición basal ($t(41) = 3.12$, $p = .003$; $t(42) = 2.27$, $p = .029$, respectivamente). Después de 4 semanas de tratamiento, hubo una disminución de los niveles de GABA en el grupo en PEP en el MPFC ($t(24) = 2.45$, $p = .02$) y se observó una tendencia a la disminución en el caudado dorsal ($t(26) = 1.88$, $p = .07$).

Los niveles de GABA de pacientes en PEP no difirió de los controles después de 4 semanas de tratamiento, en la MPFC ($t(43) = 0.18$, $p = .86$) ni en el caudado dorsal ($t(44) = 0.21$, $p = .83$) (Figura 1). Los niveles de GABA entre respondedores y no respondedores fueron explorados, ya que 5 pacientes no demostrados respuesta clínica después de 4 semanas de tratamiento (puntuación de la PANSS Total disminución $< 25\%$ después de 4 semanas). Los niveles basales GABA fueron significativamente superiores en el MPFC de los no respondedores ($U = 20$, $p = .03$), mientras que no se encontraron diferencias en el caudado dorsal, al inicio del estudio ($U = 43$, $p = .48$). No se encontraron diferencias entre grupos, en ninguna región, después de 4 semanas (MPFC: $U = 38$, $p = .29$; caudado dorsal: $U = 52$, $p = .77$, respectivamente).

Figura 1.



7.4 Otros metabolitos

En las mediciones basales, los pacientes en PEP tuvieron niveles más altos de Glx en el MPFC ($t(41) = 2,89, p = .006$) y en el caudado dorsal ($t(42) = 2.63, p = .012$), comparados con los controles. Después de 4 semanas de tratamiento con antipsicóticos, no se observaron diferencias en los niveles de Glx, en ninguna de las dos regiones, al compararlos con los sujetos sanos (MPFC, $t_{42} = .96, p = .92$; Caudado dorsal, $t(44) = .94, p = .35$). Se observó una tendencia a la elevación, en los niveles de tCre, en la MPFC ($t(41) = 2.03, p = .05$) y en el caudado dorsal ($t_{41} = 1.74, p = .09$), para el grupo en PEP, en comparación con controles, en las mediciones basales, pero no después de 4 semanas de tratamiento, ni en la MPFC ($t(43) = 1.5, p = .13$) o el caudado dorsal ($t(44) = 1,37, p = .17$). No se observaron diferencias en los niveles de NAA o tCho entre el grupo en PEP y controles, en ninguna región y bajo ninguna condición (tabla 2).

Tabla 2. Medias (\pm SD) para cada metabolito, Composición tisular y calidad de la espectroscopia en las dos regiones de interés, en pacientes en primer episodio de psicosis y sujetos sanos.

Media (DE)				
	Basal		A las 4 semanas	
	Primer episodio de psicosis	Grupo control	Primer episodio de psicosis	Grupo control
Metabolitos de la corteza prefrontal medial				
GABA/W	$3.00 (0.55) \times 10^{-3}^a$	$2.56 (0.37) \times 10^{-3}$	$2.67 (0.53) \times 10^{-3}$	$2.64 (0.41) \times 10^{-3}$
Glx/W	$2.44 (0.46) \times 10^{-3}^a$	$2.08 (0.34) \times 10^{-3}$	$2.06 (0.40) \times 10^{-3}$	$2.07 (0.28) \times 10^{-3}$
NAA/W	$2.23 (0.23) \times 10^{-2}$	$2.22 (0.24) \times 10^{-2}$	$2.20 (0.17) \times 10^{-2}$	$2.22 (0.20) \times 10^{-2}$
tCho/W	$1.49 (0.21) \times 10^{-2}$	$1.44 (0.25) \times 10^{-2}$	$1.42 (0.20) \times 10^{-2}$	$1.37 (0.20) \times 10^{-2}$
tCre/W	$1.67 (0.19) \times 10^{-2}$	$1.54 (0.20) \times 10^{-2}$	$1.58 (0.16) \times 10^{-2}$	$1.51 (0.16) \times 10^{-2}$

Agua	1.58 (0.14) x 10 ⁻¹²	1.68 (0.27) x 10 ⁻²		1.69 (0.31) x 10 ⁻¹²	1.72 (0.32) x 10 ⁻²
Calidad del Espectro					
FWHM	11.63 (3.14)	11.72 (2.75)		11.63 (1.97)	12.27 (3.13)
SNR	18.77 (1.29)	19.75 (1.70)		18.73 (1.22)	19.67 (1.71)
Metabolitos del Caudado Dorsal					
GABA/W	2.57 (0.65) x 10 ⁻³ _a	2.23 (0.33) x 10 ⁻³		2.30 (0.43) x 10 ⁻³	2.28 (0.36) x 10 ⁻³
Glx/W	2.00 (0.38) x 10 ⁻³ _a	1.76 (0.22) x 10 ⁻³		1.83 (0.40) x 10 ⁻³	1.74 (0.25) x 10 ⁻³
NAA/W	1.86 (0.20) x 10 ⁻²	1.88 (0.12) x 10 ⁻²		1.87 (0.21) x 10 ⁻²	1.83 (0.15) x 10 ⁻²
tCho/W	1.30 (0.14) x 10 ⁻²	1.34 (0.20) x 10 ⁻²		1.28 (0.18) x 10 ⁻²	1.29 (0.20) x 10 ⁻²
tCre/W	1.44 (0.22) x 10 ⁻²	1.33 (0.18) x 10 ⁻²		1.44 (0.25) x 10 ⁻²	1.35 (0.16) x 10 ⁻²
Agua	1.72 (0.12) x 10 ⁻¹²	1.84 (0.39) x 10 ⁻¹²		1.83 (0.45) x 10 ⁻¹²	1.96 (0.60) x 10 ⁻¹²
Calidad del espectro					
FWHM	7.25 (1.77)	6.53 (1.55)		7.43 (2.06)	6.74 (1.84)
SNR	19.17 (2.51)	18.01 (2.03)		19.52 (3.01)	18.30 (2.66)
COMPOSICIÓN DEL VOXEL, % VOLUMEN					

Voxel corteza prefrontal medial					
Sustancia gris	0.50 (0.04)	0.50 (0.03)		0.51 (0.04)	0.50 (0.03)
Sustancia blanca	0.28 (0.05)	0.29 (0.05)		0.28 (0.04)	0.29 (0.05)
Líquido Cerebroespinal	0.21 (0.03)	0.20 (0.02)		0.20 (0.04)	0.21 (0.03)
Voxel del Caudado Dorsal					
Sustancia gris	0.35 (0.02)	0.35 (0.03)		0.35 (0.03)	0.35 (0.03)
Sustancia blanca	0.45 (0.05)	0.45 (0.04)		0.45 (0.05)	0.44 (0.05)
Líquido Cerebroespinal	0.19 (0.05)	0.20 (0.05)		0.19 (0.06)	0.20 (0.05)

SD, desviación standard; GABA, ácido γ -aminobutírico; Glx, Glutamato + glutamina; NAA, N-acetil-aspartato; tCho, colina total; tCr, creatina total; W, señal de agua; FWHM, ancho de banda; SNR, radio señal-ruido del pico de NAA.

^a $p < 0.05$

7.5 Composición tisular del voxel y calidad de la espectroscopia

Las proporciones de materia gris, materia blanca o líquido cefalorraquídeo en la MPFC y el caudado, no difirieron entre los grupos. Además, no se encontraron diferencias de grupo en cada voxel, en los tejidos de referencia: en la señal de agua no suprimida, en la FWHM, ni en los valores de relación señal-ruido, en condiciones basales ni en 4 semanas. Estos resultados se resumen en la tabla 2.

7.6 Relación con medidas clínicas

Se encontraron tendencias de correlación entre los niveles basales de GABA en la MPFC y la subescala de Psicopatología General de la PANSS ($r(26) = -.400$, $p = .04$), y entre los niveles basales de GABA en el caudado dorsal, y las subescalas de Psicopatología General y la Subescala Negativa ($r(27) = .454$, $p = .02$; $r(27) = .407$, $p = .03$, respectivamente). No se obtuvo significancia estadística, en las correlaciones exploratorias entre cambios en los niveles de GABA, en las dos regiones y los cambios

en las mediciones clínicas (Puntuación Total de PANSS y subescalas positivas, negativas y psicopatología General).

7.7 Neurotransmisores en la región estudiada

Se encontraron correlaciones positivas en todos los participantes, entre GABA y Glx tanto en la MPFC ($r(43) = .431, p = .004$) y el caudado dorsal ($r(44) = .556, p < .001$), en las mediciones basales. En los pacientes en PEP, se encontró una fuerte correlación entre los niveles de GABA y Glx, en las mediciones basales, tanto en la MPFC ($r(26) = .518, p = .007$) (Figura 3a) como en el caudado dorsal ($r(27) = .606, p < .001$) (Figura 3b); Estas correlaciones no se encontraron en el grupo control, en ninguna de las dos regiones (MPFC $r(17) = .294, p = .25$) (Figura 3a), (caudado dorsal $r(17) = -.033, p = .89$) (Figura 3b). En todos los participantes, los niveles de GABA y Glx en la MPFC a las 4 semanas, demostraron una correlación positiva ($r(45) = .368, p = .02$); las correlaciones, sin embargo, se desvanecieron después de corrección para comparaciones múltiples. No hubo correlaciones significativas entre GABA y Glx en el caudado dorsal a las 4 semanas ($r(45) = .249, p = .10$).

8. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Este estudio, tiene varias limitaciones, en primer lugar, la espectroscopia por resonancia magnética, no permite diferencias entre los niveles de GABA, que pueden estar presentes en espacios y estructuras específicos como la hendidura sináptica, el GABA vesicular o participando en diversas vías metabólicas, en el espacio intracelular. Dos, no se llevaron a cabo mediciones séricas de los niveles de antipsicótico, para conformar el apego al tratamiento, por lo que, no es posible afirmar que la falta de respuesta en algunos pacientes, no se debió a falta de apego al tratamiento. Tres, en este estudio, no se incluyeron evaluaciones cognitivas, por lo que no se logra evaluar la participación de GABA en funciones cognitivas. Cuarto, las técnicas de adquisición de la espectroscopia usadas en este estudio, requieren el uso de elementos de volumen (voxel) relativamente grandes, para la medición confiable de los niveles de metabolitos estudiados; aunque no se encontraron diferencias significativas en la composición de los tejidos dentro de cada voxel, la heterogeneidad de los mismos, particularmente en el voxel del núcleo caudado (con altas proporciones de sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo), puede confundir la interpretación de los resultados. Finalmente, los niveles de GABA reportados, no fueron corregidos por los niveles de macromoléculas, cuya señal o frecuencia de resonancia en la espectroscopia, confluye con la de GABA, siendo un potencial elemento confusor.

9. CONCLUSIONES

En los resultados del actual estudio se documental elevaciones en las mediciones basales de los niveles de GABA en la corteza prefrontal medial y el caudado dorsal, de pacientes en un primer episodio psicótico, que nunca han recibido tratamiento antipsicótico. Se demuestra también que los niveles de GABA, disminuyen o se normalizan, después de 4 semanas de tratamiento farmacológico efectivo, en ambas regiones. Este hallazgo apoya nuestras observaciones previas y de lograr replicar los hallazgos en cohortes de estudio más amplias; estos hallazgos podrían colocar a las mediciones de GABA, por espectroscopia por resonancia magnética, como un biomarcador no invasivo de respuesta terapéutica. No solo para fármacos antagonistas o agonistas parciales de receptores D2 a dopamina, sino también para nuevos tratamientos moduladores de GABA o glutamato.

REFERENCIAS

1. APA. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV-TR Fourth Edition. Washington, DC. USA.: American Psychiatric Association; 2000.
2. Arredondo A, Diaz-Castro L, Cabello-Rangel H, Arredondo P, Recaman AL. [Cost analyses of medical care for schizophrenia and depression in Mexico, 2005-2013]. *Cadernos de saude publica*. 2018;34(1):e00165816.
3. Jablensky A, Sartorius N, Ernberg G, Anker M, Korten A, Cooper JE, et al. Schizophrenia manifestations, incidence and course in different cultures. A World Health Organization ten-country study. *Psychological Medicine*. 1992;22(SUPPL. 20):1.
4. Frenk-Mora J. Alucinaciones, delirio y paranoia, síntomas de esquizofrenia. In: Salud Sd, editor. 2005.
5. Kirkbride JB, Fearon P, Morgan C, Dazzan P, Morgan K, Tarrant J, et al. Heterogeneity in incidence rates of schizophrenia and other psychotic syndromes: findings from the 3-center AeSOP study. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63(3):250-8.
6. Owen MJ, Craddock N, Jablensky A. The genetic deconstruction of psychosis. *Schizophr Bull*. 2007;33(4):905-11.
7. Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO, et al. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med*. 2005;353(12):1209-23.
8. Patil ST, Zhang L, Martenyi F, Lowe SL, Jackson KA, Andreev BV, et al. Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. *Nat Med*. 2007;13(9):1102-7.
9. Seeman P. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse*. 1987;1(2):133-52.
10. Seeman P, Weinshenker D, Quirion R, Srivastava LK, Bhardwaj SK, Grandy DK, et al. Dopamine supersensitivity correlates with D2High states, implying many paths to psychosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(9):3513-8.
11. Harris D, Batki SL. Stimulant psychosis: symptom profile and acute clinical course. *Am J Addict*. 2000;9(1):28-37.
12. Wallis GG, Mc HJ, Scott OC. Acute psychosis caused by dextro-amphetamine. *Br Med J*. 1949;2(4641):1394.
13. Angrist B, Rotrosen J, Gershon S. Responses to apomorphine, amphetamine, and neuroleptics in schizophrenic subjects. *Psychopharmacology (Berl)*. 1980;67(1):31-8.
14. Carlsson A, Lindqvist M. Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3-methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1963;20:140-4.
15. Creese I, Burt DR, Snyder SH. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science*. 1976;192(4238):481-3.
16. Seeman P, Lee T, Chau-Wong M, Wong K. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature*. 1976;261(5562):717-9.
17. Seeman P, Lee T. Antipsychotic drugs: direct correlation between clinical potency and presynaptic action on dopamine neurons. *Science*. 1975;188(4194):1217-9.
18. Seeman P, Kapur S. Schizophrenia: more dopamine, more D2 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(14):7673-5.
19. Kapur S, Zipursky R, Jones C, Remington G, Houle S. Relationship between dopamine D(2) occupancy, clinical response, and side effects: a double-blind PET study of first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2000;157(4):514-20.

20. Howes OD, Kapur S. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophr Bull.* 2009;35(3):549-62.
21. Meyer-Lindenberg A, Miletich RS, Kohn PD, Esposito G, Carson RE, Quarantelli M, et al. Reduced prefrontal activity predicts exaggerated striatal dopaminergic function in schizophrenia. *Nat Neurosci.* 2002;5(3):267-71.
22. Hietala J, Syvalahti E, Vuorio K, Rakkolainen V, Bergman J, Haaparanta M, et al. Presynaptic dopamine function in striatum of neuroleptic-naive schizophrenic patients. *Lancet.* 1995;346(8983):1130-1.
23. Lindstrom LH, Gefvert O, Hagberg G, Lundberg T, Bergstrom M, Hartvig P, et al. Increased dopamine synthesis rate in medial prefrontal cortex and striatum in schizophrenia indicated by L-(beta-11C) DOPA and PET. *Biol Psychiatry.* 1999;46(5):681-8.
24. Reith J, Benkelfat C, Sherwin A, Yasuhara Y, Kuwabara H, Andermann F, et al. Elevated dopa decarboxylase activity in living brain of patients with psychosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(24):11651-4.
25. Howes OD, Montgomery AJ, Asselin MC, Murray RM, Valli I, Tabraham P, et al. Elevated striatal dopamine function linked to prodromal signs of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2009;66(1):13-20.
26. Gjedde A, Wong DF. Quantification of neuroreceptors in living human brain. v. endogenous neurotransmitter inhibition of haloperidol binding in psychosis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001;21(8):982-94.
27. Abi-Dargham A, Rodenhiser J, Printz D, Zea-Ponce Y, Gil R, Kegeles LS, et al. Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(14):8104-9.
28. Abi-Dargham A, Gil R, Krystal J, Baldwin RM, Seibyl JP, Bowers M, et al. Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am J Psychiatry.* 1998;155(6):761-7.
29. Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, et al. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(17):9235-40.
30. Ikemoto S, Panksepp J. The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Res Brain Res Rev.* 1999;31(1):6-41.
31. Schultz W, Apicella P, Ljungberg T. Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *J Neurosci.* 1993;13(3):900-13.
32. Yui K, Goto K, Ikemoto S, Ishiguro T, Angrist B, Duncan GE, et al. Neurobiological basis of relapse prediction in stimulant-induced psychosis and schizophrenia: the role of sensitization. *Mol Psychiatry.* 1999;4(6):512-23.
33. Mamo D, Graff A, Mizrahi R, Shammi CM, Romeyer F, Kapur S. Differential effects of aripiprazole on D(2), 5-HT(2), and 5-HT(1A) receptor occupancy in patients with schizophrenia: a triple tracer PET study. *Am J Psychiatry.* 2007;164(9):1411-7.
34. Javitt DC. Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *Int Rev Neurobiol.* 2007;78:69-108.
35. Sharp FR, Tomitaka M, Bernaudin M, Tomitaka S. Psychosis: pathological activation of limbic thalamocortical circuits by psychomimetics and schizophrenia? *Trends Neurosci.* 2001;24(6):330-4.
36. Olney JW, Farber NB. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 1995;52(12):998-1007.
37. Cepeda C, Levine MS. Dopamine and N-methyl-D-aspartate receptor interactions in the neostriatum. *Dev Neurosci.* 1998;20(1):1-18.
38. David HN, Anseau M, Abiraini JH. Dopamine-glutamate reciprocal modulation of release and motor responses in the rat caudate-putamen and nucleus accumbens of "intact" animals. *Brain Res Brain Res Rev.* 2005;50(2):336-60.
39. Kulagina NV, Zigmond MJ, Michael AC. Glutamate regulates the spontaneous and evoked release of dopamine in the rat striatum. *Neuroscience.* 2001;102(1):121-8.

40. Levine MS, Cepeda C. Dopamine modulation of responses mediated by excitatory amino acids in the neostriatum. *Adv Pharmacol.* 1998;42:724-9.
41. West AR, Floresco SB, Charara A, Rosenkranz JA, Grace AA. Electrophysiological interactions between striatal glutamatergic and dopaminergic systems. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;1003:53-74.
42. Leviel V, Gobert A, Guibert B. The glutamate-mediated release of dopamine in the rat striatum: further characterization of the dual excitatory-inhibitory function. *Neuroscience.* 1990;39(2):305-12.
43. Faustman WO, Bardgett M, Faull KF, Pfefferbaum A, Csernansky JG. Cerebrospinal fluid glutamate inversely correlates with positive symptom severity in unmedicated male schizophrenic/schizoaffective patients. *Biol Psychiatry.* 1999;45(1):68-75.
44. Do KQ, Trabesinger AH, Kirsten-Kruger M, Lauer CJ, Dydak U, Hell D, et al. Schizophrenia: glutathione deficit in cerebrospinal fluid and prefrontal cortex in vivo. *Eur J Neurosci.* 2000;12(10):3721-8.
45. Benes FM, Sorensen I, Vincent SL, Bird ED, Sathi M. Increased density of glutamate-immunoreactive vertical processes in superficial laminae in cingulate cortex of schizophrenic brain. *Cereb Cortex.* 1992;2(6):503-12.
46. Tsai G, Passani LA, Slusher BS, Carter R, Baer L, Kleinman JE, et al. Abnormal excitatory neurotransmitter metabolism in schizophrenic brains. *Arch Gen Psychiatry.* 1995;52(10):829-36.
47. Carlsson M, Carlsson A. Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia--implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* 1990;13(7):272-6.
48. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 1991;148(10):1301-8.
49. Grace AA. Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience.* 1991;41(1):1-24.
50. Grace AA. Cortical regulation of subcortical dopamine systems and its possible relevance to schizophrenia. *J Neural Transm Gen Sect.* 1993;91(2-3):111-34.
51. Grace AA. Gating of information flow within the limbic system and the pathophysiology of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev.* 2000;31(2-3):330-41.
52. Kegeles LS, Martinez D, Kochan LD, Hwang DR, Huang Y, Mawlawi O, et al. NMDA antagonist effects on striatal dopamine release: Positron emission tomography studies in humans. *Synapse.* 2002;43(1):19.
53. Breier A, Adler CM, Weisenfeld N, Su TP, Elman I, Picken L, et al. Effects of NMDA antagonism on striatal dopamine release in healthy subjects: application of a novel PET approach. *Synapse.* 1998;29(2):142-7.
54. Aalto S, Hirvonen J, Scheinin H, Någren K, Vilkkumäki H, Hietala J, et al. Ketamine does not decrease striatal dopamine D2 receptor binding in man. *Psychopharmacology.* 2002;164(4):401.
55. Aalto S, Ihalahti J, Hirvonen J, Kajander J, Scheinin H, Tanila H, et al. Cortical glutamate-dopamine interaction and ketamine-induced psychotic symptoms in man. *Psychopharmacology (Berl).* 2005;182(3):375-83.
56. Kegeles LS, Shungu DC, Anjilvel S, Chan S, Ellis SP, Xanthopoulos E, et al. Hippocampal pathology in schizophrenia: magnetic resonance imaging and spectroscopy studies. *Psychiatry Res.* 2000;98(3):163-75.
57. Smith SE, Acton L, Sharp T. Enhancement of dopamine-mediated behaviour by the NMDA antagonists MK-801 and CPP: similarities with repeated electroconvulsive shock. *Psychopharmacology (Berl).* 1997;133(1):85-94.
58. Vollenweider FX, Vontobel P, Oye I, Hell D, Leenders KL. Effects of (S)-ketamine on striatal dopamine: a [¹¹C]raclopride PET study of a model psychosis in humans. *J Psychiatr Res.* 2000;34(1):35-43.

59. Benes FM. Emerging principles of altered circuitry in schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev.* 2000;31(2-3):251-69.
60. Benes FM, Berretta S. GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2001;25(1):1-27.
61. Benes FM, Vincent SL, Marie A, Khan Y. Up-regulation of GABAA receptor binding on neurons of the prefrontal cortex in schizophrenic subjects. *Neuroscience.* 1996;75(4):1021-31.
62. Hashimoto T, Volk DW, Eggan SM, Mirnics K, Pierri JN, Sun Z, et al. Gene expression deficits in a subclass of GABA neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *J Neurosci.* 2003;23(15):6315-26.
63. Volk DW, Lewis DA. Impaired prefrontal inhibition in schizophrenia: relevance for cognitive dysfunction. *Physiol Behav.* 2002;77(4-5):501-5.
64. Charych EI, Liu F, Moss SJ, Brandon NJ. GABA(A) receptors and their associated proteins: implications in the etiology and treatment of schizophrenia and related disorders. *Neuropharmacology.* 2009;57(5-6):481-95.
65. Verhoeff NP, Soares JC, D'Souza CD, Gil R, Degen K, Abi-Dargham A, et al. [123I]Iomazenil SPECT benzodiazepine receptor imaging in schizophrenia. *Psychiatry Res.* 1999;91(3):163-73.
66. Yoon JH, Maddock RJ, Rokem A, Silver MA, Minzenberg MJ, Ragland JD, et al. GABA concentration is reduced in visual cortex in schizophrenia and correlates with orientation-specific surround suppression. *J Neurosci.* 2010;30(10):3777-81.
67. Impagnatiello F, Guidotti AR, Pesold C, Dwivedi Y, Caruncho H, Pisu MG, et al. A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(26):15718-23.
68. Volk DW, Austin MC, Pierri JN, Sampson AR, Lewis DA. Decreased glutamic acid decarboxylase67 messenger RNA expression in a subset of prefrontal cortical gamma-aminobutyric acid neurons in subjects with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2000;57(3):237-45.
69. Woo TU, Whitehead RE, Melchitzky DS, Lewis DA. A subclass of prefrontal gamma-aminobutyric acid axon terminals are selectively altered in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(9):5341-6.
70. Ohnuma T, Augood SJ, Arai H, McKenna PJ, Emson PC. Measurement of GABAergic parameters in the prefrontal cortex in schizophrenia: focus on GABA content, GABA(A) receptor alpha-1 subunit messenger RNA and human GABA transporter-1 (HGAT-1) messenger RNA expression. *Neuroscience.* 1999;93(2):441-8.
71. Coyle JT, Tsai G, Goff D. Converging evidence of NMDA receptor hypofunction in the pathophysiology of schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;1003:318-27.
72. Bogner W, Gruber S, Doelken M, Stadlbauer A, Ganslandt O, Boettcher U, et al. In vivo quantification of intracerebral GABA by single-voxel (1)H-MRS-How reproducible are the results? *Eur J Radiol.* 2010;73(3):526-31.
73. Kegeles LS, Mao X, Stanford AD, Girgis R, Ojeil N, Xu X, et al. Elevated Prefrontal Cortex gamma-Aminobutyric Acid and Glutamate-Glutamine Levels in Schizophrenia Measured In Vivo With Proton Magnetic Resonance Spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry.* 2012.
74. Lehman AF, Lieberman JA, Dixon LB, McGlashan TH, Miller AL, Perkins DO, et al. Practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia, second edition. *Am J Psychiatry.* 2004;161(2 Suppl):1-56.
75. Davis JM, Chen N, Glick ID. A meta-analysis of the efficacy of second-generation antipsychotics. *Arch Gen Psychiatry.* 2003;60(6):553-64.
76. Malla A, Norman R, Schmitz N, Manchanda R, Bechard-Evans L, Takhar J, et al. Predictors of rate and time to remission in first-episode psychosis: a two-year outcome study. *Psychol Med.* 2006;36(5):649-58.

77. Leucht S, Davis JM, Engel RR, Kissling W, Kane JM. Definitions of response and remission in schizophrenia: recommendations for their use and their presentation. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2009(438):7-14.
78. Leucht S, Kane JM. Measurement-based psychiatry: definitions of response, remission, stability, and relapse in schizophrenia. *J Clin Psychiatry.* 2006;67(11):1813-4.
79. Agid O, Kapur S, Arenovich T, Zipursky RB. Delayed-onset hypothesis of antipsychotic action: a hypothesis tested and rejected. *Arch Gen Psychiatry.* 2003;60(12):1228-35.
80. Kinon BJ, Chen L, Ascher-Svanum H, Stauffer VL, Kollack-Walker S, Sniadecki JL, et al. Predicting response to atypical antipsychotics based on early response in the treatment of schizophrenia. *Schizophr Res.* 2008;102(1-3):230-40.
81. Merlo MC, Hofer H, Gekle W, Berger G, Ventura J, Panhuber I, et al. Risperidone, 2 mg/day vs. 4 mg/day, in first-episode, acutely psychotic patients: treatment efficacy and effects on fine motor functioning. *J Clin Psychiatry.* 2002;63(10):885-91.
82. Seeman P, Guan HC. Glutamate agonist LY404,039 for treating schizophrenia has affinity for the dopamine D2(High) receptor. *Synapse.* 2009;63(10):935-9.
83. Delay J, Deniker P, Harl JM. [Therapeutic method derived from hiberno-therapy in excitation and agitation states]. *Ann Med Psychol (Paris).* 1952;110(2:2):267-73.
84. Clement-Cormier YC, Keabian JW, Petzold GL, Greengard P. Dopamine-sensitive adenylate cyclase in mammalian brain: a possible site of action of antipsychotic drugs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1974;71(4):1113-7.
85. Lieberman JA. Atypical antipsychotic drugs as a first-line treatment of schizophrenia: a rationale and hypothesis. *J Clin Psychiatry.* 1996;57 Suppl 11:68-71.
86. Kapur S, Remington G. Dopamine D(2) receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. *Biol Psychiatry.* 2001;50(11):873-83.
87. Bymaster FP, Calligaro DO, Falcone JF, Marsh RD, Moore NA, Tye NC, et al. Radioreceptor binding profile of the atypical antipsychotic olanzapine. *Neuropsychopharmacology.* 1996;14(2):87-96.
88. Huttunen M. The evolution of the serotonin-dopamine antagonist concept. *J Clin Psychopharmacol.* 1995;15(1 Suppl 1):4S-10S.
89. Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC. The ratios of serotonin₂ and dopamine₂ affinities differentiate atypical and typical antipsychotic drugs. *Psychopharmacol Bull.* 1989;25(3):390-2.
90. Natesan S, Reckless GE, Barlow KB, Nobrega JN, Kapur S. Partial agonists in schizophrenia--why some work and others do not: insights from preclinical animal models. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2011;14(9):1165-78.
91. Tamminga CA. Partial dopamine agonists in the treatment of psychosis. *J Neural Transm.* 2002;109(3):411-20.
92. Stahl SM. Dopamine system stabilizers, aripiprazole, and the next generation of antipsychotics, part 2: illustrating their mechanism of action. *J Clin Psychiatry.* 2001;62(12):923-4.
93. Lieberman JA. Dopamine partial agonists: a new class of antipsychotic. *CNS Drugs.* 2004;18(4):251-67.
94. Di Costanzo A, Trojsi F, Tosetti M, Giannatempo GM, Nemore F, Piccirillo M, et al. High-field proton MRS of human brain. *Eur J Radiol.* 2003;48(2):146-53.
95. Di Costanzo A, Trojsi F, Tosetti M, Schirmer T, Lechner SM, Popolizio T, et al. Proton MR spectroscopy of the brain at 3 T: an update. *Eur Radiol.* 2007;17(7):1651-62.
96. Abbott C, Bustillo J. What have we learned from proton magnetic resonance spectroscopy about schizophrenia? A critical update. *Curr Opin Psychiatry.* 2006;19(2):135-9.
97. Pohmann R. Physical basics of NMR. *Methods Mol Biol.* 2011;771:3-21.
98. de la Fuente-Sandoval C, Leon-Ortiz P, Favila R, Stephano S, Mamo D, Ramirez-Bermudez J, et al. Higher levels of glutamate in the associative-striatum of subjects with prodromal symptoms of schizophrenia and patients with first-episode psychosis. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology.* 2011;36(9):1781-91.

99. de la Fuente-Sandoval C, León-Ortiz P, Azcárraga M, Favila R, Stephano S, Graff-Guerrero A. Striatal glutamate and the conversion to psychosis: a prospective ¹H-MRS imaging study. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2012(En Prensa).
100. Mawlawi O, Martinez D, Slifstein M, Broft A, Chatterjee R, Hwang DR, et al. Imaging human mesolimbic dopamine transmission with positron emission tomography: I. Accuracy and precision of D(2) receptor parameter measurements in ventral striatum. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001;21(9):1034-57.
101. Brodal P. The central nervous system : structure and function. 3rd ed. Oxford ; New York: Oxford University Press; 2004.
102. Farde L, Wiesel FA, Halldin C, Sedvall G. Central D2-dopamine receptor occupancy in schizophrenic patients treated with antipsychotic drugs. *Arch Gen Psychiatry*. 1988;45(1):71-6.
103. Graff-Guerrero A, Willeit M, Ginovart N, Mamo D, Mizrahi R, Rusjan P, et al. Brain region binding of the D2/3 agonist [¹¹C]-(+)-PHNO and the D2/3 antagonist [¹¹C]raclopride in healthy humans. *Hum Brain Mapp*. 2008;29(4):400-10.
104. Lehericy S, Ducros M, Krainik A, Francois C, Van de Moortele PF, Ugurbil K, et al. 3-D diffusion tensor axonal tracking shows distinct SMA and pre-SMA projections to the human striatum. *Cereb Cortex*. 2004;14(12):1302-9.
105. De Keyser J, Claeys A, De Backer JP, Ebinger G, Roels F, Vauquelin G. Autoradiographic localization of D1 and D2 dopamine receptors in the human brain. *Neurosci Lett*. 1988;91(2):142-7.
106. Camps M, Cortes R, Gueye B, Probst A, Palacios JM. Dopamine receptors in human brain: Autoradiographic distribution of D2 sites. *Neuroscience*. 1989;28(2):275.
107. Ginovart N, Willeit M, Rusjan P, Graff A, Bloomfield PM, Houle S, et al. Positron emission tomography quantification of [¹¹C]-(+)-PHNO binding in the human brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27(4):857-71.
108. Frenk-Mora J. Alucinaciones, delirio y paranoia, síntomas de esquizofrenia. Comunicado de Prensa #341 de Secretaria de Salud, Mexico. 2005.
109. Anderson SA, Volk DW, Lewis DA. Increased density of microtubule associated protein 2-immunoreactive neurons in the prefrontal white matter of schizophrenic subjects. *Schizophr Res*. 1996;19(2-3):111-9.
110. Goldberg TE, Weinberger DR. Effects of neuroleptic medications on the cognition of patients with schizophrenia: a review of recent studies. *J Clin Psychiatry*. 1996;57 Suppl 9:62-5.
111. Green MF, Nuechterlein KH. Should schizophrenia be treated as a neurocognitive disorder? *Schizophr Bull*. 1999;25(2):309-19.
112. Kirkpatrick B, Fenton WS, Carpenter WT, Jr., Marder SR. The NIMH-MATRICES consensus statement on negative symptoms. *Schizophr Bull*. 2006;32(2):214-9.
113. Varty GB, Bakshi VP, Geyer MA. M100907, a serotonin 5-HT_{2A} receptor antagonist and putative antipsychotic, blocks dizocilpine-induced prepulse inhibition deficits in Sprague-Dawley and Wistar rats. *Neuropsychopharmacology*. 1999;20(4):311-21.
114. Meltzer HY, Arvanitis L, Bauer D, Rein W. Placebo-controlled evaluation of four novel compounds for the treatment of schizophrenia and schizoaffective disorder. *Am J Psychiatry*. 2004;161(6):975-84.
115. Marder SR. Antipsychotic drugs and relapse prevention. *Schizophr Res*. 1999;35 Suppl:S87-92.
116. Javitt DC, Balla A, Burch S, Suckow R, Xie S, Sershen H. Reversal of phencyclidine-induced dopaminergic dysregulation by N-methyl-D-aspartate receptor/glycine-site agonists. *Neuropsychopharmacology*. 2004;29(2):300-7.
117. Moghaddam B. Targeting metabotropic glutamate receptors for treatment of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004;174(1):39-44.
118. Buzsaki G, Geisler C, Henze DA, Wang XJ. Interneuron Diversity series: Circuit complexity and axon wiring economy of cortical interneurons. *Trends Neurosci*. 2004;27(4):186-93.
119. Spitzer RL, Williams JB. Revised diagnostic criteria and a new structured interview for diagnosing anxiety disorders. *J Psychiatr Res*. 1988;22 Suppl 1:55-85.

120. Green MF, Nuechterlein KH, Kern RS, Baade LE, Fenton WS, Gold JM, et al. Functional Co-Primary Measures for Clinical Trials in Schizophrenia: Results From the MATRICS Psychometric and Standardization Study. *Am J Psychiatry*. 2008;165(2):221-8.
121. Kern RS, Nuechterlein KH, Green MF, Baade LE, Fenton WS, Gold JM, et al. The MATRICS Consensus Cognitive Battery, Part 2: Co-Norming and Standardization. *Am J Psychiatry*. 2008;165(2):214-20.
122. Nuechterlein KH, Green MF, Kern RS, Baade LE, Barch DM, Cohen JD, et al. The MATRICS Consensus Cognitive Battery, Part 1: Test Selection, Reliability, and Validity. *Am J Psychiatry*. 2008;165(2):203-13.
123. Gonzalez-Esquivel DF, Castro N, Ramirez-Bermudez J, Custodio V, Rojas-Tome S, Castro-Roman R, et al. Plasma levels of clozapine and norclozapine in Mexican schizophrenia patients. *Arzneimittelforschung*. 2011;61(6):335-9.
124. APA. *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV-TR*. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
125. First MB, Spitzer RL, Williams JB, Gibbon M. *Structured Clinical Interview for DSM-IV Disorders (SCID)*. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1997.
126. Fresan A, De la Fuente-Sandoval C, Lozaga C, Garcia-Anaya M, Meyenberg N, Nicolini H, et al. A forced five-dimensional factor analysis and concurrent validity of the Positive and Negative Syndrome Scale in Mexican schizophrenic patients. *Schizophr Res*. 2005;72(2-3):123-9.
127. Brooks WM, Friedman SD, Stidley CA. Reproducibility of 1H-MRS in vivo. *Magn Reson Med*. 1999;41(1):193-7.
128. Bustillo JR, Rowland LM, Jung R, Brooks WM, Qualls C, Hammond R, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy during initial treatment with antipsychotic medication in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33(10):2456-66.
129. Michael N, Gosling M, Reutemann M, Kersting A, Heindel W, Arolt V, et al. Metabolic changes after repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) of the left prefrontal cortex: a sham-controlled proton magnetic resonance spectroscopy (1H MRS) study of healthy brain. *Eur J Neurosci*. 2003;17(11):2462-8.
130. Maton B, Londono A, Sawrie S, Knowlton R, denHollander J, Kuzniecky R. Reproducibility of proton magnetic resonance spectroscopy imaging measurements of normal human hippocampus at 1.5 T: clinical implications. *J Neuroimaging*. 2001;11(2):194-201.
131. Geramita M, van der Veen JW, Barnett AS, Savostyanova AA, Shen J, Weinberger DR, et al. Reproducibility of prefrontal gamma-aminobutyric acid measurements with J-edited spectroscopy. *NMR Biomed*. 2011;24(9):1089-98.
132. Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magnetic Resonance in Medicine*. 1993;30(6):672-9.
133. Friston KJ, Ashburner J, Frith CD, Poline JB, Heather JD, Frackowiak RSJ. Spatial registration and normalization of images. *Human Brain Mapping*. 1995;3(3):165-89.
134. Bustillo JR, Rowland LM, Mullins P, Jung R, Chen H, Qualls C, et al. 1H-MRS at 4 tesla in minimally treated early schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2010;15(6):629-36.