

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Incremento del glutamato en el estriado de asociación en esquizofrenia. Resultados preliminares de un estudio longitudinal con espectroscopia con resonancia magnética

Camilo de la Fuente-Sandoval,<sup>a</sup> Rafael Favila,<sup>b</sup> Patricia Alvarado,<sup>c</sup> Pablo León-Ortiz,<sup>d</sup> Leonardo Díaz-Galvis,<sup>e</sup> Carmen Amezcuá,<sup>e</sup> Erik García-Muñoz<sup>a</sup> y Ariel Graff-Guerrero\*<sup>c,f</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Psiquiatría Experimental y <sup>d</sup>Departamento de Neuropsiquiatría, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, México D.F., México, <sup>b</sup>GE Healthcare, México D.F., México, <sup>c</sup>Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Querétaro, Qro., México, <sup>e</sup>Dirección Médica, Janssen- Cilag, México D.F., México,

<sup>f</sup>PET Schizophrenia Research Group, Centre for Addiction and Mental Health, Toronto, Canadá

Recibido en versión modificada: 10 de octubre de 2008

Aceptado: 9 de enero de 2009

## RESUMEN

**Objetivo:** Comparar los niveles de glutamato en el núcleo caudado dorsal, región rica en dopamina, y el cerebelo, región pobre en dopamina, en pacientes con esquizofrenia, durante un episodio psicótico agudo, después de recibir tratamiento antidiopaminérgico (risperidona) y en controles sanos.

**Métodos:** Se incluyeron 14 pacientes con esquizofrenia aguda sin tratamiento y 14 controles sanos. A los pacientes se les realizaron dos estudios de espectroscopia por resonancia magnética de protones ( $1H$ -MRS). El primero antes de tratamiento y el segundo a las seis semanas de tratamiento efectivo. Los controles fueron evaluados en una ocasión. Los niveles de glutamato fueron normalizados con la concentración de creatina.

**Resultados:** Los niveles de glutamato/creatina fueron mayores en el caudado dorsal de los pacientes previo a tratamiento ( $t=-2.16$ ,  $p=0.03$ ) y después del tratamiento en comparación con los controles ( $t=2.12$ ,  $p=0.04$ ). Los niveles de glutamato en el cerebelo no cambiaron con el tratamiento y fueron iguales a los controles.

**Conclusiones:** Nuestros resultados indican que el incremento del glutamato en el caudado dorsal se encuentra en relación con la enfermedad y no cambia después de seis semanas de tratamiento antipsicótico efectivo. Más aún, la ausencia de diferencias en el cerebelo sugiere que el incremento del glutamato presente en la esquizofrenia se podría relacionar a regiones con abundante inervación dopamínérgica.

## Palabras clave:

Glutamato, esquizofrenia, espectroscopia por resonancia magnética, tratamiento antipsicótico

## SUMMARY

**Objective:** To compare glutamate levels (Glu) found in the dorsal-caudate nucleus (a dopamine rich region) and in the cerebellum (a low dopamine region) among: 1) schizophrenia patients undergoing an acute psychotic episode, 2) after receiving antidiopaminergic treatment (Risperidone), and 3) healthy controls.

**Methods:** Fourteen drug-free patients with schizophrenia and fourteen healthy controls were included. Patients underwent two proton magnetic resonance spectroscopy ( $1H$ -MRS) studies, one prior to treatment and the second after 6-weeks of daily Risperidone treatment. Controls underwent one  $1H$ -MRS study. Glutamate levels were normalized according to the relative concentration of Creatine (Cr).

**Results:** The dorsal-caudate nucleus among schizophrenia patients showed higher levels of Glu/Cr during the drug-free condition ( $t=-2.16$ ,  $p=0.03$ ) and after antipsychotic treatment ( $t=2.12$ ,  $p=0.04$ ) compared with controls. No difference was observed in the cerebellum between the drug-free, post-treatment and controls conditions.

**Conclusions:** Our results suggest that the Glu increase observed in the dorsal-caudate in schizophrenia is illness-mediated and does not change after 6-weeks of antipsychotic treatment. Moreover, the lack of change detected in the cerebellum suggests that the Glu increase in schizophrenia is not ubiquitous within the brain and that may be associated with dopamine target regions.

## Key words:

Glutamate, schizophrenia, magnetic resonance spectroscopy, antipsychotic treatment

de origen multifactorial, resultado de la combinación de cierta susceptibilidad genética y diversos factores ambientales.<sup>2,3</sup>

El tratamiento convencional es mediante medicamentos que actúan como antagonistas o agonistas parciales en los receptores  $D_{2/3}$  a dopamina; no obstante, este tratamiento tiene su efecto principal sobre los síntomas psicóticos, con

## Introducción

La esquizofrenia es un trastorno mental crónico caracterizado por síntomas psicóticos, deterioro cognoscitivo, apatía y aislamiento.<sup>1</sup> En la actualidad se desconoce su causa, sin embargo, se ha propuesto como una enfermedad

\*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Ariel Graff-Guerrero. Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, 76230 Querétaro, México. Correo electrónico: ariel\_graff@yahoo.com.mx

un limitado efecto en los síntomas negativos.<sup>4</sup> Por otro lado, un estudio reciente mostró que actuando sobre el sistema glutamatérgico se puede lograr una mejoría clínica de los síntomas, de forma equivalente a un antagonista dopamínérgetico.<sup>5</sup> De esta forma se ha planteado la participación de los sistemas dopamínérgetico y glutamatérgico en la fisiopatología de la esquizofrenia.

La interacción entre estos sistemas de neurotransmisión ha sido ampliamente documentada,<sup>6-9</sup> y estudiar la interacción entre dopamina y glutamato podría ser importante para entender las bases neurobiológicas de la esquizofrenia. La hipótesis dopamínérgetica ha sido la más duradera para este trastorno y propone que el sistema dopamínérgetico presenta un funcionamiento aberrante en estos pacientes.<sup>10-17</sup> Sin embargo, otra propuesta sugiere que esta desregulación dopamínérgetica podría ser una vía final común y secundaria a una alteración en la neurotransmisión glutamatérgica.<sup>18-20</sup>

En la actualidad ha sido posible cuantificar *in vivo*, mediante la técnica de neuroimagen PET (*positron emission tomography*), la interacción del sistema glutamatérgico sobre el dopamínérgetico,<sup>21-24</sup> concluyendo que el antagonismo glutamatérgico se asocia con incremento de dopamina en la corteza cerebral y el cuerpo estriado e induce o empeora algunos de los síntomas positivos (alucinaciones y delirios) y negativos (aplanamiento afectivo, alogia, abulia, aislamiento social) observados en la esquizofrenia.<sup>21,22,24</sup>

Avances recientes en la técnica de espectroscopía por resonancia magnética de protones (ERM<sup>1</sup>H) han hecho posible la evaluación *in vivo* del sistema glutamatérgico, haciendo factible la cuantificación de glutamato y de glutamina de forma no invasiva en humanos.<sup>25,26</sup> A pesar de estudios de ERM<sup>1</sup>H que describen alteraciones en el glutamato de pacientes con esquizofrenia,<sup>27-29</sup> hasta el momento no hay investigaciones publicadas que exploren el efecto del tratamiento con un antagonista dopamínérgetico en el núcleo caudado dorsal, estructura rica en aferencias y receptores D<sub>2/3</sub> a dopamina y en el cerebelo, región utilizada como referencia por su mínima cantidad de receptores a dopamina y la ausencia de aferencias dopamínérgeticas.<sup>30</sup>

El objetivo de este estudio fue comparar los niveles de glutamato en el núcleo caudado anterodorsal (estriado de asociación)<sup>31</sup> y en el cerebelo de pacientes con esquizofrenia, durante el episodio psicótico agudo y después de recibir tratamiento con un antagonista dopamínérgetico (risperidona). Estas respuestas fueron comparadas con un grupo control. Como objetivo secundario se midieron los niveles de n-acetil-aspartato (NAA) en las mismas regiones cerebrales. Se considera que el NAA es un marcador de integridad o disfunción neuronal y predice la severidad de la enfermedad en algunas enfermedades neurodegenerativas.<sup>32-34</sup>

## Material y métodos

### Muestra clínica

El estudio fue aprobado por el Comité Científico y de Ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel

Velasco Suárez" (INNN). Todos los sujetos incluidos dieron su consentimiento por escrito para participar.

Se incluyeron 20 pacientes diagnosticados con esquizofrenia mediante una entrevista clínica estructurada,<sup>35</sup> de los Servicios de Urgencias, Consulta Externa y Hospitalización del INNN. De los pacientes reclutados en un inicio, solo 14 terminaron el estudio de imagen (dos no cooperaron durante el estudio, dos no respondieron al antipsicótico y uno retiró su consentimiento). Siete de los pacientes incluidos se encontraban en su primer episodio psicótico. Los pacientes fueron incluidos en el estudio si la duración de la enfermedad era menor a cuatro años, si tuvieron una puntuación en la Escala de Síntomas Positivos y Negativos de la Esquizofrenia (PANSS)<sup>36</sup> mayor a 17 con al menos dos reactivos de la subescala positiva  $\geq 4$ , si estuvieron libres de tratamiento antipsicótico por al menos un mes y si fueron considerados durante la entrevista como competentes para consentir a los procedimientos involucrados. Los pacientes fueron excluidos si tenían otra comorbilidad médica o enfermedad neurológica, abuso actual o historia positiva de dependencia a drogas (con excepción de nicotina), comorbilidad con otro diagnóstico psiquiátrico en el eje I, riesgo suicida elevado o agitación psicomotriz.

Posterior al primer estudio de imagen cerebral, los pacientes fueron tratados de manera abierta con risperidona a dosis flexibles y por criterio clínico con dosis entre 1 y 5 mg por día. No se permitió el uso de otra medicación concomitante. Como medida primaria de efectividad del tratamiento se consideró una reducción de al menos 30% en la PANSS a las seis semanas de tratamiento con relación a la medición basal.<sup>36,37</sup>

Los resultados del estudio de ERM<sup>1</sup>H de los pacientes (pre y postratamiento) fueron comparados con un grupo de controles sanos pareados por sexo y edad. Estos sujetos fueron evaluados de la misma manera que los pacientes y fueron excluidos del estudio si tenían historia de cualquier trastorno psiquiátrico o antecedentes familiares para esquizofrenia. Los sujetos del grupo control tuvieron un solo estudio de ERM<sup>1</sup>H. A todos los participantes (pacientes y controles) se les realizó una prueba de detección de drogas en orina una hora antes de cada estudio de imagen.

### Espectroscopía por resonancia magnética de protones (ERM<sup>1</sup>H)

Los estudios de ERM<sup>1</sup>H se realizaron en el resonador magnético de alto campo 3T GE (General Electric Co, Milwaukee, Wisconsin) del INNN. Los sujetos fueron centrados a lo largo de la línea cantomeatal e inmovilizados por medio de una cinta en la frente para prevenir movimiento durante la adquisición. Las imágenes de ERM<sup>1</sup>H se obtuvieron utilizando una secuencia de pulso PRESS con un TR=1500 ms, 128 repeticiones en elementos de volumen (voxeles) de 4 ml (2 x 2 x 1 cm) centrados en el núcleo caudado dorsal derecho y la corteza del cerebelo derecha en todos los sujetos estudiados. Los voxeles fueron definidos sobre la proyección axial de una imagen volumétrica pesada a T1 (SPGR) y orientada sobre una horizontal de la comisura anterior a la posterior (CA-CP).

El voxel del caudado dorsal o estriado de asociación<sup>31</sup> se localizó 3 mm dorsal a la CA y el voxel del cerebelo se localizó en la corteza cerebelar por abajo del pedúnculo cerebeloso inferior, evitando la línea media. Los metabolitos identificados con la ERM<sup>1</sup>H fueron el n-acetil-aspartato (NAA), n-acetilaspartil-glutamato (NAAG), creatina, colina, glutamato y glutamina. Los metabolitos fueron normalizados con la concentración de creatina y fueron analizados mediante el modelo de combinación lineal incluido en el programa LCModel.<sup>38</sup> Éste es un método con el que se obtienen estimaciones de las concentraciones de los metabolitos con sus incertidumbres, es completamente automático, no interactivo e independiente del operador. El programa LCModel utiliza los espectros obtenidos *in vitro* como una base para analizar otros espectros medidos *in vivo*, por medio de una combinación lineal de un modelo de espectros de soluciones de metabolitos.<sup>38</sup>

### Análisis estadístico

Los resultados se presentan como medias y desviaciones estándar. Las comparaciones entre pacientes y controles se realizaron con  $\chi^2$  para las variables categóricas y prueba de *t* para las variables continuas. El nivel de significancia se estableció en un valor  $p<0.05$ .

## Resultados

La muestra incluida en el análisis fue de 14 pacientes (edad  $24.9\pm5.9$  años, siete hombres) y 14 controles ( $26.6\pm5.9$  años, siete hombres). Todos los pacientes se encontraban durante un episodio psicótico agudo (PANSS  $87.7\pm19.8$ ) y sin tratamiento durante el mes previo. Todos los pacientes fueron tratados con risperidona ( $3.43\pm1.45$  mg/día), con mejoría clínica significativa de los síntomas psicóticos después de seis semanas de tratamiento (PANSS postratamiento  $56.2\pm12.1$ ) ( $t=11.69$ ,  $p<0.001$ ).

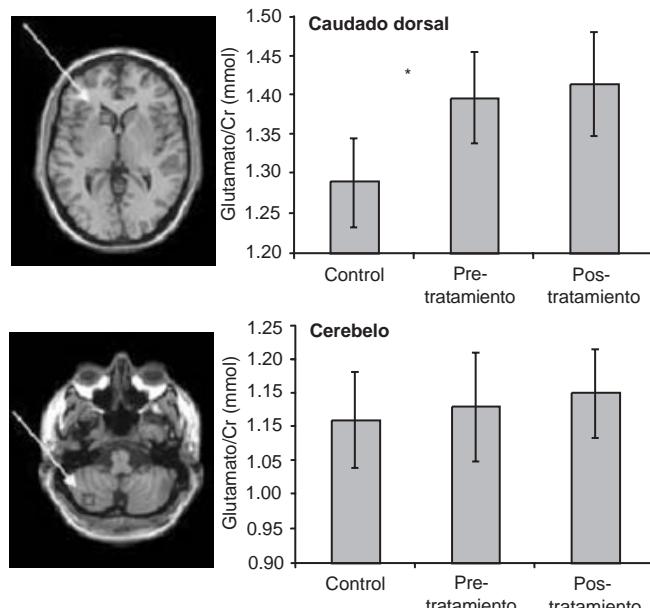
Los niveles de glutamato/creatina en el núcleo caudado de los pacientes fueron mayores durante el episodio psicótico agudo (pretratamiento) ( $t=-2.16$ ,  $p=0.03$ ) y después del tratamiento ( $t=2.12$ ,  $p=0.04$ ), en comparación a los controles sanos. No se presentaron cambios en los niveles de glutamato relacionados con el tratamiento (Figura 1). También se encontró disminución en la concentración de NAA en el caudado de los pacientes pre y postratamiento (control *versus* pre  $t=2.20$ ,  $p=0.03$ ; control *versus* pos  $t=2.24$ ,  $p=0.03$ ) respecto al grupo control. No se presentaron cambios en los niveles de NAA relacionados con el tratamiento ( $t=0.38$ ,  $p=0.9$ ). En acuerdo con nuestra predicción, no se identificaron diferencias entre los grupos en el cerebelo para glutamato (Figura 1) (control *versus* pre  $t=1.27$ ,  $p=0.2$ ; control *versus* pos  $t=1.0$   $p=0.3$ ; pre *versus* pos  $t=-0.4$ ,  $p=0.9$ ) ni para NAA (control *versus* pre  $t=-0.1$ ,  $p=0.8$ ; control *versus* pos  $t=-0.5$   $p=0.5$ ; pre *versus* pos  $t=-0.3$ ,  $p=0.7$ ). Además, se identificó que los síntomas psicóticos cuantificados mediante la escala de PANSS correlacionaron de forma directa con los niveles de glutamato en el caudado dorsal ( $r=0.40$ ,  $p<0.05$ ) antes del tratamiento.

## Discusión

Nuestro estudio muestra que el incremento en el glutamato y la disminución del NAA en el estriado de asociación (caudado dorsal) está relacionado con la enfermedad y no cambia después de seis semanas de tratamiento antipsicótico efectivo. Más aún, la ausencia de modificación en el cerebelo sugiere que los cambios en glutamato en la esquizofrenia no se presentan en cualquier región del cerebro y pudieran estar asociados a regiones dopaminérgicas. La disminución del NAA en el núcleo caudado es consistente con los resultados de otro estudio reciente,<sup>39</sup> lo que orienta a una alteración relacionada con la enfermedad y no con el estado clínico.

El caudado dorsal o estriado de asociación (o cognoscitivo)<sup>31</sup> forma parte del sistema límbico. El estriado de asociación consiste en la sección dorsal del caudado y también se le conoce como neoestriado.<sup>40</sup> Ésta es una estructura rica en aferencias y receptores  $D_{2/3}$  a dopamina, utilizada para cuantificar el efecto *in vivo* de los antipsicóticos.<sup>30,41</sup> Además, esta región del estriado es la que establece el mayor número de conexiones con la corteza frontal.<sup>42</sup> Esto es de gran interés para el estudio de la esquizofrenia, ya que la corteza frontal 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 cantidad de receptores a dopamina y la ausencia de aferencias dopaminérgicas.<sup>43-45</sup> Al igual que el caudado dorsal, la corteza del cerebelo es rica en células glutamatérgicas<sup>40</sup> y en aferencias corticales, incluyendo de la corteza frontal.<sup>46-49</sup> De esta forma, una de las diferencias entre el caudado dorsal y el cerebelo son las aferencias dopaminérgicas presentes



**Figura 1.** Niveles de glutamato en el caudado dorsal y corteza del cerebelo en controles y pacientes, antes y después de seis semanas de tratamiento con risperidona. \*  $p<0.05$ .

solo en el caudado dorsal, por lo cual es posible proponer que los cambios observados en el glutamato del caudado dorsal están relacionados con el tono dopaminérgico.

Por otro lado, la ausencia de cambios en el NAA, previo y posterior al tratamiento, apunta a una pérdida de integridad o disfunción neuronal relacionada con la enfermedad. Esto mismo se ha encontrado en otras áreas cerebrales de pacientes con esquizofrenia, como el hipocampo y el lóbulo frontal.<sup>50</sup>

El incremento de glutamato en los pacientes sin tratamiento está de acuerdo con la hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia, la cual deriva de la evidencia de que la hipofunción del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA) inducida por drogas produce síntomas psicóticos similares a los de la esquizofrenia en humanos.<sup>20</sup> Asimismo, ocasiona degeneración neuronal en diversas regiones corticales y límbicas en modelos murinos.<sup>51</sup> Estos hallazgos han indicado que hay un incremento en el glutamato secundario a una hipofunción (antagonismo) del receptor NMDA, lo cual puede explicar los síntomas de la enfermedad.<sup>18-20</sup> Esto va de acuerdo con nuestros resultados (aumento de glutamato) en los pacientes con esquizofrenia.

También se ha descrito incremento en los niveles de glutamato en la corteza prefrontal, cíngulo y tálamo en pacientes con esquizofrenia sin recibir tratamiento<sup>52,53</sup> y, contrario a nuestros resultados, también se ha descrito disminución del glutamato en el cíngulo de pacientes con esquizofrenia crónica.<sup>27</sup> La causa de esta discrepancia con nuestros resultados no es clara y requiere replicarse; sin embargo, la diferente localización y la menor duración de la enfermedad en nuestros pacientes podrían explicarla.

Nuestro estudio tiene ciertas limitaciones que vale la pena mencionar: primera, el tamaño de la muestra es pequeño, por lo que las comparaciones se realizaron sin control de comparaciones múltiples y con estadística univariada. Esto es importante para tener una certeza en cuanto a los resultados obtenidos, aunque cabe resaltar que este estudio piloto se realizó con una hipótesis *a priori* para buscar los cambios descritos en el glutamato. Segunda, no contamos con una medición ERM'H a las seis semanas en los sujetos control, lo cual no permitió estimar la confiabilidad temporal de la prueba. Este punto ha sido informado previamente por otros grupos, encontrando diferencias en la variación temporal entre 1.4 y 6.6%, aproximadamente.<sup>54,55</sup> Sin embargo, estos resultados fueron obtenidos en equipos con campo magnético diferente al utilizado en este estudio, por lo que es necesario disponer de este dato en nuestro equipo. No obstante, los pacientes fueron estudiados en dos ocasiones y solo encontramos cambios en el núcleo caudado y no en el cerebelo, lo cual hace improbable que nuestros resultados se deban a un error aleatorio o un sesgo en la medición.

Los resultados de este estudio indican que el incremento en el glutamato en la región dorsal del núcleo caudado se encuentra en relación con la enfermedad y no cambia después de seis semanas de tratamiento antipsicótico efectivo. La ausencia de diferencias en el cerebelo sugiere que el incremento del glutamato presente en la esquizofrenia se relaciona con regiones ricas en aferencias dopaminérgicas. Consideramos que ésta es una aportación importante, ya que el aumento

en el glutamato podría estar relacionado con los déficits cognoscitivos que permanecen en los pacientes, aun después de haber tratado exitosamente los síntomas psicóticos. Es necesario ampliar la muestra estudiada para confirmar los resultados.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la doctora Perla Salgado por las facilidades ofrecidas para la realización de los estudios; a Fernando Iturbe por la ayuda para adquirir los estudios de ERM'H; y al doctor Fernando Barrios por la consultoría técnica para el análisis de ERM'H. Este trabajo se realizó con un apoyo interno del INNN al doctor Camilo de la Fuente-Sandoval y un financiamiento irrestricto de Janssen-Cilag México a los doctores Ariel Graff-Guerrero y Camilo de la Fuente-Sandoval. Ariel Graff-Guerrero y Camilo de la Fuente-Sandoval agradecen al Sistema Nacional de Investigadores (CONACyT), por su apoyo.

## Referencias

1. American Psychiatric Association. The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV-TR. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
2. 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;63:250-258.
3. Owen MJ, Craddock N, Jablensky A. The genetic deconstruction of psychosis. *Schizophr Bull* 2007;33:905-911.
4. 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;353:1209-1223.
5. 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;13:1102-1107.
6. David HN, Anseau M, Abraim 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;50:336-360.
7. Cepeda C, Levine MS. Dopamine and N-methyl-D-aspartate receptor interactions in the neostriatum. *Dev Neurosci* 1998;20:1-18.
8. Levine MS, Cepeda C. Dopamine modulation of responses mediated by excitatory amino acids in the neostriatum. *Adv Pharmacol* 1998;42:724-729.
9. Kulagina NV, Zigmond MJ, Michael AC. Glutamate regulates the spontaneous and evoked release of dopamine in the rat striatum. *Neuroscience* 2001;102:121-128.
10. 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;155:761-767.
11. Sato M. A lasting vulnerability to psychosis in patients with previous methamphetamine psychosis. *Ann N Y Acad Sci* 1992;654:160-170.
12. Sato M, Numachi Y, Hamamura T. Relapse of paranoid psychotic state in methamphetamine model of schizophrenia. *Schizophr Bull* 1992;18:115-122.
13. 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 USA* 1996;93:9235-9240.
14. Hietala J, Syvalahti E, Vilkman H, Vuorio K, Rakkolainen V, Bergman J, et al. Depressive symptoms and presynaptic dopamine function in neuroleptic-naïve schizophrenia. *Schizophr Res* 1999;35:41-50.
15. Kapur S. Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2003;160:13-23.
16. Huttunen J, Heinimaa M, Svirskis T, Nyman M, Kajander J, Forsback S, et al. Striatal dopamine synthesis in first-degree relatives of patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2008;63:114-117.
17. Jensen J, Willeit M, Zipursky RB, Savina I, Smith AJ, Menon M, et al. The formation of abnormal associations in schizophrenia: neural and behavioral evidence. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:473-479.
18. Carlsson M, Carlsson A. Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia—implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 1990;13:272-276.

19. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1991;148:1301-1308.
20. Oliny JW, Farber NB. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1995;52:998-1007.
21. 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;43:19-29.
22. Breier A, Adler CM, Weisenfeld N, et al. Effects of NMDA antagonism on striatal dopamine release in healthy subjects: application of a novel PET approach. *Synapse* 1998;29:142-147.
23. Aalto S, Hirvonen J, Scheinin H, Någren K, Vilkman H, Hietala J, et al. Ketamine does not decrease striatal dopamine D2 receptor binding in man. *Psychopharmacology* 2002;164:401-406. *Epub* 2002 Oct 12.
24. Aalto S, Ihälainen J, Hirvonen J, Kajander J, Scheinin H, Tanila H, et al. Cortical glutamate-dopamine interaction and ketamine-induced psychotic symptoms in man. *Psychopharmacology* 2005;182:375-383.
25. Di Costanzo A, Troisi F, Tosetti M, Giannatempo GM, Nemore F, Piccirillo M, et al. High-field proton MRS of human brain. *Eur J Radiol* 2003;48:146-153.
26. Di Costanzo A, Troisi 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;17:1651-1662.
27. Theberge J, Al-Semaan Y, Williamson PC, Menon RS, Neufeld RW, Rajakumar N, et al. Glutamate and glutamine in the anterior cingulate and thalamus of medicated patients with chronic schizophrenia and healthy comparison subjects measured with 4.0-T proton MRS. *Am J Psychiatry* 2003;160:2231-2233.
28. Van Elst LT, Valerius G, Buchert M, Thiel T, Rusch N, Bubl E, et al. Increased prefrontal and hippocampal glutamate concentration in schizophrenia: evidence from a magnetic resonance spectroscopy study. *Biol Psychiatry* 2005;58:724-730.
29. Purdon SE, Valiakalayil A, Hanstock CC, Seres P, Tibbo P. Elevated 3T proton MRS glutamate levels associated with poor Continuous Performance Test (CPT-OX) scores and genetic risk for schizophrenia. *Schizophr Res* 2008;99:218-224.
30. Graff-Guerrero A, Willeit M, Ginovart N, Mamo D, Mizrachi 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;29:400-410.
31. 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;21:1034-1057.
32. Friedman SD, Stidley CA, Brooks WM, Hart BL, Sibbitt WL, Jr. Brain injury and neurometabolic abnormalities in systemic lupus erythematosus. *Radiology* 1998;209:79-84.
33. Meyerhoff DJ, MacKay S, Bachman L, Poole N, Dillon WP, Weiner MW, et al. Reduced brain N-acetylaspartate suggests neuronal loss in cognitively impaired human immunodeficiency virus-seropositive individuals: in vivo 1H magnetic resonance spectroscopic imaging. *Neurology* 1993;43:509-515.
34. Girod M, Walker P, Bernard D, Lemesle M, Martin D, Baudouin N, et al. Reduced brain N-acetyl-aspartate in frontal lobes suggests neuronal loss in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1996;18:241-243.
35. First MB, Spitzer RL, Williams JB, Gibbon M. Structured Clinical Interview for DSM-IV Disorders (SCID). Washington, DC: American Psychiatric Association; 1997.
36. Fresan A, De la Fuente-Sandoval C, Loyzaga 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;72:123-129.
37. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 1987;13:261-276.
38. Provencher SW. Automatic quantitation of localized in vivo 1H spectra with LCModel. *NMR Biomed* 2001;14:260-264.
39. 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;33:2456-2466.
40. Brodal P. The central nervous system: structure and function. 3rd ed. Oxford; New York: Oxford University Press; 2004.
41. Farde L, Wiesel FA, Halldin C, Sedvall G. Central D2-dopamine receptor occupancy in schizophrenic patients treated with antipsychotic drugs. *Arch Gen Psychiatry* 1988;45:71-76.
42. 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;14:1302-1309.
43. 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;91:142-147.
44. Camps M, Cortes R, Gueye B, Probst A, Palacios JM. Dopamine receptors in human brain: Autoradiographic distribution of D2 sites. *Neuroscience* 1989;28:275.
45. 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;27:857-871.
46. Dum RP, Strick PL. An unfolded map of the cerebellar dentate nucleus and its projections to the cerebral cortex. *J Neurophysiol* 2003;89:634-639.
47. Middleton FA, Strick PL. Cerebellar projections to the prefrontal cortex of the primate. *J Neurosci* 2001;21:700-712.
48. Schmahmann JD, Pandya DN. Prefrontal cortex projections to the basilar pons in rhesus monkey: implications for the cerebellar contribution to higher function. *Neurosci Lett* 1995;199:175-178.
49. Kelly RM, Strick PL. Cerebellar loops with motor cortex and prefrontal cortex of a nonhuman primate. *J Neurosci* 2003;23:8432-8444.
50. Steen RG, Hamer RM, Lieberman JA. Measurement of brain metabolites by 1H magnetic resonance spectroscopy in patients with schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Neuropsychopharmacology* 2005;30:1949-1962.
51. Olney JW, Labruyere J, Price MT. Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs. *Science* 1989;244:1360-1362.
52. Bartha R, Williamson PC, Drost DJ, Malla A, Carr TJ, Cortese L, et al. Measurement of glutamate and glutamine in the medial prefrontal cortex of never-treated schizophrenic patients and healthy controls by proton magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry* 1997;54:959-965.
53. Olbrich HM, Valerius G, Rusch N, Buchert M, Thiel T, Hennig J, et al. Frontolimbic glutamate alterations in first episode schizophrenia: evidence from a magnetic resonance spectroscopy study. *World J Biol Psychiatry* 2008;9:59-63.
54. Maton B, Londono A, Sawrie S, Knowlton R, den Hollander J, Kuzniecky R. Reproducibility of proton magnetic resonance spectroscopy imaging measurements of normal human hippocampus at 1.5 T: clinical implications. *J Neuroimaging* 2001;11:194-201.
55. Brooks WM, Friedman SD, Stidley CA. Reproducibility of 1H-MRS in vivo. *Magn Reson Med* 1999;41:193-197.