

Origen prenatal de la esquizofrenia. Estudios con técnicas de microscopía electrónica

Segundo Mesa Castillo¹

*"No elimino la autoridad de los sentidos, sino que los proveo de ayuda".
Francis Bacon. Novu Organum(1620).*

Alcmeon, Revista Argentina de Clínica Neuropsiquiátrica, vol. 16, N° 2, marzo de 2010, págs. 140 a 149.

Resumen

Cada vez hay más evidencias que favorecen el comienzo prenatal de la esquizofrenia. Estas evidencias apuntan hacia factores medio ambientales intrauterinos que actúan específicamente durante el segundo trimestre de embarazo produciendo un daño directo del cerebro del feto. La tecnología disponible actualmente no permite observar que sucede a nivel celular ya que el cerebro humano no está expuesto a un análisis directo en esa etapa de la vida. La mayor parte de las técnicas que han acumulado evidencias de daño cerebral prenatal han sido de poco poder de resolución y mediante métodos indirectos. Es necesaria una técnica con alto poder de resolución que permita obtener la información necesaria del cerebro del feto y de los factores ambientales que le rodean. En 1977 comenzamos una investigación directa del cerebro en la esquizofrenia con técnicas de microscopía electrónica. Fueron objeto de esta investigación: cerebros de adultos esquizofrénicos fallecidos, animales experimentalmente inoculados con

líquido céfalo-raquídeo de pacientes esquizofrénicos y fetos de madres esquizofrénicas. Los resultados obtenidos orientan hacia una etiología viral de la enfermedad. Resultados posteriores de otros autores utilizando otras técnicas y diseños de investigación relacionan el daño del cerebro, bien por la acción directa del virus o indirectamente a través del daño inmunológico. El objetivo de nuestra investigación actual fue estudiar no sólo el cerebro del feto sino también el medio ambiente que le rodea, haciéndose un estudio del cerebro del feto y de la placenta durante el segundo trimestre de un embarazo interrumpido por razones médicas de una madre esquizofrénica paranoide.

Palabras claves

Esquizofrenia, microscopía electrónica, placenta, feto, virus, madre esquizofrénica.

Summary

There are increasing evidences that favor the prenatal beginning of schizophrenia. These evidences point toward intra-uterine environmental factors that act specifically during the second pregnancy trimester producing a

¹ Hospital Psiquiátrico de la Habana. segundo@infomed.sld.cu

direct damage of the brain of the fetus. The current available technology doesn't allow observing what it is happening at cellular level since the human brain it is not exposed to a direct analysis in that stage of the life. Most of the techniques that have accumulated evidences of prenatal cerebral damage have been of little resolution power and by means of indirect methods. It is necessary a technique with high resolution power that allows obtaining the necessary information of the brain of the fetus and of the environmental factors that surround him. In 1977 we began a direct research of the brain on schizophrenia with electron microscopic techniques. Were object of this research: brains of adult dead schizophrenic patients, animals experimentally inoculated with cerebrospinal fluid from schizophrenic patients and fetuses of schizophrenic mothers. The obtained results guide toward a viral etiology of the illness. Later results of other authors using other techniques and research designs relate the damage of the brain, due to the direct action of the virus or indirectly through the immunologic damage. The objective of our current research was to not only to study the brain of the fetus but also the environment that surrounds him, being made a study of the brain of the fetus and of the placenta during the second trimester of a paranoid schizophrenic mother whose pregnancy was interrupted for medical indications.

Key words

Schizophrenia, electron microscopy, placenta, fetus, virus, schizophrenic mother.

Introducción

La teoría del neurodesarrollo^{1,2}, la más consistente en estos momentos sobre la etiología

de la esquizofrenia, se sustenta en evidencias que orientan hacia un daño prenatal en la esquizofrenia en estructuras derivadas del ectodermo: la piel y el sistema nervioso. Se han descrito en la esquizofrenia en forma significativa un número mayor de anomalías congénitas de la cabeza y las extremidades, con anomalías físicas menores, alteraciones del dermatoglifo y anomalías neurológicas menores. Estas anomalías se relacionan directamente con un daño prenatal durante el segundo trimestre de embarazo, demostrado en estudios en humanos y en la patología experimental en animales. Entre los posibles agresores medio-ambientales se han descrito entre otros, el alcohol, el calor, las radiaciones, la falta de oxígeno, problemas nutricionales, bridas amnióticas y los virus³. Entre estos últimos son bien conocidos los efectos deletéreos del virus de la rubéola, el citomegalovirus y los virus herpes por el daño directo que producen en el cerebro y en otros aparatos y sistemas⁴. En la esquizofrenia aparecen anomalías en el sistema nervioso consistentes en un aumento del tamaño de los ventrículos cerebrales y atrofia de la sustancia gris especialmente en estructuras del sistema límbico, este último relacionado con la vida psíquica y afectiva del ser humano. La controversia clásica en este contexto de ideas es hasta donde influye en su origen lo genético o lo ambiental. En sí es la controversia clásica para todas las enfermedades: nature vs. nurture. Un elemento determinante a favor de los factores medio-ambientales lo constituye la no concordancia de esquizofrenia en un 100 por ciento de gemelos idénticos. Estos comparten un cien por ciento del genoma derivado de un solo huevo o cigoto; de ser la enfermedad puramente de origen genético ambos gemelos debían padecer la enfermedad. Las anomalías descritas en derivados del ectodermo no pueden tener

una explicación puramente genética por las observaciones del efecto que producen en humanos y animales factores ambientales de distinta naturaleza. Los virus se encuentran entre los factores ambientales de mayor fuerza entre las evidencias de la teoría del neurodesarrollo⁵. La mayor parte de las investigaciones relacionan la enfermedad con el virus de la influenza⁶. Los métodos utilizados se basan en evidencias indirectas de aumento en el título de anticuerpos contra este virus en madres cuyos hijos padecieron posteriormente de esquizofrenia o que estuvieron embarazadas durante epidemias de influenza. Sin embargo trabajos recientes no demuestran la presencia de este virus en el cerebro de los fetos ni signos de infección viral en estudios experimentales en animales⁷. Los únicos estudios directos del cerebro de fetos de madres esquizofrénicas con técnicas de microscopía electrónica realizados en el mundo hasta donde conocemos fueron los realizados por nosotros⁸. En esos estudios hemos demostrado una infección viral activa en el cerebro de fetos de madres esquizofrénicas durante el segundo trimestre de embarazo. En el presente trabajo nuestro objetivo fue comprobar una suelta hipótesis de la afectación por el virus no sólo del feto sino también de las estructuras medioambientales que le rodean: el amnios y la placenta.

Material y método

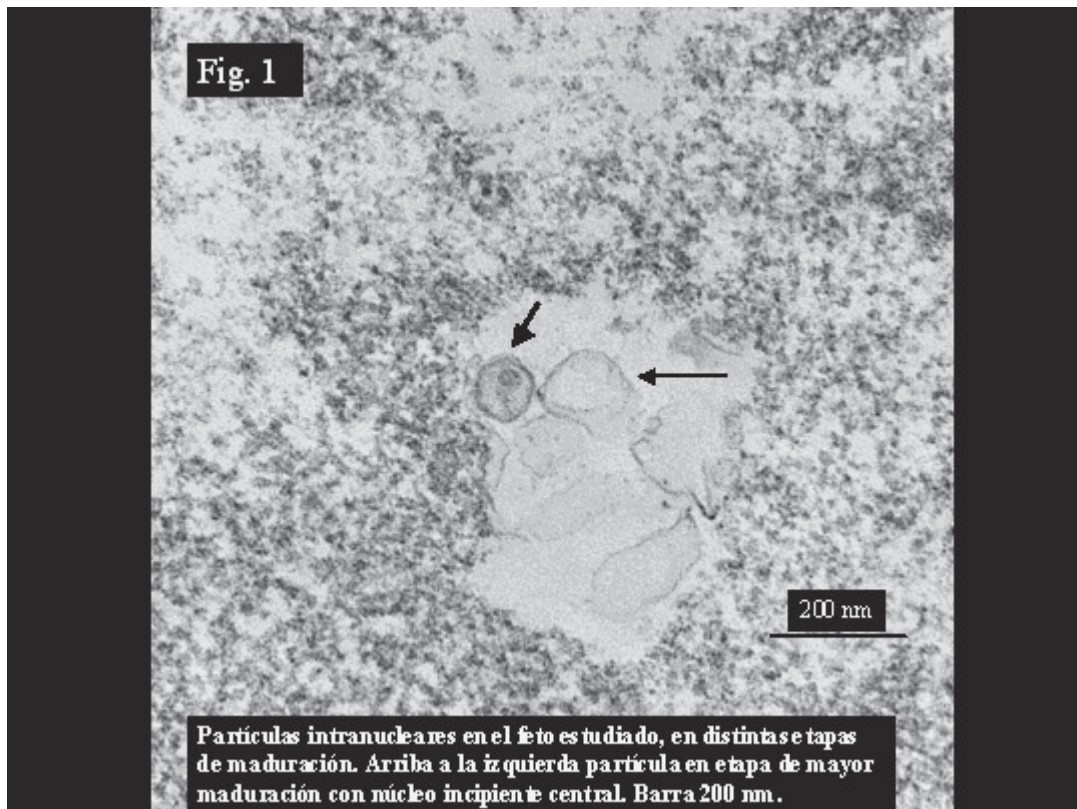
Previo consentimiento informado se obtuvieron muestras de la punta del lóbulo temporal de un feto de 16 semanas de tiempo de gestación, abortado por indicaciones médicas, de una madre esquizofrénica paranoide criterio diagnóstico DSM-IV [Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales]⁹, obteniéndose también muestras de la placenta.

Una vez obtenidas las muestras, se fijaron en glutaraldehído-paraformaldehído inmediatamente, siendo transportadas al laboratorio de microscopía electrónica para la realización de las técnicas de microscopía electrónica: técnica general para microscopía electrónica de transmisión e inmuno-electromicroscopía. Las muestras obtenidas se fijaron durante 1 hora en glutaraldehído-paraformaldehído, lavándose en buffer fosfato (PBS) durante 5 minutos en cada lavado. Posteriormente se procedió al bloqueo de la peroxidasa endógena con metanol más peróxido de hidrógeno durante treinta minutos a la temperatura ambiente. Se procedió al lavado con varios volúmenes de PBS durante 15 minutos. Lavados con TRIS, tres volúmenes de 5 minutos cada vez. Se utilizó suero normal de carnero diluido 1:5. Se añadió el antisuero anti-herpes simplex hominis tipo [HSV1] durante 24 horas, lavándose posteriormente con TRIS (tres volúmenes, cinco minutos cada uno. Se añadió DAB (diamino-bencidina), durante 8 minutos a temperatura ambiente, lavándose con TRIS. Se realizó la post-fijación con tetróxido de osmio al uno por ciento durante treinta minutos, lavándose con buffer fosfato (3X15 minutos), etanol al 30 por ciento durante 5 minutos, al 50 por ciento durante 5 minutos, al 70 por ciento durante 10 minutos y etanol absolute (3X20 minutos). Oxido de propileno (3X15 minutos): procediéndose a la inclusión en Epon I durante 60 minutos, Epon II durante toda la noche, terminándose la inclusión definitivamente para bloques con dilución del antisuero 1/10 y 1/20, bloques controles de cada dilución, bloques de los controles más control de los bloques controles en cada dilución y técnica general.

Resultados

Los resultados obtenidos en las muestras del cerebro del feto estudiado [Fig. 1] fueron similares a los obtenidos en otros estudios de fetos de madres esquizofrénicas [Fig. 2]. Se caracterizaron por la presencia de partículas intranucleares con morfología viral, rodeadas de un halo claro. La mayor parte de las veces se observaron partículas inmaduras, sin núcleo central, sólo cápsides vacías. Las partículas fueron observadas en las neuronas so-

lamente. Las partículas maduras se observaron generalmente en el citoplasma de las neuronas, las que reaccionaron en forma positiva con el antisuero anti-herpes simplex hominis tipo I cuando se usaron las técnicas inmunoelectromicroscópicas [Fig. 3]. Las muestras obtenidas de la placenta presentaron espacios vacíos intranucleares [Fig. 4] y partículas similares aunque mucho menos frecuentes a las observadas en los fetos estudiados y en el feto motivo de este estudio [Fig. 5].



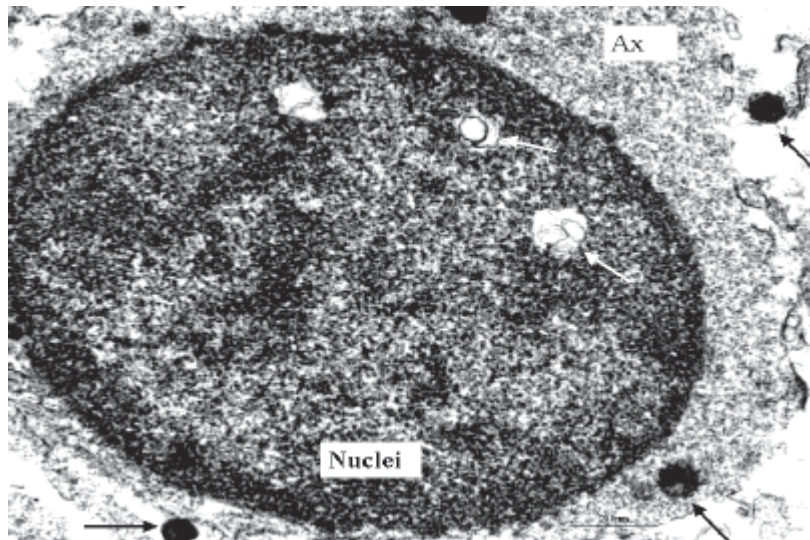
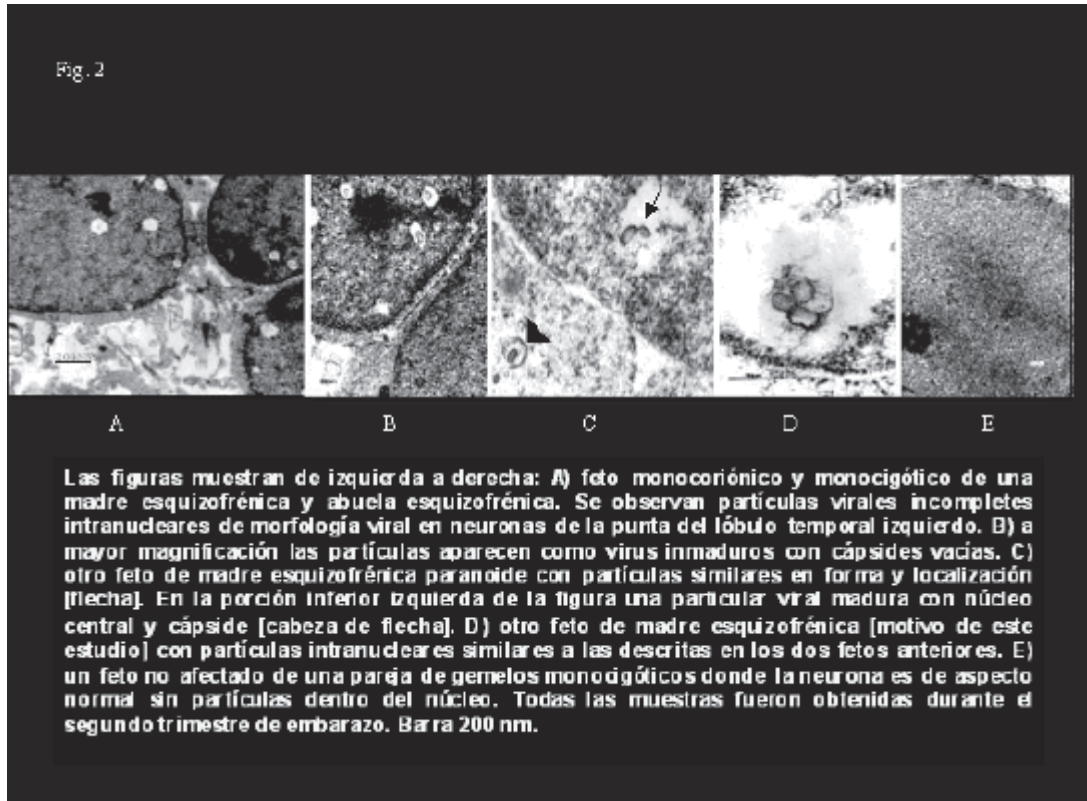


Fig. 3 Partículas virales intranucleares incompletas [flechas blancas] e intracitoplasmáticas, partículas completas, [flechas negras] marcadas con anticuerpo para el virus anti-herpes simplex hominis tipo I unido a peroxidasa. Ax=axon. Feto monocigótico.

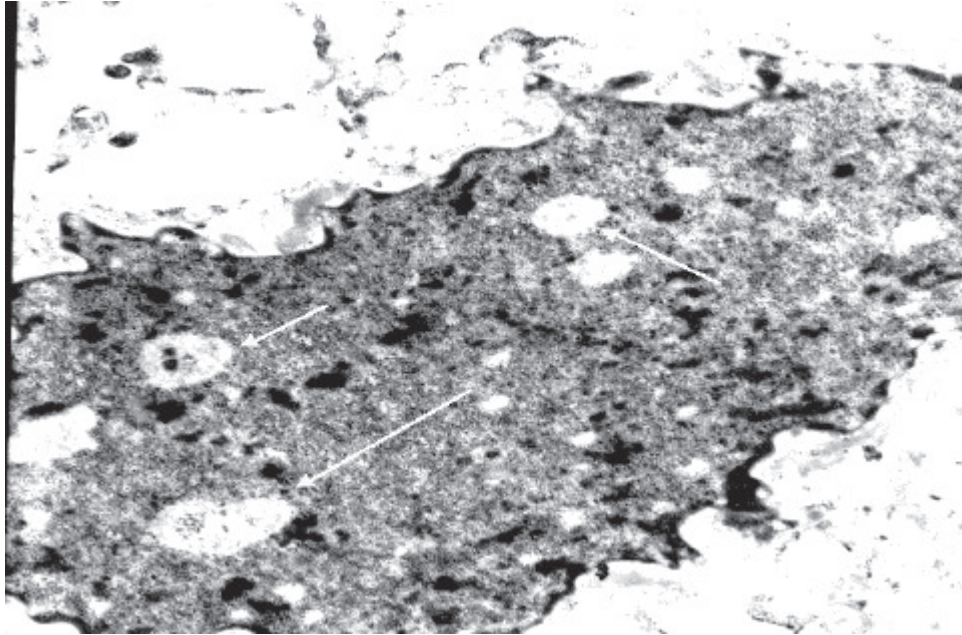


Fig. 4. Núcleo de gran dimensión con numerosos espacios claros [flechas] similares a los observados en los fetos pero sin las partículas, sólo algunas estructuras de membrana. Célula del corion. Bar 200 nm

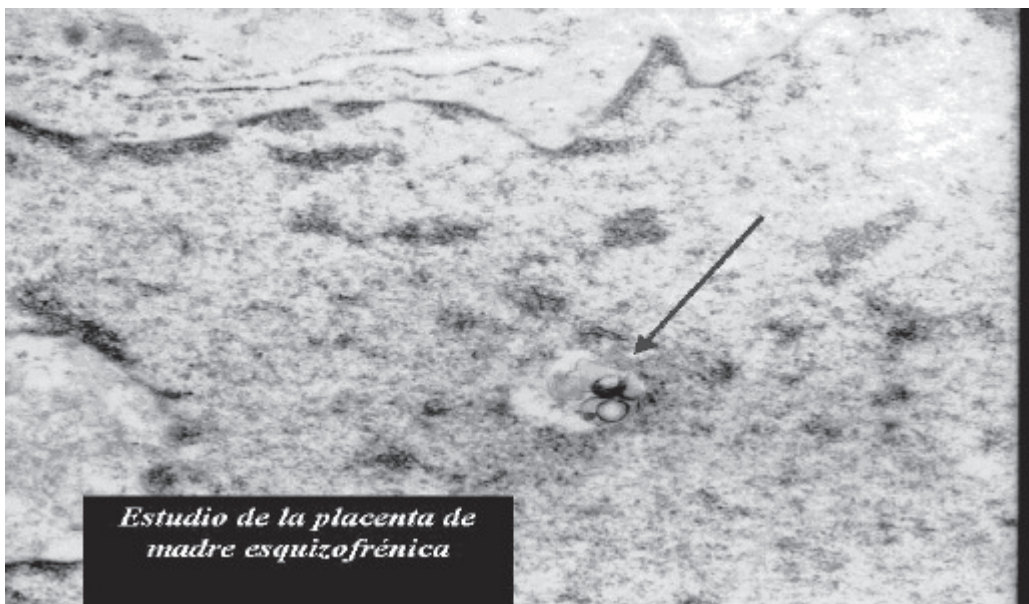
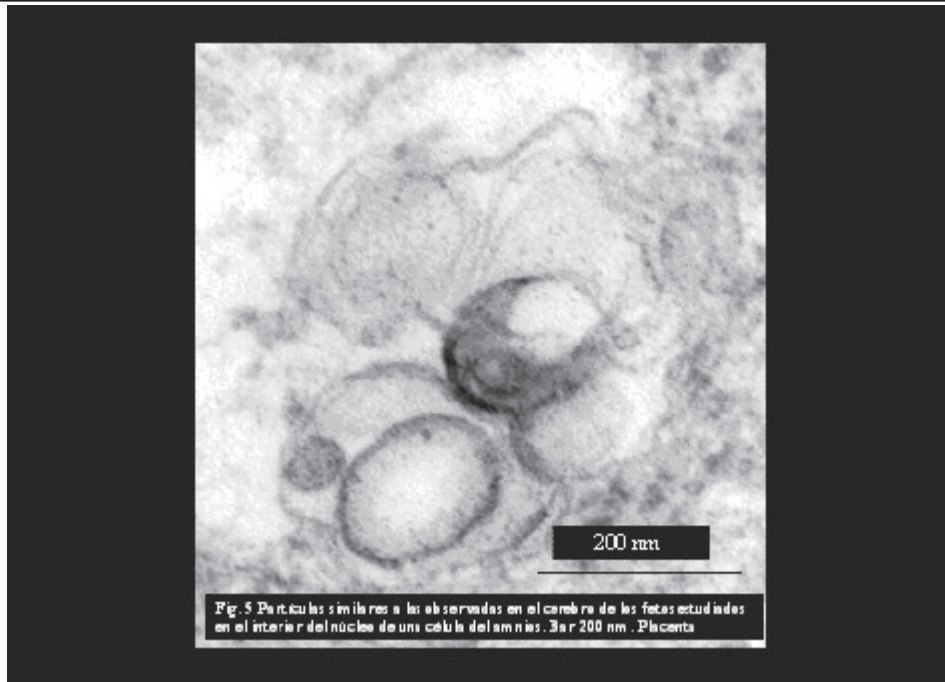
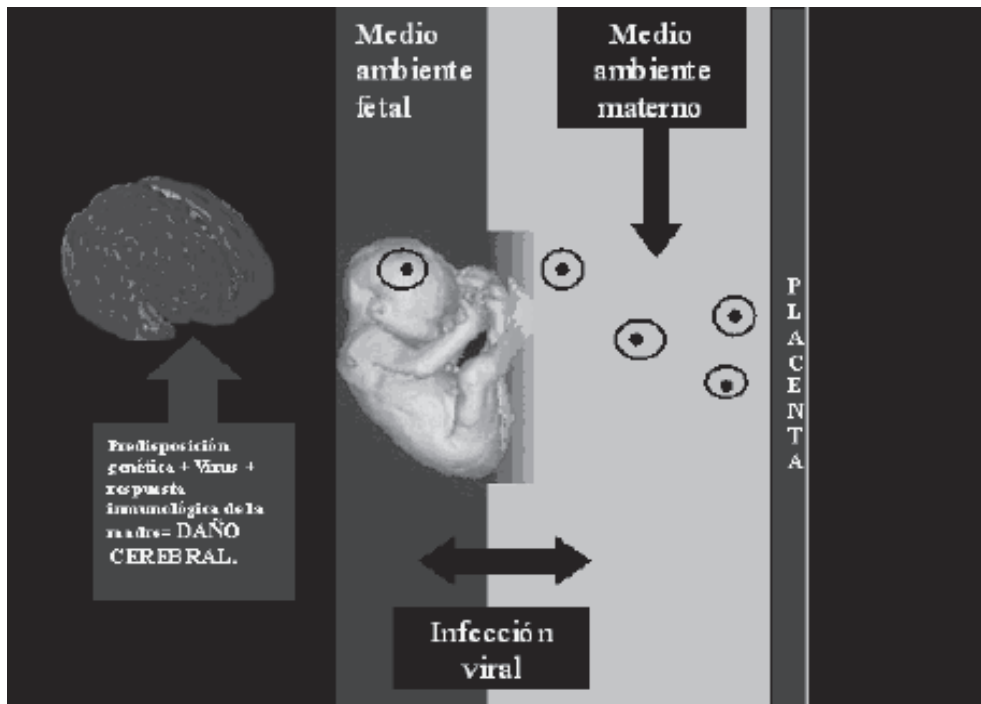


Fig. 5. Muestra la presencia de partículas intranucleares [flecha] en distintos períodos de evolución desde partículas inmaduras a partículas con morfología mejor definida. Obsérvese la relación con estructuras de membrana de nueva formación como se observa en las infecciones por el virus [HSV-1]. Se observa el halo claro alrededor de las partículas al igual que en el cerebro de los fetos estudiados. Este hecho plantea la interrogante si es el feto el primariamente infectado infestando la placenta o lo es secundariamente a partir de una infección intrauterina.



Recuadro de la fig. 5 que muestra a mayor amplitud las partículas intranucleares.



Esquema del medio ambiente materno y fetal. La interacción entre el medio ambiente materno y el fetal en relación a una infección viral puede ser en ambos sentidos. A la acción del virus y su efecto sobre el cerebro se puede sumar la acción de la respuesta inmunológica de la madre con efecto nocivo añadido sobre el cerebro del feto.

Discusión

La esquizofrenia, con una prevalencia de 1% habitantes es una de las enfermedades más invalidantes de los seres humanos. Conocida como "el cáncer de la psiquiatría" se impone como un gran reto social debido a su incidencia, su potencial cronicidad y severidad y las consecuencias importantes para la familia y la sociedad en general. Constituye junto a la demencia problemas prioritarios de la salud mental a nivel mundial. El impacto económico de la enfermedad es de gran importancia. En algunos países desarrollados la suma de los costos directos e indirectos puede llegar desde 60 millones de dólares a más de 30 billones de dólares por año, sin tener en cuenta los costos intangibles los que son muy difíciles de cuantificar en dinero y tienen que ver con el sufrimiento de los pacientes y sus familiares^{10,11}. El conocimiento de la esquizofrenia a través de la historia se ha relacionado con el desarrollo socio-económico, la ideología imperante y el desarrollo científico técnico^{12,13}. Aunque siempre se consideró una enfermedad biopsicosocial, predominaron determinadas posiciones quedando aún la incógnita de hasta que punto es el componente biológico, psicológico o social. Su etiología comienza a aclararse en el siglo XIX con el descubrimiento del microscopio óptico un siglo antes por Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) con el siguiente desarrollo de la histología y de la anatomía patológica. Se concibe por primera vez la esquizofrenia como una enfermedad del cerebro. En la primera mitad del siglo XX surge la teoría psicogénica fundamentada entre otros aspectos por la falta de alteraciones específicas en las células nerviosas, la mayor parte de los estudios histológicos con microscopía óptica se habían concentrado en la corteza cerebral y en la

región frontal. Surge así la teoría psico-analítica en la que se hace hincapié en los factores ambientales postnatales surgiendo el concepto de madre esquizofrenogénica que daba mayor importancia a la influencia ambiental familiar en la aparición de la enfermedad. Producto de los estudios epidemiológicos aparece un elemento que daba al traste con la etiología psicogénica postnatal: Los estudios de adopción [cruzados y no cruzados] sobre todo de gemelos monocigóticos¹⁴. Posteriormente surgió la teoría sociológica, también basada en el período postnatal, que hablaba de la influencia de la sociedad y de los intereses económicos en el llamado movimiento de la antipsiquiatría. En contra de esta teoría se observó que la prevalencia de la enfermedad era alrededor del 1% en todas las sociedades independientemente del sistema social, político y económico, y que existía una mayor incidencia familiar en la enfermedad. De esta forma pasaron a un segundo plano los factores postnatales en relación con la etiología de la enfermedad apareciendo los factores genéticos y los factores ambientales prenatales y perinatales como factores de vulnerabilidad de la esquizofrenia. Los factores psicosociales se consideran entonces como factores desencadenantes. La teoría genética se fundamenta en una mayor incidencia familiar y en los estudios de adopción¹⁵⁻¹⁷. Se considera por lo tanto dentro del grupo de factores prenatales en relación a la etiología. En contra de esta teoría se observa que solo el 45% de los gemelos monocigóticos padecen la enfermedad, considerándose la herencia como un factor predisponente pero no determinante. Contribuyen en este sentido la no identificación de un gen específico de la enfermedad a la que contribuyen aparentemente varios genes que actúan de forma asociada. Dentro de los estudios postnatales surge la teoría del

neurodesarrollo la que se fundamenta en una mayor aparición de anomalías físicas menores, signos neurológicos menores y alteraciones en el dermatoglifo en los esquizofrénicos en comparación con la población normal^{18,19}. Estas anomalías se relacionan tanto en humanos como en animales con una agresión que sufre el feto durante el segundo trimestre de vida fetal. Coincide con el período crítico del desarrollo del cerebro, por lo que se considera como un equivalente de lo que sucede en el sistema nervioso, entre otros aspectos con el período de emigración de las neuronas a la corteza cerebral²⁰. Surge entonces la controversia nature/nuture, hasta que punto influyen los factores genéticos y los ambientales. Entre los factores ambientales se citan: los trastornos nutritivos, la hipoxia, el calor, la respuesta inmunológica de la madre y los factores infecciosos entre los que se destacan los virus y el protozooario *Toxoplasma Gondii*^{21,22}. La teoría del neurodesarrollo de la etiología de la esquizofrenia se considera la más consistente en este momento por la evidencias acumuladas de daño prenatal²³. Sin embargo deja en una incógnita lo que sucede realmente en el cerebro de un feto en el período crítico del segundo trimestre de embarazo de una madre esquizofrénica o de la que está en riesgo de tener una descendencia de esquizofrenia por la imposibilidad de un examen directo de un cerebro que no está expuesto a la observación en ese tiempo y en ese espacio²⁴. Solo una eventual circunstancia como la supresión o interrupción de un embarazo en ese período de tiempo por razones médicas permite el acceso al estudio del cerebro en las circunstancias antes señaladas. En nuestros estudios hemos visualizado partículas virales que reaccionan con anticuerpos contra el virus herpes simplex hominis tipo I [HSV-1] en cerebros de adultos esquizofrénicos fallecidos,

la mayor parte de ellos por debajo de 40 años de edad o sea donde aún persisten en forma crítica las crisis psicóticas. En animales inoculados con el líquido céfalo-raquídeo de pacientes esquizofrénicos, en embriones de pollo y en la descendencia de ratas inoculadas intracerebralmente y en fetos de madres esquizofrénicas con dos distintas formas de la enfermedad, hebefrénica y paranoide²⁵. En el presente trabajo hemos puesto en evidencia la presencia de partículas similares en componentes de las envolturas del feto, de origen materno y fetal, en células del amnios y del corion. La posibilidad de que la infección pase del feto a estructuras vecinas o en sentido inverso que pase de esas estructuras al feto [ver esquema] debe ser motivo de investigaciones posteriores. La respuesta inmunológica de la madre puede interactuar junto a la agresión directa del virus sobre el cerebro del feto²⁶. En estudios experimentales en animales se ha comprobado el rol de las citoquinas en el daño cerebral en el feto, en la placenta y en líquido amniótico en madres expuestas a infecciones previamente²⁷. Un estudio de las células del líquido amniótico en el segundo trimestre de embarazo en mujeres a riesgo de tener una descendencia de esquizofrenia debe ser motivo de investigaciones que tengan como objetivo fundamental el carácter preventivo de la enfermedad ofreciéndose la interrupción voluntaria del embarazo o un tratamiento antiviral temprano en caso de comprobarse en dichas células mediante técnicas de microscopía electrónica y virológicas una infección activa en ese período de tiempo y espacio.

Bibliografía

1. Gourion D, Gourevitch R, Leprovost JB, Olie H, loo JP, Krebs MO. Neurodevelopmental hypothesis in schizophrenia. *Encephale* 2004; 30: 109-118.

2. Cannon M, Murray MR. Neonatal origins of schizophrenia. *Arch Dis Child* 1998; 78: 1-3
3. Wintour EM, Owens AJ. *Early Life Origins of Health and Disease*. Auckland, New Zealand: Eureka.com and Springer Science + Business Media; 2006.
4. Alter M, Schulenberg R. Dermatoglyphics in the rubella syndrome. *JAMA* 1966; 197: 685-88.
5. Fruntes V, Limosin F. Schizophrenia and viral infection during neurodevelopment: A pathogenesis model? *Med Sci Monit* 2008; 14: 71-77.
6. Brown AS, Begg MD, Gravenstein S, Schaefer CA, Wyatt RJ. Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2004; 61: 774-780.
7. Shi L, Tu N, Patterson PH. (2005): Maternal influenza infection is likely to alter fetal brain development indirectly: The virus is not detected in the fetus. *Int J Dev Neurosci* 23: 299-305.
8. Mesa-Castillo S. An ultrastructural study of the temporal lobe and peripheral blood in schizophrenic patients. *Rev Neurol*. 2001; 33: 619-23.
9. DSM-IV. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. 4 ed. Barcelona: Masson; 1995.
10. Valdivia BS, Torres GF, Cabases Hita JM. Estimation of mental health care cost units for patients with schizophrenia. *Actas Esp Psiquiatr* 2005; 33: 280-285.
11. Chalamat M, Mihalopoulos C, Carter R, Vos T. Assessing cost-effectiveness in mental health: vocational rehabilitation for schizophrenia and related conditions. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry* 2005; 39: 693-700.
12. Torrey EF. *Is Schizophrenia of Recent Origin? In Schizophrenia and Civilization*. New York. London: Jason Aronson, eds; 1980. p. 19-41.
13. Lehmann HE. Schizophrenia: Introduction and history. A.M. Freedman and H.I. Kaplan. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. Baltimore. Williams and Wilkins eds; 1967. p. 593-598.
14. Sagud M, Mihaljevic'-Peles A, Pivac N, Muck-Seler D, Simunovic'I, Jakovljevic'M. Genetics of schizophrenia in the context of integrative psychiatry. *Psychiatr Danub* 2008; 20: 364-368.
15. Van Oel CJ, Baare WFC, Pol HEH, Haag J, Balazs J, Dingemans A, et al. Differentiating between low and high susceptibility to schizophrenia in twins: the significance of dermatoglyphic indices in relation to other determinants of brain development. *Shizophr Res* 2001; 52: 181-193.
16. Weinberger RD. Biological phenotypes and genetic research on schizophrenia. *World Psychiatry* 2002; 1:1-6
17. Kidd KK. Can we find genes for schizophrenia? *Am J Med Genet (Neuropsychiatric Genetics)* 1997; 74: 104-111.
18. Jones P, Murray R. The genetics of schizophrenia is the genetics of neurodevelopment. *Br J Psychiatry* 1991; 158: 615-623.
19. Weinberger DR. Schizophrenia: from neuropathology to neurodevelopment. *Lancet* 1995; 346: 552-557.
20. Rakic P. Specification of cerebral cortical areas. *Science* 1988; 241: 170-76.
21. Boksa P. Maternal infection during pregnancy and schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci* 2008; 33: 183-185.
22. Yolken RH, Torrey EF. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. *Mol Psychiatry* 2008; 13: 470-479.
23. Rapoport JL, Addington AM, Frangou S, Psych MR. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry* 2005; 10: 434-449.
24. Saha S, Loesch D, Chant D, Welham J, El-Saadi O, Fañanás L, et al. Directional and fluctuating asymmetry in finger and a-b ridge counts in psychosis: a case-control study. *BMC Psychiatry* 2003; 3:3
25. Mesa-Castillo S, Gómez-Barry H, González NL. Presencia de virus en el sistema nervioso central en fetos de madres esquizofrénicas. Estudios con microscopía electrónica en el segundo trimestre de embarazo. *Rev Hosp Psiquiátrico de la Habana* 2007; 4 (3) disponible en: http://www.psiquiaticohph.sld.cu/revista/portal_revhph.htm.
26. Smith EPS, Li J, Krassimira G, Mirnics K, Patterson HP. Maternal Immune Activation Alters Fetal Brain Development through Interleukin-6. *The Journal of Neuroscience* 2007; 27: 10695-10702.
27. Urakubo A, Jarskog LF, Lieberman JA, Gilmore JH. Prenatal exposure to maternal infection alters cytokine expression in the placenta, amniotic fluid, and fetal brain. *Schizophr Res* 2001; 47: 27-36.