

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

THE HUMAN BRAIN AND SCHIZOPHRENIA

Segundo Mesa Castillo

Hospital Psiquiátrico de la Habana

segundo@infomed.sld.cu

Esquizofrenia, Virus, Microscopía electrónica, Cerebro.
Schizophrenia, Virus, Electron microscopy, Brain.

RESUMEN

El abordaje de la investigación de la esquizofrenia a través de imágenes se ha caracterizado por la introducción de nuevas tecnologías con este propósito. Dependiendo del mayor o menor grado del poder de resolución de la tecnología aplicada es posible investigar la enfermedad en diferentes dimensiones. Algunas de estas investigaciones no están limitadas solamente por la resolución de la tecnología utilizada sino por dificultades de distinta naturaleza que no han permitido alcanzar los resultados deseados. Este es el caso de los estudios post-mortem en pacientes esquizofrénicos, especialmente cuando se utilizan técnicas de microscopía electrónica. Hasta donde sabemos solamente existe un trabajo en la literatura médica donde dos estructuras del sistema límbico – el núcleo amigdalino y el hipocampo – de pacientes esquizofrénicos han sido estudiados por medio de esta técnica, que comenzamos a partir de 1977. Desde entonces y mediante diferentes técnicas de imagen se ha comprobado la importancia de esas estructuras en la fisiopatología de la enfermedad. En este trabajo algunos de esos resultados son presentados así como su relación con la hipótesis viral planteada para la enfermedad.

ABSTRACT

The boarding of schizophrenia research through images has been characterized by the introduction of new technologies with this purpose. Depending on the larger or smaller degree of the resolution power of the applied technology we can investigate the illness in different dimensions. Some of these researches have not been limited alone for the resolution power of the used technique but for difficulties of different nature that have prevented to achieve the objectives that were looked for. This is the case of post-mortem studies in schizophrenic patients especially when an ultramicroscopic technique has been used. Up to where we know only a work exists in the medical literature where two structures of the limbic system - the amygdaline nuclei and the hippocampus- of schizophrenic patients have been studied by means of this technique starting from 1977. From that date and by means of different image techniques it has been proven the importance of both structures in the physio-pathology of the illness. In this work some of these results were presented and their relationship with the viral hypothesis outlined for the illness.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

INTRODUCCIÓN

La enfermedad mental se impone como un gran reto social debido a su incidencia y prevalencia, su potencial cronicidad y severidad y las consecuencias para la familia y la sociedad en general. La esquizofrenia y la demencia constituyen los problemas prioritarios de la salud mental a nivel mundial independientemente de las características sociales o económicas de los diferentes países. La esquizofrenia con una prevalencia de 1 por 100 habitantes tiene una gran repercusión humana, económica y social por afectar al individuo en plena etapa productiva. Cerca del 50% de los casos se incapacitan de por vida para el estudio, el trabajo y la vida social plena. También incapacita a uno o más miembros de la familia los que deben cuidar del paciente. Tiene un elevado costo directo por atención médica e indirecto por lo que dejan de producir pacientes y familiares cuidadores más un costo intangible por el sufrimiento que produce en el paciente, en familiares, amigos y en la sociedad en general. En el 75% de los casos la enfermedad aparece entre los 16 y 25 años de edad. La etiología de la enfermedad es aún desconocida y se han considerado factores hereditarios predisponentes que interactúan con factores ambientales prenatales. Es considerada por numerosas evidencias una enfermedad de etiología orgánica en la que el cerebro está afectado en forma directa o indirectamente. Las técnicas de imagen modernas han demostrado que áreas del sistema límbico del cerebro son las más lesionadas en la enfermedad las que han sido llamadas regiones de interés (rdis). Estos estudios deben conducir investigaciones a nivel celular con el objeto de aclarar los hallazgos obtenidos a nivel macroscópico sin embargo son pocos los estudios con técnicas ultraestructurales microscópicas, con el uso del microscopio electrónico [diap. 7-11].

MATERIAL Y MÉTODOS

Microscopía electrónica

PACIENTES. *Sistema nervioso.* Se estudiaron para microscopía óptica y electrónica muestras de tejido nervioso de un total de 16 pacientes fallecidos en el Hospital Psiquiátrico de la Habana con criterio diagnóstico para la investigación de esquizofrenia [1] y con diferentes formas clínicas de la enfermedad y 10 controles fallecidos de causas no relacionadas con enfermedad neurológica, psiquiátrica, ni infecciosa procedentes del Hospital Oncológico de la Habana y del Hospital Naval. Las muestras correspondieron en todos los estudios a núcleo amigdalino, hipocampo y corteza auditiva primaria del hemisferio cerebral izquierdo [Diap.17-19]. De los 16 pacientes esquizofrénicos estudiados, 8 (50%) tenían menos de 40 años de edad y se encontraban en el período productivo de la enfermedad. Tabla.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

TABLA PACIENTES ESQUIZOFRÉNICOS ESTUDIADOS				
CASO	EDAD	SEXO	DIAGNÓSTICO	CAUSA DE MUERTE
1	49	m	<i>Esquizofrenia residual</i>	<i>trombo embolismo pulmonar</i>
2	32	m	<i>Esquizofrenia residual</i>	<i>perforación gástrica</i>
3	57	m	<i>Esquizofrenia indiferenciada</i>	<i>neoplasia del pulmón</i>
4	37	m	<i>Esquizofrenia paranoide</i>	<i>bronco aspiración</i>
5	57	f	<i>Esquizofrenia paranoide</i>	<i>bronco aspiración</i>
6	56	f	<i>Esquizofrenia indiferenciada</i>	<i>bronco aspiración</i>
7	31	m	<i>Esquizofrenia paranoide</i>	<i>bronco neumonía</i>
8	46	m	<i>Esquizofrenia residual</i>	<i>bronco neumonía</i>
9	52	f	<i>Esquizofrenia indiferenciada</i>	<i>bronco neumonía</i>
10	39	f	<i>Esquizofrenia indiferenciada</i>	<i>necrosis renal aguda</i>
11	36	m	<i>Esquizofrenia residual</i>	<i>edema cerebral</i>
12	31	m	<i>Esquizofrenia paranoide</i>	<i>trombo embolismo pulmonar</i>
13	64	m	<i>Esquizofrenia indiferenciada</i>	<i>trombo embolismo pulmonar</i>
14	32	m	<i>Esquizofrenia catatónica</i>	<i>infarto del miocardio</i>
15	43	m	<i>Esquizofrenia residual</i>	<i>bronco aspiración</i>
16	31	m	<i>Esquizofrenia paranoide</i>	<i>bronco neumonía</i>

Los cerebros fueron obtenidos dentro de las primeras cuatro horas después de producirse el fallecimiento previo consentimiento informado y con la aprobación del Comité de Ética de cada

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

Institución. Se realizó un corte longitudinal que dividió al cerebro en sus dos hemisferios y fue seleccionado el hemisferio cerebral izquierdo en todos los casos. De este hemisferio se tomó la porción media de la primera circunvolución temporal transversa de Heschl. Se realizó un corte transversal a 2 cm por delante del rodete del cuerpo caloso. A ese nivel se tomó muestra del hipocampo orientándonos por la superficie ventricular del mismo. Se realizó otro corte transversal a 2,5 cm por detrás de la rodilla del cuerpo caloso y paralelo al corte anterior obteniéndose muestras del núcleo amigdalino del cual se tomaron los tercios superior e inferior [Diap.16-19]. Cada una de las muestras se dividió en fragmentos más pequeños entre 2 y 3 mm, que fueron colocados en frascos independientes, previamente rotulados y tapados con papel negro para identificación posterior y protección de los fijadores de microscopía electrónica en su interior.

Patología experimental. Se inocularon con LCR de la paciente L.M.S. con criterio diagnóstico para la investigación de esquizofrenia hebefrénica [2], diez huevos de un día de incubación. La inoculación se realizó en la cámara de aire con una décima de cc de LCR, continuándose el proceso normal de incubación. Dos días después se pusieron a incubar siete huevos controles inoculados con una décima de cc de agua destilada (5 en incubadora y 2 en gallina). Al terminar el proceso de incubación se sacrificaron los pollos recién nacidos (inoculados y controles) haciéndose trepanación del cráneo y obteniendo en todos los casos el hemisferio cerebral izquierdo, estudiándose para técnicas de microscopía electrónica e inmuno-electromicroscopía 6 pollos inoculados con LCR y 3 controles inoculados con agua destilada, procediéndose a su fijación inmediata.

Fetos. Estudios prenatales. Previo consentimiento informado y con la aprobación del Comité de Ética del Hospital Psiquiátrico de la Habana, se obtuvieron muestras de la punta del lóbulo temporal izquierdo de cinco fetos de 16 semanas de tiempo de gestación, abortados por indicaciones médicas, de madres esquizofrénicas con criterio diagnóstico [1] y 3 fetos de madres sin antecedentes de enfermedades psiquiátricas. Las muestras, una vez obtenidas, se fijaron en glutaraldehído-paraformaldehído 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.

TÉCNICA DE INVESTIGACIÓN EN PACIENTES, ANIMALES EXPERIMENTALES, FETOS DE MADRES ESQUIZOFRÉNICAS Y CONTROLES. El material una vez fijado se trasladó a una temperatura de 4° C a los laboratorios de microscopía electrónica. La técnica de microscopía electrónica fue la siguiente: fijación en glutaraldehído al 3,2% en *buffer* fosfato (Millonig) 0,15M pH 7,4, durante una hora a 4 °C y lavado con *buffer* posteriormente. Sección de las muestras y lavado durante la noche en *buffer* a 4 ° C. Posteriormente, fijación con tetróxido de osmio al 2% en *buffer* fosfato durante una hora a 4 ° C y lavado dos veces con solución *buffer* por cinco minutos cada

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

vez a la misma temperatura. La deshidratación se hizo en alcohol al 50 y 70%, durante cinco minutos en cada fase, a la misma temperatura, y en alcohol absoluto en tres ocasiones, 10 minutos en cada ocasión, a temperatura ambiente. La inclusión se realizó en Epon 812. *Inmunoelectromicroscopía*. En cinco de los 16 pacientes esquizofrénicos estudiados por técnicas convencionales de microscopía electrónica se realizaron, además, técnicas inmunoelectromicroscópicas, así como en dos de los 10 controles. Iguales técnicas se utilizaron en los animales experimentalmente inoculados y en los fetos. Se procedió a la fijación *post mortem* de las muestras correspondientes a la corteza auditiva primaria, hipocampo y núcleo amigdalino del hemisferio cerebral izquierdo en los pacientes y muestras de la punta del lóbulo temporal izquierdo en los animales experimentalmente inoculados y en los fetos. Después de dos lavados en *buffer* fosfato, se procedió, posteriormente, al bloqueo de la peroxidasa endógena con metanol más peróxido de hidrógeno, durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se lavó con PBS (solución de *buffer* fosfato) 15 minutos varios cambios. Se lavó con Tris 3 (hidroximetil-amino-metano) por 5 minutos, se usó suero normal de chivo 1/5. Se trató con diamino-bencidina (DAB), ocho minutos, a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadió el antisuero anti-herpes simplex hominis tipo I unido a peroxidasa [Dako Lab.] durante 24 horas, procediéndose después al lavado con Tris 3 por 15 minutos, alcohol al 30% durante 5 minutos, al 50% durante 5 minutos, al 70% durante 10 minutos y alcohol absoluto 3 por 20 minutos. Óxido de propileno 3 por 15', procediéndose a la inclusión en epoxi-resina Epon 1 durante 60 minutos, Epon II durante toda la noche, terminándose la inclusión definitiva. Se hicieron inclusiones para bloques con diluciones del antisuero al 1:20 y al 1:50, así como para bloques controles. En los pacientes, dos de las muestras estudiadas se utilizaron técnicas de oro coloidal de 10 nm unidas a anticuerpo anti-herpes simplex hominis tipo I.

Las técnicas de microscopía óptica realizadas previa fijación en formol fueron las siguientes: hematoxilina-eosina, luxol-fastblue, oil red, rojo congo y coloración combinadas para fibras y células del sistema nervioso con solución de luxol y cresyl violeta.

RESULTADOS

Pacientes

El aspecto más significativo en el estudio de los cortes con el microscopio óptico en las muestras procedentes de pacientes esquizofrénicos fueron las alteraciones encontradas en las neuronas. En éstas se pudieron observar todas las formas de degeneración neuronal; el rasgo más destacado fue la ausencia de la cromatina nuclear con un núcleo en ocasiones "vacío"; la retracción celular con hiper Cromía o el balonamiento con desaparición del núcleo en ocasiones. Las alteraciones citoplasmáticas consistieron fundamentalmente en el depósito de una sustancia que fijaba bien los colorantes para lípidos y la frecuente desaparición del citoplasma con

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

conservación relativa del núcleo. Otro rasgo sobresaliente fue el importante depósito de sustancias lipídicas alrededor de los vasos y en el espacio subependimario en forma difusa, así como la presencia de gránulos redondeados también de localización más frecuente subependimaria y perivascular que captaban bien el ácido per-iódico de Schiff. Contrastaron con las alteraciones encontradas en las neuronas, las pocas que fueron observadas en el resto de los elementos celulares del sistema nervioso, excepto cierto grado de satelitosis perineuronal. Otro aspecto que es necesario destacar al examen con el microscopio de luz, fueron las alteraciones en los vasos de mediano y pequeño calibres. Estas alteraciones consistieron en aumento de su número, con distorsión de la pared y agrandamiento de sus diámetros, tanto en sentido longitudinal como del grosor de los cortes transversales. No se observó desmielinización, reacción inflamatoria ni microglial. Todas las alteraciones señaladas fueron más significativas en el núcleo amigdalino, tanto de las muestras procedentes del tercio superior, como las que procedían del tercio inferior [Diap.20-22].

Sistema nervioso. Microscopía electrónica

1. Alteraciones de las membranas celulares con:
 - a) Ensanchamiento entre los componentes externo e interno de la envoltura nuclear.
 - b) Presencia de material fibrilar en la envoltura nuclear dilatada.
 - c) Presencia de cuerpos de inclusión.
 - d) Partículas con morfología viral

2. Alteraciones dentro del núcleo de las neuronas con:
 - a) Cuerpos nucleares e inclusiones filamentosas intranucleares [Diap.31].
 - b) Partículas semejantes a virus [Diap.24, 25].
 - c) Presencia de antígeno del virus herpes simplex hominis tipo I en las partículas [Diap.26-30].

3. Alteraciones en el citoplasma y en las prolongaciones celulares con:
 - a) Partículas semejantes a virus relacionadas con las membranas [Diap.26].
 - b) Presencia de antígeno del virus herpes simplex hominis tipo I en las partículas y en estructuras de membrana [Diap26-30].

Patología experimental. Inmuno-electromicroscopía

Los pollos inoculados presentaron las siguientes alteraciones:

- No. 1. Parálisis de alas y patas [Diap.32].
- No. 2. Paraparesia y anomalía congénita de los dedos de las dos patas.
- No. 3. Paraparesia y anomalía congénita de los dedos de una pata.
- No. 4. Falta de desarrollo trófico y motor.
- No. 5. Pollo de aspecto normal.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

No. 6. Pollo dentro del huevo con atrofia del hemisferio cerebral izquierdo (sin desarrollo y sin vitalidad).

Dos huevos no desarrollaron embrión. Otros dos huevos con muy poco desarrollo del embrión. De los 10 huevos inoculados entre no nacidos (falta de desarrollo del embrión) y nacidos con problemas: 9 para un 90%. De los pollos controles de 7 huevos, 2 con embriones muertos dentro de los huevos, un pollo que hubo que ayudarlo a salir del huevo. Todos sin anomalías congénitas. En dos huevos no se formó embrión. Los hemisferios cerebrales y cerebelo en todos los casos fueron normales. Los pollos nacidos (3 en total) con apariencia normal.

El examen al microscopio electrónico mostró las siguientes alteraciones en el cerebro de los pollos inoculados:

1. Presencia de inclusiones intranucleares en neuronas y células endoteliales similares morfológicamente a las estructuras laminares descritas en el cerebro de fetos y en adultos esquizofrénicos. Estas inclusiones reaccionaron en ocasiones en forma positiva con el antisuero antiherpes simplex hominis tipo I.
2. Replicación aumentada de las estructuras laminares que normalmente existen en el tejido nervioso. En algunas de estas estructuras se observó la misma reacción que en 1.
3. Presencia de puntos de reacción con el antisuero en la cromatina nuclear relacionado con estructuras de membranas que se encuentran dentro del rango de medida de partículas virales en el núcleo de neuronas [Diap.33 y 34].
4. Presencia del fenómeno de replicación de las estructuras laminares con formación de partículas de igual constitución de membranas, observada en cerebros de esquizofrénicos adultos y en el feto de madre esquizofrénica, que reaccionan en ocasiones con el antisuero antiherpes simple.
5. Presencia de estructuras laminares en la envoltura de los hematíes en los capilares cerebrales.
6. Presencia de antígeno de herpes simplex en estructuras de membranas, dentro del núcleo, en el citoplasma y en las prolongaciones celulares de neuronas y células del endotelio vascular fundamentalmente.

Fetos

Entre los fetos estudiados se estudiaron 2 gemelos monocigóticos, monocoriónicos y biamnióticos. En uno de los fetos gemelares estudiados [que presentaba criptorquidismo] se observó dentro del núcleo de las neuronas la presencia de partículas esféricas vacías de 100 nm ocupando el centro de un área electrón lúcida. Las inclusiones con partículas aparecieron en número de 2 a 8 por núcleo, con gran incidencia en su aparición [Diap.40 y 41]. En el estudio inmuno-electromicroscópico una reacción positiva se observó contra el virus herpes simplex hominis tipo I en el núcleo y en el citoplasma de las neuronas. Las partículas virales no se

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

observaron en el resto de las células del sistema nervioso, tampoco la reacción inmunológica. Alteraciones similares relacionadas con la presencia de partículas virales se observaron en el resto de los fetos estudiados [Diap.41]. No se observó ninguna alteración en los estudios controles [Diap.41E].

Mitocondria. Se observó un número incrementado de mitocondrias en el citoplasma de las neuronas correspondientes a la capa granular de la corteza temporal. El aspecto general de las mitocondrias afectadas mostraron pérdida de las membranas internas dando la apariencia de mitocondrias vacías. Estas anomalías estructurales observadas en las mitocondrias fueron observadas solo en el feto afectado [Diap.43].

DISCUSIÓN

SISTEMA NERVIOSO. PACIENTES. Son pocos los estudios del cerebro en pacientes esquizofrénicos en los que se ha utilizado la microscopía electrónica como técnica de investigación y menos aún los estudios en el sistema límbico y la corteza auditiva a pesar de tratarse la esquizofrenia desde el punto de vista clínico de una enfermedad cuya sintomatología se relaciona con una disfunción de este sistema dado los trastornos en la esfera afectiva, del pensamiento, de la conducta psico-social y de las sensopercepciones entre otros síntomas así como de la corteza auditiva primaria relacionada con las alucinaciones auditivas síntoma frecuente en la esquizofrenia. En una revisión de las publicaciones indexadas en Publicaciones Médicas de Norte-América (Medline) dando las palabras claves esquizofrenia, lóbulo temporal y microscopía electrónica encontraremos que solo existen en la literatura médica 6 trabajos relacionados con este tema de los que en uno solo se estudiaron tres de las cuatro regiones de interés (RDIs) observadas en el cerebro en la esquizofrenia: la amígdala, el hipocampo y la circunvolución transversa de Heschl (área 41 de Broadman) [3]. El resto de los estudios llevados a cabo por otros autores, en solo tres, de hecho relevantes para este tema, los estudios se concentraron en otras áreas (corteza polo temporal, área 38, corteza temporal superior no auditiva) y fueron dirigidos hacia estudios de la microglia, la sinapsis y los niveles de mRNA en las vesículas sinápticas, habiéndose realizado o en un solo paciente o en pacientes en edades avanzadas (4-6). En nuestros trabajos, los que comenzamos en 1977 (7,8) seleccionamos las muestras del hemisferio cerebral izquierdo, donde se reportaron posteriormente las áreas más afectadas utilizando métodos imaginológicos y morfométricos [9-14] y un 50% de los pacientes estudiados por nosotros tenían menos de 40 años de edad. Desde esa fecha hemos realizado sucesivas publicaciones en este sentido a medida que íbamos realizando nuevos hallazgos. Entre ellos es necesario destacar las alteraciones a nivel de las membranas celulares y su relación con las partículas semejantes a virus posteriormente identificadas por técnicas inmuno-electromicroscópicas como el virus herpes simplex hominis tipo I [15]. En los estudios realizados

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

por nosotros la mayor parte de las alteraciones encontradas se relacionaron con las muestras obtenidas del núcleo amigdalino tanto en microscopía óptica como electrónica aunque en el hipocampo y la corteza auditiva también fueron observadas. Del estudio de microscopía óptica hemos podido confirmar los aspectos neuropatológicos más significativos que han llamado la atención de otros investigadores desde los trabajos iniciales [16,17]. A nivel de la ultraestructura las alteraciones neuronales fueron muy evidentes y debe destacarse la presencia de los cuerpos nucleares, las alteraciones de las membranas y las partículas con morfología viral como los elementos más destacados. Todas estas alteraciones y la presencia de partículas con morfología viral fueron más evidentes en la amígdala en los núcleos de las neuronas y en los axones reaccionando las partículas en forma intensamente positiva cuando se usó anticuerpo contra el virus herpes simplex hominis tipo I [18]. La selección de la amígdala en nuestro estudio se basó en observaciones clínicas que han relacionado lesiones en la amígdala que pueden explicar la sintomatología de la esquizofrenia [19,20]. Es frecuente la asociación clínica de lesiones de distinta naturaleza localizadas en el lóbulo temporal con trastornos neuropsiquiátricos que incluyen trastornos psicóticos [21,22]. La cirugía estereotáxica [23] que comenzó a desarrollarse en la década del 60 en la que lesiones en la amígdala podían modificar una conducta agresiva en pasiva en los humanos influyó en forma significativa en la selección posterior de las estructuras a examinar. Otro tanto ocurrió al seleccionar el hipocampo y la corteza auditiva primaria dadas las consideraciones teóricas que señalaban estas estructuras con funciones potencialmente comprometidas en pacientes esquizofrénicos como la memoria, el déficit cognitivo y las alucinaciones auditivas, síntomas frecuentes en la enfermedad [24]. También contribuyó en esta selección los trabajos experimentales en animales con lesiones localizadas en esta área del cerebro [25-27]. Desde los trabajos experimentales de Kluver y Bucy [28] en la década del 30 ya se habían reportado trastornos de la conducta psico-social, sexual y alimentaria en monos a los que se les había amputado la punta de los lóbulos temporales.

En relación a otros estudios con técnicas de imagen los hallazgos realizados por nosotros coinciden con los estudios imaginológicos y morfométricos posteriores que han señalado a las estructuras estudiadas como las más afectadas en la enfermedad. Los estudios imaginológicos estructurales del cerebro en pacientes esquizofrénicos tuvieron entre sus objetivos principales desde los primeros trabajos de Johnstone en 1976 encontrar aquellas áreas del cerebro más afectadas en la enfermedad tanto desde el punto de vista funcional como morfológico las llamadas regiones de interés (RDI). Estos estudios en opinión de algunos autores debían guiar a través de imágenes las subsecuentes investigaciones post-mortem con el objeto de aclarar los cambios que subyacen a nivel de la ultraestructura en relación con las alteraciones estructurales observadas con menor poder de resolución [29]. En los primeros estudios se comprobó la dilatación del sistema ventricular en pacientes esquizofrénicos que ya había sido reportada a principios del siglo pasado. Posteriormente la mayor parte de los estudios han señalado aparte

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

de la conocida dilatación del sistema ventricular una reducción significativa del volumen en la cara medial del lóbulo temporal izquierdo, en estructuras del sistema límbico específicamente en el núcleo amigdalino, el hipocampo y la corteza para-hipocámpica y en la circunvolución temporal superior que incluye la corteza auditiva primaria [9-14]. En un meta-análisis de trabajos realizados mediante RMN en el período de tiempo comprendido entre 1988 a agosto del 2000 se comprobó dilatación del sistema ventricular en el 80% de los estudios revisados, dilatación del 3er ventrículo en el 73% de los estudios. Afectación preferencial de estructuras de la cara medial del lóbulo temporal en 74% de los estudios revisados, específicamente de la amígdala, el hipocampo y la circunvolución para-hipocámpica así como en regiones neocorticales del lóbulo temporal, la circunvolución temporal superior (100% de los estudios revisados) [12]. Desde esa fecha se han publicado 33 trabajos relevantes de estudios imaginológicos en pacientes esquizofrénicos que comprenden resonancia magnética nuclear, resonancia magnética funcional y tomografía por emisión de positrones, todos realizados en pacientes esquizofrénicos crónicos o de primer ingreso, con o sin tratamiento previo o en familiares con alto o poco riesgo de padecer la enfermedad. En todos los estudios se destaca la afectación del complejo amígdala-hipocampo, especialmente del lado izquierdo (100% de los estudios revisados) o de la circunvolución temporal superior. Esta observación se ha reportado en casos clínicos con primer brote lo que descarta la influencia del efecto prolongado de la enfermedad o la acción de los psicofármacos sobre el cerebro [13,14]. La inducción de tristeza produce disfunción en la amígdala tanto en pacientes como en hermanos no afectados lo cual ha sido demostrado por resonancia magnética funcional [30-32]. Los estudios neuropatológicos morfométricos han señalado la reducción del volumen de la amígdala y del hipocampo del lado izquierdo lo que ha sido confirmado por la resonancia magnética nuclear de alta resolución destacándose una pérdida progresiva de sustancia gris en estas estructuras nerviosas [33,34]. Los estudios de tomografía por emisión de positrones revelan una captación de serotonina anormal en la amígdala de pacientes lo cual se relaciona con una disminución de su captación en pacientes con predominio de síntomas negativos [35] o una no activación de circuitos filogenéticamente antiguos que intervienen en la respuesta miedo-peligro por ejemplo la amígdala [36,37].

La etiología viral de la esquizofrenia continúa considerándose entre las hipótesis que tratan de explicar el origen de la enfermedad. Una teoría que se maneja hoy con frecuencia es la que relaciona la enfermedad con un trastorno del neurodesarrollo en las primeras etapas de la vida intrauterina. La acción de un virus actuando en esta primera etapa del desarrollo también se ha incluido dentro de los posibles factores ambientales, interactuando con factores de tipo genético. El virus herpes simplex hominis tipo I por sus características de permanecer latente en el sistema nervioso central, de evolucionar en forma de crisis y remisiones en sus manifestaciones clínicas, de afectar el lóbulo temporal, asiento del sistema límbico y sustrato anatómico de la esquizofrenia y de replicarse entre otros factores por la acción de situaciones estresantes como

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

ocurre también en esta enfermedad se le ha considerado como un posible candidato entre los agentes etiológicos virales. Hay numerosos resultados en la investigación por diferentes métodos que apoyan la etiología por este virus (38-62).

Trabajos recientes aportan nuevos elementos que relacionan este virus con la esquizofrenia [63] y con los trastornos bipolares [64]. Una mayor cantidad de estudios a nivel de la célula nerviosa utilizando técnicas ultramicroscópicas aportarían una mayor cantidad de información sobre su estructura y sobre los posibles agentes que actúan sobre ésta lo que pudiera contribuir al mejor conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad. En opinión de algunos autores como Daniel Weinberger -otro de los pioneros de la investigación en esquizofrenia con el uso de nuevas tecnologías- "las nuevas tecnologías de imagen amplían nuestro conocimiento de cómo es el aspecto del cerebro anatómicamente y como funciona fisiológicamente. Para entender como los genes afectan el cerebro en la forma que lo ponen a riesgo, necesitamos examinar realmente la célula en una forma mucho más finamente detallada. Nosotros podemos hacer esto hasta cierto punto con tejido cerebral vivo y podemos hacerlo con tejido cerebral post-mortem en un grado mucho mayor" [65]. Una asociación de técnicas de alto poder de resolución unido a técnicas que exploren la función del sistema nervioso a nivel celular parece ser las metas en la investigación de la esquizofrenia en un futuro inmediato.

PATOLOGÍA EXPERIMENTAL. Los cuadros de psicosis indiferenciables clínicamente de la esquizofrenia que siguieron a la pandemia por el virus de la influenza y de la encefalitis de Von Economo a principios del siglo pasado hicieron pensar en la posibilidad de una relación entre esta enfermedad y la etiología viral. Un ejemplo de ello se expresa en el pensamiento del famoso psiquiatra Karl Menninger en 1922 cuando expresó: "Estoy persuadido que la demencia precoz (esquizofrenia) es al menos en la mayor parte de los casos una somatopsicosis, la manifestación psíquica de una encefalitis" [66]. Desde entonces la inoculación como método de investigación en la esquizofrenia tiene sus primeros antecedentes en los trabajos de inoculación de cerebros de conejos con líquido cefalorraquídeo (LCR) y secreciones faríngeas de pacientes con cuadros indiferenciables de la esquizofrenia que siguieron a esa pandemia de encefalitis por el virus de la influenza a principios del siglo [67,68]. En la década del 50 dos grupos de investigadores, unos de origen soviético y otros italianos, realizaron pruebas de aislamiento de virus en embriones de pollo, reportando resultados contradictorios al utilizar LCR de pacientes esquizofrénicos como inóculo [69,70]. La falta de un desarrollo adecuado de la virología y la inmunología en estas primeras observaciones determinó aparentemente un estancamiento en el avance de las investigaciones virológicas de la enfermedad [71]. La transmisión exitosa en dos formas de demencia a primates en la década del 60 [72,73] influyó posiblemente en nuevos intentos de aislamiento de virus en la esquizofrenia en los trabajos de investigadores ingleses en la década del 70, ahora con técnicas más desarrolladas. En 1979 se reporta por Tyrrell y colaboradores que el LCR de un 35% de pacientes esquizofrénicos tenía efectos citopáticos

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

cuando era inoculado en fibroblastos de embrión humano [74]. Sin embargo este hallazgo no era específico para la esquizofrenia, ya que el LCR de pacientes con trastornos afectivos producía igual efecto en igual proporción. Se desconoce aún si este efecto se debía a una toxina o a un virus. La imposibilidad por una parte de transmitir este efecto citopático de cultivo a cultivo y su persistencia a pesar del uso de inhibidores de la síntesis proteica y de DNA o RNA sugería más la posibilidad tóxica que virológica, a menos que se tratara de una forma viral no convencional. En animales inoculados con este LCR en su descendencia se encontraron algunos con anomalías congénitas que incluían anomalías del sistema nervioso central. Se consideró la posibilidad de una forma viral no replicable.

En 1983 Baker reporta los resultados de la inoculación intracerebral a monos de la América del Sur con el LCR que había producido efectos citopáticos en cultivos de tejidos [75]. Este autor señala alteraciones de conducta en una parte de los animales inoculados que se caracterizaba por disminución de la actividad normal y cambios en la conducta social que semejaban los síntomas del defecto esquizofrénico, por el contrario, la inyección de LCR que no producía efectos citopáticos, no provocaba tales alteraciones de conducta. En el estudio de la descendencia de los animales inoculados se reportaron anomalías congénitas: defecto del cierre del cráneo con encefalocele y cambios de coloración de la cola en algunos de ellos. Libiková en 1983 reporta efectos similares a los descritos por Baker en cultivos SIRC y HEL con determinación de antígeno HSV-1 por técnicas de inmuno-fluorescencia [53]. Sin embargo, otros intentos de reproducir los síntomas descritos por Baker mediante la inoculación intracraneal directa o mediante la utilización de tejido cerebral de pacientes fallecidos fueron infructuosos.

Investigadores soviéticos en estudios ultraestructurales de cerebros de embriones procedentes de madres esquizofrénicas observaron un aumento de estructuras de membrana a las que denominaron "lamelomas" [76]. Este hallazgo fue confirmado por nosotros en esquizofrénicos adultos y en fetos de madres esquizofrénicas donde observamos además la presencia de partículas semejantes a virus las que junto a los lamelomas se podían identificar con anticuerpos para el virus herpes simplex hominis tipo I [77]. Los fundamentos de nuestra investigación en animales experimentalmente inoculados con líquido céfalo-raquídeo realizados posteriormente consistieron en buscar elementos a favor de una posible transmisión de tipo vertical de la enfermedad inoculando embriones de pollo con LCR de una paciente esquizofrénica hebefrénica cuyo feto se había estudiado por inmuno-electromicroscopía con resultados positivos para el HSV-1 [78]. La utilización de embriones de pollo aparte de constituir un método relativamente fácil de investigación, nos permitía observar células embrionarias del sistema nervioso, susceptibles de infección viral, así como observar el posible desarrollo de anomalías congénitas en los embriones inoculados. Sin embargo tuvimos en cuenta en nuestros trabajos que el comportamiento biológico de los virus lentos no es siempre igual ya que mientras se ha logrado la transmisión exitosa en animales de laboratorio de las formas virales menos

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

convencionales, no ha sucedido lo mismo con formas más convencionales, como es el caso del virus de la leucoencefalopatía multifocal progresiva y el de la panencefalitis esclerosante subaguda.

La presencia en algunos de los animales estudiados por nosotros de anomalías (parálisis de alas y patas, deformación de los dedos de las patas, atrofia de un hemisferio cerebral) puede relacionarse con el hallazgo de los efectos citopáticos ya citados en la década del 50 y los resultados referidos por otros investigadores en otros animales y en cultivos de tejidos también citados; sin embargo este hallazgo unido a las alteraciones de las membranas celulares más la presencia de antígeno de herpes simplex en nuestros trabajos en embriones de pollo, debe hacernos considerar las siguientes posibilidades:

- a) La transmisión a los embriones se debe a la gran difusión en la naturaleza del herpes virus sin que se relacione con la esquizofrenia.
- b) Una posible reacción no específica del antisuero en el tejido nervioso.
- c) El LCR pudo actuar como un inductor no específico (toxina) en el desarrollo de las estructuras de membrana y de las inclusiones intranucleares, así como de las anomalías descritas.
- d) El LCR era portador de partículas virales que reprodujeron los efectos encontrados en el feto y en el cerebro de esquizofrénicos adultos y la reacción con el antisuero fue específica para el herpes simplex hominis tipo 1.
- e) Estos resultados pueden estar relacionados con los descritos en este trabajo por otros investigadores en el desarrollo de anomalías congénitas en otras especies de animales inoculados con LCR de pacientes esquizofrénicos y de efectos citopáticos en cultivos de tejidos.
- f) La multiplicación del virus (HSV-1) puede estar relacionada con los trastornos inmunológicos que se observan en la enfermedad y no necesariamente se relacionan con su etiología.

Se ha reportado por otros autores la posible relación del HSV-1 y la esquizofrenia en diferentes experiencias como son el aumento del título de anticuerpos contra este virus, la presencia de antígeno o del genoma viral utilizando diferentes técnicas de investigación [38-62]. La etiología viral de la esquizofrenia continúa considerándose entre las hipótesis que tratan de explicar el origen de la enfermedad. Una teoría que se maneja hoy con frecuencia es la que relaciona la enfermedad con un trastorno del neurodesarrollo en las primeras etapas de la vida intrauterina. La acción de un virus actuando en esta primera etapa del desarrollo también se ha incluido dentro de los posibles factores ambientales, interactuando con factores de tipo genético. De todos los elementos señalados, se deriva la necesidad de continuar y ampliar el marco de esta investigación en mayor número de experiencias y con técnicas inmunológicas más específicas. Estos resultados pueden contribuir a la demostración de la posible transmisión de tipo vertical

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

planteada en la enfermedad, así como al estudio de los mecanismos que influyen en la posible transmisión horizontal y en el desarrollo de una prueba biológica diagnóstica. La inoculación asociada a medicamentos antivirales (acyclovir, interferón) puede contribuir al estudio de la susceptibilidad del herpes virus a estos agentes de estar este virus relacionado con la etiología de la esquizofrenia. En nuestros estudios hemos observado que las alteraciones de las membranas celulares observadas en los embriones inoculados semejan las alteraciones observadas en las membranas en el sistema nervioso central –más frecuentemente encontradas en la amígdala y la corteza auditiva- y en la sangre periférica, en las plaquetas. Debe no obstante, destacarse la posibilidad de artefactos. Si este hallazgo se relacionara con las alteraciones post-mortem, los mismos cambios debieron haber sido encontrado en las muestras obtenidas del hipocampo si es que se relacionan con cambios estructurales post-mortem. Además la presencia de un material fibrilar fino ocupando los espacios ensanchados de la envoltura nuclear, fue un hallazgo constante, lo que indica que se trata de una alteración real y no de un artefacto, ya que en este último caso sería variable. En ocasiones cuerpos de inclusión con una definida estructura han sido vistos junto con el material fibrilar. Estos cuerpos de inclusión no han sido reportados antes y su hallazgo y el del material fibrilar descarta la posibilidad de que se trate de un artefacto y orienta hacia su posible relación de alteraciones específicas en estructuras específicas en esta enfermedad. El hecho de que estas alteraciones fueron observadas en estructuras del sistema límbico y de la corteza auditiva en esquizofrénicos y en los embriones inoculados, no así en los controles de cada una de estas experiencias, nos hace considerar aún más de que no se trata de alteraciones post-mortem.

¿Cuál pudiera ser el significado de estas alteraciones en la esquizofrenia y en los animales inoculados? Los cuerpos de inclusión se han relacionado en general con enfermedades virales [79,80]. Nosotros hemos observado dentro de la envoltura nuclear dilatada en las neuronas de cerebros de esquizofrénicos cuerpos de inclusión que debido a sus grandes dimensiones no pueden ser considerados como partículas virales maduras tampoco el material fibrilar, a menos que los primeros fueran conglomerados virales y los segundos formas virales incompletas. Sin embargo hemos observado en la envoltura nuclear partículas que por su tamaño y configuración general se consideran como partículas con morfología viral. El hecho de que éstas tienen un diámetro de 60 a 100 nanómetros (nm) plantea una nueva interrogante en su posible relación con los hallazgos realizados en los embriones inoculados con LCR [81]. Las partículas virales aisladas en esta experiencia tienen el mismo rango de medida que las encontradas en la envoltura nuclear dilatada en los pacientes. Por otra parte se ha confirmado mediante identificación inmuno-electromicroscópica en partículas y estructuras de membrana su relación con el herpes virus hominis tipo I (HSV1) en cerebros de pacientes esquizofrénicos, en fetos de madres esquizofrénicas y en esta experiencia de cerebros de embriones de pollo inoculados experimentalmente. Es bien conocida la relación entre el virus herpes y las estructuras de

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

membrana de las células especialmente con la envoltura nuclear y la presencia de inclusiones intranucleares de membrana, redondeados, electrodensas de 100 a 500 nm de diámetro en cultivos de fibroblastos humanos infestados con herpes simple [82]. La variabilidad en la expresión de la forma latente de este virus puede explicar la variable forma de expresión en estas tres experiencias-sistema nervioso, plaquetas y embriones de pollo- considerando que la reactivación de su forma latente se comporta de forma diferente dependiendo del medio en que se reactive [83]. El hallazgo de partículas víricas en la esquizofrenia, no obstante, puede tener una significación importante, si se tiene en cuenta que una de las hipótesis todavía de mayor fuerza, con relación a la etiología de esta enfermedad, es la hipótesis vírica. Esta hipótesis como hemos referido se fundamenta en evidencias directas e indirectas, que se basan en estudios epidemiológicos de nacimientos desproporcionados, en los meses de invierno y primavera, de personas que posteriormente padecen la enfermedad; este hecho se ha relacionado con las características que tienen los virus de aumentar su replicación en determinados meses del año y, por lo tanto, la influencia que puedan ejercer en las fases críticas del desarrollo intrauterino en fetos cuyas madres se hallan expuestas a estos virus [84-86]. Otro aspecto se relaciona con las alteraciones inmunológicas observadas en pacientes esquizofrénicos [87-92], al aumento de títulos de anticuerpos contra determinado tipo de virus, aislamiento u observación directa de los mismos en estudios ultraestructurales y transmisión experimental en animales o en cultivo de tejidos [93-94]. Hay que tener en cuenta, además, el resultado de los estudios imaginológicos y morfométricos [95-97], que demuestran, primero, que se trata de una enfermedad orgánica del cerebro, con alteraciones estructurales y funcionales en áreas atrofiadas, y, en segundo lugar, que estas alteraciones pueden ser el resultado de la agresión de un agente externo, entre los que debe considerarse un virus que, actuando en las primeras fases del desarrollo, permanece latente en el SNC, para después reactivarse producto de los cambios hormonales que ocurren en la pubertad.

FETOS DE MADRES ESQUIZOFRÉNICAS. El análisis ultraestructural de las alteraciones morfológicas tisulares a través de las técnicas de microscopía electrónica constituyen un instrumento de indudable valor en la profundización del estudio patogénico de las enfermedades. Especialmente en el campo de la patología neuropsiquiátrica ha contribuido de modo importante a desentrañar los mecanismos complejos en la génesis de los diferentes procesos patológicos, inflamatorios, inmunológicos, neoplásicos y en la definición de entidades particulares. La hipótesis del neurodesarrollo en la etiología y fisiopatología de la esquizofrenia se considera una de las más consistentes en estos momentos. Se basa en una serie de evidencias que guían hacia una afectación del feto en el período crítico del desarrollo del ser humano debido a complicaciones del embarazo y del parto, particularmente relacionadas con un impacto presunto o conocido sobre el desarrollo neurológico del feto que resulta en un incremento de riesgo de psicosis esquizofrénica. Entre los posibles candidatos etiológicos de impacto están las infecciones

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

virales. Un virus actuando en este importante y crítico estadio de desarrollo, interactuando o no con factores genéticos puede ser responsable de la cascada de eventos biológicos que aparecen posteriormente y pudiera explicar el período de relativa quietud que existe entre el nacimiento y la aparición de los síntomas en la pubertad lo que pudiera estar relacionado con la reactivación de una infección viral latente.

Los hallazgos obtenidos en el presente trabajo son compatibles con una infección viral activa del sistema nervioso central por el virus herpes simplex hominis tipo I [HSV1] durante el segundo trimestre de embarazo en los fetos estudiados. Hasta nuestro reciente reporte las evidencias que sustentaran el concepto de interacción virus-célula en la hipótesis del neurodesarrollo en la esquizofrenia, habían sido indirectas. Las partículas virales nunca habían sido demostradas. Este trabajo es la primera evidencia directa que demuestra la presencia de partículas virales en el sistema nervioso central en fetos de madres esquizofrénicas en el período crítico del segundo trimestre de desarrollo fetal. La importancia de este hallazgo y las alteraciones mitocondriales pueden dar lugar a aplicaciones prácticas en la prevención de la enfermedad teniendo en mente su relación directa con la etiología y fisiopatología de la esquizofrenia. Se sugiere la posibilidad de estudiar las células del líquido amniótico por medio de técnicas virológicas o de microscopía electrónica en mujeres a riesgo de tener una descendencia de esquizofrenia con el objetivo, previo consentimiento informado, de aplicar medidas preventivas, interrupción del embarazo o tratamiento antiviral temprano, si se demuestra una infección viral en las células del líquido amniótico en estos estadios tempranos del neurodesarrollo.

Las evidencias acumuladas en la última década sugieren el rol de la disfunción mitocondrial en la patogénesis de la esquizofrenia, del trastorno bipolar y de otras enfermedades psiquiátricas [98]; sin embargo no hay estudios de las mitocondrias mediante técnicas de microscopía electrónica. La mayor parte de los estudios han utilizado métodos indirectos en la búsqueda de disfunción mitocondrial en la esquizofrenia y los trastornos bipolares. Entre estos métodos se destaca la cuantificación total del DNA mitocondrial y la depleción normal con resultados contradictorios [99,100]. La mayor parte de estos estudios se limitaron a la corteza frontal [101]. En relación a métodos de análisis directo hay pocas publicaciones. Los únicos estudios de microscopía electrónica que ofrecieron detalles en la ultraestructura del sistema nervioso en la esquizofrenia comenzaron en la década del 70. Especialmente en el estudio de embriones de madres esquizofrénicas casi todos los estudios fueron realizados por investigadores rusos [102,103]. En estos estudios ellos destacaron las alteraciones encontradas en cerebros de embriones en diferentes estadios de evolución, desde 7 hasta 12 semanas. Las características de los cambios celulares en los cerebros de embriones consistieron en un mayor desarrollo del sistema de membranas. Las alteraciones mitocondriales fueron muy evidentes con aumento en su número, en su tamaño y con destrucción de las crestas. Ellos señalaron también la presencia de estructuras laminares que denominaron "lamelomas" [104,105]. Las alteraciones

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

mitocondriales han sido interpretadas como parte de un proceso general de alteraciones de membrana en la esquizofrenia [106]. Los lamelomas y la proliferación de membranas han sido observados en nuestros estudios en adultos esquizofrénicos, en embriones inoculados con LCR de pacientes esquizofrénicos y en el sistema nervioso de fetos de madres esquizofrénicas [3].

El rol fisio-patológico de las alteraciones mitocondriales en la esquizofrenia pudiera estar relacionado no solo con el proceso oxidativo sino también con el sistema de conducción celular debido al compromiso de las membranas. Los virus pueden interactuar con las mitocondrias. Hay diversos reportes en este sentido [107-110]. La mayor parte se relacionan con el virus herpes. Particularmente el virus herpes simplex elimina el DNA mitochondrial[111]. Nosotros hemos observado partículas y antígeno de herpes simplex en las tres experiencias ya citadas: adultos esquizofrénicos, animales inoculados y fetos de madres esquizofrénicas.

CONCLUSIONES

CUANDO SE OBSERVA UN AGENTE INFECCIOSO EN UNA ENFERMEDAD DE CAUSA DESCONOCIDA SE PLANTEA SIEMPRE LO MISMO: SI EL AGENTE DESCUBIERTO SE RELACIONA O NO CON LA ETIOLOGÍA DE ESA ENFERMEDAD. EN NUESTROS TRABAJOS:

1. Puede ser una infección viral en la paciente que afectó al feto no relacionada con la etiología de la enfermedad.
2. Puede ser una infección viral en el feto relacionada con la etiología de la enfermedad. En este sentido concurren varias circunstancias favorables:
 - A. Segundo trimestre de embarazo
 - B. Antecedentes familiares de esquizofrenia y de trastornos severos del neurodesarrollo
 - C. Presencia de una forma viral incompleta
 - D. Afectación de las neuronas y del núcleo principalmente
 - E. Discordancia de infección en los gemelos monocigóticos
 - F. Madre y abuela esquizofrénicas, dos tías esquizofrénicas
 - G. No signos ni síntomas clínicos de infección en la madre ni en el feto
 - H. No reacción inflamatoria en el tejido cerebral
 - I. Hallazgos previos semejantes en adultos esquizofrénicos y en animales de experimentación
 - J. Muestra de la punta del lóbulo temporal izquierdo
 - K. Relación con el virus herpes simplex hominis tipo 1
 - L. Hallazgos similares en otros fetos de madres esquizofrénicas no en controles
 - M. Hallazgos similares en la placenta en un estudio

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

BIBLIOGRAFÍA

1. DSMIV. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. 4 ed. Barcelona: Masson; 1995.
2. Feighner JP, Robins E, Guze SB, Woodruff RA, Winokur G, Minoz R. Diagnostic criteria for use in psychiatric research. *Arch Gen Psychiatry* 1972; 26: 57-63.
3. Mesa CS. Estudio ultraestructural del lóbulo temporal y de la sangre periférica en pacientes esquizofrénicos. *Rev Neurol* 2001; 33: 619-23.
4. Wierzba-Bobrowicz T, Lewandowska E, Kosno-Kruszewska E, Lechowicz W, Pasennik E, Schmidt-Sidor B. Degeneration of microglial cells in frontal and temporal lobes of chronic schizophrenics. *Folia Neuropathol* 2004; 42: 157-65.
5. Sokolov BP, Tcherepanov AA, Haroutunian V, Davis KL. Levels of mRNAs encoding synaptic vesicle and synaptic plasma membrane proteins in the temporal cortex of elderly schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 2000; 48: 184-96.
6. Ong WY, Garey LJ. Ultrastructural features of biopsied temporopolar cortex (area 38) in a case of schizophrenia. *Schizophr Res* 1993; 10: 15-27.
7. Mesa CS, Martínez RP, Ancheta NO, Cabrera JA. Esquizofrenia. Estudio ultraestructural del sistema límbico. Hallazgos en el núcleo amigdalino. *Rev Hosp Psiq Habana* 1978; 19: 197-225.
8. Mesa CS. Estudio ultraestructural del lóbulo temporal y de la sangre periférica en pacientes esquizofrénicos. *Rev Neurol* 2001; 33: 619-23.
9. Harrison PJ: The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain* 1999; 122 :593-624.
10. Nelson MD, Saykin AJ, Flashman LA, Riordan HJ. Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging. A meta-analytic study. *Arch Gen Psychiatry* 1998; 55:433-440.
11. Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PWR, David AS, Murray RM, Bullmore ET (2000): Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 157:16-25.
12. Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res* 2001; 49: 1 -52.
13. Joyal CC, Laakso MP, Tiihonen J, Syvalahti E, Vilkmann H, Laakso A, et al. Schizophrenia: A Volumetric Magnetic Resonance Imaging Study in First Episode Neuroleptic-Naive Patients. *Biological Psychiatry* 2003; 54: 1302-4.
14. Bogerts B. The neuropathology of schizophrenic diseases: historical aspects and present knowledge. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1999; 249 Suppl 4:2-13.
15. Mesa CS. Schizophrenia. Electron microscopy studies. Published in Educational Material. World Psychiatric Association. Available at <http://www.wpanet.org/sectorial/edu14-3.html>, June, 2004.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

16. Civilko, US. Alteraciones histopatológicas del cerebro en la esquizofrenia. Rev Hosp Psiquiatria Habana 1964; 2: 160-83.
17. Taihei M. A histopathological study on the brains of schizophrenia. Findings in the limbic system. Psychiat Neurol 1964; 66: 937-42
18. Mesa CS. Nuevos elementos en favor de la causa orgánica y del origen viral lento en la esquizofrenia. Observaciones al microscopio electrónico. Rev Hosp Psiquiatria Habana 1985; 26: 47-53.
19. Mulder DW, Daly D. Psychiatric symptoms associated with lesions of the temporal lobe. JAMA 1952; 150: 173-76.
20. Malamud M. Psychiatric disorder with intracranial tumors of the limbic system. Arch Neurol 1967; 17: 113-23.
21. Poeck K. Pathophysiology of emotional disorders associated with brain damage. Disorders of higher nervous activity. Handbook of Clinical Neurology. Amsterdam: North Holland Publishing Co; 1969. p. 343.
22. Torrey EF, Paterson M. Schizophrenia and the limbic system. Lancet 1974; 2: 942-6.
23. Narabayashi H, Nagao T, Saito Y, Yoshida M, Nagabata M. Stereotaxic amygdalotomy for behavior disorders. Arch Neurol 1963; 9: 1-16.
24. Gruzelier J, Hammond N. Schizophrenia: a dominant hemisphere temporal limbic disorder? Res Commun Psychol Psychiat Behav. 1976 ; 167 : 601-11.
25. Schreiner L, Kling A. Behavioral changes following rhinencephalic injury in cats. J Neurophysiol 1953; 16: 643-59.
26. Wood CD. Behavioral changes following discrete lesions of temporal lobe structures. Neurology 1958; 8: 215-20.
27. Bagshaw MH, Kimble DP, Prilram KH. The GSR of monkeys during orienting and habituation and after ablation of the amygdala, hippocampus and inferotemporal cortex. Neurophysiologia 1965; 3: 111-19.
28. Kluver H, Bucy PC. Preliminary analysis of the temporal lobe in monkeys. Arch Neurol Psychiat 1939; 42: 979-1000.
29. Buchanan R, Buckley PF, Tamminga CA, Schulz SCH. Schizophrenia Research: A Biennium of Progress. Proceedings from the Sixth International Congress on Schizophrenia Research, Colorado Springs, CO, April 12-16, 1997. Schizophrenia Bulletin 1998; 24: 501-18.
30. Habel U, Klein M, Shah NJ, Toni I, Zilles K, Falkai P, et al. Genetic load on amygdala hypofunction during sadness in nonaffected brothers of schizophrenia patients. Am J Psychiatry 2004; 161: 1806-13.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

31. Kucharska-Pietura K, Russell T, Masiak M. Perception of negative affect in schizophrenia functional and structural amygdala changes. Review. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska [Med]* 2003; 58: 453-8.
32. Takahashi H, Koeda M, Oda K, Matsuda T, Matsushima E, Matsuura M, et al. An fMRI study of differential neural response to affective pictures in schizophrenia. *Neuroimage* 2004; 22:1247-54.
33. Yamasue H, Iwanami A, Hirayasu Y, Yamada H, Abe O, Kuroki N, et al. Localized volume reduction in prefrontal, temporolimbic, and paralimbic regions in schizophrenia: an MRI parcellation study. *Psychiatry Res* 2004; 131: 195-207.
34. Moorhead TW, Job DE, Whalley HC, Sanderson TL, Johnstone EC, Lawrie SM. Voxel-based morphometry of comorbid schizophrenia and learning disability: analyses in normalized and native spaces using parametric and nonparametric statistical methods. *Neuroimage* 2004; 22: 188-202.
35. Yasuno F, Suhara T, Ichimiya T, Takano A, Ando T, Okubo Y. Decreased 5-HT_{1A} receptor binding in amygdala of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 439-44.
36. Paradiso S, Andreasen NC, Creso-Facorro B, O'Leary DS, Watkins GL, Boles et al. Emotions in unmedicated patients with schizophrenia during evaluation with positron emission tomography. *Am J Psychiatry*. 2003; 160: 1775-83.
37. Berretta S, Lange N, Bhattacharyya S, Sebroy R, Garces J, Benes FM. Long-term effects of amygdala GABA receptor blockade on specific subpopulations of hippocampal interneurons. *Hippocampus* 2004;14(7): 876.
38. Mesa CS. Esquizofrenia y virus herpes simplex hominis tipo I. *Rev Hosp Psiquiatria Habana* 1998; 49:226-232.
39. Bartola L, Rajcani J, Pogady, J. Herpes simplex virus antibodies in the cerebrospinal fluid of schizophrenic patients. *Acta Virol* 1987; 31: 443-6.
40. Rhodes RH, Novak R, Beattie JF, West HM, Whetsell WO. Immuno-peroxidase demonstration of herpes simplex virus type I in a brain of a psychotic patient without history of encephalitis. *Clin Neuropathol* 1984; 3: 59-67.
41. Stevens JR, Hallick LM, Viruses and Schizophrenia. In Specter Bendinelli M, Friedman H, eds. *Neuropathogenic viruses and immunity*. New York: Plenum; 1992. p. 303-16.
42. Rajcani J, Muranyiova M, Kudelova M, Pogady J, Mucha V, Babal P. Herpes simplex virus type I DNA in human brain tissue. In Kurstak E, ed. *Psychiatry and Biological factors*. New York: Plenum; 1991. p. 53-66.
43. Taller AM, Asher DM, Pomeroy CL, Eldadah BL, Godec MS. Search for viral sequences in patients with schizophrenia using nested polymerase chain reactions. *Arch Gen Psychiatry* 1996; 1: 32-40.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

44. Kudelova M, Rajcani J, Pogady J, Sramka M. Herpes simplex virus DNA in the brain of psychotic patients. *Acta Virol* 1988; 32: 455-60.
45. Pelonero AL, Pandurangi AK, Calabrese VP. Serum IgG antibody to herpes viruses in schizophrenia. *Psychiatry Res* 1990; 33: 11-7.
46. Pandurangi AK, Pelonero AL, Nadel L, Calabrese VP. Brain structure changes in schizophrenics with high serum titers of antibodies to herpes virus. *Schizophr Res* 1994; 11: 245-50.
47. Rimón R, Halonen P. Herpes simplex virus and depressive illness. *Dis Nerv Syst* 1969; 30: 338-40.
48. Rimón R, Halonen P, Evola K. Complement fixing antibody to herpes simplex virus in patients with psychotic depression. *Dis Nerv Syst* 1971; 32: 822-24.
49. Pokorny AD, Rawls WE, Adam E, Mefferd Rb. Depression, psychopathy and herpes virus type I antibodies. *Arch Gen Psychiatry* 1973; 29: 820-22.
50. Lycke ER, Norrby R, Roos BE. A serological study on mentally ill patients. *Br J Psychiatry* 1974; 124: 273-79.
51. Halonen PE, Rimón R, Arohonka K, Jantti V. Antibody levels to herpes simplex type I, measles and rubella viruses in psychiatric patients. *Br J Psychiatry* 1974; 125: 461-65.
52. Cappel R, Gregoire F, Thiry L, Sprecher S. Antibody and cell-mediated immunity to herpes simplex virus in psychotic depression. *J Clin Psychiatry* 1978; 39: 266-68.
53. Libíkova H. Schizophrenia and viruses: principles of etiological studies. In P.V. Morozov, edit. *Research on the viral hypothesis of mental disorders*. Karger, Basel 1983; P. 20-51.
54. King DJ, Cooper SJ, Earle JAP, Martin SJ, McFerran NV, Wisdom GB. Serum and CSF antibody titers to seven common viruses in schizophrenic patients. *Br J Psychiatry* 1985; 147: 145-49.
55. Pelonero AL, Pandurangi AK, Calabrese VP. Autotantibodies to brain lipids in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1990; 147: 661-62.
56. Libíkova H, Pogady J, Rajcani J, Skodacek I, Ciampor F, Kocisova M. Latent herpes virus hominis I in the central nervous system of psychotic patients. *Acta Virol* 1979; 23: 231-39.
57. Gotlieb-Stematsky T, Zonis J, Arlazoroff A, Mozes T, Sigal M, Szekely AG. Antibodies to Epstein-Barr virus, herpes simplex type I, cytomegalovirus and measles virus in psychiatric patients. *Arch Virol* 1981; 67: 333-39.
58. Ahokas A, Rimón R, Koskiniemi M, Vaheris A, Julkunen I, Sarna S. Viral antibodies and interferon in acute psychiatric disorders. *J Clin Psychiatry* 1987; 48 : 194-96.
59. Mesa CS, Cabrera JS. Estudio de las partículas semejantes a virus observadas en la esquizofrenia. *Rev Hosp Psiqu Habana* 1979; 10: 725-36.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

60. Sequiera LW, Jennings LC, Carrasco LH, Lord MA, Curry A, Sutton RNP. Detection of herpes simples viral genome in brain tissue. *Lancet* ii 1979; 609-12.
61. Mesa CS. Regiones de Interés del Cerebro en la Esquizofrenia. Estudios Post-mortem con Microscopía Electrónica de la Amígdala, el Hipocampo y la Corteza Auditiva Primaria. WPA Educational Section available at <http://www.wpanet.org/education/wpaeln3.html>, Junio 2005.
62. Mesa CS, Sosa ES, Niebla OA, Gómez Barry H, Orgas MH, González PE. Inoculation of chicken embryos with the cerebrospinal fluid of schizophrenic patients. Abstr S8-6. Presented at the Second World Conference on Viruses, Immunity and Mental Health. Mont Gabriel. Quebec 4-7 Oct 1988.
63. Dickerson FB, Boronow JJ, Stallings C, Origoni AE, Ruslanova I, Yolken RH. Association of serum antibodies to herpes simplex virus 1 with cognitive deficits in individuals with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 466-72.
64. Dickerson FB, Boronow JJ, Stallings C, Origoni AE, Cole S, Krivogorsky B, Yolken RH. Infection with herpes simplex virus type 1 is associated with cognitive deficits in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2004; 55: 588-93.
65. Weinberger DR. Schizophrenia. Understanding it, treating it, leaving with it. National Institute of Mental Health (NIMH) and The Library of Congress. Lecture given at the Project on the Decade of the Brain. September 25, 1998, US Capitol, Washington DC
66. Meninger KA. Influenza and schizophrenia. An analysis of post-influenza "dementia praecox" as of 1918 and five years later. *Am J Psychiatry* 1926; 5: 469-529.
67. Goodall E. The exciting cause of certain states, at present classified under schizophrenia by psychiatrists, may be infection. *J Ment Sci* 1932 ; 78 : 746-55.
68. Meninger KA. The schizophrenia syndrome as the product of infectious disease. *Arch Neurol Psychiatry* 1928; 20: 464-81.
69. Morozov VM. K voprosu o virusnov etiologii schizofreni. *Zhur Nevropatol. Psikhiatr. Im. S. S. Korsakova* 1954 ; 54 : 732-34.
70. Mastrogiovanni PD, Scarlato G. Primi dati sull'azione letale del liquor di schizofrenici su embrioni di pollo. *Acta Neurol* 1956; 11: 454-67.
71. Mar GI, Sviadotch AM. Le probleme des corpuscules virusoformes dans le liquor des schizophrenes. *Neuropath Psychiat* 1957 ; 57 : 1098-1100.
72. Gajdusek DC, Gibbs CJ, Alpers MP. Experimental transmission of a kuru-like syndrome to chimpanzees. *Nature* 1966; 209: 794-96.
73. Gibbs CJ, Gajdusek DC, Asher DM, Alpers MP, Beel E, Daniel PM et al. Creutzfeldt-Jakob disease (spongiform encephalopathy): transmission to the chimpanzee. *Science* 1968; 161: 388-89.
74. Tyrrell DAJ, Parry RP, Crow TJ, Johnstone E, Ferrier N. Possible virus in schizophrenia and some neurological disorders. *Lancet* 1979; 1: 389-841.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

75. Baker HF, Ridley RM, Crow TJ, Bloxham CA, Parry RP, Tyrrell DAJ. An investigation of the effects of intracerebral injection in the marmoset of cytopathic cerebrospinal fluid from patients with schizophrenia or neurological disease. *Psychol Med* 1983; 13: 499-511.
76. Solovyova ZhV. Ultramicroscopic lamellar structures in the brain of embryos from schizophrenic mothers. *Korsakov* 1980; 80: 1055-58.
77. Mesa CS. Identificación inmuno-electromicroscópica de las partículas semejantes a virus observadas en la esquizofrenia. *Rev Hosp. Psiq Habana* 1985; 26: 1-8.
78. Mesa CS, Aguilera A, Ancheta NO, Gómez Barry H, Sacarías SE, González PE et al. Esquizofrenia. Resultados del estudio inmuno-electromicroscópico en animales de experimentación inoculados con líquido céfalo-raquídeo. Datos adicionales. *Rev Hosp Psiq Habana* 1988; 29: 385-97.
79. Grunnet ML. Nuclear bodies in Jakob-Creutzfeldt and Alzheimer's disease. *Neurology* 1975; 25: 1091-3.
80. Zu Rhein GM, Chou SM. Subacute sclerosing panencephalitis. Ultrastructural study of brain biopsy. *Neurology* 1968; 18: 146-60.
81. Mesa CS. Inoculación de embriones de pollo con líquido céfalo-raquídeo de pacientes esquizofrénicos. Estudio inmuno-electromicroscópico. WPA Educational Section. Available at <http://www.wpanet.org/education/wpaeln3.html>, Mayo, 2005.
82. Sun CN, Morgan PN. Unusual membrane bound intranuclear inclusions in human fibroblasts infected with herpes simplex. *Exp Pathol* 1984;25(2):67-72.
83. Sawtell NM, Thompson RL. Comparison of Herpes Simplex Virus Reactivation in Ganglia In Vivo and in Explants Demonstrates Quantitative and Qualitative Differences. *Journal of Virology* 2004; 78: 7784-94.
84. Boyd JH, Pulver AE, Stewart W. Season of birth: schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Bull* 1986; 12: 173-85.
85. Bradbury TN, Miller GA. Season of birth in schizophrenia: a review of evidence, methodology and etiology. *Psychol Bull* 1985; 98: 569-94.
86. Torrey EF, Miller J, Rawlings R, Yolken RH. Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. *Schizophr Res* 1997; 28: 1-38.
87. Levy-Soussan P, Berneman A, Poirier MF, Galinowski A, Loo H, Olie JP, et al. Differences in the natural auto antibody patterns of patients with schizophrenia and normal individuals. *J Psychiatry Neurosci* 1996; 21: 89-95.
88. Kliushnik TP, Danilovskaia EV, Vatolkina OE, Turkova IL. Changes in the level of auto antibodies to the nerve growth factor in the blood serum of schizophrenia patients. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 1998; 98: 32-4.
89. Muller N, Riedel M, Ackenheil M, Schwarz MJ. The role of immune function in schizophrenia: an overview. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1999; 249: 62-8.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

90. Leykin I, Spivak B, Weizman A, Cohen IR, Shinitzky M. Elevated cellular immune response to human heat-shock protein-60 in schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1999; 249: 238-46.
91. Sperner-Unterweger B, Whitworth A, Kemmler G, Hilbe W, Thaler J, Weiss G, et al. T-cell subsets in schizophrenia: a comparison between drug-naive first episode patients and chronic schizophrenic patients. *Schizophr Res* 1999; 738: 61-70.
92. Fab al. Frequency of immunologic disorders in acute schizophrenia. *Fortschr Neurol Psychiatry* 1999; 67: 218-24.
93. Ridley RM, Baker HF, Crow TJ. Transmission studies of psychiatric and immunity and mental disorders. New York: Plenum; 1987. p. 33-45. neurological disease. In Kurstak E, Lipowski ZJ, Morozov PV, eds. *Viruses*.
94. Shirabe S, Stevens JR, Schwartz JP. Characterization of a transmissible growth-promoting agent derived from CSF of schizophrenic patients which is active on human neuroblastoma cells. *J Neurosci Res* 1993; 34: 622-8.
95. Gross G, Huber G, Schüttler R. Computerized tomography studies on schizophrenic diseases. *Arch Psychiatr Nervenkr* 1982; 231: 519-26.
96. Smith RC, Calderon M, Ravichandran GK, Largen J, Vroulis G, Shvartsburd A et al. Nuclear magnetic resonance in schizophrenia: a preliminary study. *Psychiatry Res* 1984; 12: 137-47.
97. Smith RC, Baumgartner R, Calderon M, Affas A, Ravichandran GK, Peters ID. Magnetic resonance imaging studies of schizophrenia. *Psychopharmacol Bull* 1985; 21: 588-94.
98. Shao L, Martin MV, Watson SJ, Schatzberg A, Akil H, Myers RM et al. Mitochondrial involvement in psychiatric disorders. *Ann Med* 2008;40(4):28.
99. Karry R, Klein E, Ben Shachar D. Mitochondrial complex I subunits expression is altered in schizophrenia: a post-mortem study. *Biol Psychiatry* 2004 April 1;55(7):676-84.
100. Munakata K, Iwamoto K, Bundo M, Kato T. Mitochondrial DNA 3243A>mutation and increased expression of LARS2 gene in the brains of patients with bipolar disorder and schizophrenia *Biol Psychiatry* 2005 Mar 1;57(5):525-32.
101. Sabunciyany S, Kirches E, Krause G, Bogerts B, Mawrin C, Llenos IC, et al. Quantification of total mitochondrial DNA and mitochondrial common deletion in the frontal cortex of patients with schizophrenia and bipolar disorder. *J Neural Transm* 2007;114(5):665-74.
102. Orlovskaja DD, Solov'eva ZhV, Zimina IS. Ultrastructural features of brain cells from embryos of schizophrenic women. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova* 1975;75(7): 1041-4.
103. Orlovskaja DD, Solov'eva ZhV. Changes in the ultra-fine structure of capillaries of the embryonic brain in the presence of schizophrenia in the mother. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova* 1976;76(7):1043-6.

EL CEREBRO HUMANO Y LA ESQUIZOFRENIA

104. Orlovskaya DD, Solov'eva ZhV. Relationship between ultrastructural pathology of the embryonal brain and features of the course and treatment of schizophrenic mothers. Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova 1980;80(11):1682-7.
105. Solov'eva ZhV. Lamellar formations in the brain cells of embryos of schizophrenic mothers. Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova 1980;80(7):1055-8.
106. Uranova N, Orlovskaya D, Vikhрева, Zimina I, Kolomeets N, Vostrikov V, et al. Electron microscopy of oligodendroglia in severe mental illness. Brain Res Bull 2001 Jul 15;55(5):597-610.
107. Alesci S, Abu-Asab M, Perera SM, Tsokos M, Morris JC, Pakac K. Mitochondrial localization of human recombinant adenovirus: from evolution to gene therapy. Neuroimmunomodulation 2007;14(5):221-3.
108. McCormick AL. Control of apoptosis by human cytomegalovirus. Curr Top Microbiol Immunol 2008;325:281-295.
109. Tsao CH, Su HL, Lin YL, Yu HP, Kuo SM, Shen CI, et al. Japanese encephalitis virus infection activates caspase-8 and -9 in FADD-independent and mitochondrion-dependent manner. J Gen Virol 2008;89(Pt 8):1930-41.
110. Clippinger AJ, Bouchard MJ. Hepatitis B virus HBx protein localizes to mitochondria in primary rat hepatocytes and modulates mitochondrial membrane potential. J Virol 2008; 82: 6798-6811.
111. Saffran HA, Pare JM, Corcoran JA, Weller SK, Smiley JR. Herpes simplex virus eliminates host mitochondrial DNA. EMBO 2007;8 (2):188-93.