

Ultraestructura en el proceso del neurodesarrollo en fetos con alto riesgo de desarrollar esquizofrenia

Segundo Mesa Castillo¹

Alcmeon, Revista Argentina de Clínica Neuropsiquiátrica, vol. 18, Nº 1, noviembre de 2012, págs. 38 a 51.

Resumen

La teoría del neurodesarrollo en la etiología de la esquizofrenia se considera una de las más consistentes en este momento. Las evidencias obtenidas de estudios epidemiológicos y neuropatológicos indican que el proceso patogénico que culmina en el desarrollo de esquizofrenia se inicia en fases tempranas y se ha asociado con una variedad de insultos ambientales prenatales sobre el cerebro en desarrollo, que incluyen infecciones. Aunque los agentes infecciosos han sido propuestos como uno de los factores de riesgo prenatal para la esquizofrenia no hay evidencia sobre la asociación de un agente infeccioso específico y daño cerebral. El conocimiento de las anomalías estructurales, permitiría una mejor identificación de los procesos del neurodesarrollo que contribuyen al riesgo de padecer esquizofrenia. Nuestra hipótesis de trabajo se basa en que los fetos en alto riesgo tendrían alteraciones a nivel celular que nos permitiría diferenciarlos de controles. En este trabajo se presenta una reevaluación del estu-

dio ultraestructural realizado en muestras del lóbulo temporal izquierdo en fetos en alto riesgo de desarrollar esquizofrenia. Los resultados obtenidos son compatibles con una infección activa del sistema nervioso central por el virus herpes simplex hominis tipo I [VHS1]. Estos resultados son la primera evidencia directa de este virus en el sistema nervioso central en fetos de madres esquizofrénicas en el período crítico del desarrollo fetal. La importancia de este hallazgo puede tener aplicaciones prácticas en la prevención de la enfermedad teniendo en cuenta su relación directa con la etiología y fisiopatología de la esquizofrenia.

Palabras claves

Esquizofrenia, neurodesarrollo, ultraestructura, virus herpes simplex, feto.

Abstract

The neurodevelopmental theory in the aetiology of schizophrenia is considered one of the most consistent at present. Evidence from epidemiological and neuropathological studies indicates that the pathogenic process that culminate in the development of schizophrenia

¹ Neurólogo. Hospital Psiquiátrico de la Habana

are initiated early in life and has been associated with a variety of prenatal environmental insults to the developing brain, including infection. Although the infectious agents have been proposed as one of the risk factors for schizophrenia the data on the association of a specific infectious agent with prenatal brain evidence is absent. Understanding of the structural abnormalities would allow a better identification of neurodevelopmental processes that contribute to risk for schizophrenia. We have hypothesized that at ultra high-risk fetuses would have alterations at cellular level that would let us differentiate them to the comparison subjects. A reappraisal of our ultrastructural studies carried out in samples of the left temporal lobe of foetuses at ultra high risk of developing schizophrenia is presented. The findings obtained are compatible with an active infection of the central nervous system by herpes simplex hominis type I [HSV1] virus. The present results are the first direct evidence that demonstrate the presence of this virus in the central nervous system of foetuses from schizophrenic mothers in the critical period of foetal development. The importance of this finding can have practical applications in the prevention of the illness keeping in mind its direct relation to the aetiology and pathophysiology of schizophrenia.

Key words

Schizophrenia, neurodevelopment, ultrastructure, herpes simplex virus, fetus.

Introducción

La esquizofrenia se ha considerado un trastorno del neurodesarrollo que se asocia con una variedad de insultos ambientales prenatales sobre el cerebro que incluyen infeccio-

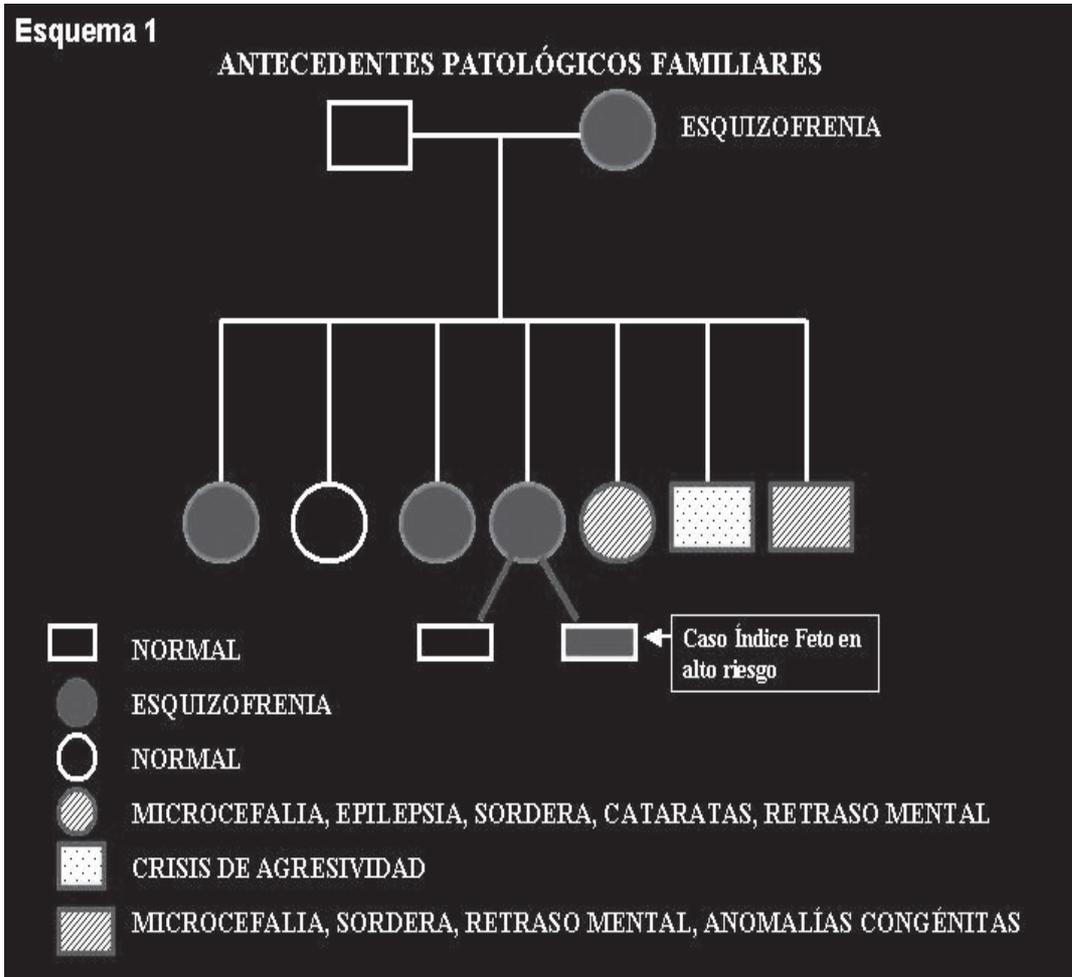
nes⁽¹⁻³⁾. Aunque los agentes infecciosos han sido propuestos como uno de los factores de riesgo prenatal para la esquizofrenia no hay evidencia de la asociación de un agente infeccioso específico y daño cerebral en esa etapa del neurodesarrollo^(4,5). En adición a este hecho no está claro cuando se originan las anomalías prenatales en pacientes con esquizofrenia aunque la mayor cantidad de datos orientan hacia el segundo trimestre de embarazo. El conocimiento de ese momento en la aparición de las anomalías estructurales nos permitiría una mejor identificación de los procesos del neurodesarrollo que contribuyen al riesgo de padecer esquizofrenia. En las últimas décadas se ha observado en la literatura médica un incremento en el interés en estudios prenatales relacionados con la etiología de la esquizofrenia⁽⁶⁻¹⁷⁾, especialmente en sujetos en alto riesgo de padecer la enfermedad⁽¹⁸⁻²¹⁾. Se incluyen en este estudio los descendientes de madres esquizofrénicas por observarse en ellos una probabilidad mayor de padecer esquizofrenia^(22,23). Hemos considerado la hipótesis de que los cerebros de fetos de madres esquizofrénicas tendrían alteraciones a nivel celular que nos permitiría diferenciarlos de controles sanos. Desafortunadamente el cerebro humano no está expuesto a una observación directa en esa etapa de la vida. Solamente una circunstancia eventual como es la interrupción de un embarazo por razones médicas nos permitiría observar posibles alteraciones a nivel celular. La magnitud de los resultados obtenidos depende de la resolución de la técnica que se utilice. En nuestros estudios de microscopía electrónica del cerebro de fetos de madres esquizofrénicas cuyos embarazos fueron interrumpidos por razones médicas tuvimos la oportunidad de observar a nivel celular las posibles alteraciones que habíamos planteado en for-

ma hipotética que incluía una posible infección viral^(24,25). Nuestra observación de partículas virales dentro del núcleo de las neuronas, identificadas por inmuno-electromicroscopía pertenecientes al virus herpes simplex hominis tipo 1, es la primera evidencia directa de este virus en el cerebro de fetos de madres esquizofrénicas y relaciona este resultado con la etiología de la enfermedad^(26,27). El hallazgo en el lóbulo temporal, que es la región del sistema nervioso afectada por este virus en observaciones clínicas, constituye a su vez la región del cerebro afectada en la

esquizofrenia. Estudios postnatales con otros diseños de investigación confirman la relación de este virus con el lóbulo temporal y con la enfermedad⁽²⁸⁻³⁰⁾.

Material y método

Previo consentimiento informado escrito por los familiares o representantes legales y los pacientes, cuando su condición clínica les permitió hacerlo, se obtuvo una muestra del cerebro correspondiente a la punta del lóbulo temporal izquierdo, de cinco fetos abortados



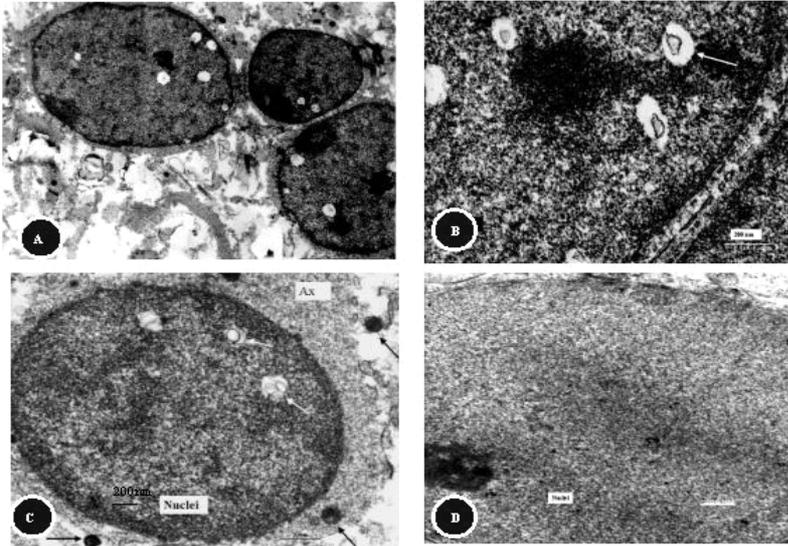
por indicaciones médicas de madres esquizofrénicas y tres fetos de madres sin antecedentes de enfermedad psiquiátrica o neurológica. Los diagnósticos en las madres esquizofrénicas fueron: esquizofrenia hebefrénica, 1 caso, esquizofrenia paranoide, 3 casos [Criterio diagnóstico DSM-IV]⁽³¹⁾. En una de las madres esquizofrénicas se estudiaron 2 fetos gemelos monocigóticos, monocoriónicos y biamnióticos. En los casos de madres esquizofrénicas se constató fuertes antecedentes familiar de la enfermedad. En el esquema 1 se muestran los antecedentes familiares en el estudio de los fetos gemelos monocigóticos, en donde se aprecian además varios casos del espectro esquizofrénico.

Una vez obtenidas las muestras, se fijaron en glutaraldehído-paraformaldehído inmediatamente durante 1 hora, 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. 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] [Dako Lab] durante 24 horas, lavándose posteriormente con TRIS (tres volúmenes, cinco minutos cada uno. Se añadió DAB (diaminobencidina), 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 absoluto (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.

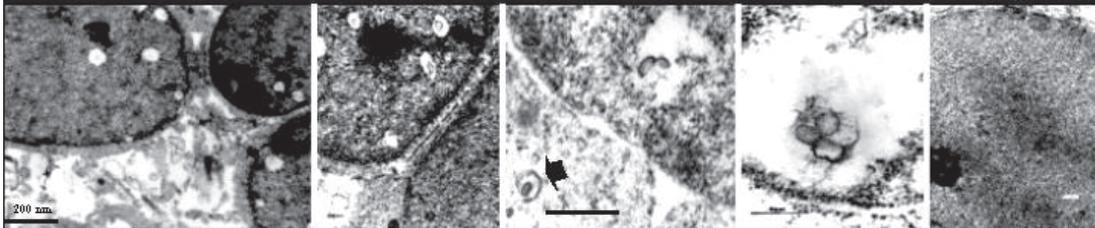
Resultados

Los resultados obtenidos en las muestras del cerebro de los fetos estudiados 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. Fueron observadas dentro del núcleo de las neuronas solamente. 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 inmuno-electromicroscópicas. También hubo marcaje con el antisuero anti-herpes en algunas de las cápsides de las partículas inmaduras intranucleares (Fig. 1A, 1B, 1C, 1D). Uno de los fetos gemelares no presentó partículas virales, al igual que los fetos controles estudiados.

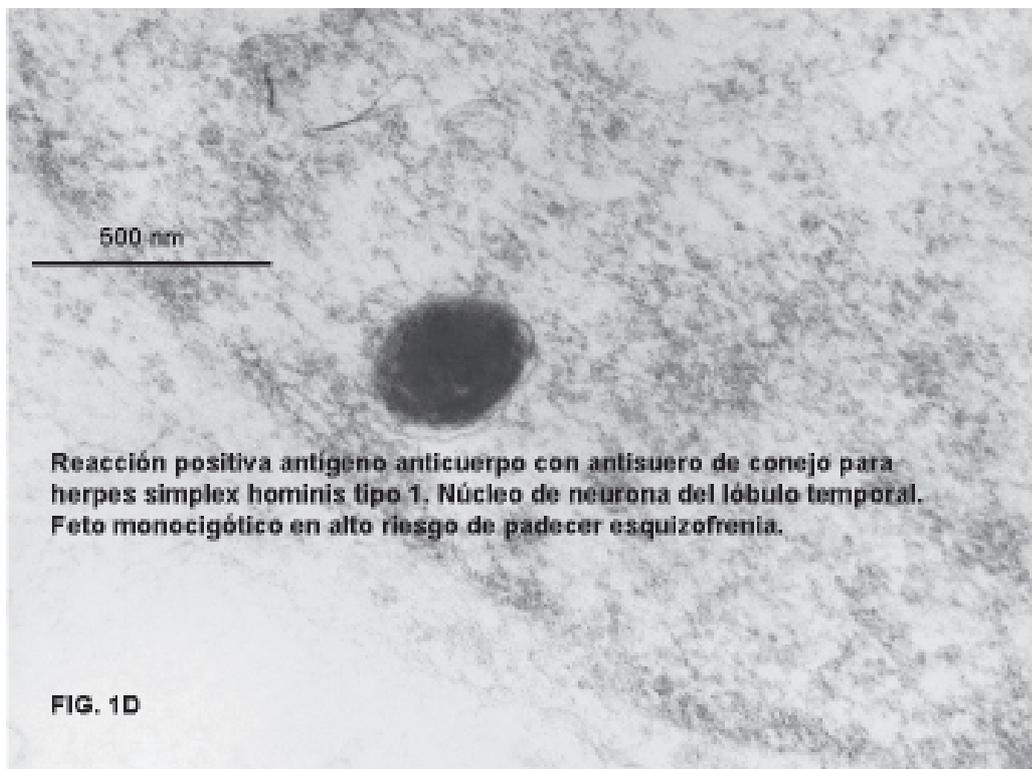
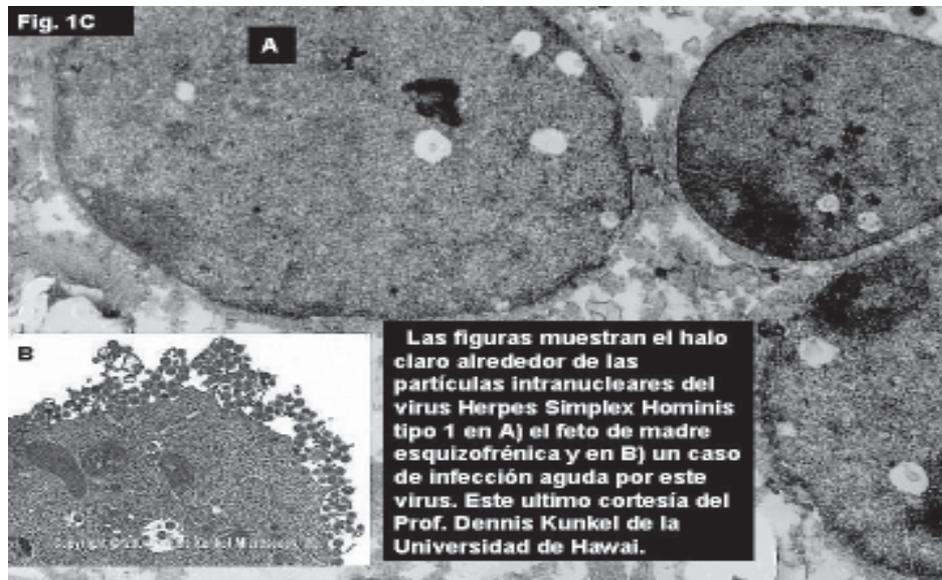


1A. Partículas virales incompletas dentro del núcleo de varias neuronas. 1B. A mayor aumento las partículas [flecha blanca]. 1C. Partículas virales incompletas [flechas blancas] e intracitoplasmáticas completas [flechas negras] estas últimas marcadas con anticuerpo para el virus herpes simplex hominis tipo I unido a peroxidasa. 1D. Núcleo normal en una neurona del lóbulo temporal del feto monocigótico gemelar no afectado.

FIG. 1B



Las figuras muestran de izquierda a derecha: A) feto monocigótico y monocoriónico de madre y abuela esquizofrénicas con partículas intranucleares con morfología viral en el núcleo de neuronas de la punta del lóbulo temporal izquierdo. B) a mayor aumento se observan las partículas que aparecen como virus incompletos con cápsides vacías. C) otro feto de madre esquizofrénica paranoide con partículas similares en forma y localización. En la porción inferior izquierda de la figura una partícula madura con núcleo central y cápside [cabeza de flecha]. D) otro feto de madre esquizofrénica con partículas intranucleares similares a las descritas en los 2 fetos anteriores. E) uno de los dos fetos monocigóticos no afectado donde la neurona es de aspecto normal sin partículas en el interior del núcleo. Bar 200nm. Las muestras fueron obtenidas durante el segundo trimestre de vida fetal.



Discusión

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⁽³²⁻³⁴⁾. 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 poca resolución y mediante métodos indirectos. Es necesaria una técnica con alta 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⁽³⁵⁾. 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 primeros resultados obtenidos orientaron hacia una etiología viral de la enfermedad⁽³⁶⁾. 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 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 embarazos interrumpidos por razones médicas de madres esquizofrénicas y normales⁽³⁷⁾. En nuestro conocimiento este es el primer estudio prenatal de la

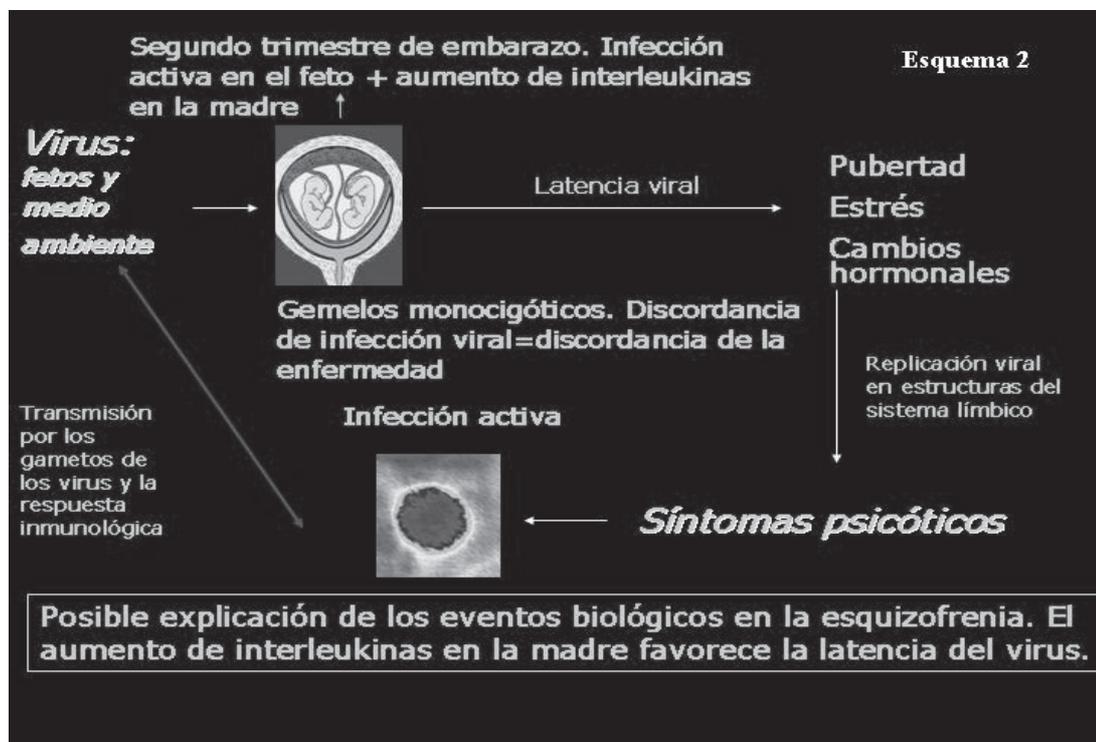
ultraestructura del cerebro de fetos en alto riesgo de padecer esquizofrenia y la primera observación de partículas virales en las neuronas del cerebro de los fetos estudiados⁽³⁸⁾. Las partículas observadas corresponden al virus herpes simplex hominis tipo 1 [VHS1]. Hasta donde sepamos, no existen datos que específicamente asocien las alteraciones de la sustancia gris del cerebro en estudios prenatales en sujetos con alto riesgo de padecer esquizofrenia y evidencia del VHS1. Las infecciones por el VHS1 durante el desarrollo cerebral temprano causan daño cromosómico que más tarde pueden mostrar anomalías conductuales y daño cerebral. Este pudiera ser otro mecanismo de acción de este virus en la esquizofrenia⁽³⁹⁻⁴¹⁾. Estudios postnatales han mostrado que el tamaño del efecto de exposición al VHS1 sobre el daño cognitivo fue mayor en sujetos con esquizofrenia comparado con sujetos sin trastornos psiquiátricos⁽⁴²⁻⁴⁵⁾. La exposición a este virus tiene un carácter predecible de la disfunción cognitiva en la esquizofrenia. Desde el punto de vista estructural los pacientes expuestos al VHS1 tienen disminución de la sustancia gris en las áreas 9 de Brodmann (corteza prefrontal dorso lateral) y 32 (corteza cingulada anterior) en comparación con pacientes sin evidencia serológica de exposición al VHS1. Estas diferencias de asociación con este virus y la estructura cerebral no se ha observado en sujetos normales. Estos hallazgos se asociaron con diferencias específicas que no fueron atribuibles a la medicación, a la cronicidad o al uso comórbido de sustancias. Constituyen una evidencia de la asociación de exposición al VHS1 y algunos de los cambios morfológicos que son reportados en la esquizofrenia⁽⁴⁶⁻⁴⁹⁾. El aumento del título de anticuerpos contra el VHS1 en estos estudios de asociación no indica en que momento especí-

fico se produjo este aumento de anticuerpos contra este virus. Estos estudios se realizaron después que el diagnóstico de esquizofrenia se había hecho. Una posible explicación de estos hallazgos es la reactivación de una infección latente, característica de la biología del VHS1 lo que permitió distinguir entre individuos expuestos y no expuestos. Sin embargo, estos resultados no pueden responder la interrogante de si los efectos cognoscitivos y estructurales son debidos a una influencia aguda de la propia enfermedad o el resultado de trastornos del desarrollo del cerebro relacionado con la exposición prenatal a este agente infeccioso.

En nuestros estudios las neuronas afectadas se encontraron en la región del cerebro en las que este virus produce disfunción o muerte celular. Corresponde a la región de

interés del cerebro [RDI] de pacientes esquizofrénicos. Es importante señalar que ninguno de los fetos estudiados presentaba signos clínicos ni anatómicos de encefalitis, solo la presencia del virus. Las madres de estos fetos no presentaban signos ni síntomas de infección. Este último aspecto puede explicar la evolución lenta de la enfermedad y su aparición en la pubertad que coincide con los cambios hormonales y las nuevas situaciones estresantes de este período de la vida que favorecen la replicación viral⁽⁵⁰⁾.

Deben considerarse además diferentes posibles mecanismos patofisiológicos a través de los cuales la exposición materna a una infección viral puede dar lugar al desarrollo posterior de psicosis en su descendencia⁽⁵¹⁾. Es posible que el feto haya sido directamente infectado durante el embarazo. Otra posibilidad



es que el feto sea portador del virus el cual fue transmitido del padre o la madre a través de las células sexuales o gametos en el momento de la fecundación (ver esquema 2). Ya que no existen estudios de muestras para cultivos de virus o DNA viral de los gametos de padres cuya descendencia padeció esquizofrenia, la posibilidad de la proporción y replicación del virus en ese momento es solamente una hipótesis.

De lo expuesto se destaca la importancia de determinar el momento de exposición al virus en relación al momento de origen de la enfermedad. Conforme a nuestros resultados los fetos fueron expuestos en el útero al VHS1 en el segundo trimestre de embarazo y debe considerarse por lo tanto éste el momento en que la enfermedad se origina. Los resultados obtenidos sugieren por lo tanto un efecto de asociación en la exposición al virus en el período prenatal en sujetos con alto riesgo de padecer esquizofrenia y la aparición posterior de la enfermedad. Sin embargo debe considerarse la limitación de este estudio debido a que la muestra es relativamente pequeña, no obstante ser apropiado el efecto de asociación planteado de interacción entre factores genéticos y ambientales con factores de alto riesgo. Estos resultados se relacionan además con las evidencias que favorecen la hipótesis viral de la esquizofrenia y la teoría del neurodesarrollo. Esta última se considera actualmente la más consistente en relación a la etiología de la esquizofrenia. Se fundamenta en evidencias obtenidas de estudios epidemiológicos y neuropatológicos que indican que el proceso patogénico que culmina en el desarrollo de esquizofrenia se inicia en fases tempranas y se asocia con una variedad de insultos ambientales prenatales sobre el cerebro en desarrollo, que incluyen infecciones⁽⁵²⁻⁵⁴⁾. El segundo trimestre de embarazo es el mo-

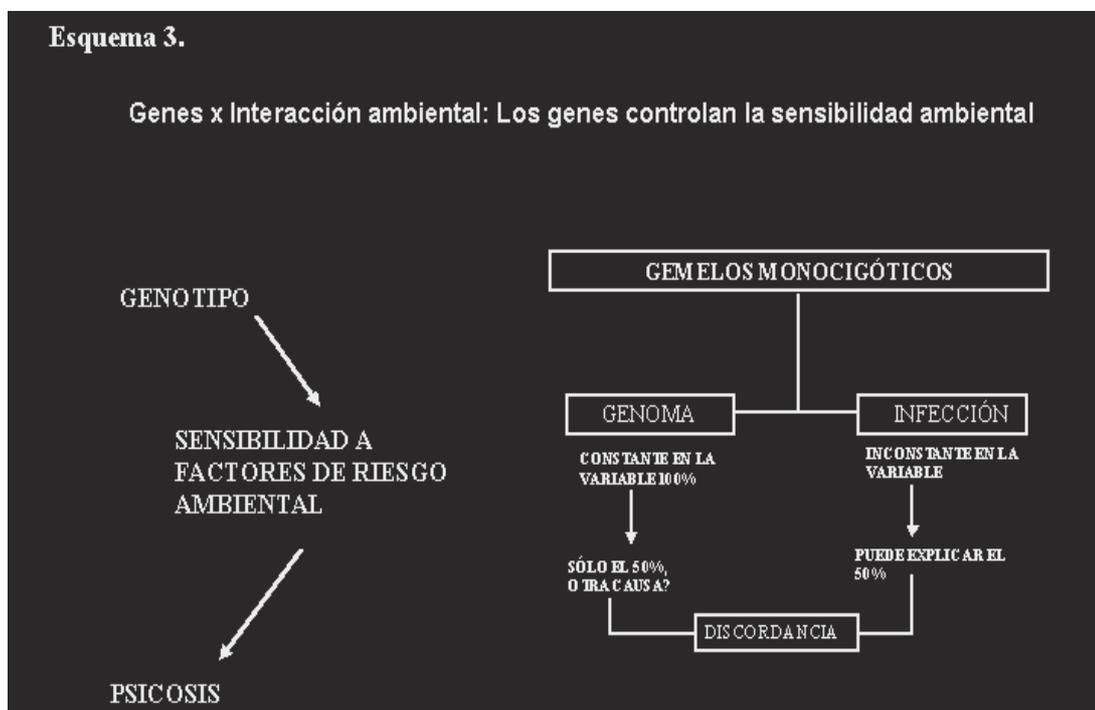
mento específico donde se considera que actúan los factores ambientales. Un virus actuando en esta primera fase del desarrollo puede explicar las anomalías observadas en ambas estructuras derivadas del ectodermo, la piel y el sistema nervioso: anomalías físicas y neurológicas menores, del dermatoglifo y del cerebro más frecuentemente observadas en pacientes esquizofrénicos que en la población normal. La aparición posterior de la enfermedad, en la pubertad o en la adolescencia y su evolución en crisis puede ser debida a la acción directa del VHS1 en sus ciclos repetidos de latencia seguidos de reactivación.

Los estudios de gemelos monocigóticos en la esquizofrenia relacionan la enfermedad con la influencia de factores ambientales ya que solo el 50% de los mismos padecen ambos la enfermedad lo que condujo en 1967 a la hipótesis que el fenotipo de esquizofrenia era una expresión de la vulnerabilidad genotípica que interactuaba con experiencias ambientales prenatales⁽⁵⁵⁾. Nuestras observaciones de discordancia de infección viral en uno de los fetos monocigóticos estudiados favorece no solo el origen prenatal de la enfermedad y la etiología viral, sino además la discordancia de la enfermedad observada cerca del 50% en gemelos monocigóticos⁽⁵⁶⁾. La observación del VHS1 en nuestros estudios post-mortem de microscopía electrónica e inmuno-electromicroscopía en el lóbulo temporal del cerebro de pacientes adultos jóvenes, en animales experimentalmente inoculados con el líquido céfalo-raquídeo de pacientes esquizofrénicos y en fetos de madres esquizofrénicas nos hace considerar a este virus como el agente etiológico ya que los postulados de Koch han sido parcialmente cumplidos⁽⁵⁷⁾. Según Ruten⁽⁵⁸⁾: "una nota particular es el alto grado de discordancia entre gemelos monocigóticos en la esquizofrenia. Tal discordancia fenotípica en-

tre gemelos monocigóticos es a menudo atribuible a factores medioambientales no compartidos. Aunque existe evidencia empírica para tan importante contribución ambiental se desconocen aún los factores ambientales específicos de riesgo que puedan ser definitivamente asociados con la etiología de la enfermedad. Aún es pobremente conocido el mecanismo a través del cual estos factores ambientales actúan sobre la maquinaria molecular y celular en el cerebro humano y que en última instancia da lugar al fenotipo psicótico y a la patología cerebral". Nuestros hallazgos de VHS1 en el cerebro de fetos de madres esquizofrénicas puede ser la respuesta a esta pregunta considerando específicamente la discordancia de infección viral encontrada en el cerebro de los gemelos monocigóticos estudiados. Se trata de la primera evidencia directa de partículas virales en el sistema nervioso central en fetos de madres esquizofrénicas

con alto grado de riesgo de padecer la enfermedad en el período crítico del neurodesarrollo. Es la primera evidencia directa epigenética de una infección específica en la enfermedad en el modelo del neurodesarrollo.

Es congruente con el interés actual sobre la génesis y la epigénesis de la esquizofrenia en relación a su origen prenatal, aunque la mayor parte de estos estudios hacen hincapié en la madre esquizofrénica no así en el rol del padre en el origen de la enfermedad^(59,60). En los estudios de gemelos monocigóticos hay una variable independiente que es el genoma un 100% común en ambos gemelos. Cuando aparece una discordancia de la enfermedad en estos gemelos una nueva variable se origina que unido a los descubrimientos que favorecen los factores ambientales, hacen de esta variable dependiente. (Ver esquema 3).



En este caso padecer de esquizofrenia dependería, en relación a los genes, de solo una predisposición, y la genética en el origen de la enfermedad no sería el factor decisivo sino la predisposición a sufrirla. De este modo los factores genéticos y ambientales son completamente independientes unos de otros pero su asociación es importante. En los casos esporádicos de la enfermedad los factores ambientales jugarían un papel mucho más decisivo al no existir el factor genético. El tener una madre o un padre con esquizofrenia incrementa el riesgo de padecer la enfermedad por existir la predisposición a su padecimiento pero si el factor ambiental no existe no hay padecimiento de la misma como ocurre en los estudios epidemiológicos de gemelos discordantes de esquizofrenia. Este hecho sugiere que factores genéticos e insultos ambientales tempranos son factores independientes que asociados favorecen la aparición de la enfermedad. De estos resultados se deduce que el estudio de factores ambientales prenatales en la esquizofrenia puede tener implicaciones importantes para la identificación de la causa y la prevención de este padecimiento y ofrece además el potencial para complementar y refinar los esfuerzos realizados en el proceso explicativo etiológico del neurodesarrollo⁽⁶¹⁾. En este sentido hemos expuesto en trabajos anteriores la importancia que puede tener el estudio de las células del líquido amniótico mediante técnicas virológicas e inmuno-electromicroscópicas en embarazadas a riesgo de tener una descendencia de esquizofrenia⁽⁶²⁾. Se considera la siguiente hipótesis de trabajo: 1) La existencia de la enfermedad en la madre o el padre. 2) La activación viral de la enfermedad en el feto especialmente durante segundo trimestre de embarazo. 3) La infestación del cerebro del feto y de la placenta por el virus. 4) La presencia de la infección

viral en las células libres en el líquido amniótico las que presentarían alteraciones similares a las observadas en el cerebro de los fetos estudiados y en la placenta de madres esquizofrénicas estudiadas mediante técnicas similares de microscopía electrónica. 5) De observarse las mismas alteraciones que las observadas previamente en las células del cerebro de los fetos y en la placenta, se propondría a mujeres en riesgo de tener una descendencia de esquizofrenia, previa información de los resultados, la interrupción médica voluntaria del embarazo o un tratamiento antiviral temprano como medida preventiva del desarrollo posterior de la enfermedad.

Agradecimientos: al personal técnico y profesional de los laboratorios de microscopía electrónica del Centro Nacional de Ingeniería Genética y Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Instituto de Nefrología y Hospital Hermanos Ameijeiras de Cuba, al personal técnico y profesional de los laboratorios de microscopía electrónica del Departamento de Anatomía Patológica de la Fundación Hospital Carlos Haya y de los Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación, Campus de Teatinos, de la Universidad de Málaga, España.

Bibliografía

1. Weinberger D. The biological basis of schizophrenia. *J Clin Psychiatry Monograph* 1997; 15: 4-6.
2. Lewis DA, Levitt P. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Ann Rev Neuroscience* 2002; 25: 409-32.
3. Rapoport JL, Addington AM, Frangou S, Psych MR. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry* 2005; 10: 434-49.
4. Brown AS. Further evidence of infectious insults in the pathogenesis and pathophysiology of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2011; 168:764-6.
5. Brown AS. Exposure to Prenatal Infection and Risk of Schizophrenia. *Front Psychiatry* 2011; 2: 63.

6. Geddes JR, Lawrie SM. Obstetric complications and schizophrenia: a meta-analysis. *Br J Psychiatry* 1995; 167: 786–793.
7. Verdoux H, Geddes JR, Takei N, Lawrie S, Bovet P, Eagles JM, et al. Obstetric complications and age at onset in schizophrenia: an international collaborative meta-analysis of individual patient data. *Am J Psychiatry* 1997; 154: 1220–1227.
8. Buka SL, Tsuang MT, Lipsitt LP. Pregnancy/delivery complications and psychiatric diagnosis: a prospective study. *Arch Gen Psychiatry* 1993; 50: 151–156.
9. Done DJ, Johnstone EC, Frith CD, Golding J, Shepherd PM, Crow TJ. Complications of pregnancy and delivery in relation to psychosis in adult life: data from the British perinatal mortality survey sample. *BMJ* 1991; 302: 1576–1580.
10. Sacker A, Done DJ, Crow TJ, Golding J. Antecedents of schizophrenia and affective illness. Obstetric complications. *Br J Psychiatry* 1995; 166: 734–741.
11. McNeil TF, Cantor-Graae E, Nordström LG, Rosenlund T. Are reduced head circumference at birth and increased obstetric complications associated only with schizophrenic psychosis? A comparison with schizo-affective and unspecified functional psychoses. *Schizophr Res* 1996; 22: 41–47.
12. Ericson A, Eriksson M, Westerholm P, Zetterström R. Pregnancy outcome and social indicators in Sweden. *Acta Paediatr Scand* 1984; 73: 69–74.
13. Jones PB, Rantakallio P, Hartikainen A-L, Isohanni M, Sipila P. Schizophrenia as a long-term outcome of pregnancy, delivery, and perinatal complications: a 28-year follow-up of the 1966 North Finland general population birth cohort. *Am J Psychiatry* 1998; 155: 355–364.
14. Kunugi H, Takei N, Murray RM, Saito K, Nanko S. Small head circumference at birth in schizophrenia. *Schizophr Res* 1996; 20: 165–170.
15. Bennedsen BE. Adverse pregnancy outcome in schizophrenic women: occurrence and risk factors. *Schizophr Res* 1998; 33: 1–26.
16. Van Os J, Selten JP. Prenatal exposure to maternal stress and subsequent schizophrenia. *Br J Psychiatry* 1998; 172: 324–326.
17. Wright P, Takei N, Rifkin L, Murray RM. Maternal influenza, obstetric complications, and schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1995; 152: 1714–1720.
18. Gilmore HJ, Kang Ch, Evans DD, Wolfe MH, Smith Keith J, Lieberman AJ et al. Prenatal and Neonatal Brain Structure and White Matter Maturation in Children at High Risk for Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2010; 167: 1083-1091.
19. Hultman CM, Ohman A, Cnattingius S, Wieselgren IM, Lindström LH. Prenatal and neonatal risk factors for schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry* 1997; 170: 128-133.
20. Hultman MCh, Sparén Pär, Takei N, Murray MR, Cnattingius S. Prenatal and perinatal risk factors for schizophrenia, affective psychosis, and reactive psychosis of early onset: case-control study. *BMJ* 1999; 318: 421
21. McNeil TF. Perinatal risk factors and schizophrenia: selective review and methodological concerns. *Epidemiol Rev* 1995; 17: 107–112.
22. Buka SL, Tsuang MT, Torrey EF, Klebanoff MA, Bernstein D, Yolken RH. Maternal infections and subsequent psychosis among offspring. *Arch Gen Psychiatry* 2001; 58: 1032–1037.
23. Dalman Ch, Allebeck P, Cullberg J, Grunewald Ch, Köster M. Obstetric Complications and the Risk of Schizophrenia. A Longitudinal Study of a National Birth Cohort. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56: 234-240.
24. Mesa CS. An ultrastructural study of the temporal lobe and peripheral blood in schizophrenic patients. *Rev Neurol* 2001; 33: 619-623.
25. Mesa CS. Presencia de virus en el sistema nervioso central en fetos de madres esquizofrénicas. Disponible en la Sección de Educación de la Asociación Psiquiátrica Mundial <http://www.wpanet.org/home.html>, septiembre 2007.
26. Mesa CS. Estudio ultraestructural en muestras del lóbulo temporal izquierdo en cerebros de fetos de madres esquizofrénicas. 9no. Congreso Virtual de Psiquiatría. Interpsiquis 2008. 1-29 de febrero 2008. Disponible en <http://www.psiquiatria.com/congreso/2008/psicosis/articulos/32557/>
27. Mesa CS. Electron microscope studies of brain tissue in psychosis. *Biol Psychiatry* 1986; 5: 1092-94. Available at <https://www.docstoc.com>. 2011
28. Cleator, G.M., Klapper, P.E., 2004a. Herpes Simplex. In: Zuckerman, A.J., Banatvala, J.E., Pattison, J.R. (Eds.), Principles and Practice of Clinical Virology. John Wiley and Sons, Ltd, New York, pp. 27–51.

29. Cleator, G.M., Klapper, P.E., 2004b. The Herpesviridae. In: Zuckerman, A.J., Banatvala, J.E., Pattison, J.R. (Eds.), Principles and Practice of Clinical Virology. John Wiley & Sons, Ltd, New York, pp. 23–26.
30. Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res* 2001; 49: 1–52.
31. DSM-IV. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. 4 ed. Barcelona: Masson; 1995.
32. Murray RM. Neurodevelopmental schizophrenia: the rediscovery of dementia praecox. *Br J Psychiatry* 1994; 165: 6–12.
33. Wyatt JR. Neurodevelopmental Abnormalities and Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 1996; 53: 11–15.
34. Cannon TD, Mednick SA, Parnas J, Schulsinger F, Praestholm J, Vestergaard A. Developmental brain abnormalities in the offspring of schizophrenic mothers. I. Contributions of genetic and perinatal factors. *Arch Gen Psychiatry* 1993; 50: 551–64.
35. Mesa CS, Pérez MR, Ancheta NO, Cabrera, JA. Esquizofrenia. Estudio ultraestructural del sistema límbico. Hallazgos en el núcleo amigdalino. *Rev Hosp Psiqui Habana* 1978; 19: 197–225.
36. Mesa CS. Estudio de las partículas semejantes a virus observadas en la esquizofrenia. *Rev Hosp Psiqui Habana* 1979; 20: 725–36.
37. Mesa CS. Origen prenatal de la esquizofrenia. Estudios con técnicas de microscopía electrónica. Presentado en 11º Congreso Virtual de Psiquiatría, Interpsiquis 2010. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10401/766>.
38. Yolken RH, Torrey EF. Viruses, Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Clin Microb Review* 1995; 1: 131–45.
39. Shirts BH., Kim JJ, Reich S, Dickerson FB, Yolken RH, Devlin B, Nimgaonkar VL. Polymorphisms in MICB are associated with human herpes virus seropositivity and schizophrenia risk. *Schizophr Res* 2007; 94: 342–353.
40. Prasad MK, Bamne MN, Shirts HB, Goradia D, Mannali V, Pancholi MK. Grey matter changes associated with host genetic variation and exposure to Herpes Simplex Virus 1 (HSV1) in first episode schizophrenia. *Schizophr Res* 2010; 118: 232–9.
41. Dickerson F, Stallings C, Sullens A, Origoni A, Lester F, Krivogorsky B et al. Association between cognitive functioning, exposure to Herpes Simplex Virus type 1, and the COMT Val158Met genetic polymorphism in adults without a psychiatric disorder. *Brain Behav Immun* 2008; 22: 1103–1107.
42. Dickerson F, Stallings C, Origoni A, Vaughan C, Khushalani S, Yolken R. Additive effects of elevated C-reactive protein and exposure to Herpes Simplex Virus type 1 on cognitive impairment in individuals with schizophrenia. *Schizophr Res* 2012; 134: 83–8.
43. Yolken RH, Torrey EF, Lieberman JA, Yang S, Dickerson FB. Serological evidence of exposure to Herpes Simplex Virus type 1 is associated with cognitive deficits in the CATIE schizophrenia sample. *Schizophr Res* 2011; 128: 61–5.
44. Prasad KM, Watson AM, Dickerson FB, Yolken RH, Nimgaonkar VL. Exposure to Herpes Simplex Virus Type 1 and Cognitive Impairments in Individuals With Schizophrenia. *Schizophr Bull* 2012; Apr 6. [Epub ahead of print].
45. Prasad KM, Eack SM, Keshavan MS, Yolken RH, Iyengar S, Nimgaonkar VL. Antiherpes Virus-Specific Treatment and Cognition in Schizophrenia: A Test-of-Concept Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Schizophr Bull*. 2012; Mar 23. [Epub ahead of print].
46. Schretlen, D.J., Vannorsdall, T.D., Winicki, J.M., Mushtaq, Y., Hikida, T., Sawa, A. et al. Neuroanatomic and cognitive abnormalities related to herpes simplex virus type 1 in schizophrenia. *Schizophr Res* 2010; 118: 224–231.
47. Whitford JTh, Wood JS, Yung A, Cocchi L, Berger G, Shenton EM et al. Structural abnormalities in the cuneus associated with Herpes Simplex Virus (type 1) infection in people at ultra high risk of developing psychosis. *Schizophr Res* 2012; 135: 175–80.
48. Prasad, K., Shirts, B., Yolken, R., Keshavan, M., Nimgaonkar, V. Brain morphological changes associated with exposure to HSV1 in first-episode schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 2007; 12:105–113.
49. Prasad KM, Eack SM, Goradia D, Pancholi KM, Keshavan MS, Yolken RH, et al. Progressive gray matter loss and changes in cognitive functioning associated with exposure to herpes simplex virus 1 in schizophrenia: a longitudinal study. *Am J Psychiatry* 2011; 168: 822–30.
50. Aiello AE, Simanek AM, Galea S. Population levels of psychological stress, herpesvirus reactivation and HIV. *AIDS Behav* 2010; 14: 308–17.
51. Pearce BD. Schizophrenia and viral infection during neurodevelopment: a focus on mechanisms. *Molecular Psychiatry* 2001; 6: 634–646.

52. Ellman LM, Deicken FR, Vinogradov S, Kremen WS, Poole JH, Kern DM et al. Structural brain alterations in schizophrenia following fetal exposure to the inflammatory cytokine interleukin-8. *Schizophr Res* 2010; 121:46-54.
53. Brown AS, Derkits EJ. Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. *Am J Psychiatry* 2010; 167: 261-80.
54. Brown AS, Susser ES. In utero infection and adult schizophrenia. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2002; 8: 51-57.
55. Stabenau JR, Pollin W. Heredity and environment in schizophrenia, revisited. The contribution of twin and high-risk studies. *J Nerv Ment Dis* 1993; 181: 290-7.
56. Mesa CS. Discordance of brain viral infection in one monozygotic twin from a schizophrenic mother and grandmother, prenatal study. 11° Congreso Virtual de Psiquiatría. 1ro. Febrero 2010. Available at: www.bibliopsiquis.com/bibliopsiquis/bitstream/10401/19cof145291.pdf, consulted 3/11/2010.
57. Koch R. Postulados de Koch. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Postulados_de_Koch. Consultado Mayo 2012.
58. Rutten BPF, Mills J. Epigenetic Mediation of Environmental Influences in Major Psychotic Disorders. *Schizophr Bull* 2009; 35: 1045-1056.
59. Maric NP, Svrakic DM. Why schizophrenia genetics needs epigenetics: a review. *Psychiatr Danub* 2012; 24:2-18.
60. Khandaker GM, Zimbron J, Lewis G, Jones PB. Prenatal maternal infection, neurodevelopment and adult schizophrenia: a systematic review of population based studies. *Psychol Med* 2012; 16: 1-19.
61. Brown AS. The environment and susceptibility to schizophrenia. *Prog Neurobiol* 2011; 93:23-58. Epub 2010 Oct 16. Review.
62. Mesa CS. Sobre la importancia del estudio de las células del líquido amniótico en mujeres a riesgo de tener una descendencia de esquizofrenia. 13° Congreso Virtual de Psiquiatría.com. Interpsiquis 2012 www.interpsiquis.com - Febrero 2012 [www.psiquiatria.com](http://www.psiquiatria.com/bibliopsiquis/bitstream/10401/5251/1/7conf2%2053336.pdf) disponible en: <http://www.psiquiatria.com/bibliopsiquis/bitstream/10401/5251/1/7conf2%2053336.pdf>