

## CONTENIDO

## COMUNICACIONES

Abstract

PDF

Comentarios

Título

Resumen

Introducción

Material

Resultados

Discusión

Correspondencia

Referencias

Imágenes

**CARACTERÍSTICAS CITOPATOLÓGICAS DE UNA REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN OBSERVADA EN PACIENTES PSICÓTICOS.***Segundo Mesa<sup>\*</sup>, Esperanza Niubó<sup>\*</sup>, Lucía González<sup>†</sup>.**Hospital Psiquiátrico de la Habana<sup>\*</sup>; Centro Nacional de Investigaciones Científicas<sup>\*</sup>; y Laboratorio de Microscopía Electrónica. Departamento de Patología. Instituto de Nefrología<sup>†</sup>. La Habana. Cuba*

IV-CVHAP 2001 COMUNICACIÓN-E - 001

Fecha recepción: 19/06/2000

Fecha evaluación: 30/07/2000

Fecha publicación: 17/08/2000

**RESUMEN**

Durante 23 años hemos realizado estudios sobre la hipótesis viral de la esquizofrenia con el uso de técnicas de microscopía electrónica. Han sido motivo de este estudio estructuras del sistema límbico de pacientes esquizofrénicos jóvenes fallecidos, fetos de madres esquizofrénicas y animales experimentalmente inoculados con líquido céfalo-raquídeo de pacientes esquizofrénicos. En los últimos diez años, hemos realizado estudios de muestras de sangre y líquido céfalo-raquídeo de pacientes esquizofrénicos y de algunos casos de psicosis afectivas. Hemos encontrado algunas alteraciones similares a las observadas en el sistema nervioso central, las que son compatibles con: a) la hipótesis viral y b) el virus herpes simplex hominis tipo I, cuando se realizaron técnicas inmunoelectromicroscópicas. Observamos además una reacción de aglutinación (plasma-líquido céfalo-raquídeo) con alteraciones morfológicas específicas en las plaquetas, que nos permitieron establecer una escala de evaluación citopatológica diagnóstica. Los resultados así obtenidos de la sangre de estos pacientes pueden tener aplicaciones prácticas para el diagnóstico y pronóstico. Debe considerarse además su posible valor epidemiológico, así como para la investigación, el tratamiento antipsicótico y futuros trabajos dirigidos al tratamiento preventivo, así como los aspectos relacionados con relación a su posible utilización en medicina legal como una prueba pericial teniendo en cuenta los resultados obtenidos en un reciente estudio a doble ciego que confirmó el alto valor discriminativo de esta prueba entre pacientes y controles.

**Palabras clave:** esquizofrenia | psicosis afectiva | reacción de aglutinación | alteraciones citopatológicas | plaquetas | microscopía electrónica | virus |

For 23 years we made studies about the viral hypothesis of schizophrenia by means of electron microscopic techniques. We studied limbic structure samples from young adult's dead schizophrenic patients, from fetuses of schizophrenic mothers and chicken embryos experimentally inoculated with cerebrospinal fluid (CSF) from schizophrenic patients. In the last ten years we have performed studies of blood and cerebrospinal fluid samples from schizophrenic patients and some cases of affective psychosis. We have found some alterations with the same characteristic to those observed in the central nervous system, which are compatible with: a) the viral hypothesis and b) with herpes simplex hominis type I virus, when immuno-electronmicroscopic techniques were made. We also observed an agglutination reaction (plasma-CSF) with specific morphologic alterations in platelets that led us to establish a cytopathological diagnosis valuation scale. The results obtained from the blood of these patients could have practical applications for diagnosis and prognosis. Its possible epidemiological value must be considered overmore,

as for research, to evaluate the antipsychotic treatment, future works directed to preventive treatment and aspects related to forensic medicine as skill test, considering the results obtained in a recent double blind study which confirmed the high discriminative value of this test between patients and controls.

**Keywords:** schizophrenia | affective psychosis | agglutination reaction | cytopathological alterations | platelets | electron microscopy | viruses

**IMAGENES**

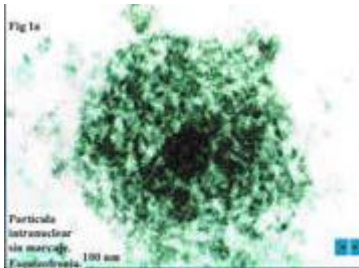


Fig. 1a.



Fig. 1c.

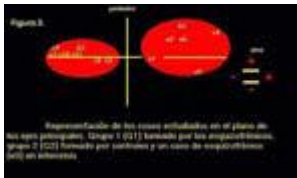


Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.

Tabla 2

Grupos	Area plaqueta (μ²)	Perímetro plaqueta (μ)	Compacidad	Area filopodia (μ²)	Perímetro filopodia (μ)
<b>Control</b>	19.81±1.14 <sup>a</sup> (105)	8.60±0.25 <sup>a</sup> (105)	0.67±0.02 (105)	0.62±0.04 <sup>a</sup> (33)	1.46±0.25 <sup>a</sup> (33)
<b>Enfermos</b>	24.25±10.3 <sup>b</sup> (126)	9.73±0.22 <sup>b</sup> (126)	0.66±0.02 (126)	7.95±0.91 <sup>b</sup> (28)	4.55±0.37 <sup>b</sup> (28)
<b>Significación</b>	**	**	ns	***	***

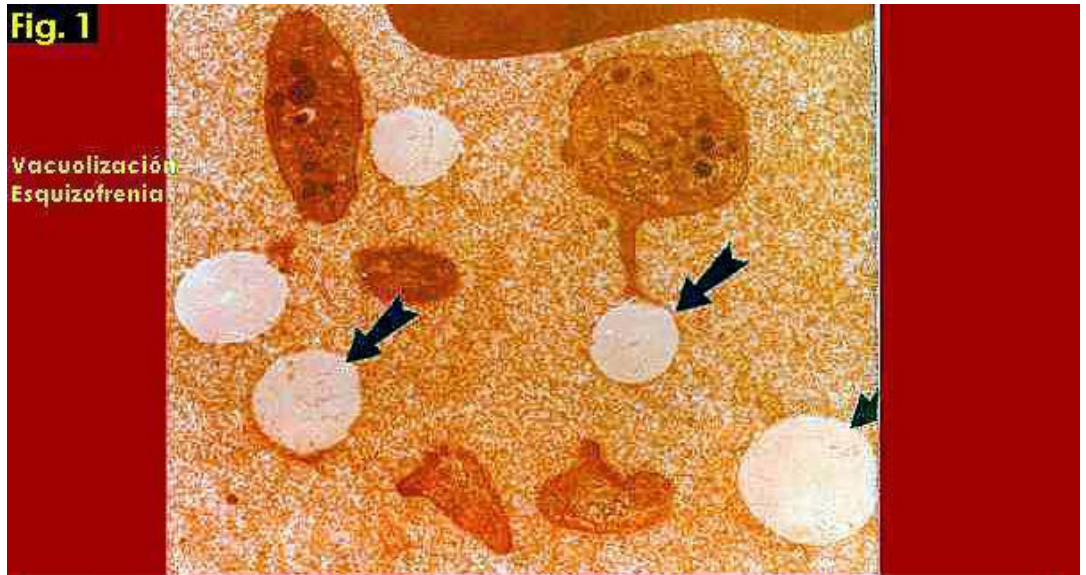
Valores en media ± error estandar

Medias con letras comunes no difieren significativamente

Valores ( ) : número de muestras

\*\* para P < 0.01 \*\*\* para P < 0.001

**Fig. 1**



Se observa en la figura grandes vacuolas (flechas) que se originan de las plaquetas. Examen al microscopio electrónico de una muestra de sangre periférica de un paciente esquizofrénico durante la fase crítica de la enfermedad

## INTRODUCCION

En nuestros estudios en el sistema límbico de pacientes esquizofrénicos fallecidos encontramos evidencias directas de partículas virales y antígeno del virus herpes simplex hominis tipo I. Iguales hallazgos fueron observados en fetos de madres esquizofrénicas y en animales experimentalmente inoculados con líquido céfalo- raquídeo (LCR) (1) Fig 1a y 1b. Estos resultados han sido considerados como la primera evidencia directa de virus en el sistema nervioso central en la esquizofrenia (2). Estudiando sangre y LCR en pacientes esquizofrénicos observamos una reacción de aglutinación que aparecía en un 45% de los pacientes estudiados. Esta reacción aparecía cuando se ponían en contacto directo el plasma y el LCR. Este hecho nos hizo pensar en el desarrollo de un marcador biológico para la enfermedad, ya que la ausencia de una prueba biológica de alto valor diagnóstico en la esquizofrenia (3) (4) ha dificultado el desarrollo de su investigación en diferentes áreas: clínicas, de laboratorio, experimentales y epidemiológicas (5) entre otras, al no poderse definir con certeza los grupos de estudio. Según algunos autores, "en la actualidad y en ausencia de marcadores biológicos mensurables, el diagnóstico de las enfermedades psicóticas se basa principalmente en el análisis de los síntomas y en la historia clínica de la enfermedad y la gran mayoría de los criterios diagnósticos (basados en la CIE-10 o en el DSM-IV) son el reflejo de un acuerdo convencional de un comité de expertos con una justificación empírica limitada" (6).

Si dicha prueba se modifica con la evolución de la enfermedad, cuando esta pasa del periodo crítico al intercrítico, cobra por lo tanto a su vez valor pronóstico, siendo útil en diferentes aspectos, por ejemplo: observar la respuesta del paciente a un tipo de tratamiento o a una combinación de los mismos. La prueba en sí puede favorecer el desarrollo de investigaciones dirigidas al aspecto preventivo de la enfermedad, si se comprueba su relación con la etiopatogenia del trastorno. Por otra parte un diagnóstico precoz contribuiría a un tratamiento temprano y en consecuencia a una evolución más favorable. Desde hace 10 años (7) hemos venido trabajando en una prueba biológica en la esquizofrenia y en la psicosis afectiva a partir de muestras de sangre de pacientes en etapas productivas de la enfermedad. Se fundamentó este estudio en las observaciones sobre la reacción de aglutinación, donde comprobamos con microscopía óptica y mediante examen directo con microscopía electrónica que la misma era el producto de microaglutinaciones de plaquetas (Fig 1c). Decidimos entonces estudiar las plaquetas con técnicas de microscopía electrónica de transmisión, observando que en el grupo psicótico, éstas se podían diferenciar claramente de las plaquetas observadas en personas normales, especialmente si en el momento de toma de la muestra el paciente se encontraba en el período crítico de la enfermedad. Los resultados así obtenidos, orientaron hacia una prueba de alto valor diagnóstico ya que permitía distinguir entre un paciente y una persona normal con un rango de probabilidad de 100%, surgiendo así una escala de evaluación semicuantitativa con 7 variables con un margen de puntuación por encima del cual se consideraba patológica (8) (9). Estos resultados se confirmaron en un estudio a doble ciego a través de un programa computarizado de procesamiento de imágenes y de un análisis de varianza a los diferentes indicadores morfométricos encontrados por grupos de psicóticos y controles, donde los profesionales que intervinieron en estos dos aspectos desconocían el origen de las muestras a analizar (10). Por todo lo referido, pensamos que otro importante campo de posible aplicación es el médico legal, donde puede constituirse en una prueba pericial de alto valor diagnóstico, aplicable a aspectos jurídicos tales como la comisión de delitos de distinta naturaleza o aquellos relacionados con la seguridad social y laboral entre otras consideraciones, ya que reúne las características de una prueba pericial: "expresión concreta del objeto del dictamen pericial, relación detallada de todas las operaciones practicadas y de sus resultados y las conclusiones que en vista de tales datos se formulen conforme con los principios y reglas de la ciencia, arte, técnica o práctica" (11).

**Objetivos:** Exponer los resultados obtenidos en una prueba biológica en sangre en pacientes psicóticos (esquizofrenia y psicosis afectiva) para que se considere su aplicación, entre otros aspectos, al diagnóstico positivo de la enfermedad, al pronóstico, epidemiología, investigación, tratamiento y aspectos jurídicos, como prueba pericial.



## MATERIAL Y METODOS

Muestras de sangre (10 ml) de un total de 35 pacientes psicóticos: 30 pacientes esquizofrénicos con diferentes formas clínicas, 5 psicosis afectivas (criterio diagnóstico del DSM-IV) y 20 controles, fueron obtenidas mediante consentimiento informado, conforme a los criterios bioéticos para la investigación y con la aprobación del Comité de Ética de la Institución. Estas muestras fueron tratadas con anticoagulante tipo EDTA sódico. Las edades de pacientes y controles estuvieron comprendidas entre 20 y 35 años. Ambos sexos estuvieron representados en forma proporcional. A cada paciente y control se le realizó un cuestionario para obtener datos relacionados con nombre, edad, fecha de nacimiento, antecedentes familiares de psicosis, en el caso de los pacientes: síntomas psiquiátricos presentes así como frecuencia y duración de las crisis. Las muestras de sangre fueron estudiadas mediante técnicas ultramicroscópicas descritas en trabajos anteriores (12). Se estableció una relación entre la evolución clínica, (estado crítico o no) y los resultados de la prueba biológica. La escala de evaluación se aplicó a cada paciente y control (Tabla 1). Aquellas puntuaciones por encima de 11, se consideraron patológicas. Mediante un estudio morfométrico computarizado (10), se analizaron las imágenes ultramicroscópicas de las plaquetas de algunos de los pacientes esquizofrénicos y controles sanos ya estudiados. Se consideraron tres aspectos cuantificables de la escala de evaluación citopatológica diagnóstica ya descrita: tamaño de las plaquetas y modificaciones de su forma y de la forma y tamaño de sus prolongaciones o filopodias, midiéndose área, perímetro, talla y compacidad, en cada uno de estos aspectos. Los pacientes, escogidos al azar, (n=6) motivos del estudio, había sido categorizados según el criterio diagnóstico DSM-IV. Los controles (n=5) pertenecían a grupos de edades comparables (entre 20 y 35 años), no tenían antecedentes de enfermedades psiquiátricas, ni neurológicas. Los negativos de las imágenes de plaquetas fotografiadas fueron estudiados del siguiente modo: los negativos fueron colocados en un negatoscopio y las plaquetas se visualizaron con una cámara de video a color CCD-151X (Sony), la cual estaba conectada a una tarjeta conversora A/D (EyeGrabber, Taiwan) e incorporada esta última al bus de una PC Pentium 333 MHz y 32 Mb de RAM. El sistema emplea dos monitores, uno SVGA multisync (Japan) para la visualización y medición de estructuras y un segundo monitor para el manejo del programa. El software empleado fue el IMAGCELL, un sistema para el procesamiento y análisis morfométrico de imágenes que permite la captura de la imagen y la realización de mediciones de forma semiautomática. El programa escrito en lenguaje Borlan Pascal 7.0, soportado sobre windows, permite la calibración de la imagen digitalizada con igual espaciamiento horizontal y vertical, acorde a la distancia del objeto y el aumento del lente empleado. Los índices morfométricos estudiados fueron: área, perímetro, talla y compacidad (índice de esfericidad) de la totalidad de las plaquetas, así como área, perímetro, talla y compacidad de las filopodias individualmente. En este estudio se desconocía la procedencia de la imagen, para lo cual a cada negativo se le hizo una codificación mediante números y letras. Para la determinación de las variables de interés se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a los diferentes indicadores morfométricos por grupos de psicóticos y controles. Para la caracterización de los diferentes grupos en estudio se efectuó un análisis de componentes principales considerando como variables los caracteres área y perímetro de plaquetas para los cuales los grupos psicóticos y controles presentaron diferencias estadísticamente significativas. La matriz de datos originales se consideró dividida en los dos grupos antes mencionados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aplicando la escala de evaluación citopatológica diagnóstica, todos los pacientes en período crítico tuvieron las mayores puntuaciones, aquellos en período intercrítico, las menores (n=5). Todos los pacientes psicóticos estuvieron por encima de 11 y todos del grupo control por debajo de esta cifra. No hubo relación entre el tipo de tratamiento recibido, la duración de la enfermedad, la edad o el sexo, la forma clínica de la enfermedad y la puntuación total. Pacientes con primer brote y sin tratamiento con neurolépticos, antes que la prueba se realizara, tuvieron puntuaciones altas similares a aquellos que habían tenido una mayor evolución de la enfermedad y habían recibido neurolépticos o tratamiento electroshockeante por largos períodos de tiempo. Un aumento en la concentración de glucógeno y la vacuolización se consideraron los dos elementos más importantes que indicaron el estado de actividad de la enfermedad en su período crítico (Fig 2). Todas las imágenes procesadas por el programa computarizado que procedían de plaquetas de pacientes psicóticos mostraron un aumento del área y del perímetro altamente significativo ( $p < 0.01$ ) cuando fueron comparados con los procedentes de controles sanos (ver tabla 2), lo que confirma los resultados obtenidos y publicados en trabajos anteriores (8) (9). Un aspecto novedoso en este trabajo fue la medición y detección de un aumento significativo en el área y perímetro de las filopodias procedentes de los pacientes ( $p < 0.001$ ). Sin embargo, la comparación realizada respecto a la irregularidad de la forma de las plaquetas, dada por la compacidad, no difirió entre los grupos, indicando que la diferencia morfológica entre grupos está dada por el aumento de las dimensiones de las plaquetas y no por un cambio en la irregularidad de su forma.

No escapa a nuestra atención el hecho de que el único paciente esquizofrénico al que se le realizó la

toma de la muestra en un período entre crisis de la enfermedad (paciente e3) clasificó dentro del grupo control (G1), Fig. 3, aunque con una tendencia al aumento del valor del área de plaqueta en relación al resto de los clasificados en este grupo. Este hallazgo es una evidencia del valor pronóstico del análisis morfométrico en esta patología. No obstante, dada la existencia de un solo caso de intercrisis en este estudio, requiere la realización de un estudio con un número mayor de casos en esta etapa clínica evolutiva para su confirmación.

Los resultados obtenidos confirmaron nuestras observaciones en estudios anteriores. El análisis a doble ciego demostró inequívocamente que en estos resultados no influyó una apreciación subjetiva parcializada lo que ratifica aún más el valor de la escala de evaluación citopatológica diagnóstica, ya que fueron analizados en este estudio sólo 2 de las 7 alteraciones encontradas en dicha escala y este análisis fue suficiente para discriminar por métodos cuantitativos la diferencia entre pacientes y controles. O sea que las 5 alteraciones restantes de la escala aumentan aun más la posibilidad diagnóstica positiva. Estas últimas tienen características cualitativas en algunas, como es la presencia de partículas con morfología viral dentro de las vacuolas, de forma hexagonal, (Fig 4 y 5) que sólo se observó en los pacientes, por lo tanto tienen en sí valor diagnóstico, pero no aparecen en todos los pacientes, por lo que es necesario la suma de las alteraciones señaladas en la escala, para que su valor sobrepase el límite de normalidad. La presencia de estas partículas hexagonales constituyen un elemento más a favor de la posible etiología viral de la enfermedad, considerada en la literatura médica por datos clínicos (13), epidemiológicos (14), de laboratorio (15), experimentales (16), ultraestructurales (17) e inmunológicos (18), entre otros.

## CONCLUSIÓN

Las alteraciones específicas encontradas en las plaquetas de pacientes psicóticos (esquizofrénicos y psicosis afectivas) en estudios ultraestructurales, permitió establecer una escala de evaluación citopatológica diagnóstica. Un estudio a doble ciego confirmó la validez de estos resultados en un análisis morfométrico computarizado de las imágenes de plaquetas de pacientes y controles sanos. Se considera el valor diagnóstico de la prueba y se destaca por lo tanto su valor para la investigación, el tratamiento, epidemiología, para el desarrollo de métodos preventivos, así como en medicina forense, teniendo como base la alteración específica de las plaquetas.

## NOTAS AL PIE DE PÁGINA

**Correspondencia:** Segundo Mesa. Especialista en Neurología. Hospital Psiquiátrico de la Habana. Cuba. <mailto:segundo@infomed.sld.cu>

## REFERENCIAS

1. Mesa Castillo, S., Pérez, R., Ancheta, O., Cabrera, J. "Esquizofrenia. Estudio ultraestructural del sistema límbico. Hallazgos en el núcleo amigdalino". Revista del Hospital Psiquiátrico de la Habana, Vol. XIX, No. 2, abril-junio, pp 197-225, 1978.
2. Yolken, R.H., Torrey, E.F. "Viruses, Schizophrenia and Bipolar Disorder", Clin. Microb. Review, Jan:131-145, 1995
3. Jablensky, A "Balance of the Century". Session 1, Epidemiology, 4<sup>th</sup> Symposium, Search for the Causes of Schizophrenia, Guarujá, Brazil, 10-13<sup>th</sup>, November, 1998
4. Tsuang, M. New Approaches. "Genetics of Schizophrenia", Session 3, Search for the Causes of Schizophrenia, Guarujá, Brazil, 10-13<sup>th</sup>, November, 1998
5. Torres, Y., "Introducción a la Epidemiología Psiquiátrica". Mesa Redonda 9. Primer Congreso Virtual de Psiquiatría, 1 de Feb-15 Mar, 2000.
6. Navarro Mateu, F., "Hipótesis del Neurodesarrollo y Psicosis: Implicaciones Diagnósticas". Mesa Redonda 4. Primer Congreso Virtual de Psiquiatría, 1 de Feb-15 Mar, 2000.
7. Mesa Castillo, S. "Sobre una Prueba Biológica en Esquizofrenia", 2nd Congreso Latino-Americano de Biotecnología, Habana, Agosto 7-11, 1990

8. Mesa Castillo, S. "Schizophrenia: cytopathological diagnosis valuation scale", *Carib. Med. Journal, Trinidad&Tobago*, Vol. 60, nos. 3&4, 29-32, 1998
9. Mesa Castillo, S. "Esquizofrenia: sobre una escala de evaluación citopatológica diagnóstica". *Revista Electrónica de Psiquiatría*, Vol. 3, no. 2, Junio, 1999. ISSN 1137-3148
10. Mesa Castillo, S., Niubó, E., González, L. "Esquizofrenia: análisis computarizado a doble ciego de las imágenes obtenidas por microscopía electrónica". *Primer Congreso Virtual de Psiquiatría*, 1 de Feb-15 Mar, 2000
11. Grillo Longoria, R., *Derecho Procesal Civil II*, p. 36 y 37, Editorial Pueblo y Educación, 1986.
12. Mesa Castillo, S. "Schizophrenia: Agglutination Test"(II), 9th World Congress of Psychiatry, June 6-12, Rio de Janeiro, Brazil, Abstracts. Session 56, New Research, p. 77, 1993
13. Torrey, E.F. "Functional Psychoses and Viral Encephalitis", *Integr. Psychiatry*, 4:224-36, 1986
14. Hare, H.E. "Season of Birth in Schizophrenia and Neurosis", *Am. J. Psychiatry*, 132:1168-71, 1975
15. Libikova, H. "Schizophrenia and Viruses. Principles of Etiologic Studies", *Adv. Biol. Psychiat.*, 12:20- 51, 1983
16. Baker, H.F., Bloxham, C., Crow, T.J., Davies, H., Ferrier, I.N., Jhonstone, E.C., Parry, R.P., Ridley, R.M., Taylor, G.R., Tyrrell, D.A.J. "The Viral Hypothesis: Some Experimental Approaches", *Adv. Biol. Psychiat.*, 12:1-19,1983
17. Mesa Castillo, S. "Análisis digital de las imágenes obtenidas por inmuno-electromicroscopía en cerebros de pacientes psicóticos, en su descendencia y en animales experimentalmente inoculados. Primeros resultados", *Rev. Hosp. Psiq. Habana*, 30:343-48, 1989
18. Ahokas, A., Rimón, R., Koskiniemi, M., Vaheri, A., Julkunen, I., Sarna, S. "Viral Antibodies and Interferon in Acute Psychiatric Disorders", *J. Clin. Psychiatry*, 48:194-96, 1987

# IV-CVHAP : TALLERES DE ACTUALIZACIÓN EN PATOLOGÍA



## PATOLOGÍA OSTEOARTICULAR

Moderado por: Dr. Alberto G. Ayala y Dra. Carmen García Macías

Fecha: 12/06/2001

Ref:	Título y Autores :	Tipo:	Fecha y Estado :
77	<b>TUMOR MIXTO MALIGNO PRIMARIO DE HUESO (PATRÓN TIPO GLÁNDULA SALIVAL).</b> <i>Eduardo Brandán Recalde; Mónica Matsuzaki; Paola Senatore; Alejandro Zaya. 1ª Cátedra de Patología. Hospital Nacional de Clínicas. Univ. Nac. de Córdoba, Argentina.</i>	PÓSTER-E - 033  Comentarios	31/01/2001 Sin evaluar
14	<b>EXÓSTOSIS BURSATA.</b> <i>Alberto Giménez Bascuñana. Hospital Universitario Morales Meseguer. Servicio de Anatomía Patológica. Murcia, España.</i>	PÓSTER-E - 005  Comentarios	29/11/2000 Publicado
	<b>Siguiente Taller</b>	<b>Fecha Convocatoria:</b>	12/06/2001

