

## **Esquizofrenia Paranoide: Aminoácidos libres en el Líquido Cefalorraquídeo.**

*Dexy Prieto-Rincón, Lorena Piñerúa-Shuhaibar, Ernesto Bonilla,  
Annawajhala Prasad, Arelis Arrieta.*

Inbiomed-Fundacite e Instituto de Investigaciones Clínicas,  
Universidad del Zulia. Apartado 376, Maracaibo, Venezuela.

**Palabras claves:** aminoácidos, esquizofrenia, líquido cefalorraquídeo, glutamina.

**Resumen.** En el presente estudio los autores reportan un incremento de la concentración de glutamina en el líquido cefalorraquídeo de siete pacientes esquizofrénicos paranoides, sin cambios en los niveles de los 20 aminoácidos libres restantes.

*Recibido: 19-09-91. Aceptado: 10-03-92*

### **INTRODUCCION**

Han aparecido muy pocas publicaciones relacionadas con los niveles de los aminoácidos libres en el líquido cefalorraquídeo (L.C.R.) de pacientes esquizofrénicos. Kim y col. (7), reportaron un descenso en el contenido de ácido glutámico en el cerebro y en el L.C.R.; sin embargo, sus hallazgos no fueron confirmados por otros investigadores (11). Bjerkenstedt y col (2), encontraron un incremento de las concentraciones de histidina en el L.C.R. de pacientes con psicosis aguda del tipo esquizofrénico; las concentraciones de isoleucina y leucina estaban elevadas solamente en las mujeres.

Reveley y col. (12), reportaron que las concentraciones de alanina, glicina, leucina y fenilalanina eran mayores en el L.C.R. de los pacientes esquizofrénicos que en los controles. Además, observaron que la elevación de la concentración de alanina se correlacionó positiva y significativamente con el alargamiento de los ventrículos cerebrales. Muchos de sus pacientes eran esquizofrénicos crónicos y ocho de ellos estaban recibiendo tratamiento médico para el momento de la punción lumbar.

Macciardi y col. (10) estudiaron la concentración de varios aminoácidos en el plasma sanguíneo de esquizofrénicos. La glicina estaba anormalmente elevada en enfermos paranoides o con esquizofrenia

indiferenciada. Como la glicina, junto con el glutamato y la serina, desempeña un rol complejo en la regulación de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), que son importantes en el control de los procesos cognoscitivos normales, estos autores postularon que esos aminoácidos pudieran desempeñar un papel importante en la fisiopatología de la esquizofrenia.

Korpi y col. (8) estudiaron las concentraciones de glutamato, glicina, taurina, glutamina y alanina en el L.C.R. de 17 pacientes esquizofrénicos crónicos y 12 controles neurológicos. No encontraron diferencias significativas en ninguno de los aminoácidos entre los dos grupos estudiados. Además, tampoco detectaron diferencias entre los pacientes tratados con haloperidol y los no tratados.

Las diferencias en los hallazgos reportados por los grupos de investigación señalados pudieran ser debidas, entre otros factores, al tratamiento neuroléptico y al grado de cronicidad de la enfermedad. En el presente trabajo reportamos los resultados de la determinación de los niveles de aminoácidos libres en el L.C.R. de pacientes esquizofrénicos paranoides y de sujetos controles sin sintomatología psiquiátrica.

## MATERIALES Y METODOS

### Pacientes y controles.

Se estudiaron cinco sujetos controles (2 hombres, 3 mujeres), sin manifestaciones psiquiátricas, cuyas edades estaban comprendidas entre los 28 y 56 años ( $41 \pm 11,3$ ; promedio  $\pm$  D.E.) y siete pacientes

esquizofrénicos paranoides (3 hombres, 4 mujeres; edad promedio  $26,7 \pm 8,1$ ; límites: 19 y 39 años). Para este estudio se obtuvo el consentimiento de los sujetos y/o de sus familiares inmediatos, después de explicarles el procedimiento. Los enfermos paranoides se detectaron en la emergencia del Hospital Psiquiátrico (Maracaibo, Venezuela) durante un episodio psicótico agudo, y fueron evaluados independientemente por dos psiquiatras, quienes utilizaron los criterios del DSM-III-R para la Esquizofrenia Paranoide (1). Los sujetos controles fueron seleccionados quirúrgicamente utilizando anestesia raquídea y que no presentaban manifestaciones neurológicas ni psiquiátricas.

El paciente 1 era un esquizofrénico crónico (9 hospitalizaciones previas) que no recibió medicación durante las dos semanas precedentes. El paciente 2 había sido hospitalizado 7 veces y no estaba bajo tratamiento médico. La paciente 3 no había sido hospitalizada anteriormente; su padre es un esquizofrénico y ella ha estado bajo tratamiento por un mes: trifluoperazina (30 mg) y cloropromazina (300 mg), diariamente. El paciente 4 estaba libre de drogas; primer episodio psicótico. Paciente 5: primera hospitalización; bajo tratamiento por 5 días: trifluoperazina (30 mg), prometazina (50 mg) y levopromazina (250 mg), diariamente. Paciente 6: primera hospitalización; estaba recibiendo trifluoperazina (30 mg) y cloropromazina (300 mg), diariamente. Paciente 7: 14 entradas

previas al hospital; no estaba bajo tratamiento.

Obtención de L.C.R. Lumbar.

Las muestras de L.C.R. fueron tomadas entre las 8 y 11 a.m., después de que los pacientes y los controles habían descansado durante 8 horas, por lo menos, y habían ayunado por 14 horas. La punción lumbar se realizó entre L4 y L5 en todos los individuos. Las muestras de L.C.R. se recogieron en tubos estériles colocados sobre hielo. Después de centrifugados a 3.000 x g durante 10 minutos, los sobrenadantes se almacenaron a -70 °C hasta el análisis, el cual fue realizado en los tres meses siguientes a la toma de la muestra.

Análisis de Aminoácidos.

Chromatographic). Las inyecciones (20 ul) se realizaron con una válvula Rheodyne 7120. Se utilizó una columna ODS-C18 Microsorb de Rainin Instruments (46 x 250 mm; partículas de 50 u de tamaño). Para el registro y cuantificación de las alturas de los picos, se usó un integrador-computador Perkin Elmer modelo 3600.

Se usó agua tipo A obtenida de un sistema de filtración Millipore RO-Milli Q. Se preparó una solución tampón de acetato de sodio 0,05 M (A), pH 6,05, la cual se mezcló con cantidades variables de metanol (B) y tetrahidrofurano (C) para ser usadas en un sistema isocrático de 5 etapas, como se señala a continuación:

Inyección No.	Composición (V/V/V/) % A + B + C	Tiempo (min)
1	85 + 15 + 1	0,00
2	85 + 15 + 4	0,10
3	70 + 30 + 1	8,25
4	50 + 50 + 1	14,00
5	30 + 70 + 1	23,00
6	90B + 10 H <sub>2</sub> O	27,00
7	85 + 15 + 1	32,00

El análisis de los aminoácidos se realizó mediante cromatografía líquida de alta presión. El procedimiento utilizado, semejante al descrito por Jones y col. (6), ha sido publicado con anterioridad (4).

Se utilizó una bomba isocrática Dupont modelo 8800 en conjunción con un fluorímetro Kratos FS-870, con una longitud de onda de excitación de 330 nm y de emisión, de 418 nm. La sensibilidad del fluorímetro se fijó en 570 en la escala de 0.1 uA. Las soluciones tampones se cambiaban automáticamente mediante una válvula motorizada de teflon (Mer

Las inyecciones se realizaban cada 40 minutos, lo que permitía el análisis de 8 a 12 muestras por día. Los aminoácidos de alta pureza, el mercaptoetanol y el ortoftaldialdehído (OPA) fueron adquiridos de Sigma Chemical Co (U.S.A.) Se preparó una mezcla estándar de aminoácidos (excluyendo asparagina y glutamina) en HCl 0.1N; la concentración final de cada aminoácido fue de 2 mM; pero la ornitina y lisina fue de 5,0 mM. Se preparó una mezcla acuosa separada de asparagina y glutamina (concentración final, 2 mM). Las dos soluciones stock se congelaron a -20

°C. Del estándar de trabajo se preparó una dilución 1:100 con HCl 0.1 N.

Las muestras de L.C.R. se descongelaron, se trataron con metanol al 99,7% y se centrifugaron a 25.000 x g por 15 minutos, para remover las proteínas. Del sobrenadante resultante se tomaron 200 ul los cuales se mezclaron con 20 ul del reactivo OPA. Noventa segundos después se agregó 1.6 ml de una solución tampón de acetato de sodio 0,05 M, pH 4,8. De allí se tomaron 20ul para inyectar en la columna de cromatografía.

#### Análisis Estadístico.

Se utilizó el análisis de variancia tomando como sus tres factores principales a la edad, el sexo y los grupos analizados (esquizofrénicos y controles) (14). También utilizamos la prueba t de Student para calcular la diferencia entre los promedios. Los valores de p menores de 0,05 fueron considerados significativos.

### RESULTADOS

Como se muestra en la tabla I, en los pacientes esquizofrénicos

**TABLA I**  
AMINOACIDOS LIBRES EN EL LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO DE  
PACIENTES ESQUIZOFRENICOS Y CONTROLES.

Aminoácidos	Sujetos Controles (N=5)	Pacientes Esquizofrénicos (N = 7)
Alanina	29,7 ± 12,5 *	24,1 ± 7,0
Arginina	28,1 ± 12,6	23,7 ± 7,4
Asparagina	9,0 ± 3,7	12,7 ± 3,0
Aspartato	1,8 ± 0,7	1,3 ± 0,8
Citrulina	1,7 ± 0,9	2,0 ± 0,5
Glutamato	1,4 ± 0,6	1,5 ± 0,6
Glutamina	354,5 ± 118,7	547,4 ± 81,4**
Glicina	4,0 ± 1,9	4,7 ± 1,0
Histidina	15,1 ± 6,3	12,1 ± 3,4
Isoleucina	5,5 ± 2,3	6,0 ± 0,9
Leucina	13,8 ± 6,3	13,4 ± 1,8
Lisina	44,9 ± 24,1	24,3 ± 18,1
Metionina	3,6 ± 1,8	2,8 ± 0,9
Ornitina	6,9 ± 4,3	3,3 ± 2,4
Fenilalanina	10,7 ± 4,4	9,2 ± 2,0
Serina	28,4 ± 11,2	21,9 ± 6,4
Taurina	5,3 ± 2,6	4,6 ± 0,8
Treonina	35,8 ± 16,5	32,3 ± 10,8
Triptófano	2,2 ± 0,7	1,8 ± 0,6
Tirosina	12,8 ± 5,7	11,8 ± 2,8
Valina	19,9 ± 9,0	17,9 ± 4,0

\* Los valores están expresados en  $\mu\text{mol/litro}$  y representan los promedios  $\pm$  D.E.

\*\*  $p < 0,05$

encontramos concentraciones de glutamina significativamente mayores en el L.C.R. Los niveles de los restantes aminoácidos libres no se diferenciaron de los valores controles.

No se detectó ninguna correlación entre la edad, el sexo y el contenido de los aminoácidos libres en el L.C.R.

### DISCUSION

En el presente estudio no pudimos confirmar los hallazgos de Bjerkenstedt y col. (2) quienes reportaron un aumento de los niveles de histidina en el L.C.R. de pacientes esquizofrénicos. De la misma manera, nosotros no encontramos incrementos significativos en las concentraciones de alanina, glicina, leucina y fenilalanina en el L.C.R. de los pacientes esquizofrénicos, como lo reportaron Reveley y col. (12). Por otro lado, estos dos grupos de investigadores así como Korpi y col. (8) no detectaron alteraciones en el contenido de glutamina del L.C.R.

Nosotros tomamos las muestras del L.C.R. cuando los pacientes eran atendidos en la sala de emergencia del Hospital Psiquiátrico. Por el contrario, Bjerkenstedt y col. (2) hospitalizaron a sus pacientes por un periodo de tres días a dos semanas antes de su estudio. Esta diferencia podría explicar el incremento de la glutamina en el L.C.R., ya que la salida de este aminoácido, del músculo a la sangre y al L.C.R., pudiera incrementarse durante el episodio agudo, debido a la hipermotilidad que presentaban estos pacientes horas antes de la

punción lumbar (13). La dieta es otro factor importante a considerar cuando se comparan nuestros resultados con los reportados previamente por Bjerkenstedt (2). En efecto, este investigador trabajó con pacientes cuyas dietas eran similares, mientras que en los estudiados por nosotros el estatus nutricional no fue analizado. Por lo tanto, es posible que los elevados niveles de glutamina encontrados en los pacientes esquizofrénicos estén más relacionados al estado nutricional que a la esquizofrenia. El aumento en la concentración de glutamina en el L.C.R. pudiera explicarse también por la disminución de la función hepática, con el consiguiente descenso de la destoxificación normal del amoníaco (3). La elevada concentración de glutamina cerebral, reportada en pacientes hiperamonémicos, puede ser debida a la estimulación de la enzima sintetasa de la glutamina y al descenso de la degradación de la glutamina (5,8). En nuestro estudio no determinamos los niveles de amoníaco en el L.C.R. ni en la sangre de los pacientes.

Al igual que Perry (11) y Korpi y col. (8) nosotros no encontramos ninguna alteración de las concentraciones del glutamato en el L.C.R. Este hallazgo parece indicar que la actividad neuronal glutamatérgica es normal en los esquizofrénicos. Esta suposición está apoyada por un estudio realizado por Korpi y col. (9) en el cual demostraron que las concentraciones de GABA, taurina, glicina, glutamato, aspartato, glutamina, triptófano y alanina, eran

similares en el núcleo caudado, núcleo acumbens, corteza frontal, amígdala e hipotálamo de sujetos esquizofrénicos crónicos y controles normales.

### AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo fue financiado por CONICIT, LAGOVEN y Cerveceria Modelo.

### ABSTRACT

**Paranoid Schizophrenia: Free Amino Acids in Cerebrospinal Fluid.** Prieto-Rincón, D. (Departamento de Neurobiología, Inbiomed, Fundacite-Zulia, Apartado 376, Maracaibo, Venezuela), Piñerúa-Shuhaibar L., Bonilla E., Prasad A.L.N., Arrieta A. *Invest Clín* 32(4): 149 - 155, 1.991

The authors reported an increased in the cerebrospinal fluid concentration of glutamine in seven paranoid schizophrenic patients. They found no changes in the levels of the remaining 20 free amino acids assayed.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION DSM-III-R.: Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Third edition revised. Washington, D.C., A.P.A., 1987.
- 2- BJERKENSTEDT, L., EDMAN, G., HAGENFELDT, L., SEDVALL, G.: Plasma amino acids in relation to cerebrospinal fluid monoamine metabolites in schizophrenic patients and healthy controls. *Br J Psychiatry* 147: 276-282, 1985.
- 3-BODE, B., TAMARAPPOO, B.K., MAILLIARD, M., KILBERG, M.S.: Characteristics and regulation of hepatic glutamine transport. *J Parenter Enteral Nutr* 14: 51S-55S, 1990.
- 4- BONILLA, E., PRASAD, A.L.N., ESTEVEZ, J., HERNANDEZ, H., ARRIETA, A.: Changes in serum and striatal free amino acids after Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus infection. *Exp Neurol* 99: 647-654, 1988.
- 5- HAUSSINGER, D.: Liver glutamine metabolism. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 14: 56S-62S, 1990.
- 6- JONES, B.N., PAABO, S., STEIN, S.: Amino acid analysis and enzymatic sequence determination of peptides by an improved ophthalaldehyde precolumn labelling procedure. *Liquid Chromatogr.* 4: 565-586, 1981.
- 7-KIM, J.S., KORNHUBER, H.H., HOLZMULLER, B., SCHMIDBURGK, W., MERGNER, T., KRZEPINSKI, G.: Reduction of cerebral spinal fluid glutamic acid in Huntington's chorea and schizophrenic patients. *Arch. Psychiatry Neurol. Sci.* 228: 7-10, 1980.
- 8-KORPI, E. R., KAUFMANN, C.A., MARNELA, K.M., WEINBERGER, D.R.: Cerebrospinal fluid amino acid concentrations in chronic schizophrenia. *Psychiatry Res.* 20: 337-345, 1987.
- 9-KORPI, E. R., KLEINMAN, J.E., GOODMAN, S.I., WYATT, R. J.: Neurotransmitter amino acids in post-mortem brains of chronic schizophrenic patients. *Psychiatry Res.* 22: 291-301, 1987.
- 10-MACCIARDI, F., LUCCA, A., CATALANO, M., MARINO, C., ZANARDI R., SMERALDI, E.: Amino acid patterns in schizophrenia: some new findings. *Psychiatry Res.* 32: 63-70, 1990.
- 11- PERRY, T.L.: Normal cerebrospinal fluid and brain glutamate levels in schizophrenia do not support the hypothesis of glutamatergic

- neuronal disfunction. *Neurosc. Lett.* 28: 81-85, 1982.
- 12- REVELEY, M.A., DE BELLEROCHE, J., RECORDATI, A., HIRSCH, S.R.: Increased CSF amino acids and ventricular enlargement in schizophrenia: A preliminary study. *Biol Psychiatry* 22: 413-420, 1987.
- 13- SIEGEL, G., AGRANOFF, B., ALBERS, R.W., MOLINOFF, P.: *Basic Neurochemistry*. Fourth Edition. p 541-564. Raven Press, New York. 1989.
- 14- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. S.A.S.: *Users Guide*. Raleigh, N.C., U.S.A., S.A.S. Institute Inc, 1985.