



# UNIVERSITAT DE BARCELONA

## Anticuerpos antineuronales y psicosis

Susana Arboleya Martínez

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



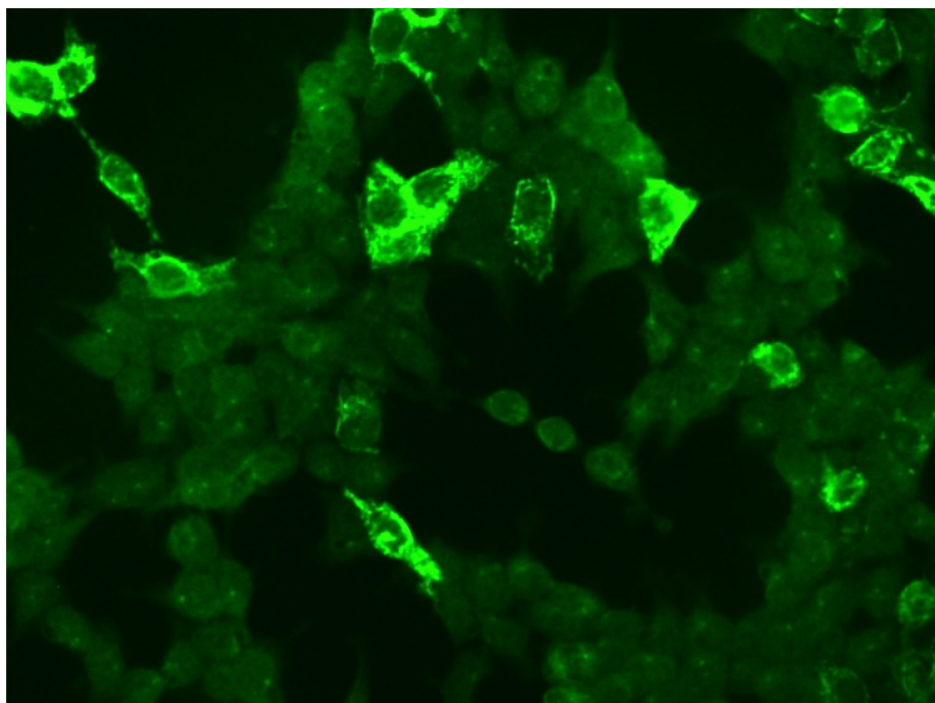
UNIVERSITAT DE  
BARCELONA



# ANTICUERPOS ANTINEURONALES Y PSICOSIS

**Susana Arboleya Martínez**

Tesis Doctoral, mayo 2017



# **ANTICUERPOS ANTINEURONALES Y PSICOSIS**

Memoria presentada por Susana Arboleya Martínez  
para optar al grado de Doctora en Medicina.

Esta memoria se ha realizado dentro del programa de Doctorado de Medicina e Investigación Translacional de la Universitat de Barcelona, línea de investigación Neurociencias clínicas y experimentales, bajo la dirección del Dr. Josep Maria Haro Abad (Universitat de Barcelona; Parc Sanitari Sant Joan de Déu) y la Dra. Maria Rosa Julià Benique (Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca).

Barcelona, mayo de 2017

*A mis padres,  
por su ayuda y apoyo incondicionales*

## **AGRADECIMIENTOS**

Cuando empecé la residencia en psiquiatría, en el año 2001, no podía imaginar que el tema que escogí para presentar en la sesión semanal sobre casos clínicos que organizaba en Sant Joan de Déu el Dr. Jaume Autonell sería el mismo que desarrollaría en mi tesis doctoral 16 años más tarde. El título de mi presentación fue “Ketamina y Manía” y tuve que buscar bibliografía en revistas de anestesia, porque la implicación de los receptores de N-metil D-aspartato (NMDA) en la psicosis aún despertaba un interés marginal. Ahora, desde la perspectiva de mi trabajo en el servicio de intreconsulta y tras haber desarrollado el proyecto que en esta tesis presento, sigo considerando que la interacción entre la psiquiatría y otras especialidades no es lo intensa que los pacientes necesitan.

En primer lloc vull donar les gràcies als Drs. Maria Rosa Julià (Hospital Son Espases, Mallorca) i Josep Maria Haro (Parc Sanitari Sant Joan de Déu, Barcelona), directors d'aquesta tesi.

Agraeixo molt a la Dra. Maria Rosa Julià que hagi confiat en mi, una psiquiatra jove i sense coneixements específics en immunologia, per dur a terme l'estudi d'autoanticossos en pacients amb primers episodis psicòtics. Gràcies a ella, a través del projecte de recerca en que es centra la meva tesi, em vaig implicar en la creació d'una unitat d'atenció específica a pacients amb psicosis incipient i vaig poder donar una profunditat especial a la meva mirada cap a aquests malalts.

Maria Rosa, m'has recolzat amb constància i respecte, sempre has estat accessible i el teu rigor i la teva actitud comprensiva i pacient han estat un exemple per mi. El teu impuls continu i la teva ajuda m'han permès dur a terme el projecte de tesi i alhora viure dos embarassos i dos canvis de feina i de ciutat.

Agraeixo al Dr. Josep Maria Haro la seva habilitat per dirigir-me a concentrar el meu esforç en el que és realment útil. La seva ajuda m'ha servit per concretar les meves idees i sintetitzar una informació que sovint ha estat complexa i allunyada del llenguatge i del cos de coneixement propis de la psiquiatria.

Ahora que soy madre comprendo lo valioso que es ayudar a crecer a tus hijos con amor, apoyándolos con respeto y transmitiéndoles que son capaces de conseguir lo que desean. Por esta razón os agradezco, papá y mamá, que desde vuestra posición de académicos y como personas que me queréis y me apoyáis, siempre me hayáis transmitido que con un poco de esfuerzo podría combinar mi trabajo con el desarrollo de tesis, sin dejar de lado mis proyectos de familia con Ivó. Muchas gracias por vuestra ayuda en todos los aspectos de mi vida, sin ella habría sido imposible conseguir acabar este trabajo habiendo pasado en estos últimos años por momentos vitales tan exigentes y a veces tan complicados.

Agraeixo a la Dra. Francesca Cañellas oferir-me formar part del projecte de recerca que ha donat lloc a la publicació conjunta amb la Universitat de Stanford.

Agraeixo al Dr. Joan Salvà el haver-me recolzat en les meves intencions de fer recerca i haver-me ajudat amb la bibliografia.

A mi companyera, la Dra. Patricia Herbera, le agradezco su buena disposición a responder a mis llamadas desde Barcelona para buscar datos en las historias clínicas.

Us dono las gràcies Mireia, Txell i Mar, per la vostra amistat i el vostre exemple. Les nostres trobades sempre m'han donat forces i m'han ajudat a no defallir en el procés de recerca i escriptura dels articles. Aquest any ens toca a la Mar i a mi i ja ho haurem aconseguit les quatre! Ho celebrarem ben aviat, a Barcelona o Palma!

Timy i Maria, gràcies pel vostre recolzament i la vostra ajuda amb els petits. S'ha acabat la maratón!

Finalment, Ivó moltes gràcies per creure que podia fer-ho i per caminar amb mi tots aquests anys. Finalment s'acaba el "estic fent la tesi" i passem pàgina a un etapa intensa i inoblidable.

Bruc, la teva aparició a la meva vida em va motivar a prémer l'accelerador i posar totes les energies en aquest projecte abans que naixessis! Gràcies petit!

Al Guiu li agraeixo la seva tranquil·litat i el seu bon humor. Has hagut d'arribar tu per posar el punt i final!

Ivó, Bruc i Guiu, als tres us agraeixo de tot cor fer-me la vida tan fàcil i sobretot, tan divertida.

## ÍNDICE

1. ABREVIATURAS .....	9
2. INTRODUCCIÓN .....	11
2.1. Hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia.....	11
2.1.1. Disfunción dopaminérgica en la esquizofrenia .....	11
2.1.2. Limitaciones de la hipótesis dopaminérgica .....	12
2.1.3. Disfunción glutamatérgica en la esquizofrenia .....	13
2.1.4. Evidencias de la hipótesis glutamatérgica.....	20
2.1.5. Consecuencias de la hipótesis glutamatérgica.....	26
2.2. Inmunidad y psicosis.....	26
2.2.1. Polarización tipo-2 en la esquizofrenia .....	27
2.2.2. Inflamación y neurodegeneración .....	28
2.2.3. GWAS, inmunidad y esquizofrenia.....	29
2.2.4. Modelos animales.....	29
2.2.5. El metabolismo de la quinurenina .....	29
2.2.6. Autoinmunidad y esquizofrenia.....	30
2.3. Anticuerpos antineuronales y psicosis.....	37
2.3.1. Lupus eritematoso sistémico y psicosis .....	37
2.3.2. Encefalitis límbica y psicosis .....	38
2.4. Evidencia de anticuerpos anti-receptores NMDA en las psicosis .....	48
2.5. Justificación del proyecto .....	55
3. HIPÓTESIS: .....	57
3.1. Hipótesis del estudio <i>Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis</i> .....	57
3.2. Hipótesis del estudio <i>Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis</i> .....	57
3.3. Hipótesis del estudio <i>Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders</i> .....	58
4. OBJETIVOS:.....	58
4.1. Objetivos del estudio <i>Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis</i> .....	58
4.2. Objetivos del estudio <i>Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis</i> .....	59
4.3. Objetivos del estudio <i>Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders</i> .....	59
5. MÉTODOS Y RESULTADOS:.....	60
5.1 <i>Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis</i> .....	60
5.2 <i>Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis</i> .....	66



5.3 <i>Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders</i> .....	71
5.4. Resumen de resultados del estudio <i>Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis</i> : .....	99
5.4.1. Caso 1.....	102
5.4.2. Caso 2.....	105
5.5. Resumen de resultados del estudio <i>Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis</i> : .....	107
5.6. Resumen de resultados del estudio <i>Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders</i> : .....	109
6. DISCUSIÓN.....	111
6.1. Anticuerpos anti-NMDAR en primeros episodios psicóticos.....	112
6.2. Fenotipo clínico de los pacientes con psicosis y anticuerpos anti-NMDAR	113
6.3. Discrepancias entre estudios.....	114
6.4. Limitaciones del presente estudio sobre anticuerpos anti-NMDAR en primeros episodios psicóticos .....	119
6.5. La patogenicidad de los anticuerpos anti-NMDAR en la psicosis aislada....	120
6.6. Una patología emergente.....	127
6.7. El origen de los anticuerpos anti-NMDAR.....	127
6.8. VIH y psicosis asociada a anticuerpos anti-NMDAR .....	129
6.9. Narcolepsia y psicosis asociada a anticuerpos anti-NMDAR .....	132
6.10. La importancia del diagnóstico diferencial.....	135
6.11. Tratamiento de las psicosis positivas para anticuerpos anti-NMDAR.....	141
7. CONCLUSIONES:.....	145
7.1. Conclusiones del estudio <i>Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis</i> ..	145
7.2. Conclusiones del estudio <i>Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis</i> .....	147
7.3. Conclusiones del estudio <i>Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders</i> .....	147
8. BIBLIOGRAFÍA .....	148

## 1. ABREVIATURAS

5HT-2A	Receptores de serotonina tipo 2A
AMPAR	Receptores ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
ANA	Anticuerpos antinucleares
ANI	Antígenos neuronales intracelulares
ANS	Anticuerpos anti-antígenos neuronales de superficie
BHE	Barrera hematoencefálica
CASPR2	<i>Contactin-associated protein-like2</i>
CBA	<i>Cell-based assay</i>
CMV	Citomegalovirus
COX-2	Ciclooxigenasa-2
D-Ser	D-serina
D2R	Receptor de dopamina D2
DA	Dopamina
DAAO	D-Amino- Acido Oxidasa
DIGSAN	<i>Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPX	Proteína 6 tipo dipeptidil peptidasa
DSM	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>
DUP	Duración de psicosis no tratada
EEAG	Evaluación de la Actividad Global
EEG	Electroencefalograma
EL	Encefalitis Límbica
EMAR	Estado mental de alto riesgo
ENA	<i>Extractable nuclear antigens</i>
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GABARB	Receptor de ácido gamma amino butírico tipo B
GAD	Ácido glutámico descarboxilasa
GLU	Glutamato
Gly	Glicina
GWAS	<i>Genome-wide association studies</i>
HEK	Células renales embrionarias humanas
HLA	Antígeno leucocitario humano
HRSD	<i>Hamilton Rating Scale for Depression</i>
ICD	<i>International Classification of Diseases</i>
IDO	Indolamina 2,3-dioxigenasa
IFI	Inmunofluorescencia Indirecta
IFN	Interferón
IFN- $\gamma$	Interferón gamma
Ig	Inmunoglobulina
IL	Interleuquina
IRIS	<i>Reconstitution inflammatory syndrome</i>
KYNA	<i>Kynurenic acid</i>
L-Ser	L-serina
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LES	Lupus eritematoso sistémico

LGI1	<i>Leucine-rich glioma-inactivated 1</i>
LTP	<i>Long Term Potentiation</i>
mGlu5R	Receptor metabotrópico de glutamato 5
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
MMN	<i>Mismatch Negativity</i>
NMDAR	Receptores N-metil-D-Aspartato
NO	Óxido nítrico
PANSS	<i>Positive and Negative Syndrome Scale</i>
PCP	Fenciclidina
PEP	Primer episodio psicótico
PERM	Encefalomiелitis progresiva con rigidez y mioclonus
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
sICAM	Molécula soluble de adhesión intercelular
SNC	Sistema nervioso central
SNPs	<i>Single nucleotide polymorphisms</i>
SUMD	<i>Scale to Assess Unawareness of Mental Disorder</i>
TAC	Tomografía Axial Computerizada
TARGA	Tratamiento antirretroviral de gran actividad
TDO	2-3-dioxigenasa
TH1	T-helper-1
TH2	T-helper-2
TNF	Factor de necrosis tumoral
VGKC	Proteínas asociadas a canales de potasio dependientes de voltage
VHS	Virus del herpes simple
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
YMRS	<i>Young Mania Rating Scale</i>

## 2. INTRODUCCIÓN

La esquizofrenia es una enfermedad compleja y con muy variada fenomenología, pronóstico y respuesta al tratamiento. Su origen se define como poligénico y para explicar su etiología se han propuesto diversas hipótesis, desde las que hablan de alteraciones en el neurodesarrollo, o de procesos neurodegenerativos, a los modelos basados en alteraciones funcionales de los neurotransmisores. Una de las teorías que en la última década centra esfuerzos investigadores es la que describe alteraciones inmunitarias como parte del origen de los desórdenes neuroquímicos centrales en la esquizofrenia.

Los recientes hallazgos neurobiológicos se asocian a fenotipos psicóticos que no siempre se adaptan bien a las definiciones categóricas propias de los manuales *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM) e *International Classification of Diseases* (ICD). Por este motivo en el presente trabajo, aunque la esquizofrenia se considera el modelo teórico de referencia, se usa el término genérico psicosis para referirse al síndrome clínico que presentan los pacientes en los que se estudian las alteraciones inmunitarias.

### 2.1. Hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia

En las últimas décadas las hipótesis etiológicas de la psicosis han pasado de estar centradas en el metabolismo de la dopamina a ofrecer explicaciones a través de las vías del glutamato (Elert, 2014).

#### 2.1.1. Disfunción dopaminérgica en la esquizofrenia

Desde los años 50 la hipótesis etiológica preponderante para explicar los síntomas esquizofrénicos había sido la dopaminérgica. Se desarrolla a través del descubrimiento de los efectos antipsicóticos de la clorpromazina y de su mecanismo de acción mediante la

antagonización de los receptores de dopamina D2. Se reafirma al observar la aparición de síntomas psicóticos cuando se administran drogas dopaminérgicas como la cocaína y las anfetaminas.

Tras el descubrimiento del primer antipsicótico nacen otros, inicialmente también fenotiacínicos y posteriormente de otras familias farmacológicas, todos ellos con el denominador común de su actividad antagonista sobre los receptores dopaminérgicos D2.

A través de esta teoría se entiende que la hiperactividad de las neuronas dopaminérgicas con proyecciones mesolímbicas es la responsable de los síntomas positivos de la psicosis. Mientras que la baja actividad en las proyecciones mesocorticales dopaminérgicas explicaría los síntomas negativos, afectivos y cognitivos de la enfermedad a través de una supuesta hipofrontalidad (Schwartz et al., 2012).

### 2.1.2. Limitaciones de la hipótesis dopaminérgica

En la actualidad se ha asumido que la hipótesis dopaminérgica resulta una simplificación excesiva que no ofrece herramientas suficientes ni para explicar ni para tratar la enfermedad psicótica. Los antipsicóticos que utilizamos en la práctica psiquiátrica habitual han sido desarrollados con el fundamento común de antagonizar o agonizar parcialmente los receptores D2 y no consiguen tratar con suficiente eficacia los síntomas positivos. La clozapina, sintetizada en 1959, sigue siendo el patrón oro en cuanto a tratamiento farmacológico. Se ha conseguido diseñar antipsicóticos con menos efectos secundarios, los antipsicóticos atípicos o de segunda generación, que mediante el antagonismo sobre los receptores de serotonina tipo 2A (5HT-2A) respetan en mayor medida la actividad dopaminérgica nigroestriada y eso redundaría en una menor sintomatología extrapiramidal. Pero los síntomas negativos y cognitivos, que se entienden como el núcleo psicopatológico de la enfermedad y son los más ligados a una predicción pronóstica, siguen sin un tratamiento efectivo.

La supuesta vulnerabilidad heredada o nacida “de novo” a través de polimorfismos o alteraciones epigenéticas que afectaría exclusivamente a genes relacionados con la función dopaminérgica no ha conseguido ayudar al desarrollo de aproximaciones terapéuticas suficientemente eficaces.

Se ha especulado que algunas psicosis se explicarían principalmente mediante esa hiperactividad dopaminérgica mesolímbica y por tanto podrían tratarse de forma efectiva con el arsenal de antipsicóticos del que disponemos en la actualidad, mientras que para otras presentaciones psicóticas debemos pensar en hipótesis alternativas. De hecho, actualmente la disfunción dopaminérgica en la esquizofrenia se identifica como un posible camino final común para explicar los síntomas, y no como el origen de los mismos (Schwartz et al., 2012).

Cabe destacar también que los receptores dopaminérgicos se localizan sobretodo en el circuito neuronal frontoestriatal y la evidencia demuestra que disfunción en la esquizofrenia es más global (Javitt et al., 2012).

Los síntomas psicóticos observados tras la administración de PCP y sus compuestos relacionados ofrecerían un modelo de esquizofrenia más completo que el anfetamínico (Javitt et al., 2012).

### 2.1.3. Disfunción glutamatérgica en la esquizofrenia

La hipótesis glutamatérgica empieza a esbozarse en las décadas de los 60-70 a partir de las observaciones de los efectos conductuales de los llamados anestésicos disociativos (fenciclidina o PCP y ketamina; también más tarde se incluye en este grupo de sustancias a la dizocilpina, MK-801). Se describe como, a dosis bajas, estas sustancias producen retraimiento social y, en cambio, a dosis elevadas, síntomas catatónicos. Unos 10 años más tarde de describir que estas sustancias producen síntomas que recuerdan a la

esquizofrenia, se evidencia que los causan al antagonizar los receptores glutamatérgicos N-metil-D-aspartato (NMDAR) (Javitt, 2012).

La teoría glutamatérgica explica los síntomas psicóticos de forma más coherente y completa que la dopaminérgica. Describe una hipofunción de los NMDAR en las interneuronas mediadas por ácido gamma-aminobutírico (GABA) a nivel de la corteza cerebral. Esta hipofunción acaba afectando al flujo dopaminérgico mesolímbico y mesocortical de la forma en que queda definido por la hipótesis dopaminérgica, de manera que ambas hipótesis se complementan (Schwartz et al., 2012).

#### *2.1.3.1. Los NMDAR*

Los NMDAR son receptores transmembrana que fundamentalmente se encuentran en las dendritas a nivel postsináptico pero también pueden estar presentes a nivel presináptico. Son receptores con estructura tridimensional (fig. 1) formada por heterotetrámeros habitualmente consistentes en dos subunidades NR1 y dos NR2 (aunque también se ha descrito subunidades NR3 con función inhibitoria). Son receptores ionotrópicos y son activados por voltaje y por unión de aminoácidos excitatorios. El  $Mg^{2+}$  a concentraciones fisiológicas en las células en reposo bloquea estos receptores. Cuando la célula alcanza potenciales ligeramente despolarizados (aprox.  $-30/-20$  mV), el  $Mg^{2+}$  pierde su afinidad por el receptor y deja de bloquearlo, y entonces el NMDAR es sensible a la acción de sus ligandos. En su región central tienen un poro que permite la entrada de calcio y la despolarización neuronal cuando el receptor se activa al desplazarse el  $Mg^{2+}$ . Las subunidades NR1 contienen el lugar de unión del co-agonista glicina y las NR2 el del aminoácido glutamato. También cuentan con un sitio redox esencial para la actividad receptorial.

Existen múltiples isoformas del receptor con distribuciones variadas por el cerebro y con funciones diferentes, dependiendo de variaciones genéticas en relación a sus

subunidades. Se sabe además que en cada etapa del neurodesarrollo predomina la expresión de NMDAR con una composición en subunidades distinta (Maneta y García, 2014; Moghaddam y Javitt 2012; Schwartz et al., 2012).

Los NMDAR son ubicuos en el sistema nervioso central y, junto con los receptores metabotrópicos y el resto de receptores ionotrópicos, regulan el flujo glutamatérgico. Cualquier disfunción que implique menor actividad de los NMDAR (p.ej. alteraciones genéticas, metabólicas o inmunitarias) afecta al flujo cortico-subcortical de glutamato y puede repercutir en la aparición de síntomas psicóticos positivos y negativos.

Las disfunciones glutamatérgicas descritas en la esquizofrenia tienen consecuencias a diversos niveles por afectar a diversos circuitos neuronales.

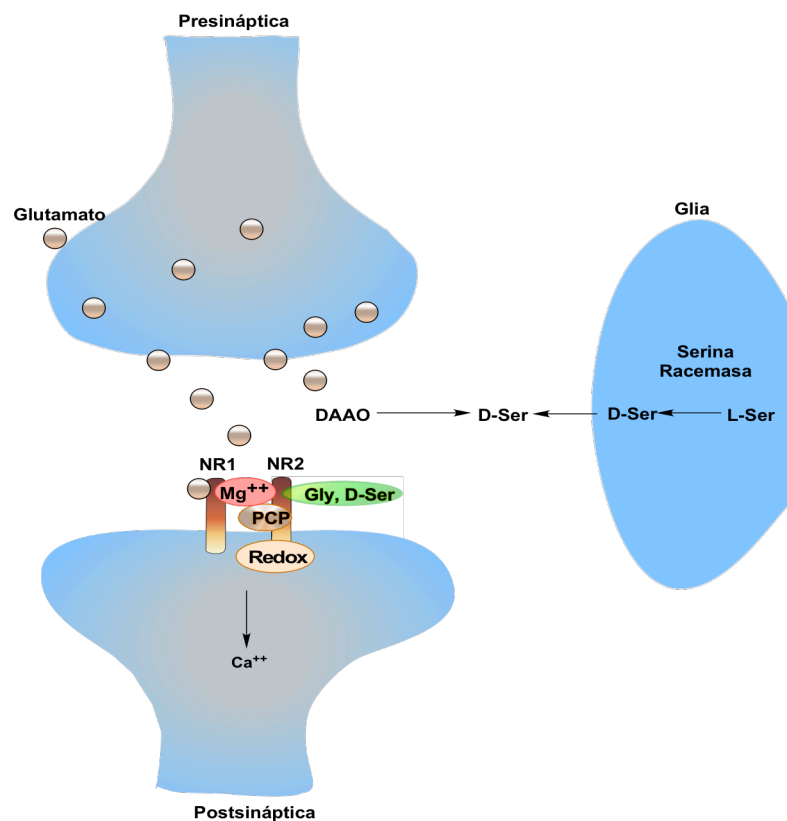


Figura 1. Estructura del NMDAR. DAAO: D-Amino- Acido Oxidasa; D-Ser: D-serina; L-Ser: L-serina; NR1: subunidad NR1 del NMDAR; NR2: subunidad NR2 del NMDAR; Gly: glicina ; PCP: lugar de unión del PCP (Moghaddam y Javitt, 2012).



### 2.1.3.2. La desinhibición cortical

A nivel de la corteza cerebral se ha descrito un fenómeno llamado desinhibición cortical. En el neocórtex y el hipocampo las neuronas principales o piramidales usan el glutamato como neurotransmisor, estas zonas reciben aferentes con constantes impulsos excitatorios que provienen de estructuras corticales y subcorticales. Para regular su actividad precisan de interneuronas GABA que disminuyen su tasa de descarga (fig. 2). Cuando un impulso excitatorio llega a una neurona piramidal se co-activa una interneurona GABA que sinapta en la misma neurona piramidal disminuyendo su actividad. De esta manera se consigue un equilibrio entre la excitación y la inhibición.

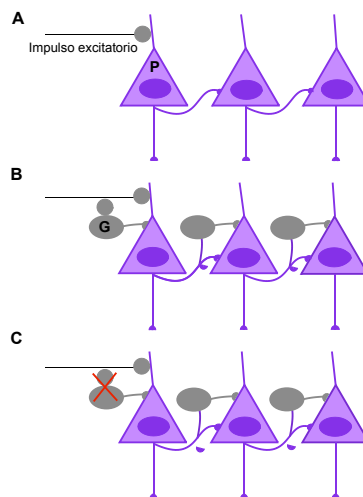


Figura 2. A) Las neuronas piramidales (P) reciben impulsos excitatorios. Si éstas no son inhibidas puede darse una reacción en cadena y una activación excesiva. B) Cuando una neurona piramidal se activa, se co-activa en paralelo una interneurona gabaérgica (G) y ambas sinaptan sobre la misma segunda neurona piramidal. Así hay un equilibrio excitatorio-inhibitorio. C) Si no se puede co-activar la interneurona gabaérgica, sea por un bloqueo o por una disfunción de los NMDAR, aparece la desinhibición de las neuronas piramidales del neocórtex (Moghaddam y Javitt, 2012).

Un defecto en la funcionalidad de los NMDAR en las interneuronas GABA del neocórtex provoca una desinhibición cortical. Al contar con NMDAR hipoactivos en su membrana las interneuronas se disparan con menor frecuencia (Moghaddam y Javitt, 2012) y dejan de regular y coordinar las uniones celulares que dirigen los comportamientos complejos

controlados por la corteza cerebral (Buzsaki et al, 2004).

Una de las razones por las que los NMDAR de las interneuronas GABA pueden ser hipofuncionantes es porque en el neocórtex y en el hipocampo estas células poseen un umbral menor para la generación de un potencial de acción que las neuronas piramidales corticales, están más despolarizadas y con mayor número de NMDAR abiertos (ya que son receptores voltaje-dependientes). En presencia de un antagonista de los NMDAR, las interneuronas son más sensibles al efecto del antagonista y su funcionalidad se ve afectada en mayor medida que la de las neuronas piramidales (Csicsvari et al., 1998; Maccaferri y Dingledine, 2002; Moghaddam y Javitt, 2012). Esta inhibición preferencial de las interneuronas GABA causa una desinhibición de las neuronas piramidales, que disparan a mayor frecuencia.

Se ha descrito (fig. 3) que las carencias funcionales de los NMDAR incrementan los niveles de glutamato extracelulares en algunas sinapsis y, por tanto, la actividad glutamatérgica sobre los receptores ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA) (Moghaddam et al., 1997).

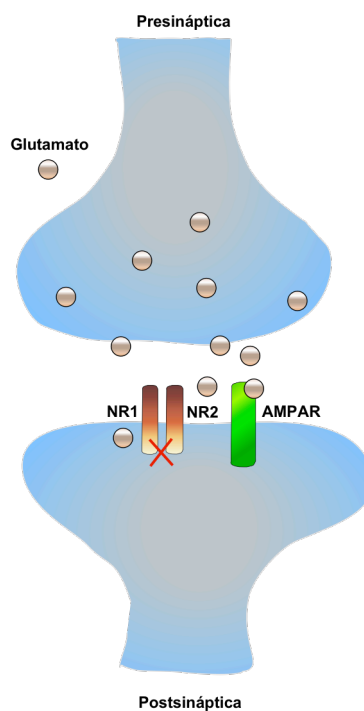


Figura 3. Como consecuencia de la inhibición de los NMDAR hay un exceso de glutamato a nivel sináptico. Este hecho provoca una actividad excesiva sobre los AMPAR y una hiperactividad de las neuronas corticales que los contienen (Moghaddam y Javitt, 2012).

Aunque esta hiperactividad glutamatérgica en la corteza parecería no encajar con la hipofrontalidad que se ha demostrado en la esquizofrenia y que explica los síntomas negativos y en parte cognitivos, se ha descrito que la actividad neuronal resultante es desorganizada y añade “ruido”, interrumpe el procesamiento de información relevante por parte de las neuronas corticales (Moghaddam y Javitt, 2012).

Esta desinhibición, en definitiva, implica una disfunción cortical, las neuronas piramidales no pueden procesar los estímulos que le llegan por las terminales aferentes y la actividad que proyectan a nivel subcortical es poco coordinada.

### ***2.1.3.3. Síntomas positivos y negativos***

La teoría glutamatérgica de la esquizofrenia describe cómo las disfunciones que encontraríamos en la psicosis se localizarían también en los circuitos glutamatérgicos que se originan en el neocórtex frontal y se proyectan a estructuras del tronco cerebral y áreas límbicas. En condiciones de funcionamiento psíquico normal una primera neurona piramidal glutamatérgica a nivel frontal actúa sobre una interneurona GABA, cuya función es liberar GABA en una segunda neurona piramidal e inhibir su actividad glutamatérgica. Esta segunda neurona glutamatérgica es la que se proyecta hacia el mesencéfalo e interacciona con las neuronas dopaminérgicas permitiendo que éstas se proyecten a las zonas límbicas en condiciones de homeostasis.

Las proyecciones dopaminérgicas mesocorticales normofuncionantes requieren de un paso intermedio más. La segunda neurona piramidal glutamatérgica actúa a través de una segunda interneurona GABA para ejercer su función sobre el área tegmental ventral, en la que están las neuronas dopaminérgicas que se dirigirán hacia el córtex prefrontal dorsolateral y ventromedial. Esta interneurona en situación de normalidad permite un flujo de dopamina adecuado del tronco cerebral a la corteza, de forma que el individuo

puede concentrarse, estar alerta, en equilibrio emocional y ser capaz de un funcionamiento ejecutivo óptimo. En condiciones patológicas la hipofunción de los NMDAR en las interneuronas corticales conlleva un tono glutamatergico excesivo desde el córtex frontal al tronco cerebral y por tanto un exceso de estimulación de las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas que se proyectan hacia zonas límbicas. Así se explican los síntomas positivos (figura 4).

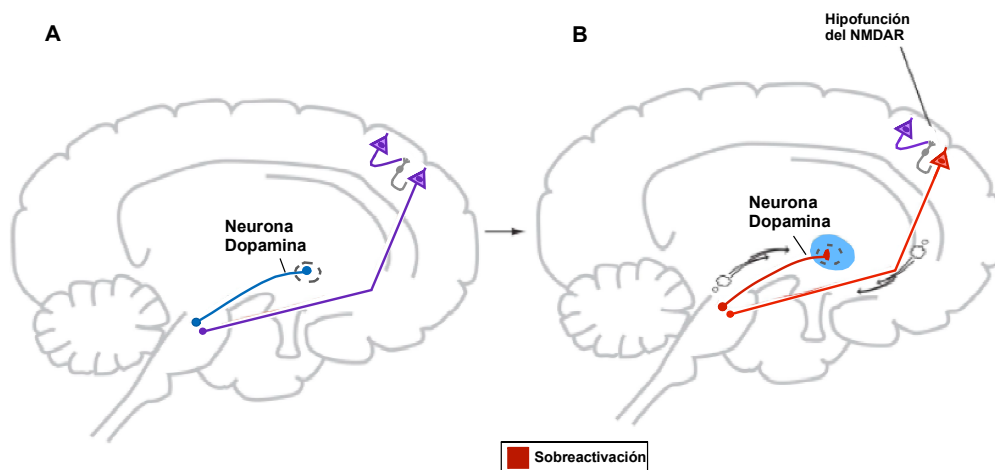


Figura 4. Hipótesis glutamatergica: generación de los síntomas psicóticos positivos. A) Circuito neuronal glutamato (GLU)-GABA-GLU-Dopamina (DA) en condiciones normales: La neurona piramidal en el córtex frontal sinapta con una interneurona GABA sin alteraciones, que actúa liberando GABA sobre la segunda neurona piramidal. Esta disminución de la frecuencia de descarga de la segunda neurona piramidal es necesaria para la homeostasis de los circuitos córtico-subcorticales. La segunda neurona piramidal sinapta con una neurona dopaminérgica en el tronco encefálico que proyecta una actividad moderada a las regiones límbicas. B) Circuito neuronal GLU-GABA-GLU-DA en condiciones patológicas: La neurona piramidal en el córtex frontal sinapta con una interneurona GABA en la membrana de la cual se expresan NMDAR disfuncionales. La interneurona GABA es hipoactiva y consecuentemente la segunda neurona piramidal no está inhibida de forma fisiológica, se encuentra hiperactivada. La neurona piramidal descarga con mayor frecuencia sobre la neurona dopaminérgica del mesencéfalo. La actividad dopaminérgica a nivel mesolímbico es excesiva y surgen los síntomas psicóticos positivos (Schwartz et al., 2012).

Por otro lado, la segunda neurona glutamatergica hiperestimula la segunda interneurona GABA, ésta situada en el mesencéfalo y con receptores glutamatergicos inalterados, y este paso justifica la inhibición de la actividad dopaminérgica del área tegmental ventral al córtex prefrontal. Este es el mecanismo que explica los síntomas negativos (figura 5) (Stephan et al., 2009; Schwartz et al., 2012).

Por otra parte, se ha descrito que la estimulación de los NMDAR extrasinápticos provoca excitotoxicidad y muerte celular, proceso que se asocia a la neurodegeneración, tan habitual en la esquizofrenia. En contraste con la relevancia de la estimulación fisiológica coordinada y equilibrada de los NMDAR sinápticos en los procesos de plasticidad neuronal y en general en la salud y longevidad celular. Esta doble naturaleza de los NMDAR en función de su situación en la sinapsis o fuera de ella, es la base de la teoría de la localización para estos receptores (Parsons y Raymond, 2014).

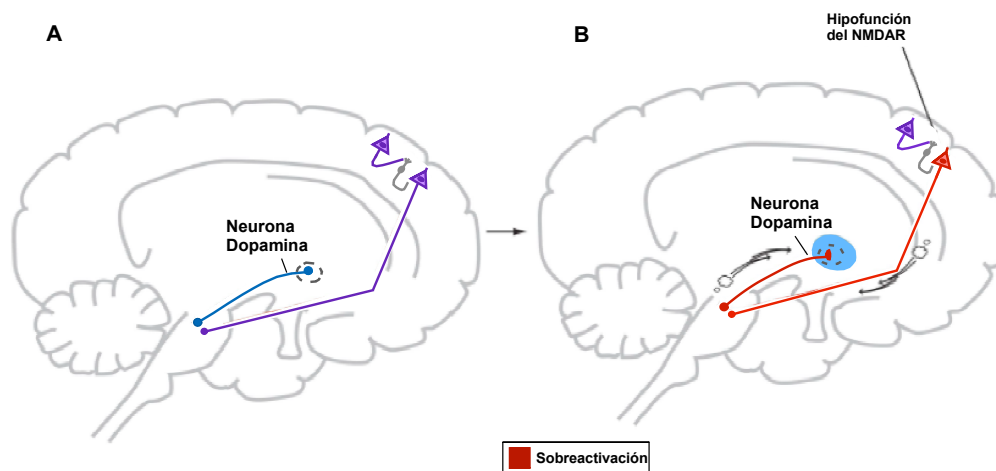


Figura 5. Hipótesis glutamatergica: generación de los síntomas psicóticos negativos. A) Circuito neuronal GLU-GABA-GLU-GABA-DA en condiciones normales: La neurona piramidal en el córtex frontal sinapta con una interneurona GABA normofuncionante, que actúa liberando GABA e inhibiendo la segunda neurona piramidal. En este circuito la segunda neurona piramidal sinapta con una segunda interneurona GABA, que actúa sobre la neurona dopaminérgica. La dopamina en este caso se proyecta al córtex prefrontal en condiciones suficientes para un correcto funcionamiento cerebral. B) Circuito neuronal GLU-GABA-GLU-GABA-DA en condiciones patológicas: La neurona piramidal en el córtex frontal sinapta con una interneurona GABA en la membrana de la cual se expresan NMDAR disfuncionales. La interneurona GABA está hipoactivada por no recibir el impulso del glutamato. Consecuentemente la segunda neurona piramidal no está inhibida de forma fisiológica y se encuentra hiperactivada. La hiperactividad llega a la segunda interneurona en el tronco encefálico, que dispara GABA a mayor frecuencia de la fisiológica sobre la neurona dopaminérgica del mesencéfalo. La neurona dopaminérgica en consecuencia está inhibida y no proporciona suficiente dopamina al córtex frontal. Así aparece la hipofrontalidad típica e los síntomas negativos y cognitivos (Schwartz et al., 2012).

#### 2.1.4. Evidencias de la hipótesis glutamatergica

Las más recientes investigaciones en los campos de la neurofisiología, neuroimagen y genética apoyan la hipótesis de una disfunción del flujo de glutamato como núcleo etiológico de los síntomas psicóticos (Javitt, 2012; Moghaddam y Javitt, 2012; Schwartz et al., 2012).

Los estudios sobre los mecanismos y las causas que llevan a la hiperactividad glutamatérgica en la psicosis describen alteraciones de las vías cortico-subcorticales del glutamato a diferentes niveles: presináptico, postsináptico y a través de disfunciones metabólicas. Probablemente se puede llegar a la psicosis por causas y a través de caminos diversos, y no solamente a través de una hipofunción del los NMDAR.

A continuación se describen algunos de los hallazgos más relevantes que otorgan validez a la hipótesis glutamatérgica:

- La hipofunción de los NMDAR puede desembocar por sí sola en la disfunción dopaminérgica que explica los síntomas esquizofrénicos a través del modelo anfetamínico. Esta afirmación se apoya en la evidencia de que la administración de ketamina provoca síntomas psicóticos en voluntarios sanos cuya intensidad depende de los niveles de dopamina a nivel prefrontal (Aalto et al., 2005; Javitt et al., 2012).
- En pacientes con esquizofrenia sin medicar se ha observado una disminución en la cantidad de NMDAR (Pilowsky et al., 2006).
- Los modelos animales experimentales demuestran que un bloqueo persistente de los NMDAR provoca una regulación a la baja de la actividad GABA a nivel cortical y una alteración en la calidad y cantidad de dendritas de las neuronas piramidales. Además los ratones *knockout* para la subunidad NR1 de los NMDAR funcionan como modelos animales de esquizofrenia (Deakin et al., 2014).
- Los defectos cognitivos observados en la esquizofrenia se relacionan de forma específica con déficits en regiones corticales cuya funcionalidad es NMDAR-dependiente (Kantrowitz y Javitt, 2010; Javitt et al., 2012).

- Los déficits en el aprendizaje y en la memoria a largo plazo observados en la esquizofrenia se relacionan con la disfunción de los NMDAR en el hipocampo. Los NMDAR están implicados en el fenómeno definido como Potenciación a Largo Plazo (*Long Term Potentiation, LTP*), proceso que tiene que ver con la habilidad de las sinapsis químicas de modificar su fuerza, implica un incremento persistente de la fuerza de la sinapsis que se da tras la estimulación de alta frecuencia de la misma. Es uno de los procesos que comprende el concepto de plasticidad neuronal y la base para la codificación de la memoria (Javitt et al., 2012; Javitt y Zukin, 1991)

- Se ha asociado la presencia de alucinaciones auditivas con la disfunción persistente de los circuitos mediados por NMDAR (Javitt et al., 2012; Wandinger et al., 2011).

- Se ha descrito la presencia de alteraciones en el procesamiento de información sensorial en la esquizofrenia, Existe una afectación funcional de los NMDAR en las regiones sensoriales y corticales superiores implicadas principalmente en el procesamiento de información visual y auditiva.

Las alteraciones en la codificación de información visual en los pacientes esquizofrénicos afectarían a la realización de tareas ejecutivas mantenidas y a la capacidad para reconocer expresiones emocionales faciales (Javitt et al., 2012).

En el caso de las alteraciones del procesamiento de información auditiva el Potencial de Disparidad (*Mismatch Negativity, MMN*) se ha descrito como un parámetro electrofisiológico que, junto con otros parámetros biológicos (de neuroimagen) y neurocognitivos, puede ayudar a la estratificación de individuos en riesgo de desarrollar psicosis.

El MMN es un potencial auditivo relacionado con un evento externo. Se trata de una respuesta preatencional que detecta el cambio en estímulos auditivos que se desvían en cualquier dimensión de los que han aparecido con anterioridad en una secuencia. Se define como un potencial de acción que se correlaciona con la

integridad de las vías sensoriales auditivas (específicamente de la corteza auditiva y frontal) y de la adecuada funcionalidad de los NMDAR.

Una reducción del MMN en respuesta a las desviaciones de la duración del tono del estímulo auditivo en una secuencia parece ser específica de la esquizofrenia y correlacionarse con los defectos funcionales de la enfermedad (Bodatsch et al., 2011).

La ketamina y no otros psicotomiméticos que no actúan sobre los NMDAR, disminuyen el MMN. Es decir que el MMN parece estar directamente relacionado con la función NMDAR y la vía fisiopatológica de la psicosis.

En individuos sanos una amplitud reducida del MMN predice susceptibilidad a psicosis por ketamina (Umbricht et al., 2002) y en estados mentales de alto riesgo predice riesgo de transición a psicosis (Bodatsch et al., 2011).

El MMN relacionado con las desviaciones de la duración del tono (dMMN) se ha descrito que predice los volúmenes de materia gris frontal (Stone et al., 2010) y se asocia al volumen de la corteza auditiva (Rasser et al., 2011). También se han asociado los niveles de glutamato con los volúmenes de materia gris frontal y temporal y ambos con el MMN (Turetsky et al., 2007). En individuos definidos como en estado mental de alto riesgo (EMAR) se ha descrito que la desregulación de las vías de glutamato podría contribuir a la reducción de materia gris en la transición a psicosis (Stone et al., 2009; Takahashi et al., 2009).

A nivel molecular se ha encontrado asociación entre el MMN y los polimorfismos del gen G72 (activador de la D-Amino-Ácido Oxidasa (DAAO)) y de otros genes implicados en la funcionalidad de los NMDAR (Bodatsch et al., 2011; Javitt et al., 2012).

Las alteraciones en el procesamiento de información auditiva en la esquizofrenia, identificadas a través del MMN, podrían relacionarse con las



dificultades en la detección de la modulación del tono de voz, la identificación de emociones a través de la audición y en la cognición social (Javitt et al, 2012).

- Existe evidencia de asociación entre polimorfismos en genes relacionados con la funcionalidad de los NMDAR y la enfermedad esquizofrénica. Esta relación se ha definido para:

- Genes que codifican para subunidades de los NMDAR (GRIN1, GRIN2A). Sus mutaciones causan hipofunción NMDAR.

- El gen de la calcineurina, que codifica una subunidad catalítica de los NMDAR. Su hipofunción provoca síntomas psicóticos en modelos animales.

- Los genes de los enzimas racemasa de serina y DAAO y el gen G72, todos ellos implicados en la formación de D-serina, que tiene una actividad co-agonista de la glicina en los NMDAR (figura 1). Disfunciones de estos enzimas provocan hipofunción NMDAR.

- También existe evidencia de asociación con la esquizofrenia para genes que, sin estar directamente relacionados con el receptor NMDAR, afectan al flujo de glutamato y por tanto, en una segunda etapa, al de dopamina. Esto es así para:

- El gen de la neuregulina-1, factor de crecimiento importante para la formación de dendritas de la neurona glutamatérgica. Existen polimorfismos que implican una disminución del glutamato y afectación del circuito glutamato-GABA-glutamato-dopamina a nivel cortico-subcortical.

- Genes que codifican otros receptores de glutamato: el GRIK3 (gen del receptor inotrópico 3 de kainato) y los GRM2, GRM5, GRM7 y GRM8 (genes de receptores metabotrópicos no -NMDA).

- Los genes DTNBP1 y Akt1, que codifican disbindinas y la quinasa B, implicadas en procesos de excitotoxicidad y cuya disfunción provoca

hipofunción glutamatérgica de la misma manera que pasa cuando no funcionan los NMDAR.

- El NOS1, que codifica una sintetasa de óxido nítrico (NO) que, de no funcionar bien, no produce el NO necesario para activar interneuronas GABA corticales y acaba provocando la misma reacción en cadena que la hipofunción NMDAR. El NO se ha relacionado también con la destrucción excitotóxica de neuronas glutamatérgicas a nivel frontal y el desarrollo de síntomas negativos. En general parece jugar un papel en procesos de sinaptogénesis y maduración neuronal, durante el neurodesarrollo prenatal e infantil y en podado y la plasticidad neuronal en el adolescente y adulto.

- El gen RGS4, que codifica proteínas implicadas en señalización mediada por proteínas G, que afecta a receptores de glutamato AMPA. Su mutación acaba en bajos niveles de glutamato (Javitt et al., 2012; Moghaddam y Javitt 2012; Schwartz et al., 2012).

- A través de estudios de asociación de genoma completo (genome-wide association studies, GWAS) se han descrito alteraciones en la expresión génica relacionada con el NMDAR y las vías metabólicas vinculadas a él en pacientes con esquizofrenia (Stefansson et al., 2009). Estudios de secuenciación del exoma describen la asociación entre variantes genéticas poco frecuentes, disfunción de NMDAR y esquizofrenia (Timms et al., 2013).

La conclusión a la que conducen los hallazgos genéticos es que probablemente la acumulación de variaciones de múltiples genes relacionados con el circuito del glutamato confiere riesgo para el desarrollo de esquizofrenia (Lin et al., 2012; Schwartz et al., 2012).

### **2.1.5. Consecuencias de la hipótesis glutamatérgica**

Las alteraciones del neurodesarrollo y neurodegenerativas que se asocian a la patogenia de la esquizofrenia quedan bien explicadas a través del estudio de los desordenes glutamatérgicos.

La validación de esta teoría conlleva el desarrollo de fármacos que rectifican la disminución de la actividad de los NMDAR y la hiperactividad del glutamato. En este sentido se están investigando fármacos diversos, unos actúan como agonistas del NMDAR (la glicina, D-serina y D-cicloserina), otros interfieren en el transporte de la glicina fuera de la sinapsis (la sarcosina), otros median en las vías de la quinurenina, potente antagonista de los NMDAR (los antiinflamatorios inhibidores de la COX-2) y algunos actúan como agonistas de receptores glutamatérgicos presinápticos y agentes neuroprotectores.

Uno de los objetivos principales de las investigaciones en la esquizofrenia en estos momentos es estudiar qué causas pueden llevar a la disfunción de los NMDAR y qué mecanismos explican el paso del antagonismo de los receptores al fenotipo psicótico. Se cree que probablemente existen diversos subtipos de psicosis mediadas por alteraciones en los NMDAR y/o el resto de componentes glutamatérgicos de forma diferente (Lin et al., 2012). Uno de los procesos que centra la atención de múltiples estudios en la última década es el autoinmunitario (Moghaddam y Javitt, 2012).

## **2.2. Inmunidad y psicosis**

Las primeras aproximaciones a las hipótesis inmunitarias de la esquizofrenia fueron los estudios epidemiológicos de principios del s.XX, que estudiaban la relación entre esquizofrenia y agentes infecciosos. El vínculo infección-esquizofrenia se ha seguido investigando hasta la actualidad y se ha encontrado relación entre psicosis e infecciones por varios agentes. Los resultados más relevantes se han encontrado estudiando

parámetros relacionados con infecciones por chlamydia, toxoplasma gondii, virus influenza, virus de la rubeola, del sarampión, de la poliomielitis, citomegalovirus (CMV), virus del herpes simple (VHS), virus de Epstein-Barr y Borna virus (Müller y Schwarz, 2010; Strous y Shoenfeld, 2006).

Estudios realizados inicialmente en animales y posteriormente en humanos concluyeron que lo que realmente determina el riesgo de esquizofrenia es el tipo de respuesta inmunitaria que presentan los pacientes, independientemente del agente externo que la provoque (Müller y Schwarz, 2010; Strous y Shoenfeld, 2006; Schwarz et al., 2001).

### **2.2.1. Polarización tipo-2 en la esquizofrenia**

Actualmente existe evidencia suficiente para afirmar que la respuesta inmunitaria en los pacientes esquizofrénicos tiene determinadas características específicas. En este sentido se ha descrito el término T-helper-2 (TH2) *shift* o polarización tipo-2. Este fenómeno implica que en la esquizofrenia predomina la respuesta inmunitaria humoral o respuesta en citocinas tipo-H2. Estas citocinas, producidas principalmente por linfocitos TH2, dan lugar a un bias de la respuesta inmunitaria hacia la activación de linfocitos B y la producción de anticuerpos. En dichos pacientes se han encontrado niveles elevados de citocinas TH2 (interleuquinas (IL): IL-10, IL-4; IL-6) e inmunoglobulinas. La presencia de estas citocinas se ha asociado, además, con la severidad de los síntomas psicóticos, el inicio precoz de los mismos y el mal pronóstico (Benros et al., 2011, 2014a; Müller y Schwarz, 2008, 2010; Strous y Shoenfeld, 2006).

Por el contrario, se ha descrito que en pacientes con esquizofrenia existe una menor tendencia a responder a estímulos externos nocivos a través de la inmunidad adaptativa celular o tipo-H1 (mediada por citocinas producidas principalmente por linfocitos T-helper-1 (TH1)). Se han descrito en estos pacientes niveles bajos de citocinas TH1 (IL-2),

interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) y de proteínas asociadas a la actividad celular tipo-1 (neopterina: producto de activación de los macrófagos y monocitos; molécula soluble de adhesión intercelular (sICAM): necesaria para que los monocitos y linfocitos penetren en el sistema nervioso central (SNC)). También ejemplifican la falta de capacidad de respuesta tipo-1 la disminución en la activación de linfocitos y de respuesta cutánea tras la estimulación con antígenos (Benros et al., 2014a; Müller y Schwarz, 2008, 2010; Strous y Shoenfeld, 2006).

Se ha especulado que esta polarización en la respuesta inmunitaria podría tener lugar por etapas, de forma que en las psicosis tempranas predominaría la respuesta celular atenuada y en fases crónica habría más tendencia a la inflamación mediada por la inmunidad humoral o tipo-2 (Müller y Schwarz, 2010). De esta manera se cree que aquellas psicosis con factores de peor pronóstico serían las que presentarían más elementos de TH2 *shift* (Schwarz et al., 2001).

### **2.2.2. Inflamación y neurodegeneración**

Otra de las alteraciones asociadas reiteradamente a la esquizofrenia es la sobreactivación inmunitaria inespecífica y mantenida, que podría tener relación con algunos de los signos y síntomas de neurodegeneración que presenta la enfermedad. La activación de la microglia identificada en muestras post-mortem de cerebros esquizofrénicos va en esta línea (Strous y Shoenfeld, 2006) y se ha teorizado que la pérdida de volumen cerebral en la psicosis podría deberse en parte a mecanismos inflamatorios. Mediante tomografía por emisión de positrones se han observado procesos inflamatorios durante las exacerbaciones de la clínica psicótica y se han asociado alteraciones en los niveles de citocinas IL-2 y 6 con la reducción de volúmenes cerebrales (Müller y Schwarz, 2010).

### **2.2.3. GWAS, inmunidad y esquizofrenia**

El vínculo entre las alteraciones inmunitarias y la esquizofrenia se ve validado en resultados de GWAS que de forma repetida encuentran asociación entre la enfermedad y combinaciones de polimorfismos de nucleótido único (*single nucleotide polymorphisms*, SNPs) agrupados en la región del complejo mayor de histocompatibilidad (*major histocompatibility complex*, MHC), en el brazo pequeño del cromosoma 6 (Bergen et al., 2012; Debnath et al., 2013; Jia et al., 2012; Purcell et al., 2009; Shi et al., 2009; Stefansson et al., 2009). Se trata de miles de alelos que tendrán un efecto pequeño en el riesgo de desarrollar la enfermedad, pero que suman sus efectos al presentarse juntos. En el estudio de Stefansson et al. (2009), en el que se analizan resultados combinados de varios GWAS, encuentran también otros genes de riesgo, éstos implicados en la función de los NMDAR.

### **2.2.4. Modelos animales**

La relación entre la disfunción de los NMDAR, las alteraciones inmunitarias y la psicosis no se observa sólo en estudios genómicos. En modelos animales se observa que la inducción de alteraciones inmunitarias se asocia a alteraciones en los sistema dopaminérgico y glutamatérgico mediadas por los NMDAR y a alteraciones de conducta y cognitivas dentro del modelo animal de esquizofrenia (Müller y Schwarz, 2010; Strous y Shoenfeld, 2006).

### **2.2.5. El metabolismo de la quinurenina**

Investigaciones sobre el metabolismo de la vía de la quinurenina, un producto de degradación del triptófano en la vía que conduce a la síntesis de nucleótidos, también explican la relación inmunidad-NMDAR-psicosis. El ácido quinurénico (*kynurenic acid*

(KYNA)), uno de los productos intermedios de la vía, es el único antagonista natural de los NMDAR.

La polarización a favor de la inmunidad tipo-2 en la esquizofrenia se asocia con la activación de los astrocitos y la producción de KYNA en ellos. Se ha encontrado que en la esquizofrenia se activan preferencialmente los astrocitos; éstos producen citocinas tipo-2 que potencian la vía regulada por el enzima 2-3-dioxigenasa (TDO), un camino lateral aberrante del metabolismo de la quinurenina que conduce a la síntesis de KYNA. En pacientes con esquizofrenia se ha visto sobreexpresada la enzima TDO y se inhibe la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), enzima reguladora de la vía principal del metabolismo de la quinurenina situada en las células gliales principalmente, y que es estimulada por citocinas tipo-1 producidas por las mismas células gliales (Müller y Schwarz, 2010; Strous y Shoenfeld, 2006). Reininghaus et al. describen el modo en que las citocinas proinflamatorias, a través de la producción de KYNA, provocan la aparición de síntomas psicóticos y deterioro cognitivo en la esquizofrenia y el trastorno bipolar (Reininghaus et al., 2016).

### **2.2.6. Autoinmunidad y esquizofrenia**

Algunas de las alteraciones inmunitarias identificadas en la esquizofrenia podrían activar el desarrollo o participar en el mantenimiento de autoinmunidad (Jones et al., 2005). En este contexto, se ha explicado la teoría del neurodesarrollo desde la psiconeuroinmunología. Se ha sugerido que los individuos que padecen infecciones durante etapas de neurodesarrollo, implicando a un sistema inmunitario aún inmaduro, están expuestos a reacciones autoinmunitarias que se asocian a alteraciones funcionales y estructurales a nivel del SNC y al desarrollo de esquizofrenia en la vida adulta (Kirch, 1993; Meyer, 2015). Se ha descrito un mayor riesgo de esquizofrenia en hijos nacidos de mujeres que durante el segundo trimestre del embarazo tuvieron infecciones que

provocaron en ellas niveles elevados de IL-8 y en personas que durante el nacimiento presentaron complicaciones obstétricas. Las complicaciones obstétricas se han asociado además a la producción de autoanticuerpos. También se observa 5 veces más riesgo de psicosis en adultos que durante la infancia presentaron infecciones del sistema nervioso central. Se ha relacionado la presencia de anticuerpos contra varios agentes víricos, en pacientes psicóticos, con la presencia de síntomas psicóticos severos y alteraciones en el volumen cerebral. Se especula que las infecciones víricas podrían actuar despertando procesos autoinmunes (Benros et al., 2014a; Müller y Schwarz, 2008, 2010; Strous y Shoenfeld, 2006).

Desde mediados del s.XX se investiga sobre el origen autoinmune de la esquizofrenia, inicialmente a través de observaciones epidemiológicas sobre algunas de las características comunes en la psicosis y las enfermedades autoinmunes (Burch, 1964). Ambas comparten el inicio al final de la adolescencia, los estresores psicosociales como factores gatillo, la comorbilidad con el uso de tóxicos y el curso natural de la enfermedad variable y en forma de crisis.

Para considerar una enfermedad como autoinmune es necesario que cumpla requisitos específicos. Rose y Bona, en 1993, definen unos criterios en función de 3 niveles de evidencia. Según estos criterios, para una determinada enfermedad puede existir evidencia circunstancial, indirecta o directa de autoinmunidad (Rose y Bona, 1993). La esquizofrenia cumple criterios para afirmar que cuenta con evidencia circunstancial e indirecta de autoinmunidad.

#### *2.2.6.1. Evidencia circunstancial de autoinmunidad en la esquizofrenia*

La evidencia circunstancial la aportan, en primer lugar, estudios que describen la asociación entre la presencia de esquizofrenia y trastornos autoinmunes en el mismo individuo o familia. Se ha descrito en estudios daneses con grandes muestras de población



esquizofrénica (hasta 20.317 pacientes) que el riesgo relativo de esquizofrenia aumenta en un 45% en un individuo con una enfermedad autoinmune y en la familia del mismo, y en pacientes con esquizofrenia aumenta la prevalencia de una enfermedad autoinmune a lo largo de la vida en un 50%. También sabemos que en los 5 años posteriores al diagnóstico de una enfermedad autoinmune la incidencia de trastorno bipolar crece en un 70%, y a partir del quinto año aumenta en un 20%. Es conocido que, una historia familiar de enfermedades autoinmunes aumenta el riesgo de esquizofrenia en un 10%, y una historia familiar de esquizofrenia aumenta el riesgo de enfermedades autoinmunes en un 6% (Benros et al., 2011, 2014a; Chen et al., 2012; Eaton et al., 2006, 2010). La esquizofrenia se ha asociado con multitud de síndromes autoinmunes como son la enfermedad celíaca, el síndrome de Sjögren, la iridociclitis, la dermatopolimiositis el síndrome de Guillain-Barré, la diabetes tipo I, la psoriasis, la anemia perniciosa, la vasculitis, la hepatitis autoinmune, el lupus eritematoso sistémico (LES), la esclerosis múltiple y las enfermedades autoinmunes de la glándula tiroides (tanto con la enfermedad de Graves como con la tiroiditis autoinmune). Apoyan esta última asociación los resultados del estudio de el trabajo de Purcell et al., que encuentran asociación entre variaciones genéticas relacionadas con estas enfermedades tiroideas y el riesgo de esquizofrenia (Purcell et al., 2009). También se ha descrito una asociación negativa con la artritis reumatoide (Benros et al., 2014b; Eaton et al., 2010; Jones et al., 2005).

En segundo lugar, los estudios que identifican infiltración linfocitaria en líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con esquizofrenia también aportan evidencia circunstancial de autoinmunidad. Se ha descrito una frecuencia aumentada de células linfoides con características morfológicas de activación en el LCR de pacientes esquizofrénicos cuando se comparan con individuos sanos. Se identifica también una infiltración importante de macrófagos en el LCR de pacientes con esquizofrenia (Nikkila et al., 2001). Otros estudios detectan un aumento de la subpoblación de linfocitos T

caracterizada por la presencia de marcadores de superficie CD4 en LCR y sangre de pacientes con psicosis (Maxeiner et al., 2009).

En tercer lugar, aportan evidencia los resultados que describen asociación familiar e individual de la enfermedad con determinados alelos de antígenos leucocitarios humanos (HLAs). Se ha encontrado una asociación positiva entre el HLA-B15 y el hecho de tener un diagnóstico de esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo o ser familiar de pacientes con este diagnóstico (Nunes et al., 2005). También se ha descrito una relación entre la esquizofrenia en Turquía y Japón y el HLA-DR1 (Ozcan, 2006). Además, una de las señales genéticas más consistentes en la esquizofrenia se sitúa en la región del MHC, como hemos descrito anteriormente (Bergen et al., 2012; Debnath et al., 2013; Jia et al., 2012; Purcell et al., 2009; Shi et al., 2009; Stefansson et al., 2009).

El cuarto criterio para considerar que hay evidencia circunstancial de autoinmunidad se cumple a través de estudios que demuestran respuesta a la inmunosupresión en la psicosis. Levine et al. describen mejoría de los síntomas psicóticos en un subgrupo de pacientes con esquizofrenia tras la administración de azatioprina (Levine et al., 1997). También se ha publicado el caso de un paciente de 23 años con un diagnóstico de enfermedad de Crohn comórbida a una esquizofrenia, para el que se consiguió la remisión de la clínica psicótica en paralelo a la digestiva después de administrarle infliximab (anticuerpo monoclonal contra el TNF-alfa) (Reimer et al., 2009).

Cabe tener en cuenta también el efecto inmunomodulador de los antipsicóticos. Se ha observado que el tratamiento neuroléptico revierte algunas de las alteraciones que se han asociado con la esquizofrenia. Reduce los niveles de IL-6 y eleva los niveles de IFN- $\gamma$  y de los linfocitos que lo producen, también incrementa los niveles de factores relacionados con la producción de IL-2, los niveles de TNF-alfa, de IL-18, de sICAM y de los factores asociados a ésta. En general reequilibra las respuestas inmunitarias tipo-TH1 y TH2 (Müller et al., 1999; Müller y Schwarz, 2010; Strous y Shoenfeld, 2006). Se han identificado, además, incrementos en la expresión de receptores de moléculas de adhesión

celular en los linfocitos T de pacientes esquizofrénicos tras el tratamiento antipsicótico. Estos incrementos se relacionan con alteraciones en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE), sugiriendo que el efecto de los antipsicóticos tiene un efecto inmunoregulador (Müller et al., 1999).

Los estudios que describen el efecto terapéutico de los antiinflamatorios inhibidores de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) como coadyuvantes de los antipsicóticos no pueden incluirse como evidencia de respuesta a la inmunosupresión, pero sí indican que al tratar las alteraciones inmunitarias en los individuos con psicosis se tratan también los síntomas psicóticos. Se ha descrito que los inhibidores de la COX-2 contribuyen a disminuir los niveles de citocinas TH2, a aumentar las citocinas tipo-TH1 y a disminuir los niveles de KINA. La conclusión sería que actúan revirtiendo el desequilibrio entre ambos tipos de respuestas inmunitarias. Lo singular es que estos efectos sólo aparecen cuando se trata a los pacientes en fases agudas, por lo que se infiere que una vez la inflamación se cronifica y aparecen cambios neurodegenerativos, los daños ya son irreversibles (Müller y Schwarz, 2010; Strous y Shoenfeld, 2006).

La evidencia más clara de respuesta a la inmunosupresión en la psicosis la aportan los estudios de Zandi et al. (2011, 2014), que describen una recuperación clínica en psicosis agudas asociadas a anticuerpos anti-NMDAR tras el uso de inmunoterapia (estos resultados se comentan más extensamente en la discusión).

#### *2.2.6.2. Evidencia indirecta de autoinmunidad en la esquizofrenia*

La evidencia indirecta de autoinmunidad en la psicosis la aportan, en primer lugar, estudios que detectan en pacientes con esquizofrenia, anticuerpos no órgano-específicos asociados a enfermedades autoinmunes sistémicas, como anticuerpos anticardiolipina, antinucleares (ANA), anti-DNA y anti-histonas (Ganguli et al., 1992; Johnstone et al., 1975; Jones et al., 2005, Sirota et al., 1993; Zorrilla et al., 1996).

En segundo lugar, también demuestran indirectamente la implicación de la autoinmunidad en la patogenia de la esquizofrenia, los estudios que detectan anticuerpos contra distintas estructuras cerebrales y contra neurotransmisores y proteínas relacionadas con la función de los mismos. Shima et al. (1991) encuentran anticuerpos anticerebrales en una proporción significativamente mayor de individuos con esquizofrenia que de pacientes con depresión y no los detectan en individuos sanos (Jones et al., 2005; Shima et al., 1991). Otros autores describen anticuerpos contra estructuras o moléculas cerebrales, como los gangliósidos, en pacientes esquizofrénicos (Heath et al., 1989; Henneberg et al., 1994; Jones et al., 2005; Teplizki et al., 1992). Alternativamente, también se han descrito asociaciones negativas en relación a los anticuerpos anticerebrales (Jones et al., 2005; Knight et al., 1990; Pelonero et al., 1990; Schott et al., 1998; Stevens y Weller, 1992; Yang et al., 1994).

Los anticuerpos antiserotonina, identificados en psicosis esquizoafectivas, se cree que podrían influir en la función de los receptores serotoninérgicos (Jones et al., 2005; Schott et al., 2003). Por otro lado, también se han descrito anticuerpos contra receptores colinérgicos, serotoninérgicos, dopaminérgicos y opioides y se sugiere que podrían ser patogénicos mediante su función estimuladora o antagonista de los mismos (Borda et al., 2002; Knight, 1982; Tanaka et al., 2003; Jones et al., 2005).

Cabe destacar que se ha observado una asociación entre el aumento de algunas inmunoglobulinas (Ig) (la IgG en LCR y la IgE en suero) y determinadas variables clínicas, como la falta de respuesta a tratamiento y los síntomas negativos (Schwarz et al., 2001).

La evidencia reiterada de niveles elevados de anticuerpos antireceptores de neurotransmisores y la demostración in vitro de que éstos pueden tener consecuencias funcionales apoyan la hipótesis autoinmune. Aún así, la falta de especificidad de estos anticuerpos, las dudas sobre su patogenicidad y el pequeño tamaño de las muestras de pacientes determinan que el origen autoinmune de las psicosis se observe aún con escepticismo.

#### *2.2.6.3. Discrepancia entre estudios*

Las discrepancias en los resultados de diferentes grupos cuando se investiga la teoría autoinmunitaria de la psicosis pueden ser debidas a varias razones:

1) Los individuos sometidos a estudio se encuentran en muchos casos en tratamiento antipsicótico que, como sabemos, tiene efecto inmunomodulador, hecho que podría influir en los resultados.

2) Las técnicas usadas en los estudios más antiguos son menos sensibles que las actuales.

3) Muchos trabajos no controlan la presencia de enfermedades concomitantes, el uso de drogas en los individuos, ni el tiempo de evolución/la cronicidad de la enfermedad psicótica, hechos que podrían modificar los resultados.

4) Las categorías diagnósticas utilizadas implican muestras de pacientes con presentaciones sindrómicas muy heterogéneas, para las que se busca una etiología única, cuando la variedad en los síntomas podría significar patogenias diversas. De la misma manera sabemos que similares fenotipos se pueden conseguir por vía patológicas diferentes. Siguiendo esta lógica, la psicosis podría presentarse tras un daño inmunomediado en las sinapsis o bien a causa de alteraciones genéticas, procesos neurodegenerativos o en el neurodesarrollo que afecten a esas mismas sinapsis (Jones et al., 2005). Ambos enfoques llevan a concluir que algunos síndromes psicóticos podrían tener un origen parcialmente inmunitario o autoinmune y otros no.

#### *2.2.6.4. Limitaciones de la hipótesis autoinmunitaria de la esquizofrenia*

En la actualidad no existe evidencia directa de autoinmunidad en la esquizofrenia. Se requieren estudios que confirmen la presencia de autoanticuerpos en la psicosis, que identifiquen sus antígenos diana y sus mecanismos patogénicos. El estudio de entidades de conocido origen autoinmune y sintomatología superponible a la esquizofrenia puede

aportar información sobre algunas de las vías inmunitarias implicadas en el origen del síndrome psicótico.

### **2.3. Anticuerpos antineuronales y psicosis**

Existen tres entidades clínicas de origen autoinmune bien definido, que cuentan con síntomas psicóticos entre sus formas de presentación habitual. Éstas son el lupus eritematoso sistémico (LES), la encefalitis límbica (EL), y la encefalitis por anticuerpos anti-antígenos neuronales de superficie (ANS), principalmente por anticuerpos anti-NMDAR.

#### **2.3.1. Lupus eritematoso sistémico y psicosis**

Existe una clara relación entre el LES y la psicosis. Las formas neuropsiquiátricas del LES suelen cursar con síntomas psicóticos y, por otro lado, el tratamiento farmacológico del LES puede conllevar la aparición de psicosis. No existe una relación patogénica clara entre los autoanticuerpos característicos de la enfermedad y la psicosis pero sí se ha descrito cómo algunos IgG anti-DNA de doble cadena (anti-dsDNA) característicos de esta enfermedad tienen una reacción cruzada con las subunidades NR2A y B de los NMDAR y se han asociado con la presencia de síntomas psicóticos (Coutinho et al., 2014; Deakin et al., 2014). Este tipo de anticuerpos es distinto del asociado a encefalitis autoinmune ya que los determinantes antigénicos (epítomos) reconocidos son lineales (secuencia de aminoácidos) y no requieren de la estructura tridimensional de la molécula, como ocurre con los epítomos reconocidos por los anti-NMDAR dirigidos contra subunidades NR1.

También se han observado anticuerpos antiribosómicos P en pacientes con LES y psicosis, pero se sabe que no son específicos de esta comorbilidad (Aranow et al., 2010; Faust et al., 2010). Se cree que los anticuerpos acceden al cerebro y causan daño neuronal

al permeabilizarse la BHE en el contexto del proceso inflamatorio (Huerta et al., 2006; Kowal et al., 2006).

### 2.3.2. Encefalitis límbica y psicosis

La EL clásicamente se consideraba únicamente una enfermedad paraneoplásica, pero en los últimos años se han descrito formas asociadas a la presencia de ANS. Estas variantes tienen una mejor respuesta al tratamiento inmunosupresor que las encefalitis asociadas a anticuerpos contra antígenos neuronales intracelulares (ANI), en su mayoría paraneoplásicas (Graus et al., 2010; Leypoldt et al., 2013). Ello es debido a que los ANS, en general, producen una internalización reversible del número de receptores con los que interaccionan en la membrana neuronal y que está relacionada con los síntomas. En las encefalitis asociadas a ANI el mecanismo inmunopatogénico es principalmente mediado por linfocitos citotóxicos.

De entre todas las formas de EL autoinmune que se han ido identificando en los últimos años hay varias que cursan con síntomas psicóticos prominentes, caracterizadas por ANS contra distintos antígenos:

- NMDAR,
- AMPAR,
- proteínas asociadas a canales de potasio dependientes de voltaje (VGKC), principalmente: *leucine-rich glioma-inactivated 1*(LGI1), *contactin-associated protein-like 2* (CASPR2) y, menos frecuentemente, Contactin-2,
- receptor de dopamina D2 (D2R),
- receptor de ácido gamma amino butírico tipo B (GABAR<sub>B</sub>) y
- proteína 6 tipo dipeptidil peptidasa (DPPX) (proteína reguladora de la subunidad Kv4.2 de los canales de potasio) .

También se han descrito manifestaciones psicóticas en un número discreto de pacientes con anticuerpos contra el receptor de glicina y el receptor metabotrópico de glutamato 5 (mGlu5R) (resumen en tabla 1).

También los pacientes con ANI, como los anticuerpos anti-antígenos onconeuronales (Hu, Yo, CV2, Ri, Ma2, entre otros) y anti-ácido glutámico descarboxilasa (GAD), pueden manifestar síntomas psiquiátricos en el contexto de encefalitis. Se cree que progresivamente irán descubriéndose antígenos nuevos.

Resulta especialmente relevante la descripción de casos de fenotipos parciales con síntomas psicóticos aislados en EL causadas por anticuerpos anti-AMPA, anti-D2R, anti-NMDAR y anti- VGKC (Coutinho et al., 2014; Deakin et al., 2014; Herken y Prüss, 2017; Lancaster y Dalmau, 2012; Pathmanandavel et al., 2015; Vincent et al., 2011; Zuliani et al., 2012). En consecuencia, podrían aparecer problemas de diagnóstico diferencial entre primeros episodios psicóticos y la EL.

Tabla 1. Encefalitis asociadas a ANS con posibles síntomas psicóticos

Antígenos	Manifestaciones clínicas principales
<b>NMDAR</b>	Trastornos psiquiátricos, insomnio, disfasias, epilepsia, amnesia, alteraciones del movimiento, catatonía, inestabilidad autonómica, coma
<b>AMPA</b>	Encefalitis límbica con trastornos psiquiátricos
<b>LG11</b>	Encefalitis límbica con trastornos psiquiátricos, convulsiones epilépticas focales facio-braquiales, alteraciones del sueño, mioclonus
<b>CASPR2</b>	Encefalitis con trastornos psiquiátricos, síndrome de Morvan, Neuromiotonía
<b>D2R</b>	Encefalitis con trastornos psiquiátricos, trastornos del movimiento
<b>GABARB</b>	Encefalitis límbica con trastornos psiquiátricos, convulsiones epilépticas
<b>DPPX</b>	Encefalitis con excitabilidad del SNC: confusión, síntomas psiquiátricos, temblor, mioclonus, hyperekplexia, nistagmus, síntomas tipo PERM, ataxia
<b>Receptor de glicina</b>	Síndrome de la persona rígida, PERM, encefalitis límbica con trastornos psiquiátricos, degeneración cerebelar, neuritis óptica
<b>mGlu5R</b>	Encefalitis límbica con trastornos psiquiátricos, mioclonus

SNC: sistema nervioso central; PERM: encefalomiелitis progresiva con rigidez y mioclonus



### *2.3.2.1. Encefalitis por ANS y psicosis*

Es característico de las EL por anticuerpos anti- VGKC el inicio agudo/subagudo (en días o semanas) de los síntomas en forma de amnesia, confusión, epilepsia temporal, agitación motora y síntomas psiquiátricos varios. Otros síntomas pueden ser alteraciones del sueño, hipotermia, ataxia y pseudobstrucciones intestinales. Muchas veces hay un período prodrómico infeccioso inespecífico y el pronóstico de la enfermedad suele ser bueno tras tratamiento con corticoides, recambio plasmático o tratamiento con inmunoglobulinas endovenosas (ev). El curso suele ser monofásico, con una desaparición de los anticuerpos en suero en unos meses tras el tratamiento y sin recaídas. Los pacientes son hombres mayoritariamente (ratio 2:1) y suelen ser mayores de 40 años. Suelen presentar alteraciones en la resonancia magnética (RMN) con hiperintensidades en el lóbulo temporal e hiponatremia.

Se encuentran síntomas neuropsiquiátricos en un 44% de casos de encefalitis por anticuerpos anti- VGKC (Herken y Prüss, 2017; Somers et al., 2011) y en muchas ocasiones el diagnóstico de inicio es una psicosis o una epilepsia idiopática (Vincent et al., 2011). Se han encontrado los anticuerpos en un paciente que presentó inicialmente psicosis incipiente y acabó cumpliendo criterios de esquizofrenia (Zandi et al., 2011).

En las EL por anticuerpos anti-AMPAR el cuadro clínico es similar al descrito anteriormente pero el curso clínico suele ser en forma de recurrencias/recaídas. Esta forma de EL, que suele darse como un síndrome paraneoplásico, aparece sobretodo en mujeres y los pacientes responden bien al tratamiento con inmunoterapia y también si se trata el tumor. Es característico también de este subtipo de EL que la psicosis sea un síntoma predominante y/o de inicio del cuadro clínico.

En una serie de 12 niños afectados de EL por anticuerpos anti-D2R, 9 de ellos presentaron síntomas de agitación o psicosis junto con importantes alteraciones del movimiento (Deakin et al., 2014). Por otro lado, recientemente Pathmanandavel et al. (2015) han encontrado anticuerpos anti-D2R, tipo IgG e IgM, en 3 de 43 pacientes afectados de psicosis

incipientes que no presentaban síntomas neurológicos.

Las EL por anticuerpos anti-DPPX y anti-GABAR<sub>B</sub> son raras y no existen estudios en psicosis aisladas.

En el caso de la EL por anticuerpos anti-DPPX se ha descrito un caso tratado inicialmente por psiquiatras. La EL por anticuerpos anti-GABAR<sub>B</sub> suele iniciarse en forma de epilepsia, pero en un tercio de los casos se manifiesta con alteraciones de conducta y síntomas psicóticos (Deakin et al., 2014; Vincent et al., 2011).

#### *2.3.2.2 Encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR y psicosis*

La investigación del mecanismo autoinmune que subyace a la psicosis ha experimentado un especial desarrollo desde que nace el concepto de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR (Dalmau y Bataller, 2007; Dalmau et al., 2008; Iizuka y Sakai, 2008). En esta entidad clínica se han identificado anticuerpos IgG dirigidos al dominio amino terminal de la subunidad NR1 de los NMDAR. Afecta a individuos con una mediana de edad de 23 años (rango de 5 a 76 años) y se ha descrito como la primera causa de encefalitis autoinmune asociada a ANS, con una frecuencia en menores de 30 años similar a la de las encefalitis víricas. Los estudios describen que entre el 70 y el 90% de pacientes son mujeres, y que hay una presencia importante de niños en las muestras. Entre el 40 y el 50% de las pacientes adultas presentan tumores; mientras que es mucho menos habitual que los hombres los presenten (sólo el 5% de los hombres mayores de 18 años). Los tumores más frecuentes cuando este síndrome es paraneoplásico son los teratomas ováricos, pero también se han descrito casos con neuroblastomas, tumores microcíticos de pulmón, tumores pancreáticos, tumores de mama y linfomas de Hodgkin. Menos del 10% de niños tienen formas paraneoplásicas (Irani et al., 2010; Dalmau et al., 2008; Vincent et al., 2011).

El síndrome clínico se desarrolla en forma de una característica secuencia de síntomas. Aproximadamente en el 70% de las ocasiones lo primero que aparece, 2 semanas antes de

iniciarse la clínica específica, es una sintomatología prodrómica en forma de febrícula, asociada a procesos infecciosos banales varios, que serían los coadyuvantes de la posterior autoinmunidad.

En la fase inicial de la encefalopatía los pacientes presentan afectación de la memoria, confusión, disfasia y síntomas psiquiátricos de diferente índole.

Posteriormente, en 1-2 semanas, aparecen alteraciones del movimiento, convulsiones, inestabilidad autonómica, disminución de conciencia e hipoventilación. Síntomas que pueden requerir ingreso en una unidad de cuidados intensivos. También existen presentaciones parciales y atípicas (Dalmau et al., 2011; Le Guen et al., 2015; Vincent et al., 2011).

El pronóstico suele ser mejor en las formas paraneoplásicas ya que la recuperación neurológica es mayor y hay menos recaídas si se realiza la tumorectomía, añadida normalmente a inmunoterapia, en los primeros 4 meses del inicio de la clínica encefalítica. Si no hay tumor, el tratamiento es la inmunoterapia, cuanto más pronta mejor y en muchas ocasiones durante largos períodos de tiempo. La inmunoterapia incluye una primera línea de tratamiento con corticoesteroides, inmunoglobulinas ev e intercambio plasmático, y una segunda línea con rituximab y ciclofosfamida (Vincent et al., 2011). Se ha descrito una mejoría neurológica substancial en el 81% de pacientes tras el tratamiento con inmunoterapia y tumorectomía cuando es preciso (Titulaer et al., 2013) y se han descrito recuperaciones espontáneas, pero habitualmente incompletas. El 15-25% de los pacientes recaen. Las recaídas suelen darse en pacientes sin tumores y se parecen normalmente a la forma de presentación inicial. Los síntomas suelen remitir en orden inverso a su aparición y la mejoría clínica y funcional es paralela a la disminución sérica de anticuerpos (Vincent et al., 2011). La presencia de los anticuerpos está ligada a una disminución del número de receptores en las dendritas post-sinápticas. Con la unión de los anticuerpos a los NMDAR éstos se dispersan lateralmente y salen desde el espacio sináptico al extrasináptico, desde esta localización son internalizados en las células (Dalmau et al., 2008; Le Guen et al.,

2015; Moscato et al., 2014). Ésta internalización es revertida con la inmunoterapia (Hughes et al., 2010; Masdeu, 2016).

Los anticuerpos se pueden identificar en suero y/o en LCR. Se sabe que en el 15% de pacientes no se identifican los anticuerpos en suero pero sí en LCR (Gresa-Arribas et al., 2014).

Se encuentran alteraciones en la RMN en aproximadamente el 50% de los casos a nivel del córtex cerebral y cerebelar, del hipocampo, de las regiones frontobasal e insular, de los ganglios basales e infrecuentemente a nivel de . Ocasionalmente se observan captaciones de contraste o hiperintensidades a nivel córtico-subcortical y atrofia a nivel temporal o frontotemporal (Dalmau et al., 2011; Le Guen et al., 2015; Vincent et al., 2011).

En el LCR inicialmente está alterado en el 80% de los casos y con la progresión de la enfermedad acaba siendo patológico en prácticamente todos los pacientes. Puede encontrarse una leve elevación de la concentración de proteínas, en el 60% de los casos se detectan bandas oligoclonales y en etapas iniciales frecuentemente aparece una moderada pleocitosis linfocitaria (Dalmau et al., 2011; Le Guen et al., 2015; Vincent et al., 2011).

El electroencefalograma (EEG) está alterado en el 90% de los pacientes. En algunos casos se trata de alteraciones epileptiformes en etapas iniciales, pero lo más habitual es encontrar, en etapas más avanzadas, alteraciones generalizadas y difusas en forma de ondas lentas, disrítmicas y de alta amplitud (Dalmau et al., 2011; Le Guen et al., 2015; Vincent et al., 2011).

Los anticuerpos anti-NMDAR se detectan fundamentalmente utilizando 3 técnicas diferentes:

- Mediante inmunohistoquímica en cortes de cerebro de rata, técnica que usa anticuerpos secundarios que tienen unida una enzima. Los anticuerpos secundarios se unen al anticuerpo primario que se quiere identificar y la activación de la enzima con la adición de su sustrato genera un producto que se visualiza.

- Mediante *cell-based assay (CBA)*, una técnica caracterizada por usar anticuerpos secundarios marcados con fluorescencia que se unen a los anticuerpos de los pacientes. Los anticuerpos de los pacientes a su vez se han unido previamente a los antígenos neuronales que se expresan en la superficie de líneas celulares (células renales embrionarias humanas, HEK). Las células HEK han sido transfectadas con DNAs complementarios que codifican los antígenos de interés: las subunidades NR1 y/o NR2 de los NMDAR.

- Mediante cultivos de neuronas hipocámpicas.

La inmunohistoquímica muestra un perfil de reactividad altamente específico en la superficie del hipocampo (a veces asociado a otros anticuerpos antineuronales) que requiere de los tests celulares para confirmar la identidad del antígeno buscado (Le Guen et al., 2015).

Aunque los síntomas psicóticos son frecuentes en varias encefalitis autoinmunes, sólo en el caso de la encefalitis anti-NMDAR se ha demostrado, a través de un modelo animal, que los anticuerpos son la causa del síndrome esquizofreniforme habitual en esta entidad clínica (Herken y Prüss, 2017; Moscato et al., 2014).

Hasta un 70% de los pacientes afectados de esta enfermedad son inicialmente evaluados por psiquiatras debido a la preponderancia de la clínica psicótica y afectiva en el síndrome. Se han identificado pacientes seropositivos para anticuerpos anti-NMDAR con fenotipos incompletos de la enfermedad en forma de psicosis asiladas (Dalmau et al., 2008, 2011; Deakin et al., 2014; Vincent et al., 2011). A continuación se exponen algunos de estos casos:

- I. Lebon et al. (2012) describen el caso de una mujer de 16 años que presenta inicialmente bradipsiquia, hipotimia, amotivación, apatía y posteriormente síntomas psicóticos con alucinaciones, alteraciones en contenido y forma del pensamiento y síntomas catatónicos con conductas inapropiadas. No

evoluciona hacia la presentación de otros síntomas neurológicos. El cuadro clínico encaja con el diagnóstico de depresión mayor psicótica vs trastorno esquizofreniforme. No responde al tratamiento con risperidona. El inicio abrupto del síndrome, las fluctuaciones del ánimo, los síntomas catatónicos resistentes al tratamiento y las alteraciones del sueño configuran una presentación atípica y se consulta al servicio neurología tras 2 meses de ausencia de mejoría. Se descarta la presencia de tumores y una valoración neuropsicológica revela alteraciones ejecutivas y de la memoria. Se detectan anticuerpos anti-NMDAR en suero con títulos elevados y en el EEG se objetiva una lentificación difusa. La RMN es normal y en el LCR se identifica una banda oligoclonal sin otras alteraciones. Requiere 18 meses de inmunoterapia para mejorar, quedan secuelas en forma de síntomas cognitivos leves. El caso se describe como una forma leve o incompleta de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR, en la línea de la descripción de formas parciales con síntomas psiquiátricos aislados que habían sido identificadas por Dalmau et al. en 2011 (Lebon et al., 2012).

- II. Le Foll y Pelletier (2010) describen el caso de una mujer de 24 años que inicialmente presenta alteraciones de concentración y memoria, temblores en extremidades inferiores, insomnio, hipotimia y bradicinesia. Se orienta como un cuadro depresivo con síntomas conversivos. En menos de 24 horas pasa a presentar soliloquios, taquipsiquia, una exaltación del humor, pararespuestas y dificultades para comprender las preguntas y en la memoria a corto plazo. Se desarrollan ideas delirantes megalománicas y alucinaciones y se diagnóstica entonces un episodio maníaco. A los 10 días ya presenta clínica encefalítica
- III. Fawcett (2010) describe una paciente de 28 años que ingresa inicialmente en el servicio de psiquiatría presentando hiperactividad, hipergrafía, verborrea, delirios religiosos, conductas inapropiadas, anorexia, pérdida ponderal,

taquicardia y elevada tensión arterial. Recibe tratamiento con litio y antipsicóticos sin una respuesta adecuada. Acaba desarrollando síntomas neurológicos y alteraciones respiratorias y se identifica un tumor ovárico, datos que llevan al diagnóstico de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR.

- IV. Barry et al. (2011) aportan datos sobre 4 mujeres que inicialmente se diagnosticaron como síndromes psiquiátricos y acabaron recibiendo un diagnóstico de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR. En uno de los casos el diagnóstico inicial fue un trastorno conversivo por predominar las alteraciones de concentración y memoria junto con disfasias. La segunda paciente inicialmente presentaba hipersomnia y letargia y posteriormente viró hacia la irritabilidad, la agitación y confusión. Acabó presentando alucinaciones y delirios y finalmente convulsiones. Otra de las pacientes estaba en su semana 12 del post-parto y presentó lo que inicialmente se consideraron pseudocrisis en el contexto de un comportamiento bizarro con ideas delirantes de perjuicio.
- V. Sacré et al. (2011) describen el caso de 2 mujeres jóvenes con un diagnóstico inicial de psicosis. Ambas cuentan un período prodrómico inicial en forma de cefaléa y fatiga, una de ellas con fiebre. Posteriormente una de ellas presenta síntomas catatónicos y contenido desorganizado del pensamiento. La otra, de inicio presenta ideas delirantes paranoides, síntomas maniformes, agitación motora y alucinaciones visuales. En los 2 casos los síntomas evolucionan y en aproximadamente 2 semanas aparecen graves alteraciones del movimiento, disautonomías y alteraciones de la conciencia junto con síntomas catatónicos francos. El diagnóstico final es de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR.
- VI. Kuo et al. describen el caso de una niña de 16 años que inicia un cuadro de características maníacas (hiperactividad, irritabilidad, disminución en la necesidad de sueño, risas y conductas inapropiadas) en el contexto de una sintomatología infecciosa de vías respiratorias altas (tos, rinorrea y fiebre).

Resultó destacable y atípico de una psicosis que el inicio de los síntomas fue abrupto, en 1 día, y que durante los primeros 3 días evolucionó presentando cada vez más fluctuaciones anímicas con agitaciones, conductas complejas sin finalidad obvia y dificultades de concentración y de memoria a corto plazo (no reconocía al doctor que la había atendido). Acabó evolucionando hacia un cuadro típico de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR (Kuo et al., 2012).

- VII. Pinho et al. (2012) describen 2 casos, uno de ellos un hombre de 63 años que presenta alucinaciones visuales y auditivas e ideas delirantes de tipo persecutorio al evolucionar el cuadro encefalítico (que se había iniciado en forma de epilepsia), y el otro una mujer de 21 años que inicia el síndrome con ideas delirantes de grandeza, alucinaciones visuales y auditivas y alteraciones de conducta.

Kayser et al. (2013) estudian una cohorte de 571 de pacientes afectados de encefalitis anti-NMDAR, 23 pacientes presentan síntomas psiquiátricos aislados, 5 de ellos en el primer episodio de encefalitis y 18 en las recaídas. En su muestra encuentra 91% de mujeres y describe los síntomas psiquiátricos más frecuentes: delirios (74%), alteración de ánimo (manía principalmente) (70%) y agresividad (57%). Encuentra un 45% de pacientes con alteraciones en la RMN, un 77% de pacientes con pleocitosis en el LCR y una tasa de recuperación superior al 90%.

Con la identificación de la psicosis como síntoma cardinal de la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR ésta pasa a considerarse una entidad neuropsiquiátrica y se convierte en un modelo para investigar la posible existencia de evidencia directa de autoinmunidad en subgrupos de pacientes psicóticos.

Herken y Prüss (2017) analizaron 100 pacientes con diferentes formas de encefalitis autoinmunes y los distribuyeron en 3 grupos. El primero incluía a pacientes con encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR. El segundo incluía casos de encefalitis por otros anticuerpos antineuronales de superficie (anti-LG11 y CASPR2, anti-glicina, anti-mGlu5R, anti-D2R y



anti-antígenos desconocidos pero identificables mediante inmunofluorescencia en cortes de cerebro). Y el último grupo constaba de pacientes con anticuerpos anti-epítomos intracelulares (GAD o onconeuronales)

Estos autores encuentran que el 60% de los pacientes con encefalitis autoinmunes presentaron síntomas psicóticos al inicio de la enfermedad y el 7% síntomas psicósomáticos. Un tercio de los pacientes fueron ingresados en unidades psiquiátricas inicialmente. Todos los pacientes con encefalitis anti-NMDAR presentaron síntomas psicóticos, en forma de alteraciones de conducta, alucinaciones, catatonia y delirios, acompañados de déficits mnésicos (fundamentalmente de la memoria a corto plazo). Los pacientes con anticuerpos contra otros epítomos neuronales de superficie o intracelulares presentaron más habitualmente síntomas psicósomáticos. Además, un 13% de todas las encefalitis presentaron síntomas depresivos. En el caso de las encefalitis por anticuerpos contra antígenos neuronales de superficie, los síntomas de inicio fueron psiquiátricos, mientras que en las encefalitis por anticuerpos contra antígenos intracelulares los primeros síntomas fueron neurológicos.

#### **2.4. Evidencia de anticuerpos anti-receptores NMDA en las psicosis**

Desde 2011 hasta la actualidad 14 investigaciones (sin contar la presente) se han interesado en el estudio de cohortes de enfermos psicóticos con el fin de identificar en ellas un subgrupo de pacientes con seropositividad para anticuerpos antineuronales de superficie.

Se ha encontrado entre un 3 y 14% de seropositividad para anticuerpos anti-NMDAR en diferentes cohortes de pacientes psicóticos (Bergink et al., 2015; Dickerson et al., 2012; Hammer et al., 2013; Lennox et al., 2017; Pathmanandavel et al., 2015; Steiner et al., 2013; Tsutsui et al., 2012; Zandi et al., 2011) (resumen en tabla 2). Hecho que habla, ya sea de un solapamiento patofisiológico entre la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR y las

psicosis, o bien de un problema de diagnóstico diferencial.

Tabla 2. Resultados positivos sobre la presencia de anticuerpos antineuronales en poblaciones de pacientes psicóticos.

Autores	Población estudiada	Isotipo	Epítipo	Técnica	Psicosis Positivas	Controles positivos
Zandi et al. 2011	PEP	IgG	NMDAR NR1 y NR2B Proteínas asociadas a VGKC	CBA	3/46 (6.5%) anti-NMDAR 1/46 (2.2%) anti-VGKC	Sin controles
Tsutsui et al. 2012	Esquizofrenia TEA	IgG	NMDAR	No especificado (nombra laboratorios en que se realizan, probablemente CBA)	4/51 (7.8%)	Sin controles
Dickerson et al. 2012	Manía aguda (Trastorno bipolar, TEA)	IgG	NMDAR: NR2A /2B	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i> (Elisa)	60 manías agudas con niveles aumentados de Ac	Ac a niveles inferiores en: 295 otros tst psiquiátricos 170 controles sanos
Steiner et al. 2013	Esquizofrenia aguda	IgG, IgM, IgA	NMDAR: NR1A; NR1A/NR2B AMPA	CBA	12/121 (9.9%)	1/230 (0.4%)
Hammer et al. 2013	Esquizofrenia TEA	IgG, IgM, IgA	NMDAR: NR1; NR1/NR2b	CBA	93/1081 (8.6%) anti-NR1	143/1325 (10.8%) anti-NR1
Bergink et al., 2015	Psicosis postparto (manía o psicosis)	IgG	NMDAR: NR1 y NR2B	Inmunohistoquímica CBA Cultivo de neuronas hipocámpicas	2/96 (2.1%)	0/64
Pathmanandavel et al. 2015	PEP en niños	IgG, IgM, IgA	D2R NMDAR: NR1	CBA en células vivas Cultivo de neuronas hipocámpicas	6/43 (13.9%): anti-NR1 (IgG, IgM, IgA) 3/43 (6.9%): anti-D2R (IgG, IgM)	0/43
Zandi et al. 2014	Psicosis agudas	IgG	NMDAR	CBA en células vivas	18/18	Sin controles
Lennox et al. 2017	PEP	IgG	NMDAR: NR1 y NR2B Proteínas asociadas a VGKC GABAR AMPA	CBA en células vivas Radioinmunoprecipitación	20/228 (8.8%): todos los Ac 7/228 (3%): anti-NMDAR	0/105: anti-NMDAR 4/105 (3.8%): resto de Ac

CBA: cell based assay; TEA: trastorno esquizoafectivo; Ac: anticuerpos

Zandi et al. (2011) miden mediante CBA anticuerpos anti-NMDAR y anticuerpos anti-VGKC en el suero de 46 pacientes con un diagnóstico inicial de primer episodio psicótico (PEP). Encuentran 3 pacientes con anticuerpos anti-NMDAR (6.5%) y 1 con anticuerpos anti-VGKC (2.2%). Un año después del primer episodio psicótico los cuatro pacientes

cumplen los criterios del DSM-IV para el diagnóstico de esquizofrenia. No encuentran características clínicas que diferencien a estos pacientes de otros PEP. Así pues, Zandi et al. (2011) concluyen que algunos pacientes con esquizofrenia pueden tener anticuerpos anti-NMDAR en suero con potencial patogénico y además describen por primera vez una mejoría en la clínica psicótica de un paciente seropositivo para anticuerpos anti-NMDAR y un diagnóstico psiquiátrico puro tras tratamiento con plasmaféresis y prednisolona.

Tsutsui et al. (2012), en una muestra de 51 pacientes japoneses afectos de esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo, encuentran 4 casos (7.8%) con anticuerpos anti-NMDAR en suero. También hallan anticuerpos anti-NMDAR en 3 de 5 pacientes (60%) con diagnóstico comórbido de narcolepsia y trastorno psicótico.

Estos autores aportan datos relevantes en cuanto al tratamiento, describen a los pacientes seropositivos como mayoritariamente resistentes a los antipsicóticos y, en cambio, respondedores a la terapia electroconvulsiva (TEC). Describen eficacia de la TEC en 5 de 10 pacientes positivos a anticuerpos anti-NMDAR (en estos 10 pacientes están incluidos 3 casos de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR típica, y 1 de ellos forma parte de las 5 que respondieron a TEC).

Dickerson et al. (2012) estudian la presencia de anticuerpos anti-NMDAR (subunidad NR2) en 60 pacientes afectos de diferentes subtipos de manía (incluyendo diagnósticos de trastorno esquizoafectivo). También estudian los mismos anticuerpos en un grupo control de 170 individuos y en 295 pacientes con otros trastornos psiquiátricos, encontrando un incremento de la seropositividad en los pacientes con síntomas maníacos al inicio del seguimiento longitudinal, pero no a los 6 meses. Interpretan que los anticuerpos podrían estar implicados en la patogenia de la manía aguda.

En 2013 Steiner et al. analizan a 459 pacientes sin medicar con varios diagnósticos psiquiátricos: esquizofrenia, trastorno depresivo mayor y trastorno límite de la personalidad (TLP) y a un grupo control de 230 individuos sanos de la población general.

Buscan anticuerpos (IgA, IgG, IgM) contra varios receptores de glutamato: NMDAR (subunidad NR1A aislada o en dímeros con la NR2B) y AMPAR (GluR1/GluR2). Quieren estudiar la especificidad de subtipos de inmunoglobulinas y de epítomos que éstas reconocen en las entidades psiquiátricas a estudio, para ver si se diferencian de la encefalitis en estas características. No encuentran anticuerpos anti-AMPAR ni en los pacientes ni en los controles. En su cohorte a estudio 1 control sano fue positivo a IgM (0.4%), ninguno de los pacientes con TLP. 12 de 121 pacientes con esquizofrenia (9.9%) presentaron IgG, IgA o IgM anti-NMDAR, y 2 de 70 (2.8%) pacientes con depresión mayor fueron positivos para anticuerpos anti-NMDAR del tipo IgA. Los autores destacan que los IgG anti-NMDAR de los pacientes con esquizofrenia eran anti-dímeros NR1A-NR2B nunca anti-NR1A aislada. A todos los pacientes con IgG anti-NMDAR se les extrajo LCR. Los 2 pacientes con IgG anti-NR1A aislada se consideraron diagnósticos erróneos de esquizofrenia desorganizada y catatónica y pasaron a definirse como encefalitis anti-NMDAR en base al análisis de los EEG y de muestras de LCR (Steiner et al. 2013).

En 2013 Hammer et al. realizan un estudio con 2817 individuos (1325 individuos sanos, 1081 individuos con esquizofrenia, 263 con enfermedad de Parkinson y 148 con trastornos afectivos). Buscan anticuerpos anti-subunidad NR1 de los NMDAR, subtipos IgA, IgM e IgG. Encuentran la misma prevalencia de casos positivos para todos los isotipos analizados (10.5%) en pacientes esquizofrénicos y en individuos sanos. Consideran que la mayor prevalencia encontrada en pacientes afectivos (16.2%) es debida a que la muestra de pacientes tenía una edad media mayor que el resto. Tampoco hay diferencias entre la seroprevalencia de pacientes con Parkinson y de individuos sanos. Mediante un modelo in vitro, en neuronas corticales embrionarias de ratón, concluyen que todos los anticuerpos tienen la misma capacidad patogénica, ya sean de individuos sanos o enfermos y de cualquiera de los isotipos. Además, mediante un modelo experimental in vivo con ratones con alteración de la BHE comparándolos con un grupo de ratones tipo silvestre, concluyen que las alteraciones en la BHE son imprescindibles para que los

anticuerpos lleguen a provocar manifestaciones conductuales de tipo psicótico. Extrapolan estos hallazgos a las cohortes de pacientes a estudio y mediante un análisis retrospectivo de información sobre posibles alteraciones de la BHE en los pacientes (complicaciones en el parto o traumatismos craneoencefálicos) llegan a la conclusión de que la presencia en sí misma de los anticuerpos es inespecífica y siempre se requiere la alteración de la BHE para que aparezcan las alteraciones neuropsiquiátricas.

También realizan un análisis GWAS y encuentran un polimorfismo en el cromosoma 1 asociado a la formación de los anticuerpos y, además, encuentran en hombres una asociación entre la presencia de anticuerpos anti-NMDAR y de anticuerpos anti-influenza A y B y sugieren que se podría pasar de la inmunidad anti-influenza a la autoinmunidad anti-NMDAR por mimetismo molecular.

Bergink et al. en 2015 estudian la presencia de anticuerpos anti-NMDAR en 96 mujeres afectas de psicosis postparto y las comparan con 64 mujeres sanas en el período postparto. Dos mujeres afectas de psicosis resultan positivas, ninguna de las sanas. Para otras dos no es posible detectar el antígeno diana, aunque se demuestra positividad para anticuerpos antineuronales de superficie por inmunofluorescencia indirecta sobre neuronas hipocámpicas vivas. Los autores destacan que estas 2 pacientes presentan extrapiramidalismo con dosis bajas de haloperidol, síntoma no muy frecuentes en este tipo de patología y que, por otra parte, es similar a los trastornos del movimiento observables en la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR.

Pathmanandavel et al., en 2015 estudian el suero de 43 niños que presentan un PEP y 43 controles mediante CBA e inmunohistoquímica buscando IgG, IgM, or IgA anti-D2R y anti-NR1 del NMDAR. Los resultados muestran positividad para anticuerpos anti-D2R en 3 (6.9%) de los 43 pacientes (3 IgG, 1 IgM, 0 IgA) y para anticuerpos anti-NMDAR (NR1) en 6 (13.9%) de los 43 pacientes (5 IgG (11.6%), 1 IgM, 1 IgA).

El grupo de Zandi en 2014 vuelve a aportar datos sobre las características clínicas de los pacientes con psicosis agudas y anticuerpos anti-NMDAR. En casos seleccionados por

sus psiquiatras, mediante sospecha clínica por presentar psicosis atípicas, se buscan en suero anticuerpos anti-NMDAR y anti-proteínas de los VGKC, mediante *CBA* en células vivas y radioinmunoprecipitación respectivamente, observando que sólo se encuentra el primer tipo de anticuerpos en 18 pacientes. La muestra de pacientes se analiza fundamentalmente de forma prospectiva y en 3 casos de forma retrospectiva (los descritos en el trabajo de Zandi et al. de 2011). El estudio identifica, además de los síntomas psicóticos, alteraciones del sueño en 15 pacientes (83%), anomalías en el EEG en 3 pacientes y leucocitos en LCR en un paciente (Zandi et al., de 2014).

A 9 de los 18 pacientes se le administró inmunoterapia con buena respuesta en 8 casos (6 de ellos llegaron a la remisión clínica) y sin problemas de tolerancia.

En la discusión de esta tesis se comentan los resultados de Lennox et al. (2017), el último de los trabajos con resultados positivos, publicado con posterioridad al presente estudio.

Por otra parte, 5 de los 14 estudios que analizan la asociación autoinmunidad antineuronal-psicosis, ofrecen resultados negativos (Chen et al., 2017; de Witte et al., 2015; Haussleiter et al., 2012; Masdeu et al., 2012; Rhoads et al., 2011) (tabla 3).

Rhoads et al. en 2011 estudian 7 pacientes con esquizofrenia en tratamiento con fármacos típicos y atípicos y 3 controles, buscando anticuerpos anti-NMDAR mediante *CBA* sobre células HEK293 que expresan la subunidad NR1 de los NMDAR con suero diluido al 1:20 y encuentran resultados negativos. Los autores son conscientes de lo limitante que resulta el número de pacientes de su muestra y argumentan que la cronicidad y el tratamiento antipsicótico puede haber influido en los resultados ya que ambos provocan una disminución progresiva en el título de anticuerpos.

Masdeu et al., (2012) obtienen también resultados negativos cuando intentan identificar anticuerpos IgG anti la subunidad NR1 de los NMDAR y otros anticuerpos antineuronales de superficie en el suero de 80 pacientes que presentan un PEP. Encuentran 4 sueros reactivos para antígenos sin identificar. Al año de seguimiento todos

los pacientes cumplían criterios DSM-IVR de trastornos del espectro esquizofrénico. En su estudio analizan también a 40 sujetos sanos utilizando técnicas de *CBA* e inmunohistoquímica en cortes de cerebro de rata y en neuronas disociadas de hipocampo.

Concluyen que la falta de homogeneidad en los diagnósticos, la baja especificidad de las técnicas usadas y la ausencia de grupo control podrían ser los responsables de los resultados positivos encontrados por Zandi et al. (2011) en su muestra de PEP. De todas formas son conscientes de que el haber restringido la muestra a pacientes con esquizofrenia puede haber limitado los resultados.

También en 2012, Haussleiter et al., buscando mediante *CBA* anticuerpos anti-NMDAR (NR1 y NR2), anti-AMPA (GluR1/GluR2), anti-receptor GABA, anti-LGI-1 y anti-CASPR2, encuentran resultados negativos en el suero de 50 pacientes con edad media de 44 años y diagnóstico de psicosis según DSM-IV. No hay grupo control. Un 72% de los participantes presentan síntomas psicóticos durante un mínimo de 5 años, aunque también se incluyen pacientes afectos de PEP. Todos los pacientes presentan síntomas agudos en el momento del análisis.

La diversidad de diagnósticos, tratamientos y duración de la enfermedad pueden haber condicionado los resultados.

De Witte et al. en 2015. buscan IgG anti-NMDAR en suero, inicialmente mediante *CBA* en células fijadas y no fijadas dando especial importancia a la técnica de análisis.. Estudian 3 cohortes de pacientes diagnosticados de esquizofrenia, una de ellas recoge PEP. Los resultados positivos se confirman en análisis realizados de forma sucesiva en laboratorios diferentes, con diluciones diferentes y mediante otra técnica: inmunohistoquímica (interassay and interlaboratry validation). En 415 pacientes encuentran 2 casos positivos que se negativizan al usar técnicas de validación. Los autores señalan que esta negativización habla del riesgo de los falsos positivos. También destacan lo limitado de analizar pacientes crónicos y en tratamiento antipsicótico y de no tener LCR, ya que se sabe que el 15% de los pacientes sólo resultarán positivos en muestras LCR.

El último estudio con resultados negativos es el de Chen et al. (2017), quienes estudian una muestra de 78 PEP y otra de 234 pacientes con esquizofrenia crónica (incluyendo 48 resistentes al tratamiento). No encuentran seropositividad para anticuerpos anti-NMDAR, AMPAR, GABARB, LGI1 y CASPR2.

En un metaanálisis y una revisión sistemática Pearlman y Najjar (2014), encuentran una *odds ratio* de 3.1 (95% de IC 1.04-9.27) de seropositividad para anticuerpos anti-NMDAR en pacientes con diagnóstico de esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo, trastorno bipolar o trastorno depresivo mayor, comparado con controles. En el mismo año otro estudio de similares características encuentra un 1.46% de seropositividad para anticuerpos anti-NMDAR tipo IgG en pacientes afectados de esquizofrenia, trastornos del espectro esquizofrénico y PEP (Pollak et al., 2014).

Tabla 3. Resultados negativos sobre la presencia de anticuerpos antineuronales en poblaciones de pacientes psicóticos.

Autores	Población estudiada	Isotipo	Epítipo	Técnica	Psicosis positivas	Controles positivos
Rhoads et al. 2011	Esquizofrenia	IgG	NMDAR: NR1	CBA	0/7	0/3
Masdeu et al. 2012	PEP	IgG	NMDAR: NR1	Inmunohistoquímica CBA Cultivo de neuronas hipocámpicas	0/80	0/40
Hausleiter et al. 2012	Trastorno psicótico	?	NMDAR: NR1a/NR1a; NR1a/NR2b	CBA	0/50	Sin controles
de Witte et al. 2015	Esquizofrenia TEA PEP	IgG	NMDAR: NR1	CBA Inmunohistoquímica	0/475	Sin controles
Chen et al. 2017	PEP Esquizofrenia crónica	?	NMDAR AMPA GABARB LGI1 CASPR2	CBA	0/78 0/234	Sin controles

CBA: cell based assay; TEA: trastorno esquizoafectivo

## 2.5. Justificación del proyecto

La evidencia aportada por los estudios genéticos, de neuroimagen y electrofisiológicos confirma que la psicosis es una enfermedad compleja y de origen multifactorial



caracterizada probablemente por alteraciones durante el neurodesarrollo y la maduración y podado neuronal, por disfunciones dopaminérgicas y glutamatérgicas y en muchos casos por procesos neurodegenerativos. En ocasiones sólo una de estas disfunciones puede conducir al fenotipo psicótico y otras veces probablemente se requiere una combinación de varias de estas perturbaciones.

Los hallazgos fisiopatológicos que explican el desarrollo de los síntomas psicóticos no se adaptan bien a las definiciones categóricas propias de los manuales DSM e ICD. La nosología actual aún considera que el trastorno bipolar, el trastorno esquizoafectivo, la esquizofrenia, el trastorno delirante y el resto de enfermedades del espectro esquizofrénico son enfermedades independientes entre si.

Parece más acertado discriminar los diferentes subtipos de psicosis en función de endofenotipos y marcadores biológicos (Thaker, 2008). Este modelo diagnóstico es el paso previo necesario para diseñar tratamientos específicos.

Los estudios que se presentan en este trabajo responden a la necesidad de definir fenotipos psicóticos que se ajusten mejor a los recientes hallazgos neurobiológicos. En el primero de ellos queremos identificar si hay psicosis incipientes cuyo origen está asociado a una respuesta autoinmune contra antígenos neuronales de superficie y especialmente contra el NMDAR. A partir de los resultados obtenidos en el primer proyecto intentamos profundizar en el conocimiento de los mecanismos que conducen a la autoinmunidad en las psicosis asociadas a anticuerpos anti-NMDAR.

Estudiamos la interacción entre la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), los síntomas psicóticos y la autoinmunidad antineuronal de superficie (principalmente anti-NMDAR), basándonos en las recientes descripciones de recaídas de encefalitis por anticuerpos antineuronales asociadas a infecciones por VHS (Armangue et al., 2014).

En paralelo a los dos estudios previos, en colaboración con el *Stanford Center for Narcolepsy*, se analiza la relación entre la esquizofrenia, los anticuerpos antineuronales de

superficie (principalmente anti-NMDAR) y la narcolepsia. Este último estudio se fundamenta en el documentado origen autoinmune de la narcolepsia, en los resultados de GWAS que asocian polimorfismos vinculados al sistema HLA con el riesgo de esquizofrenia, en la superposición de síntomas entre la psicosis y la narcolepsia y en un trabajo previo que describe una prevalencia mayor de anticuerpos anti-NMDAR en pacientes con narcolepsia y psicosis que en pacientes narcolépticos sin síntomas psicóticos (Tsutsui et al., 2012).

### **3. HIPÓTESIS:**

#### **3.1. Hipótesis del estudio *Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis***

Se considera posible que exista un subtipo de psicosis en cuya etiología tenga un papel central la autoinmunidad, y más específicamente la autoinmunidad anti-NMDAR.

#### **3.2. Hipótesis del estudio *Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis***

Se plantea la necesidad de investigar la presencia de anticuerpos antineuronales de superficie en individuos VIH-positivos con afectación sintomática del SNC. Se argumenta que la infección por el VIH podría favorecer una respuesta inmune alterada y conducir a la autoinmunidad como lo hace el VHS (Armangue et al., 2014). La psicosis podría presentarse como una manifestación neuropsiquiátrica de origen autoinmune en algunos pacientes infectados por el VIH.

Se considera que, si la autoinmunidad se relaciona con los síndromes psicóticos que se observan en los pacientes infectados por VIH, se pueden replantear y optimizar los tratamientos de este subgrupo de pacientes.

### **3.3. Hipótesis del estudio *Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders***

Planteamos que en pacientes con un diagnóstico dual de esquizofrenia u otros trastornos del espectro esquizofrénico y narcolepsia podemos encontrar un proporción significativa de casos seropositivos para ANS. Pensamos que el estudio de la autoinmunidad de estos casos puede ayudar a entender mejor la fisiopatología de las dos enfermedades. También defendemos la hipótesis de que los casos seropositivos para ANS pueden ser más numerosos cuando hay un diagnóstico dual que en las psicosis sin narcolepsia, ya que las dos entidades pueden tener un origen autoinmune compartido.

## **4. OBJETIVOS:**

### **4.1. Objetivos del estudio *Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis***

En el contexto de la hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia y teniendo en cuenta el solapamiento sindrómico entre las psicosis y las encefalitis autoinmunes mediadas por ANS, queremos evaluar la presencia de estos anticuerpos en 61 pacientes afectos de PEP y 47 individuos sanos. Específicamente analizamos en el suero de los individuos la presencia de anticuerpos anti-NMDAR (subunidad NR1), anti-AMPA tipo 1 y 2, anti-GABAR $\beta$  y anti-proteínas asociadas a VGKC: LGI1 y CASPR2.

El objetivo secundario del estudio es evaluar, en la misma muestra de PEP y de controles, la presencia de otros marcadores de autoinmunidad asociados a afectación de sistema nervioso central. Analizamos la presencia en suero de anticuerpos onconeuronales (intracitoplásmicos), anticuerpos asociados a enfermedades sistémicas y anticuerpos antitiroideos.

Finalmente buscamos definir las características clínicas diferenciales de los pacientes afectos de PEP con seropositividad para anticuerpos antineuronales de superficie.

#### **4.2. Objetivos del estudio *Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis***

El objetivo de este trabajo es evaluar la prevalencia de anticuerpos sistémicos, anticuerpos onconeuronales y ANS tipo anti-NMDAR (subunidad NR1), anti-AMPA tipo 1 y 2, anti-GABAR $\beta$  y anti-proteínas asociadas a VGKC: LGI1 y CASPR2) en pacientes infectados por el VIH que presentan síntomas psicóticos sin otras alteraciones neurológicas asociadas.

#### **4.3. Objetivos del estudio *Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders***

En este estudio se revisan los casos de 10 pacientes con un diagnóstico comórbido de narcolepsia y esquizofrenia (6 pacientes), trastorno esquizoafectivo (1 paciente), trastorno esquizofreniforme (1 paciente) y trastorno delirante (1 paciente). Se toman muestras séricas de los 10 pacientes y de 10 controles apareados por etnia y edad, con 2 objetivos principales:

1. Estudiar sistemáticamente los casos de diagnóstico dual mediante tipaje HLA de clase I y II. La finalidad es determinar si la asociación entre las 2 patologías tiene que ver con polimorfismos compartidos en regiones del HLA.

2. Buscar marcadores de autoinmunidad compartida por las 2 enfermedades mediante el análisis, en el suero de los 10 pacientes, de anticuerpos asociados a enfermedades sistémicas, anticuerpos onconeuronales y ANS tipo anti-NMDAR (subunidad NR1), anti-AMPA tipo 1 y 2, anti-GABAR $\beta$  y anti-proteínas asociadas a VGKC: LGI1 y CASPR2.

## **5. MÉTODOS Y RESULTADOS:**

### ***5.1 Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis***



## Short Communication

## Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis. Positive results in an HIV-infected patient



Susana Arboleya<sup>a,e,\*</sup>, Antonio Clemente<sup>b,f</sup>, Savannah Deng<sup>a</sup>, Marta Bedmar<sup>a</sup>, Isabel Salvador<sup>a</sup>, Patricia Herbera<sup>a</sup>, Vanessa Cunill<sup>b</sup>, Cristòfol Vives-Bauza<sup>c,f</sup>, Josep Maria Haro<sup>d,e</sup>, Francesca Canellas<sup>a,f</sup>, Maria Rosa Julià<sup>b,f</sup>

<sup>a</sup> Department of Psychiatry, Hospital Universitari Son Espases, Carretera de Valldemossa 79, 07120 Palma de Mallorca, Spain

<sup>b</sup> Department of Immunology, Hospital Universitari Son Espases, Carretera de Valldemossa 79, 07120 Palma de Mallorca, Spain

<sup>c</sup> Research Unit, Hospital Universitari Son Espases, Carretera de Valldemossa 79, 07120 Palma de Mallorca, Spain

<sup>d</sup> Parc Sanitari Sant Joan de Déu (PSSJD), CIBERSAM, C/Antoni Pujadas 42, 08830 Sant Boi de Llobregat, Barcelona, Spain

<sup>e</sup> Faculty of Medicine, Universitat de Barcelona, C/Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain

<sup>f</sup> Institut d'Investigació Sanitària de Palma (IdISPa), Spain

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 19 October 2015

Received in revised form 7 March 2016

Accepted 17 March 2016

Available online 18 March 2016

## Keywords:

Psychosis

Schizophrenia

NMDAR

Encephalitis

Mania

Autoimmunity

HIV

## ABSTRACT

The role of neuronal surface autoantibodies (NSAs) in non-encephalitic psychosis is of recent and controversial interest. Most of the studies relating NSAs with psychosis are retrospective and only focused on the N-methyl-D-aspartate glutamate receptor (NMDAR). Our goal was to evaluate the prevalence of IgG antibodies against the NMDAR NR1 subunit (NMDAR-Abs) along with five additional NSAs in 61 first psychotic episode patients and 47 matched controls. We found two patients positive for NMDAR-Abs (3.3%). One of them was eventually considered to have been misdiagnosed and reclassified as encephalitis. The other met the criteria for bipolar I disorder, presented no neurological symptoms and had a comorbid HIV infection of vertical transmission. This is the first reported case of an HIV-infected patient with psychosis associated with NSAs. This study shows that patients presenting with clinically incomplete forms of anti-NMDAR encephalitis, with predominant or isolated psychiatric symptoms, can remain undetected if no ancillary tests are performed.

To improve patient diagnosis and treatment of individuals with a first psychotic episode, more detailed neurological examinations might be needed. Further studies are required to better clarify the role of NSAs in the neuropsychiatric effects of HIV infection.

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

## 1. Introduction

N-methyl-D-aspartate glutamate receptor (NMDAR) dysfunction has been associated with schizophrenia (Elert, 2014; Schwartz et al., 2012; Stephan et al., 2009; Timms et al., 2013).

The search for an autoimmune mechanism in schizophrenia or psychosis has been especially intense since anti-NMDAR encephalitis (NMDAR-E) was described as a novel autoimmune neuropsychiatric entity, diagnosed by the presence of IgG antibodies against the NMDAR NR1 subunit (NMDAR-Abs) (Dalmau and Bataller, 2007). Up to 70% of patients with NMDAR-E are initially evaluated by psychiatrists, and NMDAR-Abs positive cases with isolated psychotic symptoms have also been described (Dalmau

et al., 2008, 2011; Lebon et al., 2012; Steiner et al., 2013). Recent studies have described a spectrum of phenotypes associated with NMDAR autoimmunity and suggest a pathophysiological overlap between some cases of psychosis and NMDAR-E (Maneta and Garcia, 2014).

Rates of NSAs seropositivity among psychotic patients have been reported to be up to 6.5–10% (Steiner et al., 2013; Tsutsui et al., 2012; Zandi et al., 2011), but results have not been conclusive. There is a need to prospectively analyze the presence of NSAs in patients with new-onset psychosis without encephalitis (Deakin et al., 2014; Kayser et al., 2013).

The main goal of our study was to evaluate the prevalence of NSAs in first psychotic episode patients (FPEP). Specifically, we analyzed antibodies against NMDAR,  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptors (AMPA) type 1 or 2, gamma-aminobutyric acid receptor (GABA) type B and the proteins associated with the Voltage-gated potassium channels

\* Corresponding author at: PSSJD-Numància, C/Numància 7-13, 08029 Barcelona, Spain.

E-mail address: [smarboleya@gmail.com](mailto:smarboleya@gmail.com) (S. Arboleya).

(VGKC): leucine-rich glioma-inactivated 1 (LGI1) or contactin-associated protein 2 (CASPR2). A secondary goal of the study was to evaluate the presence of onconeural, systemic and thyroid autoantibodies in FPEP.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Patients and controls

We included 61 FPEPs admitted from May 2010 to January 2013 to the new-onset psychosis treatment program. Control subjects were 45 healthy volunteers (sex, age and ethnicity matched with patients) recruited from the general population after answering a brief questionnaire to rule out a mental disorder diagnosis.

The median time of follow-up for patients recruited in the study was 11 (SD 9) months. The duration of untreated psychosis (DUP) ranged from less than 1 week to more than 1 year, with a median of 3 and mean (SD) of 9 (13.1) weeks. Serum was obtained when patients signed the informed consent, and the mean time from symptoms onset until serum obtainment was 2.4 months (SD 4.4).

### 2.2. Clinical variables

Full clinical assessment and ancillary tests were performed to rule out medical conditions that could explain the psychotic symptoms. The diagnosis was performed independently by two clinicians according to DSM-IV TR criteria (Table 1).

The project was approved by the Ethics Committee of Majorca. All patients, and their legal tutors for those younger than 18 years-old, signed an informed consent.

### 2.3. Autoantibodies testing

#### 2.3.1. Blood sampling

A venous blood sample was obtained after overnight fasting and centrifuged immediately after sampling; serum was stored frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. Antibodies were analyzed within a month of sample extraction and samples had only undergone one freeze/thaw cycle when the analyses were performed.

Only one of the patients positive for NMDAR-Abs was tested for NSAs in the cerebrospinal fluid (CSF).

#### 2.3.2. NSAs detection

Neuronal surface antibodies of the IgG isotype were studied using a cell-based assay. Sera were tested at a starting dilution of 1:10 by an indirect immunofluorescence immunoassay (IFI) using biochips containing rat cerebellum, hippocampus sections and transfected HEK293 cells expressing one of the following antigens: NMDAR (subunit NR1), AMPAR type 1 or 2, GABAR type B, LGI1 or CASPR2 (EUROIMMUN AG., Lübeck, Germany).

Double immunolabeling of NMDAR-transfected HEK293 cells, using patient's serum and a rabbit monoclonal antibody against NR1 (1:1000, AB9864, Chemicon, Temecula, CA, USA) followed by secondary antibodies [1:400, Alexa Fluor conjugated anti-rabbit IgG, Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, USA and fluorescein-labeled anti-human IgG (FITC) (EUROIMMUN AG)] was performed to demonstrate co-localization with the NR1 subunit.

Positive results for NMDAR-Abs were cross-validated by immunohistochemistry on rat brain sections (Gresa-Arribas et al., 2014) and immunofluorescence on cultured neurons at the Dr. F. Graus Laboratory of Clinical and Experimental Neuroimmunology, Institut D'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Hospital Clinic, University of Barcelona, Spain.

#### 2.3.3. Intracellular and intracellular synaptic neuronal (onconeural) antibodies detection

Onconeural antibodies were screened at a 1:10 titer on biochips containing rat cerebellum or primate cerebellum sections (EUROIMMUN AG). Antibodies to amphiphysin, GAD65, Hu, Yo, CV2, Ri, Ma1, Ma2 and SOX-1 were also tested by line immunoblot assay (ravo Diagnostika, Freiburg, Germany).

#### 2.3.4. Screening of autoantibodies associated with systemic autoimmune diseases

Antinuclear antibodies (ANAs) were determined by IFI on Hep2 lines (INOVA, San Diego, USA). We screened Anti-ENA and anti-ribosomal P antibodies by line immunoblot assay (Innogenetics, Ghent, Belgium), and reactive sera were studied by ELISA for specific antigens (INOVA) or a fluorescence enzyme immunoassay (Elia) (Thermo Fisher Scientific-Phadia, Waltham, MA USA). We tested anti-DNA (dsDNA) antibodies by IFI on *Crithidia luciliae* (INOVA) and by Elia (Thermo Fisher Scientific-Phadia).

#### 2.3.5. Thyroid autoantibodies detection

Antibodies to thyroperoxidase were measured by a chemiluminescence technique (Abbott, Wiesbaden, Germany).

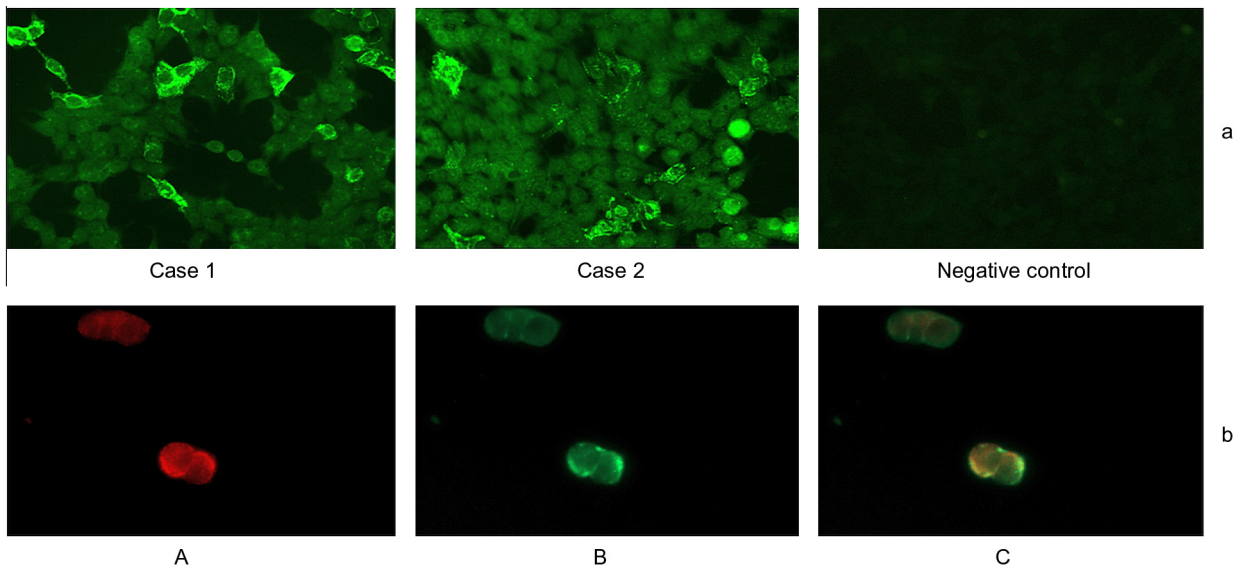
### 2.4. Statistical analysis

Statistical analysis was performed with SPSS (Released 2009. PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.). Fisher's exact tests were used to test statistical significance.

**Table 1**  
Characteristics of FPEP.

	Gender		Age Mean sd	Diagnosis of FPEP			Diagnosis of FPEP					
	N	%		SD N %	ME N %	DE N %	BPD N %	PS N %	DS N %	SP N %	PNOS N %	PM N %
Females	25	41.0	29.48 12.80	13 52	5 20	2 8	2 8	0 0	1 4	0 0	0 0	2 8
Males	36	59.0	20.48 5.25	22 61	7 19.4	0 0	2 5.6	2 5.6	0 0	1 2.8	2 5.6	0 0
Total	61	100	24.5 10.35	35 57.4	12 19.6	2 3.3	4 6.6	2 3.3	1 1.6	1 1.6	2 3.3	2 3.3

SD: Schizophreniform disorder, ME: Manic episode, DE: Major depressive episode, BPD: Brief psychotic disorder, PS: Paranoid schizophrenia, DS: Disorganized schizophrenia, SP: Substance-induced psychotic disorder, PNOS: Psychotic disorder not otherwise specified, PM: Psychotic disorder due to a medical condition.



**Fig. 1.** Indirect immunofluorescence (IFI) on NMDAR-transfected HEK293 cells. a: IFI results of Case 1 and Case 2 positive patients and a negative control, by using FITC-conjugated anti-human IgG. b: IFI pattern obtained after Case 1 serum incubation along with a rabbit monoclonal antibody against the NR1 subunit, followed by Alexa fluor-conjugated anti-rabbit IgG (A), FITC-conjugated anti-human IgG (B) and merged reactivity (C).

### 3. Results

#### 3.1. NSAs

We detected NMDAR-Abs in two FPEPs (3.28%) (Fig. 1). None of the healthy controls were positive. None of the samples showed positivity for other NSAs.

Case 1 was a 22-year-old male admitted in poor hygiene, with elevated tone of voice, accelerated and disorganized thought, loose associations, euphoric mood, insomnia, grandiose and paranoid delusions and auditory hallucinations. He had a co-morbid HIV infection of vertical transmission, with an undetectable viral load and unchanged antiretroviral treatment in the last 3 years. He was a chronic cannabis user. The patient's mother had a bipolar disorder diagnosis. Neurological examination, routine investigations and brain computed tomography (CT) scan were normal. He was diagnosed with bipolar I disorder, single manic episode. His treatment at discharge after 3 weeks was olanzapine and valproic acid. 18 months later, he presented with a second manic episode and consented to enter the study. The patient had stopped the treatment with olanzapine and valproic acid 6 months before the readmission. NMDAR-Abs were detected in his serum; the titer was low (1/20) but was confirmed by a co-localization technique and also in a second determination four months later. At time of serum collection the patient was under treatment with olanzapine, valproic acid and clonazepam. Neurological examination and electroencephalogram (EEG) were normal. Brain magnetic resonance imaging (MRI) with contrast showed insular brain atrophy. Ancillary tests ruled out the presence of neoplasm.

Case 2 was a 30-year-old woman who presented with pseudo-seizures and mystic delusional thinking, thought blockade, catatonic and disorganized behavior and auditory hallucinations. The initial diagnosis was a schizophreniform disorder, but NMDAR-Abs were found in her sera at a high titer (1/320), and they were confirmed in the CSF. A body CT scan revealed an ovarian teratoma, and the diagnosis was changed to NMDAR-E.

Both positive samples for NMDAR-Abs showed its characteristic pattern by immunohistochemistry on rat brain. Case 1 serum reactivity to a neuronal surface antigen was also confirmed by immunofluorescence on cultured neurons.

#### 3.2. Intracellular and synaptic neuronal (onconeural) antibodies

We did not find any IFI pattern compatible with intracellular or synaptic antibodies neither in the FPEPs nor in the HCs. We ruled out, by line immunoblot, the presence of the most frequent onconeural antibodies in all sera.

#### 3.3. Systemic autoantibodies

There was no significant difference between the percentage of ANA positive patients among FPEPs (4.92%) and HCs (4.26%). Autoantibodies to specific antigens were negative in all sera tested.

#### 3.4. Thyroid autoantibodies

We detected a high titer of thyroid autoantibodies only in one case, which was diagnosed with Graves-Basedow disease. This patient was negative for the rest antibodies studied.

### 4. Discussion and conclusions

In our cohort of 61 patients diagnosed with new-onset psychotic disorders, 2 cases (3.3%) were found to be positive for NMDAR-Abs. No cases with antibodies against other neuronal antigens were detected. One of the positive cases eventually met the criteria for NMDAR-E. The other met the DSM-IVR criteria for a bipolar I disorder and is the first reported case of an HIV-infected patient with psychosis associated with NSAs. The sample included another HIV-positive patient with a schizophreniform disorder diagnosis. We could not identify any clinical features which could distinguish the NMDAR-Abs positive bipolar patient from others without the antibodies (Hammer et al., 2013; Zandi et al., 2011).

To date, no NSAs-positive cases have been described among HIV-infected patients. In fact, NMDAR hyperactivation has been described in HIV infection (King et al., 2010). HIV-associated psychosis and "AIDS mania" are associated with depressed CD4 counts, a past positive psychiatric history, no antiretroviral therapy and dementia (de Ronchi et al., 2000; Harris et al., 1991; Nakimuli-Mpungu et al., 2006). The viral load of our NMDAR-Abs positive



HIV patient was undetectable, and CD4 counts were in the normal range at hospital admissions and one year later.

Autoimmune relapses associated with NSAs in post-herpes virus encephalitis indicate that infection might trigger NMDAR-E (Armangue et al., 2014). Our data do not allow us to rule out that HIV infection had compromised the BBB function (Louboutin and Strayer, 2012), leading to a pathologic effect of NMDAR-Abs (Hammer et al., 2013). Additionally, HIV could favor the activation of B lymphocytes and the production of autoantibodies.

Recent studies describe that the role of NMDAR-Abs in psychosis might be explained by epitope specificity and that subjects with psychosis and IgG against the NR1A subunit alone need to be reclassified as encephalitis (Steiner et al., 2013). In our study, the bipolar patient with anti-NR1 IgG did not meet the diagnostic criteria for encephalitis, suggesting that misdiagnosis might not be a consistent rule.

Recovery of non-encephalitic psychosis has been reported using immunotherapy (Zandi et al., 2011), electroconvulsive therapy (Maneta and Garcia, 2014; Tsutsui et al., 2012) and adjuvant D-serine (Heresco-Levy et al., 2015). In the current study, the HIV and NMDAR-Abs positive patient did not receive immunotherapy because it was not included in the clinical protocols as an evidence-based efficacious treatment.

The finding that a small percentage of acute psychotic cases might have autoimmune reactions against the NMDAR is consistent with other investigations (Steiner et al., 2013; Zandi et al., 2011). Tsutsui et al. (2012) found NMDAR-Abs in 3 out of 5 (60%) patients with a comorbid diagnosis of psychosis and narcolepsy, and considered a shared autoimmunity between these disorders. Our group could not validate these results (Canellas et al., 2014).

In contrast to previous studies with negative results (de Witte et al., 2015; Haussleiter et al., 2012; Masdeu et al., 2012; Rhoads et al., 2011), we analyzed the cases in early stages of psychosis to avoid NMDAR-Abs drop over time, a phenomena already suggested (Gresa-Arribas et al., 2014; Zandi et al., 2011). We also extended the number of NSAs analyzed in comparison with previous studies. Additionally, we did not exclude affective psychosis from our sample because mood changes are common psychiatric symptoms in NMDAR-E (Kayser et al. 2013) and because NMDAR-Abs seropositivity has also been reported in bipolar-spectrum disorders (Bergink et al., 2015).

Some limitations need to be taken into account when considering these results. First, we could not confirm NMDAR-Abs positivity in the CSF of the bipolar patient because he did not consent to perform the lumbar puncture. Nevertheless, cross-validation by immunohistochemistry and co-localization studies confirmed the presence in serum. Second, CSF was not sampled in any patient except in Case 2; therefore, we might have underestimated the frequency of positive sera (Gresa-Arribas et al., 2014). Finally, MRI studies were not performed systematically due to economic restrictions.

All of these results allow for a conclusion that an organ specific autoimmune response cannot be ruled out in some incipient psychotic patients. More intense neurological examination might be needed in these patients to identify the possible cases and perform the necessary ancillary tests to prevent misdiagnosis.

Future studies are needed to ascertain the role of NSAs in the neuropsychiatric involvement of HIV infection. Larger FPEP samples should be analyzed to define a risk phenotype for NSAs seropositivity, and NMDAR epitopes research might help us understand if psychosis and NMDAR-E belong to the same spectrum of disorders.

#### Conflict of interest statement

This was not an industry supported study.

On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest.

#### Acknowledgments

Support Grants: FISS PI10/00716 and INT11/007, 2012 to Dr. Canellas.

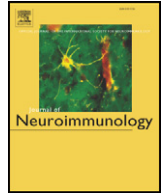
We thank Dr. F Graus and Ms. E Martinez for immunohistochemistry testing and immunofluorescence on cultured neurons.

#### References

- Armangue, T., Leyboldt, F., Malaga, I., Raspall-Chaure, M., Marti, I., Nichter, C., Pugh, J., Vicente-Rasoamalala, M., Lafuente-Hidalgo, M., Macaya, A., Ke, M., Titulaer, M.J., Hofberger, R., Sheriff, H., Glaser, C., Dalmau, J., 2014. Herpes simplex virus encephalitis is a trigger of brain autoimmunity. *Ann. Neurol.* 75, 317–323.
- Bergink, V., Armangue, T., Titulaer, M.J., Markx, S., Dalmau, J., Kushner, S.A., 2015. Autoimmune encephalitis in postpartum psychosis. *Am. J. Psychiatry* 172, 901–908.
- Canellas, F., Lin, L., Julia, M.R., Clemente, A., Vives-Bauza, C., Ollila, H.M., Hong, S.C., Arboleya, S.M., Einen, M.A., Faraco, J., Fernandez-Vina, M., Mignot, E., 2014. Dual cases of type 1 narcolepsy with schizophrenia and other psychotic disorders. *J. Clin. Sleep Med.* 10, 1011–1018.
- Dalmau, J., Bataller, L., 2007. Limbic encephalitis: the new cell membrane antigens and a proposal of clinical-immunological classification with therapeutic implications. *Neurologia* 22, 526–537.
- Dalmau, J., Gleichman, A.J., Hughes, E.G., Rossi, J.E., Peng, X., Lai, M., Dessain, S.K., Rosenfeld, M.R., Balice-Gordon, R., Lynch, D.R., 2008. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol.* 7, 1091–1098.
- Dalmau, J., Lancaster, E., Martinez-Hernandez, E., Rosenfeld, M.R., Balice-Gordon, R., 2011. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. *Lancet Neurol.* 10, 63–74.
- de Ronchi, D., Faranca, I., Forti, P., Ravaglia, G., Borderi, M., Manfredi, R., Volterra, V., 2000. Development of acute psychotic disorders and HIV-1 infection. *Int. J. Psychiatry Med.* 30, 173–183.
- de Witte, L.D., Hoffmann, C., van Mierlo, H.C., Titulaer, M.J., Khan, R.S., Martinez-Martinez, P. European Consortium of Autoimmune Mental Disorders, (CAIMED), 2015. Absence of N-methyl-D-aspartate receptor IgG autoantibodies in schizophrenia: the importance of cross-validation studies. *JAMA Psychiatry*.
- Deakin, J., Lennox, B.R., Zandi, M.S., 2014. Antibodies to the N-methyl-D-aspartate receptor and other synaptic proteins in psychosis. *Biol. Psychiatry* 75, 284–291.
- Elert, E., 2014. Aetiology: searching for schizophrenia's roots. *Nature* 508, S2–3.
- Gresa-Arribas, N., Titulaer, M.J., Torrents, A., Aguilar, E., McCracken, L., Leyboldt, F., Gleichman, A.J., Balice-Gordon, R., Rosenfeld, M.R., Lynch, D., Graus, F., Dalmau, J., 2014. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet Neurol.* 13, 167–177.
- Hammer, C., Stepniak, B., Schneider, A., Papiol, S., Tantra, M., Begemann, M., Siren, A. L., Pardo, L.A., Sperling, S., Mohd Jofry, S., Gurvich, A., Jensen, N., Ostmeier, K., Luhder, F., Probst, C., Martens, H., Gillis, M., Saher, G., Assogna, F., Spalletta, G., Stocker, W., Schulz, T.F., Nave, K.A., Ehrenreich, H., 2013. Neuropsychiatric disease relevance of circulating anti-NMDA receptor autoantibodies depends on blood-brain barrier integrity. *Mol. Psychiatry*.
- Harris, M.J., Jeste, D.V., Gleghorn, A., Sewell, D.D., 1991. New-onset psychosis in HIV-infected patients. *J. Clin. Psychiatry* 52, 369–376.
- Haussleiter, I.S., Emons, B., Schaub, M., Borowski, K., Brune, M., Wandinger, K.P., Juckel, G., 2012. Investigation of antibodies against synaptic proteins in a cross-sectional cohort of psychotic patients. *Schizophr. Res.* 140, 258–259.
- Heresco-Levy, U., Durrant, A.R., Ermilov, M., Javitt, D.C., Miya, K., Mori, H., 2015. Clinical and electrophysiological effects of D-serine in a schizophrenia patient positive for anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies. *Biol. Psychiatry* 77, e27–9.
- Kayser, M.S., Titulaer, M.J., Gresa-Arribas, N., Dalmau, J., 2013. Frequency and characteristics of isolated psychiatric episodes in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *JAMA Neurol.* 70, 1133–1139.
- King, J.E., Eugenin, E.A., Hazleton, J.E., Morgello, S., Berman, J.W., 2010. Mechanisms of HIV-tat-induced phosphorylation of N-methyl-D-aspartate receptor subunit 2A in human primary neurons: implications for neuroAIDS pathogenesis. *Am. J. Pathol.* 176, 2819–2830.
- Lebon, S., Mayor-Dubois, C., Popea, I., Poloni, C., Selvadoury, N., Gumy, A., Roulet-Perez, E., 2012. Anti-N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor encephalitis mimicking a primary psychiatric disorder in an adolescent. *J. Child Neurol.* 27, 1607–1610.
- Louboutin, J.P., Strayer, D.S., 2012. Blood-brain barrier abnormalities caused by HIV-1 gp120: mechanistic and therapeutic implications. *Sci. World J.* 2012, 482575.
- Maneta, E., Garcia, G., 2014. Psychiatric manifestations of anti-NMDA receptor encephalitis: neurobiological underpinnings and differential diagnostic implications. *Psychosomatics* 55, 37–44.
- Masdeu, J.C., Gonzalez-Pinto, A., Matute, C., Ruiz De Azua, S., Palomino, A., De Leon, J., Berman, K.F., Dalmau, J., 2012. Serum IgG antibodies against the NR1 subunit

- of the NMDA receptor not detected in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 169, 1120–1121.
- Nakimuli-Mpungu, E., Musisi, S., Mpungu, S.K., Katabira, E., 2006. Primary mania versus HIV-related secondary mania in Uganda. *Am. J. Psychiatry* 163 (quiz 148), 1349–1354.
- Rhoads, J., Guirgis, H., McKnight, C., Duchemin, A.M., 2011. Lack of anti-NMDA receptor autoantibodies in the serum of subjects with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 129, 213–214.
- Schwartz, T.L., Sachdeva, S., Stahl, S.M., 2012. Glutamate neurocircuitry: theoretical underpinnings in schizophrenia. *Front. Pharmacol.* 3, 195.
- Steiner, J., Walter, M., Glanz, W., Samyay, Z., Bernstein, H.G., Vielhaber, S., Kastner, A., Skalej, M., Jordan, W., Schiltz, K., Klingbeil, C., Wandinger, K.P., Bogerts, B., Stoecker, W., 2013. Increased prevalence of diverse N-methyl-D-aspartate glutamate receptor antibodies in patients with an initial diagnosis of schizophrenia: specific relevance of IgG NR1a antibodies for distinction from N-methyl-D-aspartate glutamate receptor encephalitis. *JAMA Psychiatry* 70, 271–278.
- Stephan, K.E., Friston, K.J., Frith, C.D., 2009. Dysconnection in schizophrenia: from abnormal synaptic plasticity to failures of self-monitoring. *Schizophr. Bull.* 35, 509–527.
- Timms, A.E., Dorschner, M.O., Wechsler, J., Choi, K.Y., Kirkwood, R., Girirajan, S., Baker, C., Eichler, E.E., Korvatska, O., Roche, K.W., Horwitz, M.S., Tsuang, D.W., 2013. Support for the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia from exome sequencing in multiplex families. *JAMA Psychiatry* 70, 582–590.
- Tsutsui, K., Kanbayashi, T., Tanaka, K., Boku, S., Ito, W., Tokunaga, J., Mori, A., Hishikawa, Y., Shimizu, T., Nishino, S., 2012. Anti-NMDA-receptor antibody detected in encephalitis, schizophrenia, and narcolepsy with psychotic features. *BMC Psychiatry* 12, 37–244X-12-37.
- Zandi, M.S., Irani, S.R., Lang, B., Waters, P., Jones, P.B., McKenna, P., Coles, A.J., Vincent, A., Lennox, B.R., 2011. Disease-relevant autoantibodies in first episode schizophrenia. *J. Neurol.* 258, 686–688.

## ***5.2 Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis***



Short communication

## Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis



Vanessa Cunill<sup>a,b,1</sup>, Susana Arboleya<sup>c,d,1</sup>, Maria de los Reyes Jiménez<sup>a,b</sup>, Antoni Campins<sup>b,e</sup>, Patricia Herbera<sup>b,c</sup>, Lluïsa Mestre<sup>b,c</sup>, Antonio Clemente<sup>a,b</sup>, Maria Inés Barceló<sup>f</sup>, Maria Leyes<sup>b,e</sup>, Francesca Canellas<sup>b,c</sup>, Maria Rosa Julià<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Immunology, Hospital Universitari Son Espases, Carretera de Valldemossa 79, 07120, Palma de Mallorca, Spain

<sup>b</sup> Institut d'Investigació Sanitària de Palma (IdISPa), Spain

<sup>c</sup> Department of Psychiatry, Hospital Universitari Son Espases, Carretera de Valldemossa 79, 07120, Palma de Mallorca, Spain

<sup>d</sup> Faculty of Medicine, Universitat de Barcelona, Carrer de Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain

<sup>e</sup> Department of Internal Medicine, Hospital Universitari Son Espases, Carretera de Valldemossa 79, 07120, Palma de Mallorca, Spain

<sup>f</sup> Department of Neurology, Hospital Universitari Son Espases, Carretera de Valldemossa 79, 07120, Palma de Mallorca, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 20 July 2016

Received in revised form 24 October 2016

Accepted 31 October 2016

#### Keywords:

Neuronal surface antibodies

HIV infection

Psychosis

### ABSTRACT

Neuronal surface antibodies (NSA) involved in autoimmune encephalitis (AE) have been related to relapses in HVS encephalitis. Their role in non-encephalitic psychosis is controversial. We previously reported an HIV-infected patient, NSA-positive, only presenting psychosis. Therefore, we determined the NSA prevalence in a prospective cohort of 22 HIV-positive patients with psychosis and we analyzed the frequency of HIV infection among NSA tested patients due to AE suspicion. We found no NSA in the prospective cohort. In the retrospective analysis, 22% of NSA-positive versus 4.6% of negative patients were HIV-positive. Wider studies are required to clarify the relationship between NSA and HIV infection.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Patients infected by the Human Immunodeficiency virus (HIV) present a high percentage of psychiatric manifestations that range from reactive depression to acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)-associated dementia. This psychiatric involvement is due to many factors, including damage caused by the virus itself to the collateral effects of highly active antiretroviral therapy (HAART), drug abuse or infections. Psychosis is a frequent psychiatric disease in HIV-infected individuals (Bansil et al., 2009).

We have recently reported a case of an HIV-infected patient with psychosis associated with neuronal surface autoantibodies (NSA), among a cohort of 61 first psychotic episode patients (Arboleya et al., 2016). Specifically, we found IgG antibodies against the N-methyl-D-aspartate glutamate receptor (NMDAR-Abs). This patient met the criteria

for bipolar disorder, presented no neurological symptoms and had a comorbid HIV infection of vertical transmission.

NSA may allow for a more precise diagnosis of autoimmune encephalitis (AE) and have a causal relationship with neurological symptoms. In consequence, a high percentage of positive patients respond to immunosuppressive therapy, mainly when started early. The main target antigens of NSA are glutamate receptors, especially NMDAR (Leypoldt et al., 2013). AE patients frequently present psychiatric involvement and in some cases it is the first clinical manifestation, but the role of NSA in non-encephalitic psychosis is controversial. Most studies reported NSA positivity in a small subset of psychotic patients (Deakin et al., 2014) but some did not (Masdeu et al., 2012).

Recent descriptions of NSA-related autoimmune relapses in encephalitis caused by herpes virus simplex (HVS) (Armangue et al., 2014) and our previous reported results, have prompted us to hypothesize that HIV infection might enable an altered immune response and lead to autoimmunity, as happens with HVS. Therefore, psychosis could be an autoimmune mediated neuropsychiatric manifestation in some HIV-infected patients.

To the best of our knowledge, there are no studies about NSA prevalence in HIV-positive individuals with central nervous system

\* Corresponding author at: Department of Immunology, Hospital Universitari Son Espases, Carretera de Valldemossa 79, 07120 Palma de Mallorca, Spain.

E-mail address: [rosa.julia@ssib.es](mailto:rosa.julia@ssib.es) (M.R. Jiménez).

<sup>1</sup> Equal contributors

involvement and NSA detection could lead to important therapeutic and etiologic consequences. Therefore, the aim of the present work was to evaluate the prevalence of NSA in HIV-infected patients whose only neurological manifestation was psychosis.

## 2. Patients and methods

### 2.1. Patients and recruitment

Patients were recruited, from January 2014 to June 2015, at the Infectious Diseases Unit or the Psychiatry Department of Hospital Universitari Son Espases (HSE). They belong to the HSE prospective cohort of HIV-infected patients, which includes 2187 patients. The cohort is part of the National Spanish Cohorts (Caro-Murillo et al., 2007), coordinated by the Collaboration of Observational HIV Epidemiological Research Europe (COHERE) (<http://www.cohere.org/>). Among these patients, those with psychosis as the only neuropsychiatric manifestation were selected for the study, upon DSM V classification. Cases with a known cause of psychosis such as acute intoxication, additional infections or other comorbidities were rejected.

In order to evaluate the strength of the relationship between HIV infection, NSA and psychosis, we also performed a retrospective evaluation of HIV-positivity among 314 NSA tested patients, due to AE suspicion, from November 2012 (when we started these routine analyses) to June 2016.

### 2.2. Immunological studies

Immunological tests were performed at the Immunology Department of HSE. Immunofluorescence images were independently interpreted by two observers and any discrepancy solved by consensus.

#### 2.2.1. Neuronal surface antibodies detection

Neuronal surface antibodies of IgG isotype were studied using a “Cell Based Assay” (CBA) as previously reported (Arboleya et al., 2016). Briefly, sera were studied by indirect immunofluorescence (IFI) on rat cerebellum, hippocampus sections and transfected HEK293 cells expressing the NR1 subunit of NMDAR, the AMPA receptor type 1 or 2, the GABA receptor type B, or one of the proteins associated to the voltage-gated potassium channel: leucine-rich glioma inactivated 1 (LGI1) or Contactin associated protein 2 (CASPR2) (EUROIMMUN AG, Luebeck, Germany).

#### 2.2.2. Intracellular and intracellular synaptic neuronal (onconeural) antibodies detection

Onconeural antibodies were screened by IFI on primate cerebellum (EUROIMMUN AG). Antibodies to amphiphysin, GAD65, Hu, Yo, CV2, Ri, Ma1, Ma2 and SOX-1, were tested by immunoblot assay (RAVO Diagnostika, Freiburg, Germany).

#### 2.2.3. Screening of systemic autoantibodies

Samples presenting nuclear or cytoplasmic patterns on cerebellum or hippocampus sections were screened for non-organ specific antibodies to rule out new anti-neuronal specificities.

### 2.3. Ethical approval

All patients and their legal tutors, for those below 18 years old, signed an informed consent approved by the Ethics Committee of Majorca.

## 3. Results

### 3.1. Characterization of the prospective cohort

Twenty-two HIV-positive patients, 7 females and 15 males, were recruited. Demographic and clinical descriptions of patients are summarized in Table 1.

### 3.2. Autoantibodies

None of the studied samples showed positivity on NSA-transfected HEK293 cells by IFI, and neither was neuropil staining found on rat hippocampus. We found a weak nuclear positive IFI pattern on cerebellum in two patients but these reactions were neuronal non-specific because we could demonstrate the same pattern on Hep2 cells. Antibodies linked to autoimmune systemic diseases and known intracellular neuronal antibodies were negative in all samples.

We found 9 NSA-positive patients by retrospective evaluation of 314 tested samples due to AE suspicion (Table 2). Two positive samples corresponded to HIV-infected patients, both of them positive for NMDAR-Abs, one CFS sample from a patient with cerebellar disease (Case 1), serum was negative, and one serum sample from the psychotic patient referred above (CSF was not available) (Case 2). Both results had been cross-validated by immunohistochemistry at the Laboratory of Clinical and Experimental Neuroimmunology, Hospital Clinic, University of Barcelona, Spain.

The overall percentage of HIV infection among NSA-positive patients was 22.22% versus 4.59% within NSA-negative samples. There is a clear trend towards significance in the association ( $p = 0.07$ ) (Fisher's exact test).

Case 1 was a 45-year-old male with a history of AIDS (C3 stage) diagnosed in 1988, uncontrolled until 2005, under HAART: Truvada and Atazanavir/Ritonavir. In February 2014 he was admitted to our Neurology Department due to a cerebellar ataxia, presenting normal brain magnetic resonance imaging (MRI) and brain computed tomography (CT), negative viral studies and tumor markers. He responded well to corticosteroid treatment. He was readmitted four months later because of ataxia impairment. CSF analysis showed IgG intrathecal synthesis, oligoclonal bands and the presence of NMDAR-Abs. He improved with IV bolus of Methylprednisolone and finally was diagnosed with autoimmune cerebellar disease. He showed a stable CD4 count, ranging from 400 to 540 cells/mm<sup>3</sup>, CD4/CD8 ratio: 0.82 to 0.84 and viral load was undetectable from two years before the neurological disease, only experiencing two blips (below 200 RNA copies/ml), one in February and another in July 2014, during the period of acute cerebellar alteration.

Case 2 was a 22-year-old male diagnosed as bipolar I disorder, single manic episode with a co-morbid HIV infection of vertical transmission (A2 stage). Neurological examination, routine investigations and brain CT were normal. Treatment at discharge after 3 weeks was olanzapine and valproic acid. 18 months later he presented a second manic episode after abandoning treatment. NMDAR-Abs were detected in serum, confirmed by the colocalization technique and in a second determination four months later. Neurological examination and electroencephalogram (EEG) were normal. Brain MRI showed an insular brain atrophy. Chest, abdomen and pelvis CT scan and scrotum sonography showed no abnormalities, so the presence of neoplasms was ruled out. CD4 count and viral load were variable before the neurological disease, due to a poor compliance with HAART, initiated in 2002. At NMDAR-Abs detection he received Etravirine, Raltegravir and Darunavir/Ritonavir, CD4 count was 899 cells/mm<sup>3</sup>, CD4/CD8 ratio of 0.9 and viral load was undetectable.

## 4. Discussion

In the present study we found no positivity for NSA in a prospectively recruited cohort of HIV-infected patients with isolated psychosis. In our strictly selected population we could not evidence the hypothesis that HIV might cause an unregulated immune response to NMDAR to produce psychosis. This finding does not rule out an HIV role in other neuropsychiatric disorders due to NSA.

NSA directed to NMDAR or other neuronal surface receptors have been found in a subset of patients with HVS encephalitis relapses. Their presence correlates with poor responses to antiviral therapy and

**Table 1**  
Clinical characterization of the prospective cohort of HIV-infected patients.

Patient	Sex	Age	Diagnosis	Length of psychosis evolution	Acute episode	HIV transmission	Psychiatric treatment	HIV infection duration (Years)	CDC disease stage	Viral Load	CD4 Count (cell/ $\mu$ l)	HIV treatment	NADIR CD4	CD4/CD8
1	M	45	BD	7 months	No	IDUs	QUET/ LIT CARB	14	A3	<50	322	EFV/EMTR/TEN DF	87	0,4
2	M	56	RS	>5 years	No	IDUs	OLANZ	23	A2	<50	865	EFV/EMTR/TEN DF	311	0,81
3	M	47	SCD	>5 years	No	IDUs	OLANZ	24	A3	<50	268	RILP/TEN /EMTR	109	0,2
4	F	45	SP	5 years	No	HT	QUET	12	B2	<50	698	ZIDOV/NVP/LAMIV	281	1,11
5	F	50	PS	>5 years	No	IDUs	PALIP	25	C3	<50	340	EMTR/TEN DF/NVP	6	0,26
6	M	56	PS	>5 years	No/Yes*	HT	AMIS	17	A1	<50	739	ABAC/ LAMIV/ETR	588	1,18/1,44
7	F	62	PS	>5 years	No	NA	OLANZ	20	B2	<50	1085	LOPIN/RIT/EMTR/TEN	365	1,15
8	M	42	PS	>5 years	No	IDUs	PALIP PAL	7	A2	<50	784	DARUN/RIT /ABAC/ LAMIV	360	0,36
9	F	45	PNOS	>5 years	No	HT	NT	21	B3	<50	875	EMTR/TEN/DARUN/RIT	156	1,23
10	F	39	US	>5 years	No	IDUs	PALIP PAL/ ZIPR	9	B3	<50	47	EMTR/TEN/FOSAM/RIT	43	0,26
11	F	51	PS	>5 years	No	IDUs	RISP	24	A2	<50	716	ABAC/LAMIV	306	1,52
12	M	51	PNOS	>5 years	No	IDUs	NT	27	B3	<50	341	LOPIN/RIT/EMTR/ TEN	131	1,32
13	M	47	SP	>5 years	No	IDUs	LEV /OLANZ	12	B2	<50	1278	DARUN/RIT	345	1
14	M	40	PS	>5 years	No	IDUs	ARIP	8	A3	343	477	DARUN/RIT	65	1,19
15	F	51	SCD	3 months	No	HT	ARIP	12	A3	<50	440	ABAC/LAMIV/ZIDOV	175	0,71
16	M	56	PS	>5 years	No	MSM	QUET	19	NA	NA	93	NA	NA	0,2
17	M	45	PS	>5 years	No	IDUs	PALIP	14	C3	<50	569	EMTR/ TEN/DARUN/RIT	3	0,87
18	M	43	RS	>5 years	Yes	IDUs	PALIP PAL/ PALIP	9	C3	<50	255	LAMIV/ZIDOV/IOPIN/RIT	45	0,39
19	M	46	SP	>5 years	No	IDUs	NT	17	A2	<50	755	LAMIV/ZIDOV/ TEN	260	0,99
20	M	57	PS	>5 years	No	HT	PALIP PAL/ QUET	10	A2	<50	779	ABAC/LAMIV/ZIDOV	273	0,88
21	M	68	CD	>5 years	No	NA	OLANZ/ ZUCL LEV MAL	18	A2	<50	492	EFV/EMT/TEN DF	304	1,16
22	M	40	PNOS	>5 years	No	IDUs	NT	17	A2	<50	837	EFV/EMT/TEN DF	286	2,15

CDC: Disease Control and Prevention Center, M: Male, F: Female, BD: Bipolar Disorder, RS: Residual Schizophrenia, SCD: Schizophreniform Disorder, SP: Substance-induced Psychotic Disorder, PS: Paranoid Schizophrenia, US: Undifferentiated Schizophrenia, PNOS: Psychotic Disorder Not Otherwise Specified, CD: Chronic Delirium, IDUs: Injection Drug Users, HT: Heterosexual, MSM: Men who have Sex with Men, NA: Not Available. QUET: Quetiapine, LIT CARB: Lithium Carbonate, OLANZ: Olanzapine, AMIS: Amisulpride, PALIP: Paliperidone, PALIP PAL: Paliperidone Palmitate, NT: No Treatment, ZIPR: Ziprasidone, RISP: Risperidone, LEV: Levomepromazine, ARIP: Aripiprazole, ZUCL: Zuclopenthixol, LEV MAL: Levomepromazine Maleate, EFV: Efavirenz, EMTR: Emtricitabine; TEN DF: Tenofovir Disoproxil Fumarate, TEN: Tenofovir, RILP: Rilpivirine, ZIDOV: Zidovudine, NVP: Nevirapine, LAMIV: Lamivudine, ABAC: Abacavir, ETR: Etravirine, LOPIN: Lopinavir, RIT: Ritonavir, DARUN: Darunavir, FOSAM: Fosamprenavir. \*Two samples for patient number 6.

good outcome post immunosuppressive treatment (Armangue et al., 2014). We have recently reported a case of NSA-positive patient, HIV-infected, with isolated psychosis (Arbolea et al., 2016). The patient did not present clinical or immunological characteristics of psychosis

linked to a direct neurotropic effect of HIV, as elevated viral load, depressed CD4 counts or low global cognitive performance. Additionally, HIV causes a hyperactivation of NMDAR, in contrast to the inhibition of NMDAR found in AE, where autoantibodies produce receptor's

**Table 2**  
Characteristics of NSA-positive patients in the retrospective analysis.

HIV Infection	Patients	Target antigen	Sample type	Additional neuronal targets	Clinical syndrome	Age (years)	Sex	Tumor	Additional autoimmune diseases
+	1	NMDAR	CSF: Pos, Serum: Neg	No	Cerebellar syndrome	45	M	No	No <sup>a</sup>
+	2	NMDAR	CSF: NA, Serum: Pos	No	Psychosis	22	M	No	No
–	3	NMDAR	CSF: Pos, Serum: Pos	No	Classical NMDAR-encephalitis	30	F	Ovarian teratoma	No
–	4	NMDAR	CSF: Pos, Serum: Neg	No	Refractory seizures	48	F	No	Crohn disease
–	5	NMDAR	CSF: Pos, Serum: Pos	No	Classical NMDAR-encephalitis	45	M	No	No
–	6	LGI1	CSF: Pos, Serum: Pos	No	Limbic encephalitis	85	F	Lung	No
–	7	LGI1	CSF: Pos, Serum: Pos	No	Limbic encephalitis	77	M	No	No
–	8	GABA <sub>A</sub> R	CSF: Pos, Serum: Pos	No	Autoimmune encephalitis/prominent seizures	62	M	Multiple myeloma	No
–	9	GABA <sub>B</sub> R	CSF: Pos, Serum: Pos	SOX-1	Limbic encephalitis	70	M	Lung	No

CSF: Cerebrospinal fluid; F: Female; GABA<sub>A</sub>R:  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor; GABA<sub>B</sub>R:  $\gamma$ -aminobutyric acid type B receptor; M: Male; NA: Not available; Neg: Negative; NMDAR: N-methyl-D-aspartate receptor; LGI1: Leucine-rich glioma-inactivated 1; Pos: Positive, <sup>a</sup> Anti-thyroid antibodies at low titer with normal thyroid function.



internalization (Moscato et al., 2014). HIV infection could also be related to increased blood-barrier permeability and to a polyclonal activation of B lymphocytes (Louboutin and Strayer, 2012).

In some HIV-infected patients an immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS) develop upon initiation of HAART and can induce an autoimmune disease (Gray et al., 2005). Our two HIV infected NSA-positive patients, found in the retrospective analysis, did not fulfill IRIS criteria. Both started HAART ten years before the neurological disease and experienced no significant change in their immunological status before the neurological disease. Furthermore, Case 2 was not in the AIDS stage of HIV infection.

The role of NSA in psychosis is still a controversial issue. Recent reports suggest that NMDAR-Abs may play a causal role in a small subset of patients (Heresco-Levy et al., 2015). This adds to the growing knowledge relating to NMDAR dysfunction and psychotic disorders (Javitt et al., 2012).

A limitation of our study is the lack of CSF samples, due to ethical reasons. These samples are more sensitive to NMDAR-Abs testing (Gresa-Arribas et al., 2014), both in diagnosis and in follow-up of AE. In addition, Abs titers may spontaneously decrease over time whereas most patients were not recruited at an early course of psychosis and only three patients presented acute symptoms when blood was taken.

In spite of our negative results in this cohort, the positivity for NMDAR-Abs found in CSF of a HIV-positive patient with a cerebellar disease and in serum of a psychotic HIV-infected non-encephalitic patient, might still suggest an association between HIV neuropsychiatric manifestations and NSA. Therefore, wider studies, including patients with other neurological diseases NSA-related, are needed in order to ascertain the role of NSA among HIV-positive patients.

## Funding

This work was supported by HSE [grant number: IB 2294/14 PI].

## Conflicts of interest

There are no conflicts of interest to disclose.

## References

- Arboleya, S., et al., 2016. Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis. Positive results in an HIV-infected patient. *Brain Behav. Immun.* 56, 56–60.
- Armangue, T., et al., 2014. Herpes simplex virus encephalitis is a trigger of brain autoimmunity. *Ann. Neurol.* 75, 317–323.
- Bansil, P., et al., 2009. Jamieson DJ, Posner SF, Kourtis, AP. Trends in hospitalizations with psychiatric diagnoses among HIV-infected women in the USA, 1994–2004. *AIDS Care* 21, 1432–1438.
- Caro-Murillo, A.M., et al., 2007. Spanish cohort of naïve HIV-infected patients (CoRIS): rationale, organization and initial results. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 25, 23–31.
- Deakin, J., et al., 2014. Antibodies to the N-methyl-D-aspartate receptor and other synaptic proteins in psychosis. *Biol. Psychiatry* 75, 284–291.
- Gray, F., et al., 2005. Central nervous system immune reconstitution disease in acquired immunodeficiency syndrome patients receiving highly active antiretroviral treatment. *J. Neurovirol.* 11 (Suppl. 3), 16–22.
- Gresa-Arribas, N., et al., 2014. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet Neurol.* 13, 167–177.
- Heresco-Levy, U., et al., 2015. Clinical and electrophysiological effects of D-serine in a schizophrenia patient positive for anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies. *Biol. Psychiatry* 77, 27–29.
- Javitt, D.C., et al., 2012. Has an angel shown the way? Etiological and therapeutic implications of the PCP/NMDA model of schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 38, 958–966.
- Leyboldt, F., et al., 2013. Autoimmune encephalitis. *Eur. Neurol. Rev.* 8, 31–37.
- Louboutin, J.P., Strayer, D.S., 2012. Blood-brain barrier abnormalities caused by HIV-1 gp120: mechanistic and therapeutic implications. *Sci. World J.* 2012, 482575.
- Masdeu, J.C., et al., 2012. Serum IgG antibodies against the NR1 subunit of the NMDA receptor not detected in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 169, 1120–1121.
- Moscato, E.H., et al., 2014. Acute mechanisms underlying antibody effects in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Ann. Neurol.* 76, 108–119.

### ***5.3 Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders***



## Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders

Francesca Canellas, M.D., Ph.D.<sup>1</sup>; Ling Lin, M.D., Ph.D.<sup>2</sup>; Maria Rosa Julià, Ph.D.<sup>3</sup>; Antonio Clemente, Ph.D.<sup>3</sup>; Cristofol Vives-Bauza, Ph.D.<sup>4</sup>; Hanna M. Ollila, Ph.D.<sup>2</sup>; Seung Chul Hong, M.D., Ph.D.<sup>5</sup>; Susana M. Arboleya, M.D.<sup>1,6</sup>; Mali A. Einen<sup>2</sup>; Juliette Faraco, Ph.D.<sup>2</sup>; Marcelo Fernandez-Vina, Ph.D.<sup>7</sup>; Emmanuel Mignot, M.D., Ph.D., F.A.A.S.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Psychiatry, Hospital Universitari Son Espases, IdISPa, Palma de Mallorca, Spain; <sup>2</sup>Stanford University Center for Sleep Science, Palo Alto, CA; <sup>3</sup>Department of Immunology, Hospital Universitari Son Espases, IdISPa, Palma de Mallorca, Spain; <sup>4</sup>Research Unit, Hospital Universitari Son Espases, IdISPa, Palma de Mallorca, Spain; <sup>5</sup>St. Vincent's Hospital, The Catholic University of Korea, Suwon, Korea; <sup>6</sup>Faculty of Medicine, Universitat de Barcelona, Spain; <sup>7</sup>Department of Pathology, Stanford School of Medicine Palo Alto, CA

**Objective:** Cases of narcolepsy in association with psychotic features have been reported but never fully characterized. These patients present diagnostic and treatment challenges and may shed new light on immune associations in schizophrenia.

**Method:** Our case series was gathered at two narcolepsy specialty centers over a 9-year period. A questionnaire was created to improve diagnosis of schizophrenia or another psychotic disorder in patients with narcolepsy. Pathophysiological investigations included full HLA Class I and II typing, testing for known systemic and intracellular/synaptic neuronal antibodies, recently described neuronal surface antibodies, and immunocytochemistry on brain sections to detect new antigens.

**Results:** Ten cases were identified, one with schizoaffective disorder, one with delusional disorder, two with schizophreniform disorder, and 6 with schizophrenia. In all cases, narcolepsy manifested first in childhood or adolescence, followed by psychotic symptoms after a variable interval. These patients had auditory hallucinations, which was the most differentiating clinical feature in comparison to narcolepsy patients without

psychosis. Narcolepsy therapy may have played a role in triggering psychotic symptoms but these did not reverse with changes in narcolepsy medications. Response to antipsychotic treatment was variable. Pathophysiological studies did not reveal any known autoantibodies or unusual brain immunostaining pattern. No strong HLA association outside of HLA DQB1\*06:02 was found, although increased DRB3\*03 and DPA1\*02:01 was notable.

**Conclusion:** Narcolepsy can occur in association with schizophrenia, with significant diagnostic and therapeutic challenges. Dual cases maybe under diagnosed, as onset is unusually early, often in childhood. Narcolepsy and psychosis may share an autoimmune pathology; thus, further investigations in larger samples are warranted.

**Keywords:** type 1 narcolepsy, psychotic disorders, HLA, brain autoantibodies, autoimmune

**Citation:** Canellas F, Lin L, Julià MR, Clemente A, Vives-Bauza C, Ollila HM, Hong SC, Arboleya SM, Einen MA, Faraco J, Fernandez-Vina M, Mignot E. Dual cases of type 1 narcolepsy with schizophrenia and other psychotic disorders. *J Clin Sleep Med* 2014;10(9):1011-1018.

Type 1 narcolepsy is a disabling sleep disorder caused by hypocretin-1 deficiency affecting approximately 0.02% of adults worldwide.<sup>1</sup> It is strongly associated with the DQB1\*06:02 allele of the human leucocyte antigen (HLA) system,<sup>2</sup> and is likely due to an autoimmune attack causing a specific loss of hypothalamic hypocretin-1 neurons.

Narcolepsy is characterized by the presence of daytime sleepiness, cataplectic attacks, hypnagogic/hypnopompic hallucinations, sleep paralysis, and disturbed nocturnal sleep. Initially narcolepsy was considered a psychiatric disorder, as some symptoms are reminiscent of psychiatric disorders, for instance, disordered thinking and confusion-like behaviors due to sleepiness; and psychotic-like symptoms due to hypnagogic/hypnopompic hallucinations.

Recently, the HLA system has been implicated in schizophrenia through several genome wide analysis studies (GWAS),<sup>3-6</sup> making the study of psychotic symptoms in narcolepsy of special interest, and the possibility of an overlapping autoimmune

### BRIEF SUMMARY

**Current Knowledge/Study Rationale:** Rare cases of narcolepsy with psychosis have been reported but never systematically studied regarding clinical features, treatment outcomes, or potential autoimmune markers. We carefully examined a cohort of dual cases to define characteristics of hallucinations and delusions, compared to simple narcolepsy, and searched for antibodies directed against targets known to be involved in other forms of psychosis.

**Study Impact:** Our study will improve diagnosis and treatment of these complex cases, and provides a specialized questionnaire for clinical use. We found no evidence of antibody-mediated autoimmunity or new HLA associations, but based on our study of clinical history, we make recommendations on how to proceed.

pathology conceivable. Another finding linking autoimmunity and the emergence of psychotic symptoms has been the description of anti-neuronal surface antibodies in young adults who develop psychosis in the context of limbic encephalitis,<sup>7</sup> especially anti-NMDA-receptor antibodies. These autoantibodies

recognize neuronal surface antigens and have a causal relationship with the diseases. Tsutsui et al. detected anti-NMDAR antibodies in three of five hypocretin-deficient narcolepsy patients who had severe psychotic symptoms but no signs of encephalitis.<sup>8</sup> The prevalence of antibodies to other neuronal surface proteins, such as AMPA receptor type 1 or 2, the GABA receptor, and proteins associated with the voltage-gated potassium channel, LGI1 and CASPR2, have not yet been investigated in narcolepsy patients with psychosis.

Comorbid psychiatric symptoms are more frequent in narcoleptic patients than in the general population. Among these, depression is the most frequently reported in adults.<sup>9-11</sup> The frequency of comorbid schizophrenia is unknown, despite the fact that these two disorders have been historically related<sup>12,13</sup> due to the many overlapping symptoms (e.g., hallucinations) and similar ages of onset. Misdiagnosis and inappropriate treatment can be more common than with other psychiatric disorders.<sup>14</sup> In a few cases, narcolepsy has been misdiagnosed as refractory schizophrenia.<sup>15-17</sup> There are also occasional reports of narcolepsy patients with challenging differential diagnoses with a psychotic disorder.<sup>18,19</sup> These highlight the difficulties faced by clinicians to correctly diagnose narcolepsy and psychosis in the presence of vivid hallucinations and altered behavior. Of importance is the presence of cataplexy, the best clinical marker of HLA-associated hypocretin-1 deficiency, a finding not always reported in prior case reports. Cataplexy itself can be difficult to diagnose in the presence of another psychiatric disorder and may be inhibited by antipsychotic treatment.<sup>20,21</sup>

To complicate matters further, there are case reports of narcolepsy with paranoid psychosis emerging after treatment with psychostimulants, suggesting that treatment can also be involved.<sup>22-24</sup> Nevertheless, there are a few reports of individual cases with a proven coexistence of narcolepsy together with a genuine psychotic disorder.<sup>25-27</sup> Other reports do not allow definitive conclusions of whether the association with psychosis is primary, or secondary to stimulant treatments.<sup>25,28-30</sup>

Psychotic symptoms in narcolepsy have been evaluated in three controlled studies. Two studied narcolepsy, schizophrenic patients, and control subjects,<sup>31,32</sup> while another studied narcolepsy patients versus matched controls.<sup>33</sup> Although methodologies were different, the main conclusions were similar: the modality of hallucinations (auditory in schizophrenia vs visual and multisensory in narcolepsy) can differentiate narcolepsy from schizophrenia; and delusions are frequent in schizophrenia, but not present in narcolepsy or control subjects, except for rare instances. Moreover, in striking contrast to psychotic patients, narcolepsy patients experience hallucinations *only* when falling asleep, shortly after awakening, or when they are very sleepy. On the contrary, in psychotic patients hallucinations are more frequent during wakefulness when the patient is more alert.

In this work, we review a rare series of 10 patients with a well-documented diagnosis of narcolepsy together with schizophrenia or another psychotic disorder. Eight patients were diagnosed at the Stanford Center for Narcolepsy (California) over a period of 9 years. In view of the diagnostic challenges we faced in these cases, we developed a questionnaire-based interview tool with the goal of helping clinicians to differentiate true psychosis from psychotic symptoms experienced by

narcoleptic patients (Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy [DIGSAN]). This questionnaire, modified from the Diagnostic Schedule for Genetic Studies (DIGS)<sup>34</sup> was then tested in narcolepsy cases diagnosed at St. Vincent's hospital in Korea, where two additional cases were identified. Based on the autoimmune basis of narcolepsy, we hypothesized that antineuronal surface autoantibodies could be present in some patients with the dual diagnosis, potentially in a higher proportion than in patients with a diagnosis of psychosis. We therefore performed a systematic study of this unique cohort of dual-diagnosis cases by performing HLA typing and screening for autoimmune markers of the central nervous system (CNS), as well as antibodies linked to systemic autoimmune diseases. The study of narcolepsy cases associated with psychotic disorders may provide novel insights into the pathophysiology of both illnesses that could share an autoimmune mechanism.

## SUBJECTS AND METHODS

### Stanford and Korean Samples

Eight patients with cataplexy and psychosis were identified from 2003-2012 at the Stanford Sleep Clinic among a total of over 300 diagnosed patients. All presented with typical HLA DQB1\*06:02-positive narcolepsy with cataplexy. Diagnosis was confirmed by nocturnal polysomnography (PSG) and a multiple sleep latency test (MSLT). Four of 8 had documented low CSF hypocretin-1. All but one had also been diagnosed with a concurrent psychiatric psychotic disorder by a psychiatrist external to the sleep center. Additional cases were identified within a large cohort at St. Vincent's hospital in Korea (see Testing the DIGSAN below). Of 3 initial subjects, 2 were found to have clear cataplexy and were finally included. For immunological studies, each patient was paired with an ethnically and age-matched control. Sera from all cases and controls were studied blind of diagnosis.

### Development of the DIGSAN

Based on the experience with these patients, we built a specialized questionnaire (DIGSAN). It was designed to be as short as possible and clinically usable. Nevertheless, it has to be administered by a clinician or a trained professional in sleep disorders.

The questionnaire is structured in 5 sections: Section I Demographics, section II Family History, section III Narcolepsy symptom survey, section IV Medical History, and section V Psychosis Interview. Material to study psychiatric symptoms was drawn from section K (Psychosis) of the DIGS 3.0 version 03-Nov-1999. Material from section F (Depression) and G (Mania) was added to obtain data regarding incidental mood disorders.

For non-psychiatrist interviewers, it is important to note that for questions in the psychosis interview (section V), particularly numbers 8, 9, and 10, the interviewer has to consider not only the patient's verbal answers, but also other information such as their behavior, as well as input from relatives and clinical records, if available. The DIGSAN was built to help to assign a unique or dual diagnosis for patients with narcolepsy; in the case of a dual diagnosis, a consensus with both a sleep

**Table 1**—Summary data of patients.

ID	Sex	Race	Age	Age at narcolepsy diagnosis	Sleepiness onset	Cataplexy onset	Age at onset of psychotic symptoms	DSM – TR Psychiatric Diagnosis
M1	F	E	74	25	13	13	20	Delusional Dis
M3	F	E	30	21	8	18	20	Schizoaffective Dis
M5	F	AA	16	16	15	15	16	Schizophreniform Dis
M7	M	E	16	13	12	12	15	Schizophrenia
M13	M	E	18	17	14	15	16	Schizophrenia
M15	F	AA	12	10	10	11	11	Schizophrenia
M19	F	AA/E	34	11	11	11	23	Schizophrenia
M21	M	E	16	15	14	14	15	Schizophreniform Dis
M9 (K)	M	A	40	29	14	14	15	Schizophrenia
M17 (K)	F	A	32	22	15	17	18	Schizophrenia

A, Asian; E, European ancestry; AA, African American.

disorders specialist and a psychiatrist is needed. The questionnaire is included in the supplemental material.

### Testing the DIGSAN

We tested the DIGSAN by administering it to 3 patients having a dual diagnosis of narcolepsy and schizophrenia at St Vincent's hospital, Korea, from a cohort of over 300 narcolepsy patients. Methods for the cohort evaluation were reported in Hong et al.,<sup>35</sup> although the sample has been continually extended through 2012. Of these 3 subjects, 2 were found to have clear cataplexy based on the DIGSAN and further review, and were included.

### Screening of Autoantibodies Associated with Systemic Autoimmune Diseases

Antinuclear antibodies (ANA) were determined by indirect immunofluorescence (IFI) on Hep2 lines (INOVA, San Diego, USA). ANA titers < 1:160 were considered negative. Anti-ENA and anti-Ribosomal P antibodies were screened by line immunoblot assay (Innogenetics, Gent, Belgium), and reactive sera were studied by a semiquantitative ELISA for specific antigens: SSA, SSB, U1RNP, or Sm (INOVA) or a quantitative ELISA (for Scl70 or Jo1)(Phadia AB, Uppsala, Sweden).

In ANA positive samples with a homogeneous pattern, we tested for the presence of anti-double-stranded DNA (dsDNA) antibodies by IFI on *Crithidia luciliae* slides (INOVA).

### Onconeural Antibody Detection

Onconeural antibodies were screened by IFI, at 1:10 titer, on rat cerebellum sections (Euroimmun AG, Luebeck, Germany). Primate cerebellum slides (Euroimmun AG) were used to confirm positive reactions on rat cerebellum.

We also tested antibodies to 9 known intracellular synaptic antigens: amphiphysin, GAD65, Hu, Yo, CV2, Ri, Ma1, Ma2, and SOX-1, by line immunoblot assay (RAVO Diagnostika, Freiburg, Germany).

### Neuronal Surface Antibody Detection

Neuronal surface antibodies (NSAbs) were studied by a "Cell Based Assay" (CBA), according to the method of Wandinger et

al.<sup>36</sup> Serum samples were tested at a starting dilution of 1:10, by IFI, on rat cerebellum and hippocampus sections and transfected HEK293 cells. HEK293 cells expressed one of these antigens: the glutamate receptor type NMDA (subunit NR1), the AMPA receptor type 1 or 2, the GABA receptor, or one of the proteins associated to the voltage-gated potassium channel: leucine-rich glioma inactivated 1 (LGI1) or Contactin associated protein 2 (CASPR2) (Euroimmun AG).

All tests were performed blindly and IFI images interpreted independently by two observers

### HLA Typing

A, B, C, DR, DQ, and DP typing was conducted in all cases with (i) cataplexy or hypocretin-1 deficiency and (ii) long standing psychosis, totaling 10 samples. High-resolution typing was obtained using the Luminex xMAP Technology. Allele frequencies were obtained from <http://bioinformatics.nmdp.org/> and other sources.

## RESULTS

### Clinical Data

Demographic, sleep clinical, and psychiatric diagnostic data for the patients are summarized in **Tables 1, 2, and 3**, respectively.

Regarding narcolepsy, all cases were typical type I narcolepsy patients. Age of onset was younger than usual, including 4 children (younger than 12 years) and 6 adolescents (12-18 years). Clinically, patients had the complete clinical "tetrad" of symptoms, except for one patient who did not report sleep paralysis. Somnolence was severe as shown by a high Epworth Sleepiness Scale score (typically > 20) and short mean sleep latencies during MSLTs (< 2 minutes). All had hypnagogic/hypnopompic hallucinations that were multisensory (visual, kinesthetic, olfactory, gustative) and related to drowsiness or sleep onset.

Regarding psychosis, patients were formally diagnosed according to DSM-IV-TR criteria as: schizophrenia (6 patients), schizoaffective disorder (1 patient), schizophreniform disorder (2 patients) and delusional disorder (1 patient). In all cases but

**Table 2**—Narcolepsy data.

ID	HH	SP	Epworth	PSG SOREM	Sleep latency	HLA DQB1*06:02	CSF Hcrt-1 levels
M1	yes	yes	18	n.a.**	n.a.	+	n.a.
M3	yes	yes	21	3/4	1 m 40 sec	+	0
M5	yes	yes	21	3/4	1 m 30 sec	+	n.a.
M7	yes	no	22	2/3	1 m 50 sec	+	n.a.
M13	yes	yes	13*	2/4	1 m 55 sec	+	0
M15	yes	yes	22	n.a.**	n.a.	+	n.a.
M19	yes	yes	22	yes night PSG	1 m 50 sec	+	0
M21	yes	yes	22	5/5	1 m 20 sec	+	0
M9	yes	yes	15	3/5	24 sec	+	0
M17	yes	yes	18	5/5	1 m 25 sec	+	0

HH, hypnagogic hallucinations; SP, sleep paralysis; Epworth, Epworth sleepiness scale; PSG SOREM, sleep onset REM periods on polysomnography; n.a., not available. \* With stimulants selegiline. \*\* Not available, although polysomnography and MSLT were performed in another sleep center and reported positive by history.

one, diagnosis was made by external psychiatrists who provided psychiatric follow-up. Case M7 was diagnosed at the Stanford Sleep Clinic by EM, but he and his family rejected psychiatric diagnosis and were lost to follow-up.

All cases except M1 had persistent auditory hallucinations during the wake period and presented with typical features of schizophrenia paranoid type: disorganized thinking and behavior and delusions. Auditory hallucinations were of paranoid and mystic content, and all of the patients also had delusional ideas, the majority being persecutory, with increased suspicions and ideas of reference. All patients reported florid and severe hypnagogic hallucinations and vivid dreaming, consistent with those observed in narcolepsy; however, these occurred not only at sleep onset, but also frequently during daytime. In addition, they were chronically convinced of the reality of the hallucinations. There was typically an absence of insight regarding these ideas. In several cases, family and psychiatric records described anxiety and sadness. Flat affect was described in 5 of the patients. Patients also had disorganized behavior, tended to avoid social contacts, and had difficulties in their social lives and relationships. All had academic and/or work difficulties and demonstrated less personal and social achievement than could be expected by their age and cultural level even compared to other narcoleptic patients.

**Table 3** describes the clinical history and particular clinical features of each of these patients, with psychiatric treatment and the outcome of psychotic symptoms when available.

Four cases carried additional comorbid psychiatric diagnoses: learning disabilities (2), eating disorder (anorexia nervosa) (1), and drug abuse (1). The last patient was the only one who presented with unusually aggressive behavior. Four of the 10 cases had family history of narcolepsy (2) and psychiatric disorder (3). One patient (M15) had antecedents of both narcolepsy (aunt) and psychiatric disorder (brother, autism); she also had G6PD deficiency and learning disability due to abnormal auditory processing. She also had the earliest onset of psychotic symptoms; was diagnosed with early onset schizophrenia, and the psychiatrist initiated aripiprazole with a good control of psychotic symptoms.

Onset of psychotic symptoms generally followed narcolepsy, although it was concomitant in several cases, particularly

in early onset cases, and within 3 years in all other cases except M1 and M19. Two patients had psychotic symptoms for less than 6 months at the time of the study (M5, M21), and thus have a provisional diagnosis of schizophreniform disorder. Obesity, a common feature of childhood narcolepsy, was present in 4 cases, and 2 were treated with continuous positive airway pressure (CPAP).

All patients, except Korean case M9, started treatment for narcolepsy before the antipsychotic treatment. Treatments used were: sodium oxybate, and stimulants alone (modafinil, methylphenidate, selegiline) or combined with antidepressants as fluoxetine and venlafaxine. In none of these cases did delusions and auditory hallucinations improve after cessation of narcolepsy treatment. In one case (M1), there was a clear relationship between treatment initiation and increase of psychotic symptoms. This patient had persecutory and jealous delusions for several years; the delusions became more visible after initiation of treatment with sodium oxybate. Another case, M19, had a long history of narcolepsy-cataplexy, was intolerant of stimulant medication, and developed psychosis many years after onset. The response to antipsychotic therapy was highly variable in these patients, ranging from excellent (M3, M15) to very poor (most others), with frequent refusal of psychiatric therapy.

### Autoantibody Testing

Only serum n.4 was ANA positive, and presented a dense speckled fine pattern, compatible with the presence of anti-DSF70 antibodies, which is a frequent ANA pattern found in healthy people and not associated with systemic autoimmune diseases.

Autoantibodies directed to specific antigens linked to systemic autoimmune diseases (ENA, Ribosomal P or dsDNA) were negative in all sera.

Immunostaining of rat cerebellum showed a positive reaction only in serum n.13, which yielded a granular cytoplasmic pattern in Purkinje cells. We ruled out the presence of anti-Yo antibodies using line immunoblot studies. This serum sample did not present a positive immunofluorescence pattern on primate cerebellum, and we interpret these results as an artifact reaction due to a heterophilic antibody against a rat antigen. None



**Table 3—Psychiatric description of patients.**

	Other Diagnoses	Family History	AH	Del.	Marital status	Years education	Present occupation	Living	Particular features of clinical history, psychiatric treatment, and outcome of psychotic symptoms
M1	Hypothyroidism, depression	n.a.	yes	yes	widow	8	retired	Alone	Long history of delusional disorder, jealous type. Some auditory hallucinations of jealousy content and delusions increased in intensity when initiating sodium oxybate. Psychiatrist prescribed aripiprazole but discontinued due to side effects (somnia). No treatment currently, delusions persist but at lower level.
M3	Migraine, obesity, sleep apnea, depression, anxiety	No	yes	yes	single	14, Bachelor degree in Fine Arts	retired	With parents	Auditory hallucinations commenting on her bad behavior, messages received from the Bible, disorganized thoughts began after modafinil treatment. Comorbid depression. Hospitalized in psychiatry several times, treated with risperidone, venlafaxine and valproic acid, uses CPAP. Recently admitted to a group home for psychiatric care.
M5	Obesity	No	yes	yes	single	10	student	With parents	First hospitalized for "drop attacks"; diagnosed with narcolepsy-cataplexy with severe insomnia, hypersomnia, and sleep related multisensory hallucinations. Sodium oxybate improved insomnia and somnolence. Fluoxetine was prescribed for remaining cataplexy with emergence of severe auditory hallucinations and disorganized thoughts. Now treated with risperidone, sodium oxybate, and venlafaxine. Auditory hallucinations persist.
M7	Obesity, Sleep Apnea	No	yes	yes	single	14	student	With parents	First diagnosed as depression then confirmed as narcolepsy-cataplexy; sleep apnea treated with CPAP. Has imaginary friends talking to him, introverted, socially withdrawn, poor eye contact. Partial critique of delusions and hallucinations. Family refused psychiatric treatment. Lost to follow-up.
M13	Cannabis / alcohol abuse	No	yes	yes	single	9	no studies not working and also not seeking work	With parents	One year after narcolepsy diagnosis, was treated with selegiline, and then became suspicious with persecutory ideas of sexual abuse, aggressive against family, with auditory hallucinations. Abuse of cannabis and alcohol. Multiple psychiatric hospitalizations. Treated first with various antidepressants with improved cataplexy but no resolution of delusions. Olanzapine improved delusions but increased somnolence. Stopped antipsychotics with exacerbation of psychotic symptoms. Lost to follow up.
M15	Auditory learning disability, G6PD deficiency	Brother with autism; Aunt with narcolepsy	yes	yes	single	8 adapted school	student	With parents	Anxious since childhood, learning disability; hospitalized for possible epilepsy, EEG was negative. A diagnosis of narcolepsy was made a year later; significant hypnagogic hallucinations with partial self-awareness. Initiated treatment with Modafinil, which produced racing thoughts and increased hallucinations, poor eye contact. Aripiprazole was used with a significant improvement.
M19	Eating disorder, multidrug allergies	No	yes	yes	single	16	unemployed	Alone	Long history of narcolepsy cataplexy; artistic irregular work; independent means with travel between Europe and America. Progressive deterioration with persecutory ideas, auditory hallucinations, megalomania. Refused all treatment with antipsychotic drugs, disorganized behavior, now frequently hospitalized in Psychiatry in a European country.
M21	Learning disability, traumatic brain injury, obesity	Grand Mother committed suicide / Father alcohol abuse	yes	yes	Single	8 adapted school	student	With parents	Frontal contusion following head trauma at age 13 with memory loss and headaches for six months; 1 year later developed severe sleepiness and multisensory hallucinations, including auditory hallucinations; blunted affect. Treated with modafinil, methylphenidate, and sodium oxybate; narcolepsy symptoms improved but he became increasingly aggressive. Symptoms improved after stopping stimulants but not the auditory hallucinations. Antipsychotic treatment under consideration.
M9 (K)	Atopic dermatitis	n.a.	yes	yes	Single	10	not working and also not seeking work	With parents	From age of 14, he suffered from excessive daytime sleepiness. At 15 started treatment for atopic dermatitis and blamed his excessive sleepiness on allergic symptoms. Gradually withdrew from social contacts. First psychiatric admission at the age of 15, diagnosed as a prodromal stage of psychosis, then developed auditory hallucinations, aggressive behavior, self-talking, silly smile, functional impairment. Treated with antipsychotics and antidepressants. Diagnosis of narcolepsy was made at the age of 29 improved with modafinil. Now no treatment.
M17 (K)	No	Father depression, cousins psychotic disorder	yes	yes	Single	14	unemployed	With parents	Suffered from hypnagogic hallucinations and sleep attacks from age 15, intermittent treatment for narcolepsy. First psychiatric ward admission at 18, for auditory hallucinations and persecutory delusions. She has been continuously treated with antipsychotics, and hospitalized several times because psychotic relapses, and has never been symptom free. Now stable with aripiprazole and methylphenidate

AH, auditory hallucinations; Del., delusions.

of the samples showed the characteristic anti-aquaporin 4 pattern on cerebellum slides. Immunofluorescence on hippocampus sections and specific CBA tests were negative in all sera.

## HLA Typing

No shared HLA allele was found (see **Table S1**, supplemental material). The frequency of HLA C\*01:02, an allele previously reported to be associated with schizophrenia in a large cohort of patients, was not increased versus what could be expected, as none of the patients carried this particular allele. Similarly, the carrier frequency of the protective haplotype DRB1\*03:01, DQA1\*05:01, DQB1\*02:01 (30%) was unremarkable and slightly increased versus what would be expected in controls (approximate allele frequency in such a mixed group: 10%). Two unusual findings were the observation of an absence of DRB4 genes (and associated DRB1\*04, DRB1\*07, and DRB1\*09), and a high number of DRB3\*03 alleles (80%), a finding that would need a much larger sample to confirm.

## DISCUSSION

The co-occurrence of narcolepsy with psychotic symptoms raises clinical and pathophysiological questions. At the clinical level, narcolepsy can be misdiagnosed as a psychiatric condition, especially if cataplexy is not reported, or is unrecognized by the physician. In adolescents, misdiagnosis often results from overlapping age of onset and symptoms (notably hallucinations, and behavioral problems) between narcolepsy and schizophrenia.<sup>14,16,27</sup> The fact that adolescents often go through difficult maturational issues often further confuses the picture,

especially when communication is poor and when patients refuse treatment or the reality of the condition. In our case series, narcolepsy symptoms began during childhood or adolescent years but was often not diagnosed for years, and in a number of cases, was not identified until after psychotic symptoms had manifested (**Table 1**). Recently the diagnostic delay for narcolepsy has dramatically shortened, with diagnosis occurring close to onset (childhood and adolescence), emphasizing the importance of differentiating emerging and evolving symptoms of narcolepsy vs schizophrenia.

Prepubertal children pose special diagnostic problems. When cataplexy or atonia episodes are preeminent, a misdiagnosis of Pediatric Autoimmune Neurological Disease associated with Streptococcus (PANDAS), seizures, or paraneoplastic syndrome can be made.<sup>37</sup> Indeed, the characteristics of emergent cataplexy in children are quite different from those of established cataplexy, complicating diagnosis.<sup>38</sup> Irritability, anger, and at times violent behaviors, all secondary to sleepiness, may emerge suddenly in a child who was previously well-behaved and has gained large amount of weight. The change in character can be dramatic but is entirely reversible when treating sleepiness and REM-related symptoms. When hypnagogic hallucinations are preeminent, young children, depending on their maturational stage, may not be able to fully comprehend that these are unreal experiences, especially just after waking up. In most cases, however, children accept that these are similar to dreams once explained carefully by the clinician—a critical difference compared to schizophrenia or true psychotic disorder. Based on the above, when in doubt and unless proven otherwise, it is always better to treat narcolepsy first, hoping all psychotic

**Table 4**—Clinical characteristics of previously published dual cases.

Reference	Age, sex	Diagnosis, age of symptom onset		Clinic, Treatment, and Outcome of Psychotic symptoms
		Psychotic disorder	Narcolepsy/cataplexy	
Pfefferbaum 1977	54, M	Paranoid schizophrenia, Unk	Clinical, Unk	Paranoid psychosis of unclear onset in relation to amphetamine treatment, which worsened psychotic symptoms; was treated with various antipsychotic drugs, and later developed tardive dyskinesia
Ullman 1977	50, M	Schizoaffective disorder, Unk	Clinical, 40	Tricyclic antidepressants (TCA) and amphetamine ameliorated narcolepsy, but auditory hallucinations persisted
Schrader 1984	67 M	Paranoid Psychosis, Unk	Clinical, Unk	Paranoid psychosis started 4 years after amphetamine treatment, received antipsychotic drugs, developed tardive dyskinesia and major depression
Cadieux 1985	32, M	Paranoid schizophrenia, Unk	Clinical, 12	Symptoms started following stimulant therapy, persistence of psychotic symptoms in the absence of stimulant medication. Later developed tardive dyskinesia
Silvestri 1991	14, F	Psychosis not specified, 11	Clinic, MSLT, HLA, 11	Psychotic symptoms started after treatment with TCA for cataplexy, and subsequently improved with antipsychotic treatment. Recurrent delusional episodes and depressive mood persisted for 9 months after treatment withdrawal and behavioral therapy alone.
Kishi 2004	25, F	Schizophrenia, 19	Clinical, MSLT, HLA, 13	Presented with narcolepsy and psychotic symptoms. Was treated with antipsychotic but those worsened sleepiness, leading to stopping medication. Stimulants were subsequently introduced and improved narcolepsy symptoms, without changing psychotic symptoms. Was later lost to follow-up.
Walterfang 2005	25, F	Schizophreniform psychosis, 24	Clinic, MSLT, 17	Presented with delusional ideas of persecution; considered narcolepsy-related before initiation of stimulants. Delusions remitted only with addition of antipsychotic medication.
	23, M	Schizophrenia, 21	Clinic, HLA, 13	Psychotic symptoms started two years after stimulant treatment. Thought disorder and disorganization present. Symptoms remitted with antipsychotic drugs.
Kondizella 2006	38, F	Schizoaffective dis, 18	Clinical, MSLT, HLA, low CSF hypocretin, 17	Untreated narcolepsy until age 38, psychotic symptoms treated with typical and atypical antipsychotic and TCA. Addition of stimulants improved narcolepsy symptoms.
Undurraga 2009	27, M	Schizophreniform disorder, 27	Clinical, MSLT, HLA, 21	Stimulants were initiated first, then antipsychotics. These resolved psychotic symptoms but increased somnolence; lost to follow-up
Tsutsui 2012	58, M	Delusional Dis and Parkinson Dis (PD)	Clinical, MSLT, HLA, Low CSF hypocretin-1	The first patient was diagnosed as PD at the age of 45; narcolepsy diagnosed and treated with methylphenidate at 55. Psychotic symptoms started at 57 and persisted. The two other narcolepsy patients have psychotic symptoms fulfilling criteria of both narcolepsy-cataplexy and schizophrenia. No seizures or clinical/imaging findings suggesting limbic encephalitis
	37, F	Schizophrenia	Antibody panel positive for anti NMDA receptor antibodies in all cases	
	24, F	Schizophrenia		

symptoms are narcolepsy-related rather than the converse, especially if the premorbid personality was entirely normal.

The focus of this report are the rare cases in which narcolepsy is genuinely associated with schizophrenia or other psychotic disorders unrelated to the dream-like multisensory hallucinations characteristic of the narcolepsy syndrome. In these cases, we found that the auditory hallucinations appear always together with multisensory (visual, kinesthetic, olfactory, gustative) ones, and complex delusions (persecutory ideas, increased suspicions, ideas of reference) are present. Thinking may be disorganized, although this can be difficult to demonstrate when the individual is very sleepy. In these dual diagnosis cases, the patient generally believes the hallucinations and delusions are real and cannot be easily convinced otherwise. Two possible options then need to be considered: the psychosis may be a side effect of treatment, or the development of an unrelated psychiatric comorbid condition.

**Table 4** reviews the few previously published cases of narcolepsy associated with psychosis. As in our case series, narcolepsy onset typically preceded the onset of psychotic symptoms. In many of these older reports, it is difficult to evaluate whether therapy played a crucial role in the development of psychosis.

Until recently, stimulant therapy was the main treatment for narcolepsy, and these compounds are well known to trigger psychosis.<sup>39</sup> Psychotic symptoms may be induced most often by amphetamine or methylphenidate, but also modafinil.<sup>40-44</sup> In this case series, we believe medication was likely a minor

factor in the development of psychosis, except in patient M1. In this instance, the diagnosis was delusional disorder rather than schizophrenia, thinking remained organized, and ideation was of the jealous type. In other cases, treatment with antidepressants, stimulants or sodium oxybate may have contributed to precipitating the condition or exacerbated a preexisting one; although it is also possible the underlying schizophrenia became more evident as sleepiness lifted with treatment. Similarly, these patients also had florid hypnagogic hallucinations, which may have fueled the schizophrenia-type delusions without being the sole cause. In several cases close to onset, it is also difficult to exclude the possibility of a natural evolution of the disorder with time, independent of treatment.

In four cases, additional comorbid psychiatric diagnoses were present: learning disabilities, eating disorder, and drug abuse. Four cases had family history of narcolepsy or psychiatric disorder, and one had antecedents of both narcolepsy and psychiatric disorder. This suggests a double diagnosis should be considered, particularly in subjects with known risk factors associated with development of psychosis: family psychiatric history, low intelligence level, personal history of head injury,<sup>45</sup> environmental distress, and cannabis use.<sup>46</sup> The findings in our series agree with previous findings reported in **Table 4**. Silvestri described a girl with a narcolepsy onset at age 11 who had psychiatric family antecedents of psychosis.<sup>26</sup>

All of our dual diagnosis cases except M1 had persistent auditory hallucinations during the wake period, an uncommon

feature in narcolepsy. Moreover, they were chronically convinced of the reality of the hallucinations. Importantly there was an absence of insight regarding these ideas as is typical of patients with chronic psychosis. In addition, our patients tended to avoid social contacts and experienced difficulties in their professional and social lives and relationships.

Treatment response for the dual diagnosis patients was variable and involved balancing narcolepsy therapies to reduce cataplexy, REM-like hallucinations, and sleepiness with antipsychotic drug treatment, which reduces delusions and hallucinations but induces sleepiness. It is important to evaluate the existence of delusional ideas that may be hidden by the patient. Treatment with stimulants alone can worsen psychotic symptoms,<sup>40</sup> but in our experience, stimulant can be used if no overstimulation results. Regarding non-narcolepsy psychotic symptoms, aripiprazole was used, as it is less sedating. In other cases, risperidone was successfully used. It is our experience that undertreating narcolepsy is more often the end result, as untreated sleepiness reduces behavioral problems.

The frequency of hypocretin deficiency in association with schizophrenia is unknown. While co-occurrence is reportedly low, dual cases may be more frequent as a result of misdiagnosis. Clinicians should be mindful that the two syndromes can coexist, and that at minimum one diagnosis does not exclude the other. We believe the DIGSAN can be a useful tool for clinicians to distinguish each separate diagnosis. This is particularly important now that biological tests are available,<sup>47</sup> and others will be developed soon. Accurate diagnosis is critically important for the outcome, as treatment is different for the two diseases, and good treatments are currently available for each illness.

The coexistence of narcolepsy with schizophrenia also raises interesting pathophysiological questions. It may be a chance finding, or an association of two co-clustering autoimmune diseases, as often found in other cases where specific autoimmune diseases can coexist more frequently than expected by chance alone. A large number of HLA association studies in small schizophrenia samples have produced controversial results.<sup>6</sup> One suggested that DR15 or DQB1\*06:02 were more frequent in schizophrenia versus controls,<sup>48</sup> although this was not consistently replicated.<sup>49</sup> More recently, using large samples of schizophrenia cases and controls, GWAS studies found clear signals in the HLA region.<sup>3-6</sup> Due to the high level of linkage disequilibrium in the region, the signal has been difficult to map, but it is interesting to note that HLA DRB1\*03:01 and DRB1\*13:03 appeared to confer protection for the illness,<sup>3,5</sup> while DQB1\*06:02 frequency was slightly increased. More recently, carriers of the rare HLA C\*01:02 allele have been reported to be at increased risk,<sup>3</sup> a finding that awaits replication. In this study, we fully HLA typed 10 cases with narcolepsy and psychotic disorder, but no clear association emerged in addition to the expected DQB1\*06:02 narcolepsy association; notably we did not find increased HLA C\*01:02 nor a protective effect of DRB1\*03:01, which was, if anything, increased in frequency. These results indicate that psychosis in these dual diagnosis patients is either a chance finding not related to autoimmunity, or mediated through DQB1\*06:02. Alternatively, further heterogeneity in schizophrenia associated with these cases may have masked the association in this small sample.

In our series we failed to identify anti-NMDA-receptor antibodies described by Tsutsui et al.<sup>8</sup> in three of five hypocretin-deficient narcolepsy patients with severe psychotic symptoms. We also examined other potential CNS targets and antibodies linked to systemic autoimmune diseases, including the AMPA receptor type 1 or 2, the GABA receptor, proteins associated with the voltage-gated potassium channel, LGI1 and CASPR2, but we could not find any abnormalities. Immunocytochemical studies of brain sections were also conducted without positive results.

In addition to surface and cytoplasmic/synaptic neuronal antibodies, we also screened for antibodies linked to systemic autoimmune diseases (ENA, ribosomal P, dsDNA). Some of these have not previously been studied in narcolepsy and are associated with central nervous system involvement. The rationale is that these studies provide an indirect assessment of patients' autoimmune background, and help to discriminate whether immunofluorescence patterns found on hippocampus or cerebellum sections are due to non-organ-specific vs neuronal-specific antibodies. Again, no abnormalities were identified in our case series.

In conclusion, narcolepsy associated with genuine psychosis is a clear entity that presents specific diagnostic and therapeutic challenges. In our present study, we were unable to substantiate the hypothesis that the psychosis is autoimmune-mediated. Importantly, however, we only examined sera for the presence of autoantibodies and did not explore a potential pathology mediated by cytotoxic T cells. In narcolepsy, autoantibodies have not been consistently found in sera or CSF<sup>50,51</sup>; however, there is now clear evidence of T cell mediated destruction of hypocretin cells.<sup>52</sup> It is therefore possible that a similar cell-mediated mechanism may precipitate schizophrenia in these cases, warranting additional pathophysiological and therapeutic investigation.

## REFERENCES

1. Dauvilliers Y, Arnulf I, Mignot E. Narcolepsy with cataplexy. *Lancet* 2007;369:499-511.
2. Mignot E, Lin X, Kalil J, et al. DQB1\*06:02 (DQw1) is not present in most nonDR2 Caucasian narcoleptics. *Sleep* 1992;15:415-22.
3. Irish Schizophrenia Genomics C, the Wellcome Trust Case Control C Genome-wide association study implicates HLA-C\*01:02 as a risk factor at the major histocompatibility complex locus in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2012;72:620-8.
4. Shi J, Levinson DF, Duan J, et al. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* 2009;460:753-57.
5. Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* 2009;460:744-47.
6. Debnath M, Cannon DM, Venkatasubramanian G. Variation in the major histocompatibility complex [MHC] gene family in schizophrenia: associations and functional implications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2013;42:49-62.
7. Dalmau J, Gleichman AJ, Hughes EG, et al. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol* 2008;7:1091-8.
8. Tsutsui K, Kanbayashi T, Tanaka K et al. Anti-NMDA-receptor antibody detected in encephalitis, schizophrenia, and narcolepsy with psychotic features. *BMC Psychiatry* 2012;12:37-244X-12-37.
9. Ohayon MM. Narcolepsy is complicated by high medical and psychiatric comorbidities: a comparison with the general population. *Sleep Med* 2013;14:488-92.
10. Kales A, Soldatos CR, Bixler EO, et al. Narcolepsy-cataplexy. II. Psychosocial consequences and associated psychopathology. *Arch Neurol* 1982;39:169-71.



11. Frauscher B, Ehrmann L, Mitterling T, et al. Delayed diagnosis, range of severity, and multiple sleep comorbidities: a clinical and polysomnographic analysis of 100 patients of the innsbruck narcolepsy cohort. *J Clin Sleep Med* 2013;9:805-12.
12. Shapiro B, Spitz H. Problems in the differential diagnosis of narcolepsy versus schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1976;133:1321-3.
13. Fortuyn HA, Mulders PC, Renier WO, Buitelaar JK, Overeem S. Narcolepsy and psychiatry: an evolving association of increasing interest. *Sleep Med* 2011;12:714-9.
14. Benca RM. Narcolepsy and excessive daytime sleepiness: diagnostic considerations, epidemiology, and comorbidities. *J Clin Psychiatry* 2007;68 Suppl 13:5-8.
15. Douglass AB, Shipley JE, Haines RF, Scholten RC, Dudley E, Tapp A. Schizophrenia, narcolepsy, and HLA-DR15, DQ6. *Biol Psychiatry* 1993;34:773-80.
16. Douglass AB, Hays P, Pazderka F, Russell JM. Florid refractory schizophrenias that turn out to be treatable variants of HLA-associated narcolepsy. *J Nerv Ment Dis* 1991;179:12-7; discussion 18.
17. Talih FR. Narcolepsy presenting as schizophrenia: a literature review and two case reports. *Innov Clin Neurosci* 2011;8:30-4.
18. Szucs A, Janszky J, Hollo A, Miglecz G, Halasz P. Misleading hallucinations in unrecognized narcolepsy. *Acta Psychiatr Scand* 2003;108:314-6; discussion 16-7.
19. Takeuchi N, Mukai M, Uchimura N, Satomura T, Sakamoto T, Maeda H. A narcoleptic patient exhibiting hallucinations and delusion. *Psychiatry Clin Neurosci* 2000;54:321-2.
20. Krahn LE. Reevaluating spells initially identified as cataplexy. *Sleep Med* 2005;6:537-42.
21. Okura M, Riehl J, Mignot E, Nishino S. Sulpiride, a D2/D3 blocker, reduces cataplexy but not REM sleep in canine narcolepsy. *Neuropsychopharmacology* 2000;23:528-38.
22. Schrader G, Hicks EP. Narcolepsy, paranoid psychosis, major depression, and tardive dyskinesia. *J Nerv Ment Dis* 1984;172:439-41.
23. Pfefferbaum A, Berger PA. Narcolepsy, paranoid psychosis, and tardive dyskinesia: a pharmacological dilemma. *J Nerv Ment Dis* 1977;164:293-7.
24. Cadieux RJ, Kales JD, Kales A, Biever J, Mann LD. Pharmacologic and psychotherapeutic issues in coexistent paranoid schizophrenia and narcolepsy: case report. *J Clin Psychiatry* 1985;46:191-3.
25. Kishi Y, Konishi S, Koizumi S, Kudo Y, Kurosawa H, Kathol RG. Schizophrenia and narcolepsy: a review with a case report. *Psychiatry Clin Neurosci* 2004;58:117-24.
26. Silvestri R, Montagnese C, De Domenico P, et al. Narcolepsy and psychopathology. A case report. *Acta Neurol* 1991;13:275-8.
27. Kondziella D, Arlien-Soborg P. Diagnostic and therapeutic challenges in narcolepsy-related psychosis. *J Clin Psychiatry* 2006;67:1817-9.
28. Ullman KC. Narcolepsy and schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1977;134:822.
29. Walterfang M, Upjohn E, Velakoulis D. Is schizophrenia associated with narcolepsy? *Cogn Behav Neurol* 2005;18:113-8.
30. Undurraga J, Garrido J, Santamaria J, Parellada E. Treatment of narcolepsy complicated by psychotic symptoms. *Psychosomatics* 2009;50:427-8.
31. Dahmen N, Kasten M, Mittag K, Muller MJ. Narcoleptic and schizophrenic hallucinations. Implications for differential diagnosis and pathophysiology. *The Eur J Health Econ* 2002;3 Suppl 2:S94-8.
32. Fortuyn HA, Lappenschaar GA, Nienhuis FJ, et al. Psychotic symptoms in narcolepsy: phenomenology and a comparison with schizophrenia. *Gen Hosp Psychiatry* 2009;31:146-54.
33. Vourdas A, Shneerson JM, Gregory CA, et al. Narcolepsy and psychopathology: is there an association? *Sleep Med* 2002;3:353-60.
34. Numberger JI Jr., Blehar MC, Kaufmann CA, et al. Diagnostic interview for genetic studies. Rationale, unique features, and training. NIMH Genetics Initiative. *Arch Gen Psychiatry* 1994;51:849-59; discussion 63-4.
35. Hong SC, Lin L, Jeong JH, et al. A study of the diagnostic utility of HLA typing, CSF hypocretin-1 measurements, and MSLT testing for the diagnosis of narcolepsy in 163 Korean patients with unexplained excessive daytime sleepiness. *Sleep* 2006;29:1429-38.
36. Wandering KP, Saschenbrecker S, Stoecker W, Dalmau J. Anti-NMDA-receptor encephalitis: a severe, multistage, treatable disorder presenting with psychosis. *J Neuroimmunol* 2011;231:86-91.
37. Aran A, Einen M, Lin L, Plazzi G, Nishino S, Mignot E. Clinical and therapeutic aspects of childhood narcolepsy-cataplexy: a retrospective study of 51 children. *Sleep* 2010;33:1457-64.
38. Plazzi G, Pizza F, Palaia V, et al. Complex movement disorders at disease onset in childhood narcolepsy with cataplexy. *Brain* 2011;134:3480-92.
39. Auger RR, Goodman SH, Silber MH, Krahn LE, Pankratz VS, Slocumb NL. Risks of high-dose stimulants in the treatment of disorders of excessive somnolence: a case-control study. *Sleep* 2005;28:667-72.
40. Guilleminault C. Amphetamines and narcolepsy: use of the Stanford database. *Sleep* 1993;16:199-201.
41. Pawluk LK, Hurwitz TD, Schluter JL, Ullevig C, Mahowald MW. Psychiatric morbidity in narcoleptics on chronic high dose methylphenidate therapy. *J Nerv Ment Dis* 1995;183:45-8.
42. Narendran R, Young CM, Valenti AM, Nickolova MK, Pristach CA. Is psychosis exacerbated by modafinil? *Arch Gen Psychiatry* 2002;59:292-3.
43. Ivanenko A, Tauman R, Gozal D. Modafinil in the treatment of excessive daytime sleepiness in children. *Sleep Med* 2003;4:579-82.
44. Crosby MI, Bradshaw DA, McLay RN. Severe mania complicating treatment of narcolepsy with cataplexy. *J Clin Sleep Med* 2011;7:214-6.
45. Ohayon MM. Prevalence of hallucinations and their pathological associations in the general population. *Psychiatr Res* 2000;97:153-64.
46. van Os J, Kenis G, Rutten BP. The environment and schizophrenia. *Nature* 2010;468:203-12.
47. Mignot E, Lammers GJ, Ripley B, et al. The role of cerebrospinal fluid hypocretin measurement in the diagnosis of narcolepsy and other hypersomnias. *Arch Neurol* 2002;59:1553-62.
48. Grosskopf A, Muller N, Malo A, Wank R. Potential role for the narcolepsy- and multiple sclerosis-associated HLA allele DQB1\*0602 in schizophrenia subtypes. *Schizophr Res* 1998;30:187-9.
49. Wright P, Nimgaonkar VL, Donaldson PT, Murray RM. Schizophrenia and HLA: a review. *Schizophr Res* 2001;47:1-12.
50. Cvetkovic-Lopes V, Bayer L, Dorsaz S, et al. Elevated Tribbles homolog 2-specific antibody levels in narcolepsy patients. *J Clin Invest* 2010;120:713-9.
51. Dauvilliers Y, Montplaisir J, Cochen V, et al. Post-H1N1 narcolepsy-cataplexy. *Sleep* 2010;33:1428-30.
52. De la Herran-Arita AK, Kornum BR, Mahlios J, et al. CD4+ T Cell Autoimmunity to Hypocretin/orexin and cross-reactivity to a 2009 H1N1 Influenza A Epitope in narcolepsy. *Sci Transl Med* 2013;5:216ra176.

## SUBMISSION & CORRESPONDENCE INFORMATION

Submitted for publication November, 2013

Submitted in final revised form April, 2014

Accepted for publication May, 2014

Address correspondence to: Emmanuel Mignot, M.D., Ph.D., Center for Sleep Sciences and Medicine, Stanford University School of Medicine, 3165 Porter Drive, Palo Alto Ca 94304; E-mail: mignot@stanford.edu

## DISCLOSURE STATEMENT

This was not an industry supported study. Support Grants: FISS PI10/00716 and INT11/007, 2012 to Dr. Canellas; NIH-NS23724 to Dr. Mignot. The study was performed at the Center for Sleep Sciences and Medicine, Stanford University School of Medicine. The authors have indicated no financial conflicts of interest.



## SUPPLEMENTAL MATERIAL

**Table S1**—HLA typing results in 10 patients with narcolepsy and long standing psychosis

ID	A-1	A-2	B-1	B-1	C-1	C-2	DRB1-1	DRB1-2	DRB345-1	DRB345-2	DQA1-1	DQA1-2	DQB1-1	DQB1-2	DPA1-1	DPA1-2	DPB1-1	DPB1-2
Mignot-1	02:01	03:01	07:02	40:02	02:02	07:02	11:01	15:01	3*02:02	5*01:01	05:05	01:02	03:01	06:02	01:03	01:03	04:01	04:01
Mignot-3	01:01	02:01	08:01	40:01	03:04	07:01	03:01	15:01	3*01:01	5*01:01	05:01	01:02	02:01	06:02	01:03	01:03	04:01	04:01
Mignot-5	01:01	03:01	07:02	35:01	04:01	15:05	03:01	15:03	3*01:01	5*01:01	05:01	01:02	02:01	06:02	02:01	02:01	13:01	01:01
Mignot-7	01:01	03:01	07:02	44:02	05:01	07:02	04:01	15:01	4*01:01	5*01:01	01:02	03:01	03:01	06:02	01:03	01:03	02:01	04:01
Mignot-9	02:06	24:02	40:01	48:01	03:04	03:04	14:01	15:01	3*02:02	5*01:01	01:02	01:01	05:03	06:02	02:02	01:03	05:01	02:01
Mignot-13	03:01	26:01	07:02	40:02	02:02	07:02	15:01	15:01	5*01:01	5*01:01	01:02	01:02	06:02	06:02	01:03	01:03	04:01	04:01
Mignot-15	23:01	33:03	15:16	81:01	14:02	18:01	11:01	15:03	3*02:02	5*01:01	01:02	01:02	06:02	06:02	01:03	02:01	03:01	17:01
Mignot-17	02:01	26:03	15:01	15:11	03:03	03:03	14:05	15:01	3*02:02	5*01:01	03:01	01:02	03:03	06:02	02:02	02:01	13:01	05:01
Mignot-19	01:01	03:01	44:02	53:01	04:01	05:01	03:02	15:01	3*03:01	5*01:01	04:01	01:02	04:02	06:02	02:02	01:03	04:01	01:01
Mignot-21	03:01	03:01	08:01	39:01	07:01	12:03	03:01	15:01	3*01:01	5*01:01	05:01	01:02	02:01	06:02	02:01	01:03	06:01	01:01

**Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN)**

Digs 3.0/Mod  
2012

**DIAGNOSTIC INTERVIEW FOR GENETIC STUDIES ADAPTED FOR NARCOLEPSY  
(DIGSAN)**

**NOTE: THE INTERVIEW CAN BE DONE DIRECTLY WITH THE PATIENT OR  
WITH THE HELP OF A FAMILY MEMBER (NOTABLY IN CHILDREN) USE  
JUDGEMENT IF THE PATIENT IS NOT COMMUNICATIVE**

**PLEASE NOTE THAT THE TEXTS IN ITALICS MAY REFER TO LITERAL  
EXPLANATIONS FOR THE PATIENT**

**SECTION I. DEMOGRAPHICS**

**SITE ID:**  **FAMILY ID:**

**SUBJECT ID:**

**SUBJECT NAME:** \_\_\_\_\_  
First Middle Last

**INTERVIEW DATE:**     
M O N D D Y E A R

**DATE OF BIRTH:**     
M O N D D Y E A R

**INTERVIEWER:** **Male** **Female**  
 Circle sex

**RACE:** **1. American Indian / Alaskan Native** Code Response  
**2. Asian / Pacific Islander** 1 2 3 4 5 6  
**3. Black (Non Hispanic)**  
**4. Hispanic**  
**5. White (Non Hispanic)**  
**6. Other / Unknown**

**INITIAL or RETEST:** I R

**IN PERSON or TELEPHONE:** P T

*continues*

Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued*

## SECTION II. FAMILY HISTORY

- 1) *Do you have any family members diagnosed with*
- Yes      No
- a. *Narcolepsy-cataplexy?*

If yes, describe who is affected and the corresponding symptoms:

---



---

- b. *Depression, psychosis (ex. Bipolar disorder, schizophrenia), or any serious psychiatric disorder?*      Yes      No

If yes, describe who is affected and the corresponding disorders and symptoms:

---



---

- 2) *Were you adopted?*      No      Yes      Unk
- 3) *In which country were you born?*
- 4) *What is the ethnic background of your biological parents?*

Code up to four ethnicities on maternal and paternal sides if possible

Mother:      \_\_\_\_\_      \_\_\_\_\_      \_\_\_\_\_      \_\_\_\_\_

Father:      \_\_\_\_\_      \_\_\_\_\_      \_\_\_\_\_      \_\_\_\_\_

- 5) *What is your current marital status?*
- a. Married  
b. Separated  
c. Divorced  
d. Widowed  
e. Never married

- 6) *How many living children do you have?* \_\_\_\_\_

- 7) *How many years of school did you complete?*

Years

--	--

*continues*

**Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued***

Record response: \_\_\_\_\_

8) *Are you living alone or with others?* No Yes Unk

- a. Alone
- b. With partner (for at least one year), but not legally married
- c. In own home with spouse and/or children
- d. In home of parents or children
- e. In shared home with other relatives or friends
- f. In Residential Treatment Facility
- g. Other, Specify: \_\_\_\_\_

9) *Have you ever been in the Military?*

If no: *Were you ever rejected for Military Service?*

*Why?* \_\_\_\_\_

10) *What is your present occupation?*

Record response: \_\_\_\_\_

10.a) *What is the most responsible job you have ever held?*

Record response: \_\_\_\_\_

10.b) *If subject is not Head of Household: What is/was the occupation of the head of household most of their working career?*

Record response: \_\_\_\_\_

*continues*

Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued*

**SECTION III. NARCOLEPSY SYMPTOM SURVEY**

1. *How often do you (or your child) have difficulty staying awake during the day?*  
 Once, or more, per day       Several times per week       Once per week  
 Once per month       Once per year, or less       Never
  
2. *How often do you (or your child) experience sudden sleep attacks that are so intense that you must stop what you are doing to or take a nap?*  
 Once, or more, per day       Several times per week       Once per week  
 Once per month       Once per year, or less       Never
  
3. *How often do you (or your child) nap?*  
 Once, or more, per day       Several times per week       Once per week  
 Several times per month       Once or less per month       Never

**Epworth Sleepiness Scale**

*How likely are you (is your child) to doze off or fall asleep in the following situations, in contrast to feeling just tired? This refers to your usual way of life in recent times. Even if you (your child) have not done some of these things recently, try to work out how they would have affected you (him/her). Use the following scale to choose the most appropriate number for each situation:*

**0** = Would never doze; **1** = Slight chance of dozing  
**2** = Moderate chance of dozing; **3** = High chance of dozing

SITUATION	CHANCE OF DOZING			
a. Sitting and reading	0	1	2	3
b. Watching TV	0	1	2	3
c. Sitting inactive in a public place (e.g., a theater or meeting)	0	1	2	3
d. As a passenger in a car for an hour without a break	0	1	2	3
e. Lying down to rest in the afternoon when circumstances permit	0	1	2	3
f. Sitting and talking to someone	0	1	2	3
g. Sitting quietly after a lunch without alcohol	0	1	2	3
h. In a car, while stopped for a few minutes in traffic	0	1	2	3 n.a.
n.a.: not applicable (not driving, children)	TOTAL:			/21 or 24

4. *When did sleepiness start?* (approximate mnth/day/year) \_\_\_\_\_

*continues*

**Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued***

**MUSCLE WEAKNESS/CATAPLEXY SYMPTOMS**

If treated with medications, you must answer questions as if you were untreated for any sleep disorder, unless specified otherwise. If completed by the parent of a younger child, answer as for the child.

5. *Have you or your child had episodes where you or your child's mouth suddenly opens or/and the tongue protruded without any obvious reason?*

\_\_\_NO \_\_\_YES: MORE THAN ONCE? \_\_\_NO \_\_\_YES:

6. *Have you or your child had episodes of muscle weakness or muscle paralysis (for example staggering or loopy gait, not able to stand on your legs leading to crumbling down slowly) that occurred unexpectedly?*

\_\_\_NO \_\_\_YES: MORE THAN ONCE? \_\_\_NO \_\_\_YES:

7. *Does anything unusual happen to you or your child when laughing or joking around?*

\_\_\_NO \_\_\_YES: MORE THAN ONCE? \_\_\_NO \_\_\_YES:

8. *Did you or your child ever experience that your or his/her lower jaw was weakened during emotions, like laughing excitement, anger?*

\_\_\_NO \_\_\_YES: MORE THAN ONCE? \_\_\_NO \_\_\_YES:

9. *Did you ever experience episodes of weakness in face, dropping of the jaw or head?*

\_\_\_NO \_\_\_YES: MORE THAN ONCE? \_\_\_NO \_\_\_YES:

10. *Did you (or your child) experience episodes of muscle weakness in your/his or her legs or buckling of knees when having an emotion or without any reasons?*

\_\_\_NO \_\_\_YES: MORE THAN ONCE? \_\_\_NO \_\_\_YES:

11. *Do you or your child experience feeling suddenly weak and without muscle strength?*

\_\_\_NO \_\_\_YES: MORE THAN ONCE? \_\_\_NO \_\_\_YES:

**Interviewer: if answered yes to questions 5-11 please continue, if not, skip ahead to question 15**

12. *When did this symptom occur the first time? (approximate month/day/year) \_\_\_\_\_*

13. *How long does the muscle weakness typically last?*

- < 5 seconds       5 seconds – 30 seconds       30 seconds – 2 minutes  
 2 minutes – 10 minutes       > 10 minutes

14. *How frequently do you experience one of these episodes of muscle weakness?*

- Once, or more, per day       Several times per week       Once per week  
 Once per month       Once per year, or less       Never

*continues*

Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued***OTHER NARCOLEPSY SYMPTOMS**

If treated with medications, you must answer questions as if you were untreated for any sleep disorder, unless specified otherwise. If completed by the parent of a younger child, answer as for the child.

15. Do or your child imagine feeling/seeing/hearing unusual and/or frightening people, animals, or objects, when you...

	Never	Rarely Only a few times ever	Infrequently Less than once/month	Sometimes At least once/month, but less than once/week	Often At least once/week
a)...fall asleep abruptly?					
b)...wake up in the morning?					
c)...wake up during the night?					
d)...take a nap?					
e)...are drowsy?					

If you responded "Never" to **ALL** of the situations in question 15 (a-e), please skip ahead to 17

Please describe two of these events.

circumstance (a-e) \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

circumstance (a-e) \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

16. When did you or your child experience one of these events the first time? (approximate month/day/year)

\_\_\_\_\_

17. How often do you or your child...

	Never	Rarely Only a few times ever	Infrequently Less than once/month	Sometimes At least once/month, but less than once/week	Often At least once/week
a)...awaken in the morning and find that you are unable to move?					
b)...awaken from a nap and find that you are unable to move?					
c)...find that you are unable to move when falling asleep, either for the night or a nap?					

If you responded "Never" to **ALL** of the situations in question 17 (a-c), please skip to question 20

Please describe two of these events.

circumstance (a-e) \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

circumstance (a-e) \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

18. Are these events frightening to you or your child?

Always     Usually     Often     Rarely     Never

19. When did you or your child experience one of these events the first time?(approximate month/day/year)

\_\_\_\_\_

*continues*

**Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued***

**DISTURBED SLEEP**

If treated with medications, remember to answer questions as if you were untreated for any sleep disorder, unless specified otherwise. If completed by the parent of a younger child, answer as for the child.

20. *How often do you or your child have difficulty falling asleep at night?*

- Always (every night)       Usually (several times/week)       Often (several times/month)  
 Rarely (several times/year)       Never

21. *How often do you or your child sleep restlessly (moving a lot)?*

- Always (every night)       Usually (several times/week)       Often (several times/month)  
 Rarely (several times/year)       Never

22. *How often do you or your child talk during sleep?*

- Always (every night)       Usually (several times/week)       Often (several times/month)  
 Rarely (several times/year)       Never

23. *How often do you or your child wakes up in the middle of the night unable to go back to sleep?*

- Always (every night)       Usually (several times/week)       Often (several times/month)  
 Rarely (several times/year)       Never

24. *How often do you or your child dream excessively at night, having exhausting dreams for example?*

- Always (every night)       Usually (several times/week)       Often (several times/month)  
 Rarely (several times/year)       Never

**OTHER**

25. *Did you or your child loose or gained weight with the onset of this problem?*

- Lost weight      How much \_\_\_\_\_ in \_\_\_\_\_ months  
 No change  
 Gained weight      How much \_\_\_\_\_ in \_\_\_\_\_ months

26. (if applicable) *Did your sign show signed of premature puberty?*

- Yes      What age \_\_\_\_\_ What symptom \_\_\_\_\_

**SLEEP TESTS**

27. If you or your child had a nocturnal sleep study please report the following:

(approximate month/day/year) \_\_\_\_\_

Total sleep Time (hr)	
Nocturnal REM latency (min)	
Sleep Efficiency (%)	
Periodic Leg Movements Index (PLMI/hr)	
Apnea hypopnea Index (AHI/hr)	

28. If you or child had a Multiple Sleep latency test (MSLT) please report the following:

(approximate month/day/year) \_\_\_\_\_

	nap 1	nap 2	nap 3	nap 4	nap 5	mean
MSLT sleep latencies						
Presence of REM sleep						# SOREMP

**Year of narcolepsy diagnosis:**

--	--	--	--

*continues*



Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued*

**SECTION IV. MEDICAL HISTORY**

**INTERVIEWER: When information from medical records may be relevant to psychiatric condition, record physician name, hospital name, city, state, and treatment dates.**

- |  | <u>No</u> | <u>Yes</u> | <u>Unk</u> |
|--|-----------|------------|------------|
| 1. <i>Have you ever had any serious physical illnesses or medical problems?</i><br>If yes, specify illness:<br>_____<br>_____<br>_____ | 0         | 1          | 9          |
| 2. <i>Did you ever have, even transient, neurological problems as</i>  |           |            |            |
| <i>Disorientation?</i>   | 0         | 1          | 9          |
| <i>Memory deficits?</i>  | 0         | 1          | 9          |
| <i>Epileptic seizures?</i>   | 0         | 1          | 9          |

*If yes, specify, was it preceded by a non-specific flu like illness with temperature, headache, fatigue, etc.*

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

- |  |   |   |   |
|--|---|---|---|
| 3. <i>Have you had an MRI? Do you know the results?</i><br>_____<br>_____  | 0 | 1 | 9 |
| 4. <i>Have you had a lumbar puncture (spinal tap) or any other biological test because of an encephalitis (brain inflammation or infection) was suspected?</i><br>_____<br>_____ | 0 | 1 | 9 |
| 5. <i>Are you taking any medications regularly (including aspirin and oral contraceptives)?</i>  | 0 | 1 | 9 |

Medication

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Dosage per day

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Duration of dosage Weeks


*continues*

**Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued***

**SECTION V. PSYCHOSIS INTERVIEW**

*I would like to read to you a list of experiences that other people have reported. Tell me which ones you have had.*

**INTERVIEWER: Record an example of each positive response in the margins** (for each psychotic symptom, probe for description and chronology).

*Has there been a time when...* No Susp Yes Unk

**1. You heard voices? For example, some people have had the experience of hearing people’s voices whispering or talking to them, even when no one was actually present.** **0 1 2 9**

**If yes,**

*Did/Does it happen only when you fall asleep or just shortly after you wake up?* 0 1 2 9

*Did/Does it happen only when you are awake but very sleepy?* 0 1 2 9

*How do/did you explain it?* \_\_\_\_\_

*Were/are you convinced that these voices were real?*

**If yes,**

*Did/Do you think the voices were real only immediately after it happened?* 0 1 2 9

*Did/Does the feeling that the voices were real lasted only for a few hours or days, and inside you knew it was just not possible to have occurred?* 0 1 2 9

*Are you still convinced that these voices were/are real?* 0 1 2 9

*Did you change your behavior as a result of the voices?* 0 1 2 9

**With regard to narcolepsy**

*Did you start hearing voices before  after  or at the same time  narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplexy (weakness when laughing/joking) started?* 9

*How long before or after? days  weeks  months  years*  9

*How often did they happen? daily  weekly  monthly  yearly*  9

*How long did they last? Hours  days  weeks  months  years*  9

*Did the voices appear only after you started a narcolepsy treatment?* 0 1 2 9

*If yes, specify treatment* \_\_\_\_\_

**2. Did/do you have beliefs or ideas that others did not share or later found out were not true – like people being against you, people trying to harm you, or people talking about you?** **0 1 2 9**

**If yes, (record an example of these ideas in the margins)**

*Did/Does it happen only when you fall asleep or just shortly after you wake up?* 0 1 2 9

*Did/Does it happen only when you are awake but very sleepy?* 0 1 2 9

*How do/did you explain it?* \_\_\_\_\_

*At the time this occurred, were you convinced that these beliefs or ideas were real?* 0 1 2 9

*Are you still convinced that they are real now?* 0 1 2 9

*Did you change your behavior as a result of these beliefs or ideas?* 0 1 2 9

*continues*

Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued*

	<u>No</u>	<u>Susp</u>	<u>Yes</u>	<u>Unk</u>
<b>With regard to narcolepsy</b>				
<i>Did these beliefs or ideas started</i> before <input type="checkbox"/> after <input type="checkbox"/> or at the same time <input type="checkbox"/>				
<i>narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplexy (weakness when laughing/joking) first started</i>				9
<i>How long before or after?</i> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/>				9
<i>How often did they happen?</i> daily <input type="checkbox"/> weekly <input type="checkbox"/> monthly <input type="checkbox"/> yearly <input type="checkbox"/>				9
<i>How long did they last?</i> Hours <input type="checkbox"/> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/>				9
<i>Did these beliefs appear only after you started a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
If yes, specify treatment _____				
<i>Did these beliefs get reversed after you stop a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<b>3. Did/do you believe you were being given special messages (e.g. through the TV or the radio)?</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>9</b>
<b>If yes, (record an example of these ideas in the margins).</b>				
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you fall asleep or just shortly after you wake up?</i>	0	1	2	9
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you are awake but very sleepy?</i>	0	1	2	9
<i>How do/did you explain it?</i> _____				
<i>At the time you received this message, were you convinced the message was real?</i>	0	1	2	9
<i>Are you still convinced that the message was special for you and real?</i>	0	1	2	9
<i>Did you change your behavior as a result of these messages?</i>	0	1	2	9
<b>With regard to narcolepsy</b>				
<i>Did you receiving these messages started</i> before <input type="checkbox"/> after <input type="checkbox"/> or at the same time <input type="checkbox"/>				
<i>narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplexy started?</i>				9
<i>How long before or after?</i> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/>				9
<i>How often did they happen?</i> daily <input type="checkbox"/> weekly <input type="checkbox"/> monthly <input type="checkbox"/> yearly <input type="checkbox"/>				9
<i>How long did they last?</i> Hours <input type="checkbox"/> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/>				9
<i>Did these beliefs appear only after you started a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
If yes, specify treatment _____				
<i>Did these beliefs get reversed after you stop a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<b>4. Did/do you believe that you had done something terrible for which you should be punished?</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>9</b>
<b>If yes, (record an example of these ideas in the margins).</b>				
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you fall asleep or just shortly after you wake up?</i>	0	1	2	9
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you are awake but very sleepy?</i>	0	1	2	9
<i>How do/did you explain it?</i> _____				
<i>At the time it happened, were you convinced about it?</i>	0	1	2	9
<i>Are you still convinced now that you have done something terrible?</i>	0	1	2	9
<i>Did you change your behavior as a result of the belief?</i>	0	1	2	9

*continues*

**Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued***

	<u>No</u>	<u>Susp</u>	<u>Yes</u>	<u>Unk</u>
<b>With regard to narcolepsy</b>				
<i>Did you receiving these messages started before <input type="checkbox"/> after <input type="checkbox"/> or at the same time <input type="checkbox"/></i>				9
<i>narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplex started?</i>				9
<i>How long before or after? days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How often did they happen? daily <input type="checkbox"/> weekly <input type="checkbox"/> monthly <input type="checkbox"/> yearly <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How long did they last? Hours <input type="checkbox"/> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>Did these beliefs appear only after you started a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<i>If yes, specify treatment _____</i>				
<i>Did these beliefs get reversed after you stop a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<b>5. Did/do you believe that you were especially important in some way, or that you had powers to do things that other people could not do?</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>9</b>
<b>If yes, (record an example of these ideas in the margins).</b>				
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you fall asleep or just shortly after you wake up?</i>	0	1	2	9
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you are awake but very sleepy?</i>	0	1	2	9
<i>How do/did you explain it? _____</i>				
<i>Were you convinced about this only in the past?</i>	0	1	2	9
<i>Are you still convinced about this today?</i>	0	1	2	9
<i>Did you change your behavior as a result of these beliefs or ideas?</i>	0	1	2	9
<b>With regard to narcolepsy</b>				
<i>Did this belief first start before <input type="checkbox"/> after <input type="checkbox"/> or at the same time <input type="checkbox"/></i>				9
<i>narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplex started?</i>				9
<i>How long before or after? days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How often did they happen? daily <input type="checkbox"/> weekly <input type="checkbox"/> monthly <input type="checkbox"/> yearly <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How long did they last? Hours <input type="checkbox"/> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>Did these beliefs appear only after you started a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<i>If yes, specify treatment _____</i>				
<i>Did these beliefs get reversed after you stop the narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<b>6. Did/do you had the feeling that you were under control of some force or power other than yourself?</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>9</b>
<b>If yes, (record an example of these ideas in the margins).</b>				
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you fall asleep or just shortly after you wake up?</i>	0	1	2	9
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you are awake but very sleepy?</i>	0	1	2	9
<i>How do/did you explain it? _____</i>				
<i>Were you convinced about this only in the past?</i>	0	1	2	9
<i>Are you still convinced you are under control?</i>	0	1	2	9
<i>Did you change your behavior as a result of these feelings?</i>	0	1	2	9

*continues*

Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued*

	No	Susp	Yes	Unk
<b>With regard to narcolepsy</b>				
<i>Did the feeling appear of being under control start before <input type="checkbox"/> after <input type="checkbox"/> or at the same time <input type="checkbox"/> narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplex started?</i>				9
<i>How long before or after? days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How often did they happen? daily <input type="checkbox"/> weekly <input type="checkbox"/> monthly <input type="checkbox"/> yearly <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How long did they last? Hours <input type="checkbox"/> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>Did these feelings appear only after you started a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<i>If yes, specify treatment _____</i>				
<i>Did these beliefs get reversed after you stop the narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<b>7. Did/do you feel that you suffered a change in your body or in your physical appearance that others could not see?</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>9</b>
<b>If yes, (record an example of these ideas in the margins).</b>				
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you fall asleep or just shortly after you wake up?</i>	0	1	2	9
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you are awake but very sleepy?</i>	0	1	2	9
<i>How do/did you explain it? _____</i>				
<i>Were you convinced about this only in the past?</i>	0	1	2	9
<i>Are you still convinced that your appearance has changed?</i>	0	1	2	9
<i>Did you change your behavior as a result of this change of appearance?</i>	0	1	2	9
<b>With regard to narcolepsy</b>				
<i>Did the feeling appear of being under control start before <input type="checkbox"/> after <input type="checkbox"/> or at the same time <input type="checkbox"/> narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplexy started?</i>				9
<i>How long before or after? days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How often did they happen? daily <input type="checkbox"/> weekly <input type="checkbox"/> monthly <input type="checkbox"/> yearly <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How long did they last? Hours <input type="checkbox"/> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>Did these feelings appear only after you started a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<i>If yes, specify treatment _____</i>				
<i>Did these beliefs get reversed after you stop the narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<b>8. Have you ever engaged in any unusual behavior, had speech that was mixed up or did not make sense to other people?</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>9</b>
<b>If yes, (record an example of these behaviors in the margins).</b>				
<i>Did/Does it occur <u>only</u> in the middle of the night?</i>	0	1	2	9
<i>Did/Does it occur <u>only</u> when you are awake during the day but very sleepy or tired?</i>	0	1	2	9
<i>How do/did you explain it? _____</i>				

*continues*

**Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued***

	<u>No</u>	<u>Susp</u>	<u>Yes</u>	<u>Unk</u>
<b>With regard to narcolepsy</b>				
<i>Did it start to happen before <input type="checkbox"/> after <input type="checkbox"/> or at the same time <input type="checkbox"/></i>				
<i>narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplex started?</i>				9
<i>How long before or after?      days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How often did they happen?      daily <input type="checkbox"/> weekly <input type="checkbox"/> monthly <input type="checkbox"/> yearly <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How long did they last?      Hours <input type="checkbox"/> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>Did this unusual behavior or speech appear after you started a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<i>If yes, specify treatment _____</i>				
<i>Did these behaviors get reversed after you stop the narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<b>9. Had your body ever stuck in one position so that you could not move?</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>9</b>
<b>If yes, (record an example of these behaviors in the margins).</b>				
<i>Did/Does it happen <u>only</u> when you fall asleep and/or shortly after you wake up?</i>	0	1	2	9
<i>Did/Does it happen <u>only</u> in the middle of a nap or when sleeping at night?</i>	0	1	2	9
<i>How do/did you explain it? _____</i>				
<b>With regard to narcolepsy</b>				
<i>Did it start to happen before <input type="checkbox"/> after <input type="checkbox"/> or at the same time <input type="checkbox"/></i>				
<i>narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplex started?</i>				9
<i>How long before or after?      days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How often did they happen?      daily <input type="checkbox"/> weekly <input type="checkbox"/> monthly <input type="checkbox"/> yearly <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How long did they last?      Hours <input type="checkbox"/> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>Did these behaviors appear after you started a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<i>If yes, specify treatment _____</i>				
<i>Did these behaviors get reversed after you stop the narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<b>10. Have you experienced to have no emotions or have inappropriate emotions?</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>9</b>
<b>Interviewer: record an example of these symptoms in the margins (probe for description and chronology).</b>				
<b>If yes</b>				
<i>Did this symptom start before <input type="checkbox"/> after <input type="checkbox"/> or at the same time <input type="checkbox"/></i>				
<i>narcolepsy symptoms such as sleepiness or cataplex started?</i>				9
<i>How long before or after?      days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How often did they happen?      daily <input type="checkbox"/> weekly <input type="checkbox"/> monthly <input type="checkbox"/> yearly <input type="checkbox"/></i>				9
<i>How long did they last?      Hours <input type="checkbox"/> days <input type="checkbox"/> weeks <input type="checkbox"/> months <input type="checkbox"/> years <input type="checkbox"/></i>				9
<i>Did these symptoms appear after you started a narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<i>If yes, specify treatment _____</i>				
<i>Did these symptoms get reversed after you stop the narcolepsy treatment?</i>	0	1	2	9
<i>Were these symptoms related to a depressive or manic mood episode?</i>	0	1	2	9

*continues*

Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued*

**INTERVIEWER: If yes, complete the following questions about mood**

**Now, I'm going to ask you some questions about your mood.**

	<u>No</u>	<u>Susp</u>	<u>Yes</u>	<u>Unk</u>
1.				
1.a) <i>Have you ever had a period of at least one week when you were bothered most of the day, nearly every day, by feeling depressed, sad, down, low?</i>	0	1	2	9
1.b) <i>By feeling irritable?</i>	0	1	2	9
1.c) <i>By feeling anxious?</i>	0	1	2	9
1.d.) <i>Have you ever had a period of at least one week when you did not enjoy most things even things you usually liked to do?</i>	0	1	2	9

**INTERVIEWER: Do you suspect a past or current DEPRESSIVE episode from subject's responses, behavior, or other information?**

**0 1 2 9**

If yes, specify:

---



---

2.				
2.a) <i>Have you ever had a period when you felt extremely good or high, clearly different from your normal self? (Was this more than just feeling good?)</i>	0	1	2	9
2.b) <i>Did you ever had a period when you were unusually irritable, clearly different from your normal self so that you would shout at people or start fights or arguments?</i>	0	1	2	9
2.c) <i>Have you ever had periods lasting even a day or two when you felt unusually cheerful, irritable, energetic or hyper?</i>	0	1	2	9
2.d.) <i>Have there been times when you felt much more energetic than usual and needed less sleep than usual?</i>	0	1	2	9

**INTERVIEWER: probe for additional symptoms if necessary, using additional probes.**

(e.g. Did you experience racing thoughts of pressure to keep talking? Were you over-confident? Did you make unrealistic plans? Were you uncharacteristically impulsive? Did you experience increased activity or increased talkativeness? Gather and record information on any (even mild) mood states that seem qualitatively different from a normal good mood and that indicate hypomania. Record response including subject's description of the mood below:

---



---



---

*continues*

**Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued***

	<u>No</u>	<u>Susp</u>	<u>Yes</u>	<u>Unk</u>				
<p>If any yes to questions 2<sup>a</sup>-d: <i>Did this last persistently throughout the day or Intermittently for two days or more?</i></p>								
<p><b>INTERVIEWER: Do you suspect a past or current MANIC episode from subject's responses, behavior, or other information?</b></p> <p>If yes, specify:</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	0	1	2	9				
<p><b>INTERVIEWER: If the subject has/had psychotic symptoms as well as mood Symptoms, complete the following questions about temporal relationship between mood alteration and psychotic symptoms.</b></p>								
<p>3.</p> <p>3.a) <i>Did the voices, visions or beliefs occur either just before the depression and/or manic episode or after it cleared?</i></p> <p>If yes: <i>How long were they present before the depression/mania began?</i> _____Days  <i>How long did they last after your mood returned to normal?</i> _____Days</p>					0	1	2	9
<p>3.b) <i>Was there ever a period of time when you had (psychotic symptoms) when you were not feeling (depressed/high or excited)?</i></p> <p>If yes: <i>Did these symptoms ever last as long as one week while you were not (depressed/high)?</i></p>					0	1	2	9
<p><i>How long did you have these symptoms when you were not (depressed/high)?</i></p> <p>_____Days      _____Weeks</p>					0	1	2	9
<p><b>INTERVIEWER: Record an example of each positive response in the margins.</b></p>								
<p><b>11. Does the patient present affective flattening, poverty of speech during the interview?</b></p>	0	1	2	9				
<p><b>12. Is the patient currently exhibiting signs of incoherence? (not related to sleep or dreaming)</b></p>	0	1	2	9				
<p><b>13. Is the patient currently exhibiting disorganized thinking? (not related to sleep or dreaming)</b></p>	0	1	2	9				
<p><b>14. Is the patient currently exhibiting bizarre ideas? (not related to sleep or dreaming)</b></p>	0	1	2	9				
<p><b>13. Is the patient currently exhibiting a disgressive or over elaborate speech or marked loosening of associations?</b></p>	0	1	2	9				

*continues*



Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued*

**SLEEP DISORDER INTERVIEWER: IF YOU SUSPECT A PSYCHOTIC OR MOOD DISORDER, PLEASE REFER TO SPECIALIST IN PSYCHIATRY TO COMPLETE DIAGNOSIS.**

**SLEEP DISORDER INTERVIEWER:** If in your opinion, the patient only has narcolepsy and that all his/her symptoms can be explained by it, please rate narcolepsy only below.

**PSYCHIATRIST INTERVIEWER:** If in your opinion, the patient only has schizophrenia or a delusional disorder and that all his/her symptoms can be explained by it, please rate the corresponding single diagnosis below.

**ADJUDICATION:** In case of a dual diagnosis, both narcolepsy and psychotic disorder like Schizophrenia or a mood disorder are present, please have the opinion of both a psychiatrist and a sleep specialist to fill up the information below.

**INTERVIEWER: In your opinion, the subject has: (circle what applies)**

Narcolepsy only   
 Narcolepsy + Schizophrenia   
 Narcolepsy + Delusional disorder   
 Narcolepsy + Bipolar disorder   
 Narcolepsy + Schizoaffective disorder   
 Narcolepsy + Psychosis (not specified)

Describe: \_\_\_\_\_

Schizophrenia alone   
 Delusional disorder alone   
 Bipolar disorder   
 Schizoaffective disorder   
 Psychosis (not specified)

Describe: \_\_\_\_\_

If 2 diagnoses, did these conditions started at the same time   
 or independently/separately  ?

*continues*

## Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued*

**\*Schizophrenia:** according to the revised fourth edition of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR), to be diagnosed with schizophrenia, three diagnostic criteria must be met: Characteristic symptoms: two or more of the following, each present for much of the time during a one-month period (or less, if symptoms remitted with treatment).

Delusions

Hallucinations

Disorganized speech, which is a manifestation of formal thought disorder

Grossly disorganized behavior (e.g. dressing inappropriately, crying frequently) or catatonic behavior

Negative symptoms: blunted affect (lack or decline in emotional response), alogia (lack or decline in speech), or avolition (lack or decline in motivation)

If the delusions are judged to be bizarre, or hallucinations consist on hearing one voice participating in a running commentary of the patient's actions or of hearing two or more voices conversing with each other, only that symptom is required above. The speech disorganization criterion is only met if it is severe enough to substantially impair communication.

Social or occupational dysfunction: for a significant portion of the time since the onset of the disturbance, one or more major areas of functioning such as work, interpersonal relations, or self-care, are markedly below the level achieved prior to the onset.

Significant duration: continuous signs of the disturbance persist for at least six months. This six-month period must include at least one month of symptoms (or less, if symptoms remitted with treatment).

If signs of disturbance are present for more than a month but less than six months, the diagnosis of schizophreniform disorder is applied.

**\*Delusional disorder:** It is a stable disorder characterized by the presence of delusions to which the patient clings with extraordinary tenacity. The illness is chronic and frequently lifelong. The delusions are logically constructed and internally consistent. The delusions do not interfere with general logical reasoning (although within the delusional system the logic is perverted) and there is usually no general disturbance of behavior.

If disturbed behavior does occur, it is directly related to the delusional beliefs.

The individual experiences a heightened sense of self-reference. Events which, to others, are non significant are of enormous significance to him or her, and the atmosphere surrounding the delusions is highly charged.

Diagnosis of a specific type of delusional disorder can sometimes be made based on the content of the delusions. The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) enumerates seven types:

Erotomaniac type (erotomania)

Grandiose type

Jealous type

Persecutory type

Somatic type

Mixed type

Unspecified type

**\*Bipolar disorder:** is a condition in which people experience abnormally elevated (manic or hypomanic) mood states, to a degree that interferes with the functions of ordinary life. Many people with bipolar disorder also experience periods of depressed mood. There is no simple physiological test to confirm the disorder. Diagnosing bipolar disorder is often difficult, even for mental health professionals. In particular, it can be difficult to distinguish depression caused by bipolar disorder from pure unipolar depression. The younger the age of onset, the more likely the first few episodes are to be depressive.

Diagnostic of Bipolar disorder requires a manic or hypomanic episode, many patients are initially diagnosed and treated as having major depression.

**\*Schizoaffective disorder:** is a psychiatric diagnosis that describes a mental disorder characterized by recurring abnormal mood and psychotic components. The mood component may be elevated or depressed (bipolar or depressive subtype), or simultaneously elevated and depressed (mixed episode), and these abnormal mood components alternate with, or occur together with distortions in perception. For a diagnosis of schizoaffective disorder to be valid, according to current DSM criteria (but not ICD criteria), there must be a period of at least two weeks of psychosis without mood disorder, and these symptoms cannot be due to medication(s), substance use or another medical condition.

*continues*

Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy (DIGSAN) *continued*

**\*Narcolepsy:** is a disorder characterized by severe sleepiness and cataplexy (loss of muscle function in legs, face, or whole body when laughing or joking; the patient is awake but paralyzed or weak). Sleep paralysis is the temporary inability to talk or move when waking up (or when falling asleep). Hypnagogic hallucinations are vivid, often frightening, dreamlike experiences that occur while dozing, falling asleep and/or while awakening. Insomnia and vivid dreaming is also common.

#### 5.4. Resumen de resultados del estudio *Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis*:

Se analizó el suero de 61 PEP atendidos en el servicio de psiquiatría del Hospital Universitari Son Espases, en el contexto de un programa asistencial específico para pacientes afectos de psicosis incipiente. También se recogió el suero de 47 controles sanos de la población general, emparejados por sexo, edad y grupo étnico con los pacientes. Los controles fueron seleccionados tras responder a un cuestionario para describir la presencia de enfermedades mentales e inmunitarias.

A los pacientes se les evaluó usando las siguientes escalas psicométricas: Escala de Evaluación de la Actividad Global (EEAG), Escala para el Síndrome Positivo y Negativo de la Esquizofrenia (*Positive and Negative Syndrome Scale*, PANSS), Escala de Young para la Evaluación de la Manía (*Young Mania Rating Scale*, YMRS), Escala de Hamilton para la Depresión (*Hamilton Rating Scale for Depression*, HRSD) y Escala de Evaluación del *Insight* (*Scale to Assess Unawareness of Mental Disorder*, SUMD).

Se realizó un seguimiento longitudinal (mediana de tiempo de seguimiento 11 meses), pero en el presente trabajo sólo se muestran los datos de la evaluación inicial. En la tabla 4 se resumen las características demográficas y clínicas de los PEP.

La duración de psicosis no tratada (DUP) de los pacientes estaba comprendida en un rango de entre menos de 1 semana y más de 1 año (media de 9 semanas).

El tiempo medio entre el inicio de los síntomas psicóticos y la obtención del suero fue de 2.4 meses y los anticuerpos se analizaron dentro del primer mes tras la extracción. En el momento de la obtención del suero todos los pacientes presentaban síntomas agudos. En la tabla 5 adjuntamos los resultados de las escalas psicopatológicas en el momento del análisis para el estudio de los anticuerpos antineuronales.

El análisis de los anticuerpos en el suero de los individuos se realizó de la siguiente forma:

- Mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en cerebelo y cortes de hipocampo de rata y por *CBA*, utilizando células HEK293 transfectadas que expresan en su superficie uno de los siguientes antígenos: la subunidad NR1 de los NMDAR, el AMPAR tipo 1 o 2, el GABARB, LGI1 o CASPR2.

- En los pacientes positivos para anticuerpos anti-NMDAR se validaron los resultados mediante doble marcaje de las células HEK293 transfectadas usando el suero de los pacientes y un anticuerpo monoclonal de conejo tipo IgG anti-NR1. Se añadieron anticuerpos secundarios marcados con distintos fluorocromos y se demostró la colocalización.

- Los resultados positivos para anticuerpos anti-NMDAR fueron también validados mediante inmunohistoquímica en cortes de cerebro de rata y mediante inmunofluorescencia sobre neuronas vivas en cultivo.

- Se usó IFI en cerebelo de rata o cortes de cerebelo de primate e inmunoblot para el estudio de los anticuerpos onconeuronales.

- Con el fin de descartar una especificidad neuronal desconocida aún , se analizaron mediante técnicas diversas (especificadas en el artículo) los anticuerpos no órgano específicos asociados a enfermedades sistémicas en pacientes con patrones nucleares o citoplasmáticos en hipocampo o en cerebelo.

- Se analizaron mediante quimioluminiscencia los anticuerpos anti-tiroperoxidasa

Detectamos anticuerpos anti-NMDAR en 2 pacientes de la muestra de PEP. Ninguno de los pacientes resultó positivo para el resto de ANS. Ninguno de los controles fue positivo para ANS.

Tabla 4. Características demográficas y diagnósticas de los PEP

	Género		Edad	Raza			Diagnóstico de los PEP								
			Media	Ca	His	As	SD	ME	DE	BPD	PS	DS	SP	PNOS	P
	N	%	sd	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M
			%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	
<b>M</b>	25	41.0	29.48	20	5	0	13	5	2	2	0	1	0	0	2
			12.80	80	20	0	52	20	8	8	0	4	0	0	8
<b>H</b>	36	59.0	20.48	25	9	2	22	7	0	2	2	0	1	2	0
			5.25	69.4	25	5.6	61	19.4	0	5.6	5.6	0	2.8	5.6	0
<b>Total</b>	61	100	24,5	45	14	2	35	12	2	4	2	1	1	2	2
			10.35	73.7	22.9	3.3	57.4	19.6	3.3	6.6	3.3	1.6	1.6	3.3	3.3

M: mujeres, H: hombres, Ca: caucásica, His: hispánica, As: asiática, SD: trastorno esquizofreniforme, ME: episodio maníaco con síntomas psicóticos, DE: episodio depresivo mayor con síntomas psicóticos, BPD: episodio psicótico breve, PS: esquizofrenia paranoide, DS: esquizofrenia desorganizada, SP: trastorno psicótico inducido por sustancias, PNOS: trastorno psicótico no especificado, PM: trastorno psicótico debido a enfermedad médica.

Tampoco encontramos positividad ni en los pacientes ni en los controles para anticuerpos intracelulares o sinápticos, ni hubo diferencias significativas entre el porcentaje de casos ANA-positivos entre los pacientes (4.92%) y los controles (4.26%).

Los anticuerpos asociados a enfermedades sistémicas (anti-ENAs, anti-DNA de doble cadena, anti-proteínas ribosomales P) fueron negativos en todas las muestras.

Se detectaron anticuerpos antitiroideos en un paciente para el que el resto de anticuerpos fueron negativos. El paciente se diagnosticó de una enfermedad de Graves-Basedow.

Tabla 5. Características clínicas en el momento del estudio de anticuerpos antineuronales

		PANSS				
		P1-P7	N1-N7	G1-G16	HRSD-17	YMRS
GAF						
Media	30.18	24.84	21.73	48.28	16.89	18.64
SD	9.19	7.46	11.05	12.79	8.39	13.19

(no se disponía de los resultados de las escalas para 5 de los 61 pacientes)

SD: desviación estándar, GAF: *Global Assessment of Functioning*, PANSS: *Positive and Negative Syndrome Scale* (P1-P7: subescala positiva, N1-N7: subescala negativa, G1-G16: subescala de patología general), HDRS-17: *Hamilton Rating Scale for Depression* de 17 ítems, YMRS: *Young Mania Rating Scale*.

A continuación se detalla la descripción clínica de los 2 casos positivos para anticuerpos anti-NMDAR.

#### 5.4.1. Caso 1

Varón de 22 años sin antecedentes psiquiátricos que acude a urgencias tras cinco días de evolución de alteraciones de conducta en forma de abandono de sus rutinas cotidianas: deja de ir a clase, no vuelve a dormir a casa y no se asea. Además se muestra excesivamente preocupado por las injusticias sociales y por temas místicos, y presenta hiperactividad, insomnio, verborrea, un discurso tendente a la desorganización y alucinaciones auditivas. El paciente ingresa en la planta de psiquiatría.

Como antecedentes médicos consta una infección por el VIH de transmisión vertical. Con una carga viral previa al ingreso indetectable y sin cambios en el tratamiento antiretroviral en los últimos 3 años (toma 2 inhibidores de la proteasa: lopinavir y ritonavir y un inhibidor de la transcriptasa inversa: etravirina). Es un consumidor crónico de cannabis, fuma 4 cigarrillos de marihuana al día.

La madre del paciente, diagnosticada de un trastorno bipolar, falleció por suicidio.

Durante el ingreso se realizan exploraciones rutinarias que resultan normales: EEG, examen neurológico, TAC craneal y análisis de sangre con hemograma y bioquímica con estudio de perfiles lipídico, renal, hepático, tiroideo y niveles de prolactina y ceruloplasmina.

La evaluación psicopatológica mediante escalas al ingreso muestra los siguientes resultados:

- EEAG: 20.
- PANSS: subescala positiva 37, subescala negativa 9, puntuación total 89.
- YMRS: 50.
- HRSD: 0.
- SUMD: 3 ítems principales: 15, subescala de conciencia: 15, subescala de atribución: 15.

En la planta presenta tono de voz elevado, taquifasia y pensamiento desorganizado con asociaciones laxas y rimas por asonancia, ánimo expansivo, risas inapropiadas, necesidad de sueño disminuida e ideas delirantes de grandeza congruentes con un ánimo eufórico y no congruentes en forma de ideas de perjuicio. Tras 3 semanas de ingreso llega a la eutimia pero el contenido delirante no cede por completo y no presenta una conciencia de enfermedad más que formal. Al alta su tratamiento es olanzapina 25mg/día y ácido valproico 800mg/día. Se diagnostica un trastorno bipolar tipo I, episodio maníaco único, en remisión parcial (DSM-IVR código: 296.05).

Un mes tras el alta en una nueva evaluación ambulatoria muestra los siguientes



resultados:

- EEAG: 65.
- PANSS: subescala positiva 7, subescala negativa 15, puntuación total 53.
- YMRS: 2.
- HRSD: 9.
- SUMD: 3 ítems principales: 9, subescala de conciencia: 10, subescala de atribución: 15.

Un año y 6 meses tras el primer episodio psicótico el paciente reingresa presentando un segundo episodio maníaco. Había abandonado el tratamiento antiretroviral durante al menos 6 meses. Su evaluación psicopatológica aporta los siguientes datos:

- EEAG: 30.
- PANSS: subescala positiva 27, subescala negativa 7, puntuación total 62.
- YMRS: 41.
- HRSD: 0.
- SUMD: 3 ítems principales: 12, subescala de conciencia: 10, subescala de atribución: 10.

En su segundo ingreso el paciente firma el consentimiento informado para entrar en el estudio y se identifican anticuerpos anti-NMDAR en suero, el título es de 1/20. La exploración neurológica es normal en todo momento. No presenta alteraciones del movimiento ni inestabilidad autonómica y el EEG resulta normal.

El tratamiento antiretroviral se reintroduce y tras dos semanas de ingreso se consigue una remisión parcial de los síntomas afectivos y psicóticos. Al alta el paciente está en tratamiento con 30 mg/día de olanzapina, 500 mg/día de ácido valproico y 1,5mg/día de clonazepam.

Ambulatoriamente se continúa investigando para descartar la existencia de tumores: la RMN cerebral con contraste muestra una atrofia insular de predominio izquierdo, sin otras alteraciones, la ecografía testicular es normal y los TAC de tórax, abdomen y pelvis

tampoco muestran patología alguna.

En una segunda determinación de los anticuerpos, a los cuatro meses de la inicial, el título es el mismo y se confirma el resultado mediante una técnica de colocalización.

Un mes tras el alta médica los resultados de las escalas psicopatológicas son:

- EEAG: 50.
- PANSS: subescala positiva 7, subescala negativa 27, puntuación total 62.
- YMRS: 2.
- HRSD: 12.
- SUMD: 3 ítems principales: 12, subescala de conciencia: 13, subescala de atribución: 14.

El diagnóstico final es de trastorno bipolar tipo I, último episodio depresivo en remisión parcial (DSM-IVR code: 296.55) y el paciente continúa en seguimiento en la unidad de atención a psicosis incipientes.

#### **5.4.2. Caso 2**

Mujer de 30 años que ingresa en la planta de neurología para estudiar dos episodios de posibles convulsiones epilépticas. La paciente refiere que desde hace 7 días experimenta fenómenos tipo *déjà-vu* y tiene la sensación de escuchar música. Está pasando un período de estrés laboral y es consumidora ocasional de cannabis. Durante el ingreso no se objetivan convulsiones epilépticas y los análisis de sangre, la exploración neurológica, el EEG y el TAC craneal resultan normales. A las 24 horas de ingresar es dada de alta en tratamiento preventivo con levetiracetam y con un diagnóstico de probables pseudocrisis.

Una semana tras el alta reingresa por problemas de memoria, bradifrenia y desorientación. Nuevamente explica que tiene la sensación de oír música y han aparecido trastornos de conducta, se muestra inadecuada y desinhibida sexualmente. La exploración neurológica vuelve a ser normal y no se encuentran alteraciones en los análisis de sangre,

la radiografía de tórax, el TAC craneal, la RMN cerebral y el estudio de LCR.

Los neurólogos consultan al servicio de psiquiatría de enlace y en la exploración psiquiátrica se identifican ideas delirantes poco estructuradas de contenido místico, bloqueos del pensamiento, bradifrenia, conducta catatoniforme y desorganizada, labilidad emocional, alucinaciones auditivas y errores en la memoria a corto plazo. Los síntomas psicóticos se consideran atípicos por la importante afectación de la memoria y la conciencia alucinatoria.

Las escalas psicopatológicas durante el ingreso aportan los siguientes resultados:

- EEAG: 40.
- PANSS: subescala positiva 19, subescala negativa 18, puntuación total 98.
- YMRS: 10.
- HRSD: 21.
- SUMD: 3 ítems principales: 11, subescala de conciencia: 23, subescala de atribución: 23.

Se inicia tratamiento con aripiprazol y el levetiracetam se cambia a ácido valproico para evitar posibles efectos secundarios. Tras 13 días de ingreso el diagnóstico al alta es de trastorno esquizofreniforme (DSM-IVR code: 295.40). En el momento del alta está pendiente el resultado del estudio de anticuerpos antineuronales y la paciente inicia el seguimiento en paralelo en la unidad de atención a psicosis incipientes y en consultas externas de neurología. Se identifican anticuerpos anti-NMDAR en el LCR y se confirman en suero. La paciente vuelve a ingresar y nuevamente la exploración neurológica es normal y un TAC de cuerpo completo revela la presencia de un teratoma ovárico derecho. Se realiza una valoración neurocognitiva y se encuentran defectos en la atención, la función ejecutiva, la memoria y la denominación visual.

Se cambia el diagnóstico a encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR y se realiza un mes de tratamiento con prednisona oral, se mantienen el aripiprazol y el ácido valproico. Se extrae el tumor y los síntomas psiquiátricos remiten progresivamente.

La evaluación psicopatológica tras el tratamiento con prednisona y la extracción del teratoma es la siguiente:

EEAG: 70.

PANSS: subescala positiva 7, subescala negativa 9 y puntuación total 40.

YMRS: 1.

HRSD: 5.

SUMD: 3 ítems principales: 9, subescala de conciencia: 3, subescala de atribución: 3.

La paciente abandona el tratamiento antipsicótico y el seguimiento en la unidad de atención a psicosis incipientes.

### **5.5. Resumen de resultados del estudio *Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis*:**

De una cohorte de pacientes infectados por VIH, que incluía 2187 individuos, se reclutaron 22 pacientes (7 mujeres y 15 hombres) con un diagnóstico de psicosis afectivas y no afectivas, sin ningún tipo de afectación neurológica adicional.

El análisis de los anticuerpos en el suero de los individuos se realizó de la siguiente forma:

- Mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en cerebelo y cortes de hipocampo de rata y por *CBA*, utilizando células HEK293 transfectadas que expresan en su superficie uno de los siguientes antígenos: la subunidad NR1 de los NMDAR, el AMPAR tipo 1 o 2, el GABARB, LGI1 o CASPR2.
- Se usó IFI en cortes de cerebelo de primate e inmunoblot para el estudio de los anticuerpos onconeuronales.
- Con el fin de descartar una especificidad neuronal desconocida aún , se analizaron mediante técnicas diversas (especificadas en el artículo) los anticuerpos no órgano específicos asociados a enfermedades

sistémicas en pacientes con patrones nucleares o citoplasmáticos en hipocampo o en cerebelo.

Ninguno de los pacientes resultó positivo para ANS. Los anticuerpos asociados a enfermedades sistémicas y los intracelulares también fueron negativos en todas las muestras (fig. 6).

Con la finalidad de evaluar la fortaleza de la relación entre la infección por VIH, los anticuerpos antineuronales de superficie y la psicosis, también se estudiaron retrospectivamente 314 pacientes de los que se habían recogido muestras de suero y/o LCR, por sospecha de encefalitis autoinmune. En esta segunda muestra de pacientes se habían detectado 9 positivos para ANS. 2 de los 9 pacientes resultaron ser VIH-positivos y ambos presentaros anticuerpos anti-NMDAR.

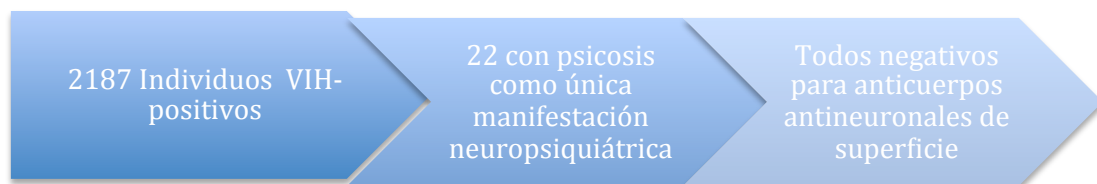


Figura 6. Resultados en la cohorte prospectiva (enero 2014-junio2015)

Uno de los casos VIH-positivos corresponde al PEP con un trastorno bipolar que presentamos en el primer estudio y para el que no había muestra de LCR. El segundo caso presentó un cuadro de ataxia que requirió dos ingresos en el servicio de neurología y tratamiento con corticoides; su diagnóstico fue de enfermedad cerebelar de origen autoinmune. En este paciente los anticuerpos anti-NMDAR se detectaron en el LCR pero no en suero. Ambos resultados fueron confirmados por inmunohistoquímica.

Por tanto, en la muestra retrospectiva de 314 pacientes encontramos un 22.22% de positividad para VIH dentro del subgrupo de pacientes ANS positivos, mientras que sólo el 4,59% de los pacientes ANS negativos fueron positivos para VIH. Lo que supone que esta asociación tiende a la significación ( $p = 0.07$ ; Fisher's exact Test) (esquema en figura 7).

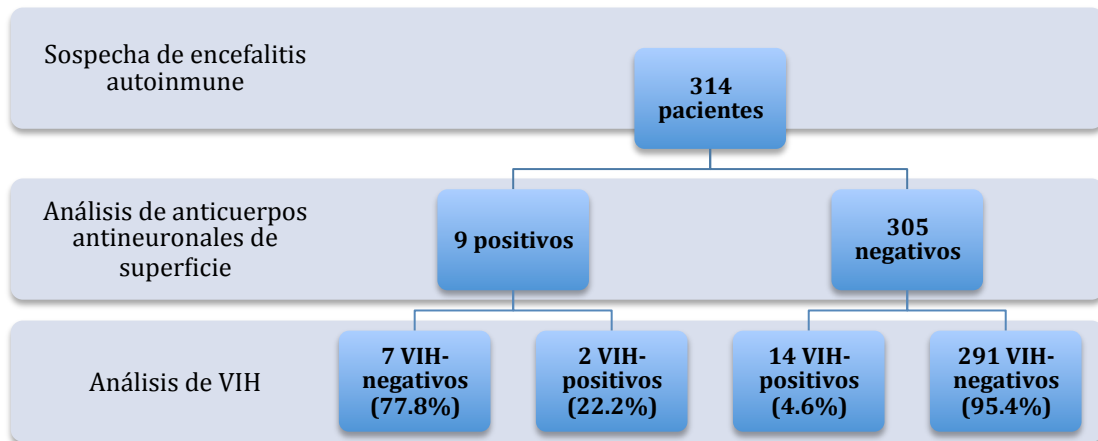


Figura 7. Resultados en la cohorte retrospectiva (noviembre 2012 – junio 2016)

### 5.6. Resumen de resultados del estudio *Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders*:

Entre los años 2003 y 2012 en la *Stanford Sleep Clinic* se identificaron, en una cohorte de 300 pacientes con narcolepsia, 8 con un trastorno psicótico comórbido. Todos presentaban la cataplejía y el HLA DQB1\*06:02 característicos de la narcolepsia. Todos menos uno habían sido diagnosticados de un trastorno psicótico por un psiquiatra externo a la clínica del sueño.

Los 2 casos restantes se recogieron de una cohorte de pacientes del hospital St. Vincent's en Corea.

Los diagnósticos de los 10 pacientes eran esquizofrenia (6), trastorno esquizofreniforme (2), trastorno delirante (1) y trastorno esquizoafectivo (1).

En el proceso diagnóstico de estos casos se objetivaron dificultades para diferenciar los síntomas psicóticos propios de una psicosis primaria de los asociados a la narcolepsia, y se decidió adaptar el cuestionario *Diagnostic Schedule for Genetic Studies* (DIGS), con la finalidad de realizar un adecuado diagnóstico diferencial. Su utilidad se probó en la muestra a estudio y el nuevo cuestionario recibe el nombre de *Diagnostic Interview for Genetic Studies Adapted for Narcolepsy* (DIGSAN).

Cada paciente se emparejó con un control en base a su edad y grupo étnico.

No se encontró en la muestra de 10 pacientes con diagnóstico dual de narcolepsia y trastornos psicóticos más asociación con alelos HLA que la esperada con el alelo DQB1\*06:02, asociado a narcolepsia.

Los pacientes no presentaban el alelo HLA C\*01:02, previamente asociado con riesgo de esquizofrenia (*Irish Schizophrenia Genomics Consortium and the Wellcome Trust Case Control C*, 2012).

Por otra parte, el haplotipo DRB1\*03:01, DQA1\*05:01, DQB1\*02:01, definido como protector en estudios previos (*Irish Schizophrenia Genomics Consortium and the Wellcome Trust Case Control C*, 2012; Stefansson et al., 2009), se encontró discretamente elevado en los pacientes.

El análisis de los anticuerpos en el suero de los individuos se realizó de la siguiente forma:

- Mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en cerebelo y cortes de hipocampo de rata y por CBA, utilizando células HEK293 transfectadas que expresan en su superficie uno de los siguientes antígenos: la subunidad NR1 de los NMDAR, el AMPAR tipo 1 o 2, el GABARB, LGI1 o CASPR2.
- Se usó IFI en cortes de cerebelo de primate e inmunoblot para el estudio de los anticuerpos onconeuronales.
- Se analizaron mediante técnicas diversas (especificadas en el artículo) los anticuerpos no órgano específicos asociados a enfermedades sistémicas.

No se encontraron anticuerpos anti-NMDAR en la muestra de 10 pacientes con diagnóstico dual. Tampoco se encontró positividad para el resto de ANS ni para anticuerpos onconeuronales ni sistémicos.

En las muestras, usando inmunofluorescencia indirecta sobre cortes de cerebelo, no se identificó tampoco el patrón compatible con anti-aquaporina 4, característico de la

neuromielitis óptica y que se ha relacionado también con la narcolepsia (Baba et al., 2009).

## 6. DISCUSIÓN

La motivación y los resultados de estos trabajos se enmarcan en la línea teórica que argumenta la necesidad de definir entidades psicóticas discretas, que permitan identificar subgrupos de pacientes con una semiología y una fisiopatología concretas y que, en consecuencia, requieran un tratamiento específico.

En el artículo que se presenta como principal en el presente trabajo (*Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis*), planteamos que, en un subgrupo de pacientes con síntomas psicóticos incipientes, la clínica podría estar en relación con la presencia de anticuerpos antineuronales de superficie (ANS). Estos anticuerpos explicarían la presencia de síntomas positivos, afectivos y cognitivos, a través de los mecanismos descritos por la hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia.

En una cohorte de 61 pacientes con diagnóstico de PEP, se detectaron dos casos cuyo suero fue positivo para anticuerpos dirigidos contra la subunidad NR1 del NMDAR, lo que supone el 3.3% de positividad.

Uno de los casos seropositivos finalmente presentó síntomas que llevaron al diagnóstico de una encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR, con lo que, si lo excluimos del grupo de PEP, la seropositividad pasa del 3.3% al 1.6%.

El otro paciente cumplió criterios DSM-IVTR de trastorno bipolar tipo I y es el primer caso descrito en la literatura de infección por VIH y psicosis asociada a anticuerpos anti-NMDAR.

Estos resultados aportan evidencia a favor de la hipótesis que planteamos como fundamento de nuestro estudio, ya que un subgrupo de pacientes afectos de PEP presentan signos de autoinmunidad antineuronal que podrían estar relacionados con la etiología de la psicosis.

No encontramos casos positivos en los pacientes ni en los controles para otros ANS ni



para anticuerpos intracelulares o sinápticos. Tampoco hay diferencias significativas entre el porcentaje de casos ANA-positivos entre los pacientes y los controles, ni resultados positivos para otros anticuerpos sistémicos.

El único dato a favor de evidencia indirecta de autoinmunidad es el hallazgo de un paciente con anticuerpos antitiroideos a título alto, pero sin positividad para el resto de anticuerpos. Este paciente se diagnosticó de un enfermedad de Graves Basedow.

Ninguno de los dos pacientes seropositivos para anticuerpos anti-NMDAR fue también positivo para anticuerpos antitiroideos, una coexistencia descrita en estudios previos de EL mediadas por anticuerpos anti-VGKC, anti-NMDAR y otros ANS (Chiba et al., 2013; Tuzun et al., 2011).

### **6.1. Anticuerpos anti-NMDAR en primeros episodios psicóticos**

Con este estudio ya son 5 las publicaciones que aportan resultados positivos de anticuerpos IgG anti-NMDAR en cohortes de PEP. En su muestra de 46 pacientes el grupo de Zandi encuentra 4.3% de casos positivos (Zandi et al., 2011); Pathmanandavel et al. (2015) encuentran un 11.6% de seropositividad en su muestra de 43 niños y de nuevo Zandi et al. (2014) describen 18 casos de psicosis aguda sin otros síntomas neurológicos, todos ellos seropositivos. De su descripción se infiere que son casos de PEP, pero estos pacientes no son seleccionados de forma aleatoria y consecutiva de una muestra de PEP sino en función de una sospecha diagnóstica relacionada con la atipicidad en su presentación clínica

Un trabajo posterior al presente y muy similar en el planteamiento, cuenta con el mayor número de pacientes PEP, estudia 228 pacientes y 105 controles sanos encontrando un 3% de seropositividad. En este reciente estudio se buscan anticuerpos IgG anti-subunidades NR1/NR2B de los NMDAR, anti-GABAR $\beta$ , anti- LGI1, anti-CASPR2, anti-AMPA en suero mediante CBA en células vivas. También buscan otros anticuerpos anti-

VGKC y ANA como prueba adicional de autoinmunidad. Los resultados muestran que 20 de sus pacientes (9%) tenían uno o más tipos de anticuerpos en suero frente a 4 de los controles (4%), una diferencia no significativa incluso cuando se controló el consumo de alcohol, tabaco y otras drogas. Los pacientes y los controles no se diferenciaron en la prevalencia de anticuerpos anti-LGI1, anti-CASPR2, anti-VGKC ni GABARB y, como en nuestro caso, no encontraron anticuerpos anti-AMPA ni en los pacientes ni en los controles (Lennox et al., 2017). El panel de anticuerpos que determinan es exigente y similar al de nuestro estudio, aunque nosotros nos centramos en la subunidad NR1 de los NMDAR, que es la asociada con patogenicidad en la encefalitis. Coinciden con nuestros resultados en que en el seguimiento a 6 meses, los pacientes positivos no habían desarrollado sintomatología encefalítica.

## **6.2. Fenotipo clínico de los pacientes con psicosis y anticuerpos anti-NMDAR**

De los 15 estudios realizados sobre psicosis y anticuerpos anti-NMDAR, tan solo 5, incluyendo el nuestro, utilizan escalas psicométricas para evaluar los síntomas psiquiátricos (Hammer et al., 2013; Lennox et al., 2017; Zandi et al., 2011, 2014), lo que permite llegar a conclusiones sobre el fenotipo clínico asociado a la seropositividad. En nuestro estudio no identificamos características clínicas que permitan distinguir al paciente bipolar seropositivo para anti-NMDAR del resto de pacientes con trastorno bipolar. Zandi et al. (2011) informan también de una ausencia de singularidades clínicas asociadas a la positividad para anticuerpos anti-NMDAR en su muestra de 46 pacientes con PEP. Hammer et al. (2013) en su cohorte de pacientes con psicosis consolidadas también llegan a la misma conclusión. En el trabajo del grupo de Lennox et al. (2017) se detalla que no hubo diferencias entre pacientes y controles en la afectación del rendimiento cognitivo (medido mediante la escala *Addenbrooke's Cognitive Examination-III*) y en la puntuación en la escala de funcionalidad EEAG. Los casos seropositivos

presentaron puntuaciones en la PANSS y en la escala *Bush-Francis Catatonia Rating Scale* para síntomas catatónicos, inferiores a los controles. Pero estas diferencias no fueron clínicamente relevantes, por lo que se considera que los casos seropositivos son indistinguibles de los negativos en cuanto a su fenotipo. En nuestro estudio, al contar sólo con un caso positivo, no podemos hacer comparaciones estadísticamente significativas entre el paciente y el resto de la muestra en lo que respecta a los resultados de las escalas psicopatológicas usadas, lo que impide que se llegue a conseguir uno de nuestros objetivos secundarios: precisar las características clínicas diferenciales de los pacientes afectos de PEP positivos para ANS.

### **6.3. Discrepancias entre estudios**

Las discrepancias en los estudios sobre prevalencia de ANS en las psicosis pueden deberse a diferencias en cuanto a: las técnicas usadas para identificar los anticuerpos, el momento evolutivo de la enfermedad en que se recogen las muestras, la especificidad de los epítomos que reconocen los anticuerpos, el subtipo de anticuerpos estudiado y los diagnósticos que se incluyen en las muestras, entre otras (Deakin et al., 2014). Nuestro estudio pretende salvar algunas de las limitaciones que otros trabajos presentan.

Analizamos pacientes en etapas tempranas del desarrollo de la enfermedad psicótica, para evitar la desaparición progresiva del suero de los anticuerpos anti-NMDAR, un fenómeno descrito por varios autores (Barry et al., 2011; de Witte et al. 2015; Gresa-Arribas et al., 2014; Rhoads et al., 2011; Zandi et al., 2011). De todas formas hace falta investigar más en profundidad la relevancia de la fase de la clínica psicótica en la presencia de los anticuerpos, y explorar el efecto de la edad de los pacientes, de la cronicidad y del uso de tóxicos. Para distinguir la psicosis asociada a la autoinmunidad activa de la vinculada al daño celular pasado o la neurodegeneración, serían útiles estudios que incluyeran datos objetivos en forma de biomarcadores, como datos de imagen cerebral y escalas neuropsicológicas y psicopatológicas, que se puedan

correlacionar longitudinalmente con la presencia de los anticuerpos (Coutinho et al., 2014).

En relación a estudios previos, ampliamos el número de anticuerpos neuronales de superficie estudiados. Y con el fin de buscar tanto evidencia directa como indirecta de autoinmunidad en las psicosis incipientes evaluamos la presencia en las muestras de anticuerpos asociados a enfermedades sistémicas, de otros anticuerpos intracelulares o sinápticos y de anticuerpos antitiroideos.

Las discrepancias en las técnicas inmunológicas entre estudios llevan a de Witte et al. (2015), a alertar sobre el riesgo de encontrar falsos positivos. Ellos apuestan por usar la técnica de CBA en células fijadas y no fijadas y confirmar los resultados positivos en análisis realizados en laboratorios diferentes, con distintas diluciones y mediante otra técnica, la inmunohistoquímica. También Masdeu et al. (2012) usan 3 criterios (inmunohistoquímica en cortes de cerebro de rata y en neuronas hipocámpicas disociadas de roedores y CBA con células HEK embrionarias humanas) para identificar los anticuerpos anti-NMDAR, y obtienen de nuevo resultados negativos. Pathmanandavel et al. (2015) concluyen que probablemente algunas discrepancias entre estudios, sobre todo los falsos positivos de anticuerpos anti-NMDAR en población sana y pacientes control, tienen que ver con el uso de la técnica CBA en células fijadas y permeabilizadas antes de ser incubadas con el suero de los pacientes. Este procedimiento técnico implica la unión de los anticuerpos a antígenos no sólo extracelulares, sino también intracelulares, siendo la detección de anticuerpos contra epítomos intracelulares poco significativa clínicamente, ya que es poco probable que estos antígenos sean accesibles (Vincent et al., 2011). Pathmanandavel et al. (2015) señalan que cuando se buscan anticuerpos anti-NMDAR se deben incubar las células vivas con el suero a estudio antes de fijarlas y permeabilizarlas, para que los anticuerpos sólo se unan a antígenos extracelulares. Lennox et al. (2017) también hacen referencia a cuestiones técnicas e insisten también en priorizar el uso de células vivas cuando se buscan anticuerpos anti-NMDAR, con el mismo argumento que

Pathmanandavel et al. (2015).

En nuestro estudio realizamos el análisis de las muestras de forma exigente, en 3 etapas mediante técnicas variadas y en laboratorios distintos. Inicialmente, en el Servicio de Inmunología del Hospital Universitari Son Espases, el suero de los pacientes se estudió mediante inmunofluorescencia indirecta en células fijadas HEK293, transfectadas con el antígeno NR1 de los NMDAR. Para corroborar que los anticuerpos identificados eran efectivamente Ig G anti-NR1 del NMDAR, se realizó un doble marcaje de las células HEK293 transfectadas usando el suero de los pacientes y un anticuerpo monoclonal de conejo tipo IgG anti-NR1, posteriormente se añadieron anticuerpos secundarios marcados con distintos fluorocromos y se demostró la colocalización. Finalmente, los 2 resultados positivos fueron validados por el *Laboratori de Neuroimmunologia Clínica i Experimental del Institut D'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (Hospital Clinic, Universitat de Barcelona)*, mediante inmunohistoquímica en cortes de cerebro de rata y mediante inmunofluorescencia sobre neuronas vivas en cultivo,.

Los epítomos reconocidos por los anticuerpos anti-NMDAR varían entre distintos estudios. En los trabajos de Zandi et al. (2011), Bergink et al. (2015) y Lennox et al. (2017) los antígenos que se estudian son las subunidades NR1 y NR2B del NMDAR. Steiner et al. (2013) y Haussleiter et al. (2012) estudian 2 tipos de epítomos de los NMDAR: las subunidades NR1A/NR1A y NR1A/NR2B. Hammer et al. (2013) también estudian 2 epítomos: la subunidad NR1 y la combinación NR1/NR2B. Tsutsui et al. (2012) y Rhoads et al. (2011) no especifican los epítomos analizados. Dickerson et al. (2012) tan solo estudian la presencia de anticuerpos contra las subunidades NR2 de los NMDAR.

En nuestro trabajo y en los de Masdeu et al. (2012); de Witte et al. (2015) y Pathmanandavel et al. (2015), el antígeno diana es el que reconocen los anticuerpos patogénicos en la encefalitis: la subunidad NR1 del NMDAR.

También varían entre estudios los isotipos de Ig estudiados, hay estudios que consideran relevante la seropositividad para IgA e IgM (Hammer et al., 2013;

Pathmanandavel et al., 2015; Steiner et al., 2013). Nosotros optamos por buscar la presencia de IgG por ser el subtipo que se ha demostrado clínicamente relevante en la encefalitis.

La falta de homogeneidad en los diagnósticos de las diferentes muestras está en relación con un problema nosológico propio de la psiquiatría. Las clasificaciones en categorías diagnósticas independientes no se correlacionan con los datos aportados por las investigaciones neurobiológicas recientes.

Sabemos, por ejemplo, que las alteraciones de las vías glutamatérgicas, no son exclusivas de la esquizofrenia, sino que también se han encontrado en otros trastornos neuropsiquiátricos como los trastornos afectivos, la enfermedad de Alzheimer, los trastornos del espectro autista y los trastornos por abuso de sustancias (Stefansson et al., 2009). Asimismo, se conoce que las consecuencias de la disfunción glutamatérgica, observadas en las vías dopaminérgicas mediante SPECT y PET, a nivel del núcleo estriado y del córtex frontal se relacionan, más que con la enfermedad esquizofrénica de forma específica, con la aparición de síntomas psicóticos en varios trastornos mentales de forma transversal (Javitt et al., 2012).

La distinción de psicosis afectivas y no afectivas no cuenta con un claro fundamento neurobiológico. Tanto en el caso concreto de la esquizofrenia, como del trastorno bipolar, se han identificado disfunciones de las vías de la dopamina, la serotonina y el glutamato que se pueden explicar a través de alteraciones en los NMDAR (Coyle et al., 2003; Erhardt et al., 2016; Hashimoto et al., 2007; Knable y Weinberger, 1997; Rao et al., 2010, 2012; Reininghaus et al., 2016; Young et al., 1994). Además, niveles reducidos de subunidades NMDAR se han encontrado en muestras postmortem de cerebros de pacientes afectos de trastorno bipolar (Hashimoto et al., 2007; Rao et al., 2010). Existe evidencia de que características electrofisiológicas determinadas genéticamente y ligadas al funcionamiento de los NMDAR son compartidas por la esquizofrenia y el trastorno bipolar. Éstas se entienden como endofenotipos neurofisiológicos de riesgo que predisponen a

ambas enfermedades (Thaker, 2008).

Los resultados que definen una fisiopatología compartida por las dos entidades se suman a los encontrados en GWAS, que identifican alteraciones compartidas que no encajan en las clasificaciones nosológicas clásicas (Stefansson et al., 2009). Se observa que alelos comunes de efecto muy pequeño sumados representan un riesgo poligénico tanto para la esquizofrenia como para el trastorno bipolar (Purcell et al., 2009).

También sabemos que la esquizofrenia y el trastorno bipolar comparten características clínicas (como la edad de inicio, la agregación familiar y el riesgo de recurrencia entre familiares), factores de riesgo ambientales y anomalías estructurales.

Por tanto, repetidamente se pone en cuestión la distinción categórica clásica entre las psicosis afectivas y no afectivas y surge la necesidad de tender a una conceptualización dimensional de las psicosis. Diversos autores defienden la validez de modelos diagnósticos que incluyan dimensiones que afecten transversalmente a la esquizofrenia y el trastorno bipolar. Reininghaus et al. (2016) entienden las psicosis afectivas y no afectivas como parte de un mismo espectro diagnóstico y describen una dimensión psicótica común independiente de los síntomas afectivos.

Teniendo en cuenta los antecedentes expuestos, decidimos no excluir de nuestra muestra a los PEP con sintomatología afectiva predominante. El 23% de los pacientes de nuestra muestra presentaban síntomas afectivos, en la mayoría de los casos manía con síntomas psicóticos (19,7%) . La muestra de PEP de Zandi et al. (2011) también incluye pacientes con síntomas maníacos. El estudio de Dickerson et al. (2012) se centra exclusivamente en pacientes con diferentes subtipos de manía y otros estudios con resultados positivos incluyen también en sus muestras a pacientes con trastornos esquizoafectivos y trastornos depresivos (Steiner et al., 2013; Tsutsui et al., 2012). Lennox et al. (2017) no excluyen las psicosis afectivas de su muestra de PEP y Zandi et al. (2014) destacan que 13 de los 18 casos con psicosis seropositiva presentaban trastornos afectivos. Bergink et al. (2015) encuentran el 2% de seropositividad en una muestra de

pacientes con psicosis postparto, una entidad clínica considerada del espectro bipolar.

Un último apunte referente a los diagnósticos psiquiátricos relacionados con los anticuerpos anti-NMDAR tiene que ver con el hecho de que los delirios y las alteraciones del ánimo son los síntomas psiquiátricos más frecuentes en los pacientes con encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR (Kayser et al., 2013). Las descripciones de casos clínicos de los pacientes con encefalitis anti-NMDAR frecuentemente mencionan la presencia de síntomas depresivos, mixtos o maníacos (Barry et al., 2011; Dalmau et al., 2011; Fawcett, 2010; Gonzalez-Valcarcel et al., 2010; Lebon et al., 2012; Le Foll y Pelletier, 2010; Pinho et al., 2012; Sacré et al., 2011) y se ha descrito que las alteraciones del humor (sobre todo la manía) se encuentran en el 70% de las presentaciones psiquiátricas de las encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR (Kayser et al., 2013). De hecho ya hay autores que proponen que los mismos mecanismos que desencadenan los síntomas afectivos en los pacientes con encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR, podrían estar implicados en la fisiopatología de un subgrupo de pacientes afectos de trastorno bipolar (León- Caballero et al., 2015). Por tanto, parece más probable encontrar seropositividad si en las cohortes a estudio se incluyen pacientes que presenten psicosis afectivas.

#### **6.4. Limitaciones del presente estudio sobre anticuerpos anti-NMDAR en primeros episodios psicóticos**

Los resultados de los estudios que se presentan aquí están condicionados por ciertas limitaciones:

En primer lugar, no fue posible confirmar en LCR la seropositividad del paciente con trastorno bipolar, ya que no accedió a que se realizara la punción lumbar. De todas formas, los resultados en suero fueron validados por técnicas alternativas y en un laboratorio de referencia, como ha sido sugerido en pacientes afectos solo de psicosis (de Witte et al., 2015).



En segundo lugar, la única muestra de LCR que recogimos pertenece a la paciente con un diagnóstico final de encefalitis, debido a la dificultad para realizar punciones lumbares de forma sistemática en la unidad de atención específica a PEP. Puesto que los tests que miden anticuerpos en LCR son más sensibles que los usados en suero para algunos antígenos, entre ellos el NMDAR (Gresa-Arribas et al., 2014), esta limitación tan solo implicaría una infravaloración de la seropositividad. De todas formas, Zandi et al. (2014) midieron los anticuerpos en LCR de 3 pacientes seropositivos con psicosis aguda y sólo uno de ellos resultó positivo. Cabe destacar que la ausencia de muestras de LCR es una limitación compartida por los demás estudios realizados en muestras de PEP (Lennox et al., 2017; Pathmanandavel et al. 2015; Zandi et al., 2011, 2014).

Tampoco se realizaron RMN ni EEG de forma sistemática, a causa de la ausencia de estas técnicas en los protocolos diagnósticos de los pacientes con PEP y de limitaciones económicas. Sabemos que en las encefalitis anti-NMDAR los resultados de las RMN y de los EEG pueden aportar información, aunque en muchas ocasiones esta información es inespecífica (Dalmau et al., 2008, 2011; Deakin et al., 2014; Vincent et al., 2011).

La última limitación tiene que ver con la ausencia de información prospectiva sobre el rendimiento cognitivo del paciente seropositivo, debida a la falta de cooperación del mismo.

A pesar de las limitaciones, los resultados obtenidos no permiten descartar la presencia de autoinmunidad en un subtipo de psicosis.

## **6.5. La patogenicidad de los anticuerpos anti-NMDAR en la psicosis aislada**

De la misma manera que la mayoría de las encefalitis que antes se creían idiopáticas, actualmente han pasado a tener como marcador un anticuerpo con supuesto valor patogénico, podríamos pensar que algunas psicosis, hasta ahora clasificadas como funcionales o idiopáticas, están causadas por anticuerpos anti-NMDAR. De hecho, algunos

anticuerpos que antes se creían asociados exclusivamente a un síndrome compuesto por varios síntomas, ahora se piensa que también pueden explicar cuadros clínicos aislados como la epilepsia y posiblemente también la psicosis. Pero aún es cuestionada la relevancia de la identificación de autoanticuerpos cuya patogenicidad está aún siendo estudiada, en pacientes sin encefalitis o con formas de presentación parciales o atípicas como las psicosis (Coutinho et al., 2014).

En el momento actual aún está cuestionada la relevancia de los ANS, cuya patogenicidad sigue siendo estudiada en pacientes sin encefalitis o con formas de presentación parciales o atípicas, como las psicosis (Coutinho et al., 2014).

Se piensa que varios factores, como la permeabilidad de la BHE, los epítomos que reconocen los anticuerpos, los títulos de los mismos y otros factores inmunológicos coadyuvantes, son los que modulan los fenotipos clínicos más que la presencia de los anticuerpos en si misma.

Se cree que la BHE juega un papel central en la patogenicidad de los anticuerpos anti-NMDAR, ya que para que éstos causen síntomas psicóticos deben acceder al SNC.

Por una parte, se piensa que un proceso infeccioso sistémico inicial favorece la permeabilización de la BHE y el acceso al SNC de los autoanticuerpos. Apoyan esta teoría los resultados de Zandi et al. (2014), que encuentran dos casos de psicosis aguda seropositivos y sin anticuerpos detectables en LCR. El mismo grupo, en otro artículo, reporta positividad en LCR sólo para 2 de 5 casos con seropositividad y diagnóstico de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR (Zandi et al., 2015). Además, se sabe que el hipocampo y el hipotálamo son especialmente vulnerables a la permeabilización de la BHE, y curiosamente en las EL y en la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR los síntomas de inicio (que incluyen la psicosis) se relacionan funcionalmente con estas estructuras (Vincent et al., 2011).

Sabemos que en determinadas enfermedades autoinmunes del SNC, como la miastenia gravis o la neuromielitis óptica, los autoanticuerpos que las caracterizan están presentes

años antes del inicio de la clínica (Coutinho et al., 2014; Leite et al., 2012). Esta situación podría ser la de las psicosis aisladas seropositivas, que aparecerían años antes de que el fenotipo encefalítico completo se diera, pero no hay datos que validen esta teoría. Siguiendo la misma línea teórica, tampoco sabemos si la presencia de anticuerpos anti-NMDAR se da antes del inicio de la psicosis. Si se diera, podría significar que la autoreactividad (generada a través de una infección u otra alteración inmunitaria) precedería al desarrollo clínico y en el momento en que la BHE se permeabilizara, por una segunda agresión o alteración inmunitaria, los anticuerpos patogénicos accederían al SNC y afectarían a la función neuronal (Lennox et al., 2017). Este es el mecanismo etiopatológico sugerido por Hammer et al. (2013) para las psicosis por anticuerpos anti-NMDAR. Para validarlo se debería estudiar la presencia de estos anticuerpos en familiares de pacientes psicóticos y en pacientes en fase de estado mental de alto riesgo (EMAR).

Contando con la evidencia de que casi todos los pacientes con encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR presentan síntesis intratecal de los mismos (Dalmau y Bataller, 2007; Dalmau et al., 2008; Irani et al., 2010; Vincent et al., 2011) y que se ha descrito que en el 15% de los pacientes no se identifican los anticuerpos en suero pero sí en LCR (Gresa-Arribas et al., 2014), se baraja la posibilidad de que la síntesis intratecal sea predominante sobre el traspaso pasivo de los mismos a través de la BHE. De todas formas, se argumenta que no garantizan la patogenicidad de los autoanticuerpos ni la evidencia de migración al SNC de los linfocitos B o de los anticuerpos, ni la existencia de síntesis intratecal de los mismos. Se plantean también otras opciones, como que la presencia de los anticuerpos sea un epifenómeno o, tal como ya se ha comentado, que la patogenicidad dependa de otros factores, como la especificidad de los epítomos que reconocen los anticuerpos o el título de éstos (Vincent et al., 2011).

En lo referente a los epítomos, se debe considerar que, aunque la proteína diana de los anticuerpos sea la misma para las presentaciones completas e incompletas de la encefalitis, los antígenos que se reconocen puede que no lo sean. De modo que los

distintos fenotipos asociados a la autoinmunidad anti-NMDAR (desde la encefalitis hasta la psicosis aislada) podrían responder a la afectación de distintas subpoblaciones de NMDAR, ya que éstos tienen una composición en subunidades diferente y actúan como antígenos variados en regiones y células diferentes (Deakin et al., 2014).

Dickerson et al. (2012) encuentran una seropositividad específica para anticuerpos contra la subunidad NR2 de los NMDAR en pacientes con manía, en el contexto de diferentes diagnósticos psiquiátricos. Se sabe que la subunidad NR2 no está relacionada con la patogenia de la psicosis encefalítica aunque si se le ha asociado a la psicosis propia del LES con manifestaciones neuropsiquiátricas. De todos modos, los efectos patogénicos de los anticuerpos anti-subunidad NR2 de los NMDAR se ha cuestionado de forma repetida (Le Guen et al., 2015; Pathmanandavel et al. 2015).

Steiner et al. (2013) argumentan que el fenotipo clínico asociado a los anticuerpos anti-NMDAR depende de su especificidad en el reconocimiento de antígenos y concluyen que los sujetos con psicosis e IgG anti-subunidad NR1A de los NMDAR deben considerarse siempre como encefalitis. Los resultados de nuestro trabajo no apoyan esta teoría, ya que el paciente bipolar con anticuerpos IgG anti-NR1 no cumplió criterios de encefalitis. De hecho, no está aún claro como la especificidad de los epítomos se relaciona con el fenotipo o la severidad clínica.

Se ha argumentado, por otra parte, que la patogenicidad de los anticuerpos depende de la intensidad de la respuesta autoinmune. Algunos autores han descrito que en individuos sanos y en algunos fenotipos parciales de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR, como las psicosis aisladas, los títulos de anticuerpos son bajos y por tanto no patogénicos (Coutinho et al., 2014). De todas formas, en los estudios realizados hasta la fecha en las cohortes de individuos sanos, o no existe evidencia de presencia de anticuerpos anti-subunidad NR1 de los NMDAR del isotipo IgG, o cuando la hay las técnicas utilizadas para detectarlos son puestas en cuestión (Dahm et al., 2014), tal como se indica más arriba en la discusión, en el apartado sobre la discrepancia de resultados

entre estudios.

En el presente trabajo el título de anticuerpos en el paciente seropositivo con trastorno bipolar fue bajo (1/20). Al analizar la evolución longitudinal de la niveles de anticuerpos, vemos que se mantuvo la positividad en la fase inicial y a los 4 meses de seguimiento. En una nueva evaluación realizada un año más tarde los anticuerpos se negativizaron y siguieron siendo negativos 10 meses más tarde. El paciente no recibió inmunosupresión, por lo que este hecho podría estar relacionado con el fenómeno de negativización espontánea con el tiempo, descrita por varios autores en los casos de encefalitis (Barry et al., 2011; de Witte et al. 2015; Gresa-Arribas et al., 2014; Rhoads et al., 2011; Zandi et al., 2011). Resulta interesante observar que existe una correlación entre la presencia de clínica maníaca y/o psicótica en el momento de las dos primeras mediciones de anticuerpos mientras que, cuando los anticuerpos son negativos, el paciente no presenta síntomas afectivos ni psicóticos y tiene un buen rendimiento sociolaboral (resumen del curso longitudinal de los niveles de anticuerpos en figura 8). No se dispone de puntuaciones de escalas psicopatológicas en el momento de las 2 últimas mediciones, pero a nivel clínico se detecta un aplanamiento afectivo y una bradifrenia que podrían corresponder a síntomas negativos o cognitivos.



Figura 8. Resultado del estudio serológico de anticuerpos anti-NMDAR y su correlación clínica en el paciente con trastorno bipolar

También Lennox et al. (2017), en su muestra de 228 pacientes encuentran 7 casos

seropositivos para anti-NMDAR a título bajo. Asimismo, Zandi et al. (2014) describen un aumento progresivo del título de anticuerpos anti-NMDAR en algunos de los 18 pacientes que identifican con psicosis aguda y niveles bajos de autoanticuerpos. En concreto, 6 de los 9 pacientes que trataron con inmunoterapia, presentaron, antes del tratamiento, picos elevados de niveles de anticuerpos en sangre (puntuación de 4 en el *CBA* en 3 casos y de más de 2 en el resto). Los otros 3 pacientes que recibieron inmunoterapia se mantuvieron con niveles bajos de anticuerpos. Resulta relevante el hecho que la inmunoterapia fue efectiva, disminuyendo los síntomas psicóticos en 8 de los 9 pacientes, por tanto también en pacientes con títulos bajos. También cabe destacar la correlación de la mejoría funcional de los pacientes con la variación a la baja en los niveles de anticuerpos y la relación entre la aparición de recaídas con la presencia de anticuerpos en suero.

Por otra parte, la relevancia clínica de los niveles de anticuerpos no es cuestionada solamente en las psicosis seropositivas para anti-NMDAR, sino que también ha sido motivo de estudio en el caso de enfermedades de conocido origen autoinmune como las EL. Se ha visto que aunque habitualmente las formas autoinmunes de EL cursan con títulos altos de anticuerpos anti-VGKC (mayores a 400 pmol/L), también se han descrito niveles entre 100 y 400 pmol/L en algunos casos, sobre todo en pacientes infantiles y en aquellos individuos diagnosticados que habían evolucionado favorablemente de forma espontánea. Este hecho lleva a pensar que formas atípicas de procesos autoinmunes pueden cursar con ANS a títulos bajos que pueden igualmente tener una acción patogénica, aunque de menor intensidad (Coutinho et al., 2014).

Las “formas frustradas” se han descrito para otras enfermedades autoinmunes del SNC (la miastenia gravis con afectación ocular exclusiva o la neuritis/mielitis óptica) y se especula que existen para la EL, en forma de fenotipos con epilepsia como síntoma aislado (Coutinho et al., 2014). El 4% de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR se han definido como “formas frustradas” con síntomas psicóticos aislados (Titulaer et al., 2013), de la misma manera que se han identificado presentaciones incompletas de la enfermedad en

forma de epilepsia y de distonías aisladas (Dalmau et al., 2011).

Otro dato que contribuye a que se cuestione el significado clínico de los anticuerpos anti-NMDAR, es que han sido identificados en enfermedades distintas a la encefalitis y la psicosis, como la neuromielitis óptica, el síndrome opsoclonus-mioclonus y la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob. Esto mismo sucede en el caso de los anticuerpos anti-VGKC, que se han detectado a títulos inferiores a 400 pmol/L en un 5% de individuos ancianos, en pacientes con neuromiotonía y en pacientes epilépticos. Se especula (Coutinho et al., 2014; Deakin et al., 2014; Vincent et al., 2011) que en estas otras presentaciones los anticuerpos, sobretodo si están presentes sólo en suero, serían el resultado de un epifenómeno relacionado con la neurodegeneración o incluso con infecciones herpéticas. Cabría estudiar si las psicosis se enmarcarían en este subapartado de seropositividad inespecífica, o si un subgrupo de ellas son una manifestación más del espectro de las enfermedades por autoinmunidad neuronal del SNC.

En un esfuerzo por averiguar el significado clínico de los anticuerpos anti-NMDAR, en pacientes con formas parciales o atípicas de encefalitis, Zandi et al. (2015) establecen que es necesario un mínimo 3 síntomas centrales de la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR para sospechar la enfermedad. En otro estudio (Zandi et al., 2014), en que tratan a 9 pacientes seropositivos con psicosis aguda, 4 de los 9 pacientes tratados con inmunoterapia cumplían este criterio. Aún así, los pacientes continuaron considerándose psicosis no encefalíticas, ya que los síntomas centrales que presentaban se encuentran también habitualmente en la población psicótica (disfunciones cognitivas, alteraciones del movimiento y psicosis). Los autores argumentan que faltan pruebas complementarias para verificar el diagnóstico de psicosis y descartar la encefalitis en esos 4 pacientes, porque en las unidades psiquiátricas en que se diagnosticaron no se tomaron muestras de LCR ni se realizaron EEG. Estas conclusiones ponen de manifiesto las dificultades en el diagnóstico diferencial de esta nueva entidad clínica y lo complicado de identificar el significado clínico de estos anticuerpos.

Para determinar el valor patogénico de los anticuerpos anti-NMDAR y el grado de correlación entre la presencia de los anticuerpos y la clínica, son necesarios estudios epidemiológicos con muestras mayores de individuos sanos y de pacientes con encefalitis y psicosis aislada. Sería deseable, además, analizar longitudinalmente muestras apareadas de suero y LCR, así como especificar el subtipo de anticuerpo encontrado, su título y los epítomos concretos que se reconocen. Según Coutinho et al., (2014) también es necesario investigar la patogenia de los anticuerpos anti-NMDAR a través de cultivos neuronales, modelos animales y muestras de tejido cerebral.

## **6.6. Una patología emergente**

Los resultados de nuestro estudio y de otros previos y posteriores, describen psicosis que no encajan bien en las categorías diagnósticas clásicas. Se reconoce la existencia de un subtipo de psicosis de tipo autoinmune que deberá ser clasificada en los manuales diagnósticos. Deakin et al. (2014) proponen calificarla como “subtipo encefalopático de esquizofrenia”, mientras que Tstutsui et al. (2012) argumentan que los pacientes con psicosis aislada y positivos para anticuerpos anti-NMDAR deberían considerarse un nuevo subtipo de psicosis secundaria a condiciones médicas. Estas dos denominaciones se asemejan a las de formas parciales o leves de encefalitis, términos usados por otros autores (Dalmau et al., 2011; Lebon et al., 2012; Masdeu et al., 2012) y que sugieren que estas psicosis forman parte del espectro de las enfermedades asociadas a anticuerpos anti-NMDAR. Esta hipótesis comporta beneficios terapéuticos importantes.

## **6.7. El origen de los anticuerpos anti-NMDAR**

Aunque la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR es un entidad ya bien definida, y cada vez hay más evidencia a favor de un subtipo de psicosis asociada a anticuerpos, aún



es desconocido el mecanismo por el que se desencadena el proceso autoinmune.

La formación de los autoanticuerpos en caso de existir un teratoma ovárico parece claro, ya que se han identificado NMDAR en el tejido neuronal ectópico de estos tumores. En el contexto de la infección sistémica (en la fase de pródromos encefalíticos) las citocinas proinflamatorias activan una respuesta inmunitaria, se reconocen los antígenos de los NMDAR del tumor y se generan autoanticuerpos anti-NMDAR. Sin embargo, se desconoce hasta qué punto los NMDAR están presentes en otros tumores también asociados a la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR (Dalmau y Bataller, 2007; Dalmau et al., 2011; Le Guen et al., 2015).

Otra incógnita sin resolver es qué mecanismo lleva a la formación de autoanticuerpos cuando el síndrome encefalítico no es paraneoplásico. Las infecciones podrían inducir la autoinmunidad anti-NMDAR mediante mimetismo molecular o por liberación de antígenos durante las agresiones virales al SNC. No se ha identificado ningún patógeno específico como causal, pero se han relacionado a las vacunas y a varios agentes infecciosos, como el *mycoplasma pneumoniae*, el virus varicela zóster, el virus de la gripe, el CMV y Virus de Epstein-Barr con los síntomas prodrómicos de encefalitis anti-NMDAR. También se han descrito recaídas autoinmunes en pacientes con encefalitis causadas por el VHS, que se comentarán más adelante.

Se ha hipotetizado que una infección viral durante el embarazo, o en la infancia, podría aportar el antígeno que contribuiría a la producción de anticuerpos anti-NMDAR, y que una segunda agresión o alteración inmunitaria permeabilizaría la BHE y permitiría la acción patogénica de estos anticuerpos en el SNC. Otros factores ambientales o genéticos (sobre todo los relacionados con el MHC) serían condicionantes y contribuirían a la vulnerabilidad y a aspectos como la edad de inicio del síndrome encefalítico/psicótico (Armangue et al., 2014; Coutinho et al. 2014; Deakin et al., 2014; Lennox et al., 2017). También se ha descrito que la vulnerabilidad podría estar en relación a una predisposición a la autoinmunidad caracterizada por la presencia de ANA o anticuerpos antitiroideos (Le

Guen et al., 2015).

## **6.8. VIH y psicosis asociada a anticuerpos anti-NMDAR**

Los casos de psicosis en la infección por VIH se dan habitualmente en pacientes con características determinadas, que incluyen: los niveles bajos de linfocitos CD4, la existencia de historias psiquiátricas previas, la ausencia de tratamiento antiretroviral o la presencia de una demencia por VIH en forma del síndrome “AIDS mania” (de Ronchi et al. 2000; Freudenreich et al., 2012; Harris et al., 1991; Nakimuli-Mpungu et al., 2006; Owe-Larsson et al., 2009).

En el caso del paciente VIH-positivo presentado en este trabajo, la carga viral era indetectable, los CD4 estaban en el rango de referencia en el momento del ingreso y también un año más tarde y no había síntomas de deterioro cognitivo. Por estos motivos es improbable que los síntomas maníacos del paciente seropositivo para anticuerpos anti-NMDAR de nuestra muestra fueran un efecto directo del VIH.

La afectación neurológica por efecto directo del VIH se produce tras hiperactivación del NMDAR (King et al., 2010; Louboutin y Strayer, 2012; Wang et al., 2007), al contrario de lo que ocurre en la esquizofrenia y en la encefalitis autoinmune, en las que los anticuerpos producen la internalización de los NMDAR (Moscatto et al., 2014). El VIH no puede infectar de forma directa a las neuronas, pero otras células que si se infectan, como los macrófagos, generan factores inflamatorios y proteínas virales que provocan neurotoxicidad y apoptosis neuronal. Se ha comprobado que la toxicidad de la proteína viral transactivadora tat es dependiente de la expresión de los NMDAR, de forma que, las neuronas que expresan más NMDAR con subunidades NR2A y 2B, son más sensibles a la neurotoxicidad. En este sentido, el hipocampo resulta ser una zona especialmente vulnerable (Aksenova et al., 2009; Eugenin et al., 2011; O'Donnell et al., 2006).

Louboutin y Strayer (2012) aportan datos que permiten considerar la implicación de la

autoinmunidad en la psicosis asociada al VIH. Estos autores describen por una parte una activación de los linfocitos B y una tendencia a la producción de autoanticuerpos en los pacientes infectados por el VIH. Asimismo, identifican una permeabilización de la BHE asociada a la infección por el virus, factor que sabemos que podría condicionar el acceso de los anticuerpos al SNC.

En nuestro estudio *Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis*, se parte de la novedad que supuso el encontrar un caso de seropositividad anti-NMDAR en un paciente infectado por VIH, para investigar si el VIH puede actuar como factor desencadenante de la autoinmunidad anti-NMDAR o participar en los mecanismos que conducen a la producción de otros ANS.

Un antecedente que ayudó a elaborar la hipótesis fue un trabajo que detalla como, en algunos pacientes que presentan recaídas de una encefalitis por VHS, se pueden detectar anticuerpos anti-NMDAR en suero o LCR ya en el momento en que aparecen los síntomas de la encefalitis o pocas semanas más tarde, antes de que aparezcan los síntomas neurológicos que indican recaída. En la recaída los síntomas son diferentes a los de la encefalitis inicial, en niños suelen aparecer alteraciones del movimiento (coreatetosis) y en adultos alteraciones de conducta, síntomas típicos de la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR. Por otro lado estos pacientes con recaídas autoinmunes no responden al tratamiento antiviral y sí lo hacen a la inmunosupresión.

Aparte de los anticuerpos anti-NMDAR se han descrito otros ANS en más de la mitad de 39 pacientes con encefalitis por VHS. Se concluye que las recaídas de encefalitis por VHS son causadas frecuentemente por anticuerpos anti-NMDAR y se deduce que la infección por este virus puede actuar como desencadenante de autoinmunidad antineuronal de superficie (Armangue et al., 2014). El mecanismo por el que aparecen los anticuerpos a partir de la infección es desconocido aún, pero en el trabajo de Armangue et al. (2014) no apuestan por el mimetismo molecular. Argumentan que una infección viral inespecífica (por VHS, CMV, Virus de Epstein-Barr u otros) produciría lisis neuronal y exposición de

múltiples antígenos neuronales, y la inflamación llevaría a la autoinmunidad antineuronal.

Siguiendo la línea teórica del anterior estudio planteamos como hipótesis que la infección por VIH podría actuar como el VHS y que un subgrupo de psicosis en pacientes VIH-positivos podría originarse por los anticuerpos anti-NMDAR u otros ANS.

Recientemente se ha publicado un caso de encefalitis por anticuerpos anti-GABAR tipo A en un paciente infectado por VIH. Spatola et al. (2017). señalan que no queda claro el papel de esta infección en la presentación de encefalitis, ya que también se ha descrito el desarrollo de encefalitis por anticuerpos anti-GABAR tipo A tras infecciones por virus del herpes. .

Los resultados negativos en la muestra prospectiva de pacientes con psicosis no permiten confirmar que el VIH medie en la producción de autoinmunidad antineuronal. Aún así, se han detectado 2 casos positivos para anticuerpos anti-NMDAR, con afectación neuropsiquiátrica y VIH-positivos, en la muestra retrospectiva de pacientes con sospecha de encefalitis autoinmune.

Es cierto que en algunos pacientes VIH puede darse un deterioro clínico paradójico y desarrollarse un Síndrome Inflamatorio de la Reconstitución Inmune (*reconstitution inflammatory syndrome* (IRIS)) como consecuencia clínica adversa de la restauración de la respuesta inmunológica, inducida por el tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA). Este síndrome se traduce en el comienzo clínico de las infecciones subclínicas preexistentes, el empeoramiento de las enfermedades infecciosas durante el tratamiento específico o la manifestación exuberante de enfermedades autoinmunitarias y de neoplasias (Reyes-Corcho y Bouza-Jiménez, 2010). El deterioro clínico en el IRIS aparece al iniciarse el TARGA y las pruebas de imagen cerebral pueden mostrar captación de contraste en las lesiones cerebrales, que suelen ser desmielinizantes (Gray et al., 2005). Como parte de este síndrome se ha descrito la encefalitis por células T, una forma de trastorno cognitivo asociado al VIH de origen autoinmune y caracterizado por una carga viral indetectable o baja en suero, y en cambio evidenciable en LCR (fenómeno conocido

como escape viral del SNC) (Le y Spudich, 2016).

Los 2 casos VIH-positivos que se detectan en la muestra retrospectiva de pacientes no cumplían criterios de IRIS. Ambos habían iniciado la terapia antiretroviral 10 años antes de que se manifestaran los síntomas neurológicos y no habían experimentado cambios significativos en su estado inmunitario antes de iniciar los síntomas. Es más, el joven con infección vertical por VIH no se encontraba en el estadio de SIDA. Por tanto, tampoco encajan los datos clínicos de nuestros pacientes con los del IRIS.

Se deben considerar las siguientes limitaciones del presente estudio:

- La falta de muestras de LCR de los pacientes psicóticos, que podrían aportar más resultados positivos (Gresa-Arribas et al., 2014).
- El momento de la obtención del suero, ya que las muestras no se recogieron en su mayoría al inicio de la clínica psicótica y que sólo 3 pacientes presentaban síntomas agudos cuando se hizo la extracción. Sabemos que los anticuerpos descienden de título espontáneamente con el tiempo, por lo que si las muestras fueran de pacientes en fases agudas o con procesos incipientes la sensibilidad pudiera haber sido mayor.

Teniendo en cuenta que, además del paciente con trastorno bipolar, se detectó un caso VIH-positivo con anticuerpos anti-NMDAR y afectación cerebelosa, no se puede descartar una implicación del VIH en otros síndromes neuropsiquiátricos producidos por anticuerpos antineuronales. Por tanto, consideramos que hace falta estudiar un espectro más amplio de síndromes neuropsiquiátricos vinculados a la inmunidad antineuronal en muestras con mayor número de pacientes VIH-positivos.

## **6.9. Narcolepsia y psicosis asociada a anticuerpos anti-NMDAR**

En la misma línea que el segundo de los estudios que se presentan, el último de

nuestros trabajos nuevamente tiene como objetivo conocer más sobre los mecanismos que conducen a la formación de anticuerpos anti-NMDAR en los pacientes con psicosis sin otros síntomas encefalíticos. Con este fin se estudian 10 pacientes con diagnóstico dual de narcolepsia y psicosis.

La narcolepsia tipo 1 es un severo trastorno del sueño causado por una deficiencia de hipocretina-1. Está estrechamente asociado al alelo DQB1\*06:02 del sistema HLA y su origen se cree que tiene que ver con mecanismos autoinmunes que causan la pérdida de neuronas hipotalámicas secretoras de hipocretina-1 (Mignot et al., 1992).

La coexistencia de la narcolepsia con trastornos psiquiátricos, especialmente con trastornos depresivos, está bien documentada (Kales et al., 1982; Ohayon, 2013). Pero la frecuencia de esquizofrenia comórbida a la narcolepsia es desconocida. Por otra parte, la esquizofrenia y la narcolepsia son categorías diagnósticas que se pueden confundir, ya que ambos trastornos comparten síntomas (como las alucinaciones y las alteraciones de conducta) y suelen presentarse en la misma etapa de la vida (Fortuyn et al., 2011; Talih et al., 2011). Además la cataplejía, síntoma clave para el diagnóstico de la narcolepsia, a veces no se identifica con facilidad y, por otro parte, en algunos casos la psicosis aparece como consecuencia del tratamiento de la narcolepsia con anfetaminas, metanfetaminas y modafinilo (Crosby et al., 2011; Narendran et al., 2002).

En los casos descritos en el presente estudio la narcolepsia se inició en la infancia o adolescencia, previamente a los síndromes psicóticos, pero se tardó años en diagnosticar, posiblemente debido a que las alteraciones de conducta en muchas ocasiones se confundieron con comportamientos propios de determinadas etapas madurativas. En algunos casos de hecho no se plantea la necesidad de llegar a un diagnóstico hasta que aparecen los síntomas psicóticos francos. Las características sintomáticas particulares de los pacientes estudiados con diagnóstico dual son la aparición de alucinaciones multisensoriales, los delirios complejos y la falta de *insight*. No es esperable encontrar esta

peculiar e invariable presentación de la clínica psicótica en los síndromes psicótico y narcoléptico cuando se presentan por separado.

La descripción clínica de los 10 pacientes analizados añade evidencia sobre lo complejo del diagnóstico diferencial entre los 2 trastornos y se llega a la conclusión de que probablemente la prevalencia de la comorbilidad se considera baja porque no se identifican todos los casos duales existentes. A nivel clínico se debe pensar en la posibilidad del diagnóstico comórbido especialmente si hay historia previa de trastorno mental o narcolepsia en los pacientes con uno y otro diagnóstico o factores ambientales que supongan riesgo de desarrollo de psicosis (como el consumo de tóxicos). En este sentido el cuestionario DIGSAN, diseñado en el contexto de este estudio, resulta de utilidad para distinguir las dos entidades, y junto con los test biológicos disponibles en la actualidad (Mignot et al., 2002), puede ayudar a un diagnóstico preciso. Es imprescindible identificar las dos enfermedades ya que implica consideraciones terapéuticas específicas, como el ser cauto con el uso de fármacos psicoestimulantes para tratar la narcolepsia o limitar las dosis y determinados tipos de antipsicóticos para evitar la somnolencia diurna. En esta muestra resultó útil limitar el tratamiento de la narcolepsia, ya que la somnolencia no tratada ayudó a controlar las alteraciones de conducta.

La coexistencia de los dos trastornos plantea preguntas en relación a su clínica y fisiopatología ¿Se trata de dos entidades clínicas que se asocian por azar o se trata de dos trastornos inmunomediados que coexisten como suele pasar con otras enfermedades autoinmunes?

La ausencia de anticuerpos antineuronales en el suero de los 10 pacientes estudiados no confirma los hallazgos del grupo de Tsutsui, que encuentran un número más alto de resultados positivos para anticuerpos anti-NMDAR en el suero de pacientes con diagnóstico comórbido de narcolepsia y trastorno psicótico (3 de 5 (60%) pacientes), que en pacientes con narcolepsia sin psicosis (2 de 10 (20%). Sus resultados les llevan a argumentar que la positividad a anticuerpos anti-NMDAR puede estar específicamente

relacionada con la psicosis comórbida y se plantean que puede haber una autoinmunidad compartida por la narcolepsia y la psicosis por anticuerpos anti-NMDAR.

Los resultados que se encuentran en el tipaje HLA de nuestro estudio señalan a que la asociación de la psicosis con la narcolepsia está causada o bien por el azar o bien por mecanismos inmunomediados asociados al gen DQB1\*06:02, que conferiría riesgo tanto para la narcolepsia como para la psicosis. De hecho, la asociación del gen DQB1\*06:02 con la esquizofrenia ya había sido sugerida por Grosskopf et al. (1998).

Posibles elementos limitadores del estudio son el tamaño de la muestra y la heterogenicidad diagnóstica en los individuos psicóticos, que pueden haber enmascarado la asociación con los isotipos HLA. También es posible que haya influido en los resultados la falta de muestras de LCR y el no haber explorado la inmunidad celular adaptativa mediada por células T citotóxicas como posible vía de autoinmunidad asociada a la presencia de psicosis en la narcolepsia.

Como conclusiones del presente estudio, por un lado se ha intentado salvar las dificultades que se encuentran en el diagnóstico de trastornos psicóticos comórbidos a la narcolepsia mediante el diseño del cuestionario DIGSAN. Sin embargo no ha sido posible confirmar la hipótesis de origen autoinmune de las psicosis estudiadas.

## **6.10. La importancia del diagnóstico diferencial**

Aunque existan incógnitas por resolver en cuanto al origen y la patogenicidad de la autoinmunidad que se encuentra en algunas psicosis agudas, los resultados de estudios previos y de los nuestros propios tienen relevancia translacional a nivel diagnóstico y terapéutico.

Así como los estudios que incluyen datos sobre fenotipos psicóticos aislados llevados a cabo por neurólogos no usan escalas psicopatológicas ni una terminología que permita clasificar los síndromes psiquiátricos en función del DSM, tampoco los estudios centrados



en las psicosis asociadas a ANS realizados desde la perspectiva psiquiátrica, como los nuestros, suelen aportar datos precisos sobre la presencia en sus cohortes de síntomas neurológicos como las alteraciones de la memoria y el sueño, los cambios en el EEG y los trastornos del movimiento. Esta falta de información limita la posibilidad de describir de forma precisa el fenotipo de psicosis positiva para anticuerpos anti-NMDAR.

Además, tal y como hemos comentado previamente, tanto en el estudio principal que aquí presentamos como en los de Hammer et al. (2013), Lennox et al. (2017) y Zandi et al. (2011, 2014), se concluye que no hay datos clínicos que permitan diferenciar los casos de psicosis negativas de las positivas para anticuerpos anti-NMDAR o para otros ANS. Por tanto, resulta difícil decidir cuando es imperativo incluir la encefalitis en la lista de posibles diagnósticos diferenciales.

Son esenciales estudios enfocados desde la colaboración entre inmunólogos, neurólogos y psiquiatras para recabar todos los datos clínicos y establecer correlaciones clínico-inmunológicas que permitan definir rigurosamente estos síndromes emergentes y diseñar para ellos protocolos diagnósticos y terapéuticos óptimos.

Aunque de momento no se ha conseguido definir el fenotipo de riesgo de seropositividad entre los pacientes con psicosis aguda, la información de que disponemos en la actualidad permite llegar a algunas conclusiones concretas en lo referente al diagnóstico diferencial entre la psicosis y la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR.

La relevancia de los síntomas afectivos en las presentaciones psicóticas de la encefalitis deja claro que se debe considerar la encefalitis anti-NMDAR en el diagnóstico diferencial de las psicosis en un sentido amplio, sin limitarse por las categorías que diferencian a la esquizofrenia de las psicosis afectivas o no especificadas (Kayser et al., 2013; Tsutsui et al., 2012).

Lebon et al. (2012) exponen que se debería considerar la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR en el diagnóstico diferencial de pacientes con síntomas psiquiátricos severos

y persistentes tras el tratamiento farmacológico, especialmente si los síntomas se instauran de forma abrupta y si aparecen en niños o adolescentes. De todas formas, la especial severidad y rapidez de instauración de los síntomas psicóticos en los casos positivos para anticuerpos anti-NMDAR han sido reconsiderados por varios autores y no hay resultados, incluyendo los de este trabajo, que avalen que estos aspectos clínicos sean marcadores de riesgo (Hammer et al., 2013; Lennox et al., 2017; Zandi et al., 2011, 2014). Aún así, no se ha descartado la resistencia al tratamiento como señal de alarma.

Kayser et al. (2013), teniendo en cuenta sus resultados en encefalitis monosintomáticas en forma de psicosis (comentados más arriba) creen importante considerar el estudio de los PEP (incluyendo a los pacientes con manía) mediante RMN, EEG y punciones lumbares. También señalan la necesidad de recoger datos sobre la historia natural de los síntomas psicóticos y de fijarse en la existencia de antecedentes de encefalitis o encefalopatías de origen desconocido y recomiendan realizar una exploración neurológica y buscar la presencia de tics faciales y otros síntomas neurológicos menores, aunque sean pasajeros.

Heresco-Levy et al. (2015) proponen prestar especial atención a los PEP cuando los resultados de la RMN son anormales o cuando los síntomas que presentan se parecen a los de la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR, por ejemplo si los pacientes presentan prominentes alteraciones cognitivas, alteraciones del movimiento, antecedentes de crisis convulsivas o inestabilidad autonómica.

Deakin et al. (2014) recomiendan específicamente que los casos de psicosis con síntomas de alteración autonómica, alteraciones del movimiento, desorientación, convulsiones, hiponatremia o deterioro del estado general y todos los casos de PEP, sean observados como posibles encefalitis autoinmunes. Estos autores consideran que para realizar el diagnóstico diferencial se requieren: un examen neurológico, una valoración cognitiva y serologías en busca de anticuerpos anti-NMDAR y anti-proteínas asociadas a VGKC. En caso de encontrar seropositividad, creen que sería necesaria una derivación a una unidad especializada con un abordaje multidisciplinario neurológico y psiquiátrico.

Lennox et al. (2017) también plantean el cribaje sistemático de todos los PEP para anticuerpos antineuronales de superficie.

Analizando a 100 pacientes con encefalitis autoinmunes relacionadas con anticuerpos de superficie e intracelulares Herken y Prüss (2017) evidencian que pasan entre 2 y 3 meses entre el inicio de los síntomas neuropsiquiátricos y el análisis de los anticuerpos que permite llegar al diagnóstico. Un tiempo excesivo teniendo en cuenta que el éxito de la inmunoterapia depende en gran parte de la celeridad con la que ésta se inicie. Este dato les lleva a estudiar qué síntomas deben alarmarnos y promover un análisis de anticuerpos antineuronales. Herken y Prüs (2017) identifican en los pacientes con síndromes psiquiátricos dos grupos de síntomas que pueden ser claves para reducir la latencia temporal hasta el diagnóstico de encefalitis autoinmune. Estos síntomas son agrupados bajo los denominadores de *red* y *yellow flags* (banderas rojas y amarillas) y explican como en los pacientes psiquiátricos los síntomas *red flags* deberían implicar siempre el estudio de anticuerpos antineuronales. Mientras que los *yellow flag* deberían levantar sospechas de un origen autoinmune del síndrome psiquiátrico y condicionarían que se incluyeran las encefalitis autoinmunes en el diagnóstico diferencial (resumen en tabla 6).

Los mismos autores destacan que probablemente la presencia de anticuerpos anti-tiroglobulina y anti-tiroperoxidasa (anti-TPO) en suero indica predisposición a la autoinmunidad. Estos anticuerpos están presentes en un porcentaje de pacientes psicóticos y su detección debería hacer sospechar una encefalitis autoinmune.

Teniendo en cuenta que el 54.4% de pacientes psicóticos presentan anomalías en el análisis de LCR, incluyendo la presencia de anticuerpos antineuronales (Endres et al., 2015; Herken y Prüss, 2017), y que a lo largo del curso de la encefalitis anti-NMDAR casi todos los pacientes presentan un LCR anormal (Dalmau et al., 2008, 2011), resulta evidente que el análisis del LCR debería ser una prueba rutinaria en los pacientes con PEP (Herken y Prüss, 2017).

Tabla 6. Signos de alarma de posible origen autoinmune en PEP (Herken y Prüss, 2017)

<i>Yellow flags</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Posturas o movimientos anormales (discinesias orofaciales o de extremidades)</li> <li>• Inestabilidad autonómica</li> <li>• Déficits neurológicos focales</li> <li>• Afasia o disartria</li> <li>• Progresión rápida de la psicosis a pesar del tratamiento antipsicótico</li> <li>• Hiponatremia</li> <li>• Catatonía</li> <li>• Cefalea</li> <li>• Otros trastornos autoinmunes (por ejemplo tiroiditis)</li> </ul>
<i>Red flags</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• LCR con pleocitosis linfocítica o bandas oligoclonales sin evidencia de infección</li> <li>• Convulsiones epilépticas</li> <li>• Convulsiones en forma de distonías braquio-faciales</li> <li>• Sospecha de síndrome neuroléptico maligno</li> <li>• Anormalidades en el RMN (hiperintensidades temporo-mesiales, patrón atrófico)</li> <li>• Alteraciones en el EEG (enlentecimiento, actividad epiléptica o <i>extreme delta brush</i>)</li> </ul>

Diversos autores alertan sobre las consecuencias de no incluir la encefalitis en el diagnóstico diferencial de las psicosis:

- Las encefalitis anti-NMDAR monosintomáticas pueden no ser detectadas, considerarse PEP y ser tratadas como tales, evolucionando así a formas completas de encefalitis con un desenlace fatal (Le Guen et al., 2015).
- El motivo del curso en forma de recaídas del 15-25% de los pacientes con encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR suelen ser el tratamiento inadecuado de los primeros episodios encefalíticos (a veces clasificados como PEP) y la presencia de los tumores ocultos, que a veces no se buscan por asumir que los pacientes presentan un PEP (Vincent et al., 2011).
- En las encefalitis autoinmunes se ha descrito una intolerancia a los antipsicóticos que provoca mayor inestabilidad autonómica y un aumento de la creatinina quinasa. En ocasiones esta evolución clínica lleva a diagnosticar erróneamente una psicosis primaria complicada con síndrome neuroléptico

maligno. De hecho, tanto en el síndrome neuroléptico maligno como en las encefalitis podemos encontrar: alteraciones de conciencia, rigidez muscular, disartria, alteraciones vegetativas, elevación de la creatina quinasa, alteraciones del movimiento y convulsiones (Dalmau et al., 2011; Herken y Prüss, 2017; Lejuste et al., 2016; Sacré et al., 2011).

- Podemos confundir casos de psicosis postictal e interictal, en el contexto de encefalitis, con PEP (Maneta y García, 2014).
- En las EL hay síntomas que se interpretan frecuentemente como psicósomáticos y conducen a errores diagnósticos. Los síntomas que llevan a confusión en las encefalitis por anticuerpos anti-LGI1 son las distonías braquio-faciales y en las encefalitis por anticuerpos anti-CASPR2 las mioclonías y las fasciculaciones (Herken y Prüss, 2017).

Uniendo las recomendaciones de los diversos estudios y la experiencia clínica propia, se puede concluir que para realizar un adecuado diagnóstico diferencial a todos los PEP (por su sintomatología indistinguible de la psicosis encefalítica) se les deberían realizar:

- Un análisis de suero y LCR, que incluya el estudio de anticuerpos antineuronales.
- Una RMN con contraste.
- Un EEG.
- Un examen neurológico exhaustivo, poniendo especial atención en los trastornos del movimiento.
- Una valoración cognitiva.

En caso de seropositividad para anticuerpos anti-NMDAR u otros ANS se debe realizar un estudio para descartar la presencia de tumores, poniendo especial énfasis en descartar tumoraciones ováricas.

En las psicosis agudas no incipientes el examen neurológico sigue siendo esencial y la

batería de pruebas complementarias sería la misma, exceptuando la extracción de suero y LCR para el estudio de anticuerpos antineuronales, que se reservaría para los casos en que los resultados de las pruebas realizadas estuvieran alterados o para casos de sospecha clínica.

La historia clínica tiene especial relevancia en las psicosis agudas que no sean de debut. Se deben identificar antecedentes neurológicos, como casos de encefalitis o encefalopatías de origen desconocido. Se debe valorar el curso clínico y observar si la psicosis se acompaña de confusión, desorientación o de alteraciones mnésicas destacadas, si aparecen alteraciones del movimiento prominentes, si hay una falta de respuesta a antipsicóticos y si aparecen convulsiones, hiponatremia, deterioro del estado general o alteraciones autonómicas.

Aunque resulta evidente que en los últimos años se ha conseguido reducir el tiempo entre el inicio de los síntomas neuropsiquiátricos y el diagnóstico de encefalitis autoinmune, aún se deben hacer esfuerzos mayores por diseñar protocolos diagnósticos que permitan sospechar antes la existencia de autoinmunidad y solicitar los análisis de anticuerpos (Herken y Prüss, 2017).

En todos los casos de psicosis aguda resulta esencial que los servicios de interconsulta de psiquiatría y neurología trabajen conjuntamente a nivel clínico y busquen el asesoramiento de los servicios de inmunología, ya que un diagnóstico a tiempo de un trastorno autoinmune permite un mejor pronóstico y una mejor respuesta a la inmunoterapia.

### **6.11. Tratamiento de las psicosis positivas para anticuerpos anti-NMDAR**

El beneficio del tratamiento con inmunoterapia en las psicosis se ha puesto en cuestión, ya que en las encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR, las respuestas de los síntomas

psiquiátricos en ocasiones son parciales. La mejoría clínica en las encefalitis se consigue de forma lenta y los síntomas desaparecen en orden inverso a como se instauran. De esta manera, inicialmente mejora la clínica neurológica y por último la psiquiátrica. En algunos casos la recuperación es incompleta y los síntomas que suelen persistir son los conductuales y cognitivos (Coutinho et al., 2014; Le Guen et al., 2015). Además sabemos que las formas monosintomáticas psiquiátricas asiladas son más frecuentes porcentualmente en las recaídas que al inicio de la enfermedad (Kayser et al., 2013). En este contexto, se teoriza que la persistencia de la clínica psicótica podría responder a una disfunción más a largo plazo que no mejoraría al desaparecer los anticuerpos (Coutinho et al., 2014). Aún así, para validar esta afirmación haría falta realizar estudios con un análisis detallado de los pacientes con encefalitis en sus formas completa y parcial a través de escalas psicométricas, ya que los estudios realizados hasta la fecha han sido conducidos por neurólogos fundamentalmente y no se han orientado al estudio exhaustivo de la clínica psiquiátrica.

Por otra parte resulta evidente en la descripción de casos clínicos, que las dimensiones afectiva y positiva mejoran de forma marcada con la inmunoterapia (Barry et al., 2011; Kuo et al., 2012; Lebon et al., 2012; Dalmau et al., 2008, 2011).

Como se ha introducido más arriba, los anticuerpos anti-NMDAR causan una disminución de los grupos de NMDAR en la superficie celular y en las sinapsis de forma selectiva, reversible y dependiente de su concentración (Dalmau et al., 2008; Le Guen et al., 2015; Moscato et al., 2014). La disminución en la cantidad de NMDAR se correlaciona con la presencia de síntomas psicóticos en la encefalitis anti-NMDAR. Se ha reportado que con la inmunoterapia hay recuperaciones de los síntomas positivos y cognitivos de la encefalitis anti-NMDAR de forma correlativa a la disminución de los títulos de anticuerpos (Dalmau et al., 2008; Gresa-Arribas et al., 2014; Huerta et al., 2006; Iizuka y Sakai, 2008; Irani y Lang, 2008; Irani y Vincent, 2011; Kowal et al., 2006).

Además, Kayser et al. (2013) describen una recuperación substancial o completa en el

83% de los casos que identifican como psicosis asiladas en su muestra de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR.

Se ha descrito que se puede considerar que las psicosis con niveles elevados de anticuerpos anti-NMDAR en suero o LCR y con fiebre y/o linfocitosis en LCR y/o anomalías en el EEG, son de probable origen autoinmune y es justificable que se intenten tratamientos con corticoides, plasmaféresis o inmunoglobulinas endovenosas (Deakin et al., 2014).

También se ha visto una recuperación clínica de la psicosis ANS-positiva no encefalítica usando inmunoterapia (Zandi et al., 2011, 2014), TEC (Maneta y Garcia, 2014; Tsutsui et al., 2012) y D-serina como adyuvante (Heresco-Levy et al., 2015).

En el estudio de Zandi et al. (2014) se administró a nueve pacientes con psicosis aguda corticoterapia, plasmaféresis e inmunoglobulinas endovenosas, de forma aislada o combinadas. En casos seleccionados se administró micofenolato de mofetilo o rituximab. Siete de los nueve pacientes eran no respondedores a antipsicóticos. Hubo una respuesta favorable en ocho de los nueve pacientes. El 67% de los casos (6) presentaron una remisión clínica y 6 recayeron. En las recaídas se detectaron anticuerpos en suero. La inmunoterapia no causó efectos adversos, incluyendo infecciones y psicosis reactivas. Dos pacientes con una larga historia de resistencia al tratamiento antipsicótico no respondieron a la inmunoterapia a largo plazo, pero en un caso con antecedentes de 3 años de psicosis resistente hubo mejoría clínica tras varias plasmaféresis, corticoterapia y tratamiento con micofenolato de mofetilo.

En el estudio principal que se presenta, el paciente con manía y síntomas psicóticos seropositivo para anticuerpos anti-NMDAR no recibió inmunoterapia porque no estaba incluido en los protocolos clínicos como un tratamiento efectivo con una evidencia suficiente. Además, el hecho de que se tratara de un paciente VIH-positivo, requería cautela y argumentar muy bien el uso de tratamientos inmunosupresores.

Con la evidencia disponible en la actualidad, cuando después de un proceso de



diagnóstico diferencial se llega a la conclusión de que un paciente con seropositividad para anticuerpos anti-NMDAR, presenta un PEP, los psiquiatras deberíamos considerar la opción de la inmunoterapia, ya que las remisiones parciales de la clínica y la cronicidad de la psicosis podrían evitarse.

Por otra parte, los pacientes que ya tienen un diagnóstico firme de encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR y en su curso clínico presentan síntomas psicóticos prominentes pueden requerir ocasionalmente ingresos en unidades psiquiátricas. Y en pacientes con un diagnóstico previo de encefalitis, cualquier alteración de conducta puede significar una recaída que los psiquiatras pueden tener que identificar y atender en primera instancia (Kayser et al., 2013).

En este contexto resulta evidente que deberán establecerse protocolos de tratamiento específicos para estos pacientes teniendo en cuenta sus características diferenciales: riesgo de convulsiones, tendencia a presentar alteraciones del movimiento, fluctuación de los síntomas, alteraciones del sueño y resistencia a los antipsicóticos.

Existe evidencia a favor de la utilidad de la TEC en este subgrupo de pacientes. Tsutsui et al. (2012) hablan de la efectividad de este tratamiento en 5 de 10 pacientes con psicosis aisladas y seropositividad para anticuerpos anti-NMDAR y también hay datos sobre respuesta a la TEC en pacientes con encefalitis anti-NMDAR y síntomas psiquiátricos (Maneta y Garcia, 2014). Estos resultados se podrían explicar a través de los hallazgos que aportan algunos estudios en animales, que describen que el TEC podría regular al alza los NMDAR (Watkins et al., 1998).

Kayser et al. (2013) señalan que la encefalitis anti-NMDAR debería tratarse interdisciplinariamente siempre y que la experiencia clínica y la evidencia anecdótica sugieren que los síntomas psicóticos encefalíticos requieren el uso de fármacos sedantes como la quetiapina, la clorpromazina, el ácido valproico y las benzodiazepinas (éstas últimas como agonistas de receptores GABA, compensan la inhibición de las interneuronas GABA por parte de los anticuerpos anti-NMDAR (Maneta y García, 2014)). Estos autores

aconsejan evitar los antipsicóticos incisivos como el haloperidol, porque exacerban los síntomas motores propios de la encefalitis. Si los síntomas psicóticos aislados son la forma de una recaída de encefalitis recomiendan descartar la presencia de tumores no detectados o recurrentes, especialmente ováricos.

Tal y como señalan Deakin et al. (2014), resultan imprescindibles ensayos clínicos que estudien la eficacia de la inmunoterapia en pacientes psicóticos con seropositividad para anticuerpos anti-NMDAR y anti-antígenos de VGKC.

## **7. CONCLUSIONES:**

### **7.1. Conclusiones del estudio *Anti-NMDAR antibodies in new-onset psychosis***

- La patogenia de algunas psicosis incipientes podría estar relacionada con la acción de los anticuerpos anti-NMDAR. Identificamos un 3,3% de seropositividad a anticuerpos IgG anti-NMDAR (subunidad NR1) en una muestra de PEP.
- Informamos sobre el primer caso de trastorno bipolar con síntomas psicóticos asociado a anticuerpos anti-NMDAR en un paciente VIH-positivo.
- No se ha podido definir un fenotipo clínico característico de la psicosis seropositiva para anticuerpos anti-NMDAR, ya que no hay evidencia de síntomas o elementos clínicos que diferencien la psicosis positivas de las negativas para anticuerpos antineuronales.
- La evidencia aportada nuestro estudio, por trabajos previos sobre autoinmunidad antineuronal en psicosis y por GWAS, pone en cuestión repetidamente la actual clasificación categórica de los síndromes psicóticos y apunta hacia caminos fisiopatológicos comunes para al menos parte de las psicosis afectivas y no afectivas.

- Hay muchas incógnitas en relación a la patogenicidad de los anticuerpos anti-NMDAR. Para modular los diferentes fenotipos clínicos asociados a los anticuerpos anti-NMDAR probablemente juegan un papel esencial varios factores inmunitarios, como la permeabilidad de la BHE, los epítomos que reconocen los anticuerpos y los títulos e isotipos de los anticuerpos. Queda por aclarar el papel de las células T en los síndromes asociados a esta inmunidad antineuronal. Falta determinar la relevancia de la respuesta humoral y celular en el mecanismo etiológico de los anticuerpos anti-NMDAR.

- Es necesario estudiar en muestras mayores de pacientes y controles la epidemiología de la autoinmunidad anti-NMDAR a lo largo del tiempo.

- Algunos casos de psicosis afectivas y no afectivas podrían situarse al extremo de un continuum clínico de severidad creciente relacionado con la autoinmunidad anti-NMDAR. En el otro extremo se situaría la encefalitis por anticuerpos anti-NMDAR.

- Aún se está estudiando la forma en que se generan los anticuerpos anti-NMDAR cuando no aparecen en un síndrome paraneoplásico. Es de especial interés el estudio de mecanismos que implican a factores infecciosos.

- En pacientes afectos de PEP es recomendable el estudio sistemático de muestras de suero y LCR para descartar la presencia anticuerpos antineuronales de superficie.

- Para realizar diagnósticos diferenciales adecuados y evitar errores, en los protocolos diagnósticos de las psicosis (sean o no primeros episodios) se debería incluir el estudio mediante RMN y EEG. En el caso de las psicosis no incipientes, si hay una sospecha de autoinmunidad en base a signos o síntomas clínicos, se aconseja realizar una punción lumbar.

- La interdisciplinariedad que implique a neurólogos, inmunólogos y psiquiatras en el diagnóstico y el tratamiento de las psicosis debería ser la norma.

- En las psicosis positivas a anticuerpos anti-NMDAR es recomendable el uso de antipsicóticos de baja potencia y sedativos, de ácido valproico y benzodiazepinas. También se ha demostrado útil la TEC y existe evidencia a favor del uso de la D-serina como coadyuvante.

- Existen datos que permiten afirmar que la inmunoterapia es eficaz y bien tolerada en pacientes con psicosis aislada asociada a anticuerpos anti-NMDAR. Pero son necesarios ensayos clínicos que estudien y validen estos tratamientos en pacientes afectados de síndromes psicóticos no encefalíticos.

### **7.2. Conclusiones del estudio *Neuronal surface antibodies in HIV-infected patients with isolated psychosis***

- No se puede afirmar que la infección por VIH actúe como desencadenante de autoinmunidad anti-NMDAR en las psicosis. De todas formas, no se puede descartar una implicación del VIH en otros síndromes neuropsiquiátricos producidos por anticuerpos antineuronales.

### **7.3. Conclusiones del estudio *Dual Cases of Type 1 Narcolepsy with Schizophrenia and Other Psychotic Disorders***

- No encontramos anticuerpos anti-NMDAR ni otros datos que asocien la psicosis comórbida a la narcolepsia con procesos autoinmunes. De todas formas, no se puede descartar que ambas enfermedades compartan mecanismos patogénicos inmunomediados.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

Aalto, S., Ihalainen, J., Hirvonen, J., Kajander, J., Scheinin, H., Tanila, H., Nagren, K., Vilkmán, H., Gustafsson, L.L., Syvalahti, E., Hietala, J., 2005. Cortical glutamate-dopamine interaction and ketamine-induced psychotic symptoms in man . *Psychopharmacology (Berl)*. 182, 375-383

Aksenova, M.V., Aksenov, M.Y., Adams, S.M., Mactutus, C.F., Booze, R.M., 2009. Neuronal survival and resistance to HIV-1 Tat toxicity in the primary culture of rat fetal neurons . *Exp. Neurol*. 215, 253-263

Aranow, C., Diamond, B., Mackay, M., 2010. Glutamate receptor biology and its clinical significance in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus . *Rheum. Dis. Clin. North Am*. 36, 187-201, x-xi

Armangue, T., Leypoldt, F., Malaga, I., Raspall-Chaure, M., Marti, I., Nichter, C., Pugh, J., Vicente-Rasoamalala, M., Lafuente-Hidalgo, M., Macaya, A., Ke, M., Titulaer, M.J., Hoftberger, R., Sheriff, H., Glaser, C., Dalmau, J., 2014. Herpes simplex virus encephalitis is a trigger of brain autoimmunity . *Ann. Neurol*. 75, 317-323

Baba, T., Nakashima, I., Kanbayashi, T., Konno, M., Takahashi, T., Fujihara, K., Misu, T., Takeda, A., Shiga, Y., Ogawa, H., Itoyama, Y., 2009. Narcolepsy as an initial manifestation of neuromyelitis optica with anti-aquaporin-4 antibody . *J. Neurol*. 256, 287-288

Barry, H., Hardiman, O., Healy, D.G., Keogan, M., Moroney, J., Molnar, P.P., Cotter, D.R., Murphy, K.C., 2011. Anti-NMDA receptor encephalitis: an important differential diagnosis in psychosis . *Br. J. Psychiatry*. 199, 508-509

Benros, M.E., Eaton, W.W., Mortensen, P.B., 2014. The epidemiologic evidence linking autoimmune diseases and psychosis . *Biol. Psychiatry*. 75, 300-306

Benros, M.E., Nielsen, P.R., Nordentoft, M., Eaton, W.W., Dalton, S.O., Mortensen, P.B., 2011. Autoimmune diseases and severe infections as risk factors for schizophrenia: a 30-year population-based register study . *Am. J. Psychiatry*. 168, 1303-1310

Benros, M.E., Pedersen, M.G., Rasmussen, H., Eaton, W.W., Nordentoft, M., Mortensen, P.B., 2014. A nationwide study on the risk of autoimmune diseases in individuals with a personal or a family history of schizophrenia and related psychosis . *Am. J. Psychiatry*. 171, 218-226

Bergen, S.E., O'Dushlaine, C.T., Ripke, S., Lee, P.H., Ruderfer, D.M., Akterin, S., Moran, J.L., Chambert, K.D., Handsaker, R.E., Backlund, L., Osby, U., McCarroll, S., Landén, M., Scolnick, E.M., Magnusson, P.K., Lichtenstein, P., Hultman, C.M., Purcell, S.M., Sklar, P., Sullivan, P.F., 2012. Genome-wide association study in a Swedish population yields support for greater CNV and MHC involvement in schizophrenia compared with bipolar disorder . *Mol. Psychiatry*. 17, 880-886

Bergink, V., Armangue, T., Titulaer, M.J., Markx, S., Dalmau, J., Kushner, S.A., 2015. Autoimmune Encephalitis in Postpartum Psychosis . *Am. J. Psychiatry*. 172, 901-908

Bodatsch, M., Ruhrmann, S., Wagner, M., Muller, R., Schultze-Lutter, F., Frommann, I., Brinkmeyer, J., Gaebel, W., Maier, W., Klosterkotter, J., Brockhaus-Dumke, A., 2011. Prediction of psychosis by mismatch negativity . *Biol. Psychiatry.* 69, 959-966

Borda, T., Perez Rivera, R., Joensen, L., Gomez, R.M., Sterin-Borda, L., 2002. Antibodies against cerebral M1 cholinergic muscarinic receptor from schizophrenic patients: molecular interaction . *J. Immunol.* 168, 3667-3674

Burch, P., 1964. Schizophrenia: some new aetiological considerations. *Br J Psychiatry.* Nov; 110, 818-824

Buzsaki, G., Geisler, C., Henze, D.A., Wang, X.J., 2004. Interneuron Diversity series: Circuit complexity and axon wiring economy of cortical interneurons . *Trends Neurosci.* 27, 186-193

Chen, C.H., Cheng, M.C., Liu, C.M., Liu, C.C., Lin, K.H., Hwu, H.G., 2017. Seroprevalence survey of selective anti-neuronal autoantibodies in patients with first-episode schizophrenia and chronic schizophrenia . *Schizophr. Res.* S0920-9964(17)30134-2. doi: 10.1016/j.schres.2017.03.012

Chen, S.J., Chao, Y.L., Chen, C.Y., Chang, C.M., Wu, E.C., Wu, C.S., Yeh, H.H., Chen, C.H., Tsai, H.J., 2012. Prevalence of autoimmune diseases in in-patients with schizophrenia: nationwide population-based study . *Br. J. Psychiatry.* 200, 374-380

Chiba, Y., Katsuse, O., Takahashi, Y., Yoneda, M., Kunii, M., Ihata, A., Ueda, A., Takeno, M., Togo, T., Hirayasu, Y., 2013. Anti-glutamate receptor  $\epsilon 2$  antibodies in psychiatric patients with anti-thyroid autoantibodies--a prevalence study in Japan. *Neurosci. Lett.* 534, 217-222

Coutinho, E., Harrison, P., Vincent, A., 2014. Do neuronal autoantibodies cause psychosis? A neuroimmunological perspective . *Biol. Psychiatry.* 75, 269-275

Coyle, J.T., Tsai, G., Goff, D., 2003. Converging evidence of NMDA receptor hypofunction in the pathophysiology of schizophrenia . *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1003, 318-327

Crosby, M.I., Bradshaw, D.A., McLay, R.N., 2011. Severe mania complicating treatment of narcolepsy with cataplexy . *J. Clin. Sleep Med.* 7, 214-216

Csicsvari, J., Hirase, H., Czurko, A., Buzsaki, G., 1998. Reliability and state dependence of pyramidal cell-interneuron synapses in the hippocampus: an ensemble approach in the behaving rat . *Neuron.* 21, 179-189

Dahm, L., Ott, C., Steiner, J., Stepniak, B., Teegen, B., Saschenbrecker, S., Hammer, C., Borowski, K., Begemann, M., Lemke, S., Rentzsch, K., Probst, C., Martens, H., Wienands, J., Spalletta, G., Weissenborn, K., Stocker, W., Ehrenreich, H., 2014. Seroprevalence of autoantibodies against brain antigens in health and disease . *Ann. Neurol.* 76, 82-94.

Dalmau, J., Bataller, L., 2007. Limbic encephalitis: the new cell membrane antigens and a proposal of clinical-immunological classification with therapeutic implications . *Neurologia.* 22, 526-537

Dalmau, J., Gleichman, A.J., Hughes, E.G., Rossi, J.E., Peng, X., Lai, M., Dessain, S.K., Rosenfeld, M.R., Balice-Gordon, R., Lynch, D.R., 2008. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies . *Lancet Neurol.* 7, 1091-1098

Dalmau, J., Lancaster, E., Martinez-Hernandez, E., Rosenfeld, M.R., Balice-Gordon, R., 2011. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis . *Lancet Neurol.* 10, 63-74

de Ronchi, D., Faranca, I., Forti, P., Ravaglia, G., Borderi, M., Manfredi, R., Volterra, V., 2000. Development of acute psychotic disorders and HIV-1 infection . *Int. J. Psychiatry Med.* 30, 173-183

de Witte, L., Hoffmann, C., van Mierlo, H., Titulaer, M., Khan, R., Martinez-Martinez, P., European Consortium of Autoimmune Mental Disorders, (CAIMED)., 2015. Absence of N-Methyl-D-Aspartate Receptor IgG Autoantibodies in Schizophrenia: The Importance of Cross-Validation Studies. - PubMed - NCBI . *JAMA Psychiatry* 72(7):731-3. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2015.0526

Deakin, J., Lennox, B.R., Zandi, M.S., 2014. Antibodies to the N-methyl-d-aspartate receptor and other synaptic proteins in psychosis . *Biol. Psychiatry.* 75, 284-291

Debnath, M., Cannon, D.M., Venkatasubramanian, G., 2013. Variation in the major histocompatibility complex [MHC] gene family in schizophrenia: associations and functional implications . *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 42, 49-62

Dickerson, F., Stallings, C., Vaughan, C., Origoni, A., Khushalani, S., Yolken, R., 2012. Antibodies to the glutamate receptor in mania . *Bipolar Disord.* 14, 547-553

Eaton, W.W., Byrne, M., Ewald, H., Mors, O., Chen, C.Y., Agerbo, E., Mortensen, P.B., 2006. Association of schizophrenia and autoimmune diseases: linkage of Danish national registers . *Am. J. Psychiatry.* 163, 521-528

Eaton, W.W., Pedersen, M.G., Nielsen, P.R., Mortensen, P.B., 2010. Autoimmune diseases, bipolar disorder, and non-affective psychosis . *Bipolar Disord.* 12, 638-646

Elert, E., 2014. Aetiology: Searching for schizophrenia's roots . *Nature.* 508, S2-3

Endres, D., Perlov, E., Baumgartner, A., Hottenrott, T., Dersch, R., Stich, O., Tebartz van Elst, L., 2015. Immunological findings in psychotic syndromes: a tertiary care hospital's CSF sample of 180 patients . *Front. Hum. Neurosci.* 9, 476

Erhardt, S., Pocivavsek, A., Repici, M., Liu, X.C., Imbeault, S., Maddison, D.C., Thomas, M.A., Smalley, J.L., Larsson, M.K., Muchowski, P.J., Giorgini, F., Schwarcz, R., 2016. Adaptive and Behavioral Changes in Kynurenine 3-Monooxygenase Knockout Mice: Relevance to Psychotic Disorders . *Biol. Psychiatry* S0006-3223 (16) 33112-2. doi: 10.1016/j.biopsych.2016.12.011

Eugenin, E.A., King, J.E., Hazleton, J.E., Major, E.O., Bennett, M.V., Zukin, R.S., Berman, J.W., 2011. Differences in NMDA receptor expression during human development determine the response of neurons to HIV-tat-mediated neurotoxicity . *Neurotox Res.* 19, 138-148

Faust, T.W., Chang, E.H., Kowal, C., Berlin, R., Gazaryan, I.G., Bertini, E., Zhang, J., Sanchez-Guerrero, J., Fragoso-Loyo, H.E., Volpe, B.T., Diamond, B., Huerta, P.T., 2010. Neurotoxic lupus autoantibodies alter brain function through two distinct mechanisms . *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 18569-18574

Fawcett, R.G., 2010. Acute psychosis associated with anti-NMDA-receptor antibodies and bilateral ovarian teratomas: a case report . *J. Clin. Psychiatry.* 71, 504

Fortuyn, H.A., Mulders, P.C., Renier, W.O., Buitelaar, J.K., Overeem, S., 2011. Narcolepsy and psychiatry: an evolving association of increasing interest . *Sleep Med.* 12, 714-719

Freudenreich, O., Basgoz, N., Fernandez-Robles, C., Larvie, M., Misdraji, J., 2012. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 5-2012. A 39-year-old man with a recent diagnosis of HIV infection and acute psychosis . *N. Engl. J. Med.* 366, 648-657

Ganguli, R., Rabin, B.S., Brar, J.S., 1992. Antinuclear and gastric parietal cell autoantibodies in schizophrenic patients . *Biol. Psychiatry.* 32, 735-738

Gonzalez-Valcarcel, J., Rosenfeld, M.R., Dalmau, J., 2010. Differential diagnosis of encephalitis due to anti-NMDA receptor antibodies . *Neurologia.* 25, 409-413

Graus, F., Saiz, A., Dalmau, J., 2010. Antibodies and neuronal autoimmune disorders of the CNS . *J. Neurol.* 257, 509-517

Gray, F., Bazille, C., Adle-Biassette, H., Mikol, J., Moulignier, A., Scaravilli, F., 2005. Central nervous system immune reconstitution disease in acquired immunodeficiency syndrome patients receiving highly active antiretroviral treatment . *J. Neurovirol.* 11 Suppl 3, 16-22

Gresa-Arribas, N., Titulaer, M.J., Torrents, A., Aguilar, E., McCracken, L., Leypoldt, F., Gleichman, A.J., Balice-Gordon, R., Rosenfeld, M.R., Lynch, D., Graus, F., Dalmau, J., 2014. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study . *Lancet Neurol.* 13, 167-177

Grosskopf, A., Muller, N., Malo, A., Wank, R., 1998. Potential role for the narcolepsy- and multiple sclerosis-associated HLA allele DQB1\*0602 in schizophrenia subtypes . *Schizophr. Res.* 30, 187-189

Hammer, C., Stepniak, B., Schneider, A., Papiol, S., Tantra, M., Begemann, M., Siren, A.L., Pardo, L.A., Sperling, S., Mohd Jofrry, S., Gurvich, A., Jensen, N., Ostmeier, K., Luhder, F., Probst, C., Martens, H., Gillis, M., Saher, G., Assogna, F., Spalletta, G., Stocker, W., Schulz, T.F., Nave, K.A., Ehrenreich, H., 2013. Neuropsychiatric disease relevance of circulating anti-NMDA receptor autoantibodies depends on blood-brain barrier integrity . *Mol. Psychiatry* 19(10):1143-9. doi: 10.1038/mp.2013.110. Epub 2013 Sep 3

Harris, M.J., Jeste, D.V., Gleghorn, A., Sewell, D.D., 1991. New-onset psychosis in HIV-infected patients . *J. Clin. Psychiatry.* 52, 369-376

Hashimoto, K., Sawa, A., Iyo, M., 2007. Increased levels of glutamate in brains from patients with mood disorders . *Biol. Psychiatry.* 62, 1310-1316



Haussleiter, I.S., Emons, B., Schaub, M., Borowski, K., Brune, M., Wandinger, K.P., Juckel, G., 2012. Investigation of antibodies against synaptic proteins in a cross-sectional cohort of psychotic patients . *Schizophr. Res.* 140, 258-259

Heath, R.G., McCarron, K.L., O'Neil, C.E., 1989. Antiseptal brain antibody in IgG of schizophrenic patients . *Biol. Psychiatry.* 25, 725-733

Henneberg, A.E., Horter, S., Ruffert, S., 1994. Increased prevalence of antibrain antibodies in the sera from schizophrenic patients . *Schizophr. Res.* 14, 15-22

Heresco-Levy, U., Durrant, A.R., Ermilov, M., Javitt, D.C., Miya, K., Mori, H., 2015. Clinical and electrophysiological effects of D-serine in a schizophrenia patient positive for anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies. *Biol. Psychiatry.* 77, e27-9. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.08.023

Herken, J., Pruss, H., 2017. Red Flags: Clinical Signs for Identifying Autoimmune Encephalitis in Psychiatric Patients . *Front. Psychiatry.* 8, 25

Huerta, P.T., Kowal, C., DeGiorgio, L.A., Volpe, B.T., Diamond, B., 2006. Immunity and behavior: antibodies alter emotion . *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 678-683

Hughes, E.G., Peng, X., Gleichman, A.J., Lai, M., Zhou, L., Tsou, R., Parsons, T.D., Lynch, D.R., Dalmau, J., Balice-Gordon, R.J., 2010. Cellular and synaptic mechanisms of anti-NMDA receptor encephalitis . *J. Neurosci.* 30, 5866-5875

Iizuka, T., Sakai, F., 2008. Anti-nMDA receptor encephalitis--clinical manifestations and pathophysiology . *Brain Nerve.* 60, 1047-1060

International Schizophrenia Consortium, Purcell, S.M., Wray, N.R., Stone, J.L., Visscher, P.M., O'Donovan, M.C., Sullivan, P.F., Sklar, P., 2009. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder . *Nature.* 460, 748-752

Irani SR1, Bera K, Waters P, Zuliani, L, Maxwell, S., Zandi, M., Friese, MA, Galea, I, Kullmann, D., Beeson, D., Lang, B., Bien, C., Vincent, A., 2010. N-methyl-D-aspartate antibody encephalitis: temporal progression of clinical and paraclinical observations in a predominantly non-paraneoplastic disorder of both sexes. *Brain.* Jun;133(Pt 6), 1655-1667

Irani, S., Lang, B., 2008. Autoantibody-mediated disorders of the central nervous system . *Autoimmunity.* 41, 55-65

Irani, S.R., Vincent, A., 2011. NMDA receptor antibody encephalitis . *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 11, 298-304

Irish Schizophrenia Genomics Consortium and the Wellcome Trust Case Control Consortium 2, 2012. Genome-wide association study implicates HLA-C\*01:02 as a risk factor at the major histocompatibility complex locus in schizophrenia . *Biol. Psychiatry.* 72, 620-628

Javitt, D.C., Zukin, S.R., 1991. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia . *Am. J. Psychiatry.* 148, 1301-1308

Javitt, D.C., Zukin, S.R., Heresco-Levy, U., Umbricht, D., 2012. Has an angel shown the way? Etiological and therapeutic implications of the PCP/NMDA model of schizophrenia . *Schizophr. Bull.* 38, 958-966

Jia, P., Wang, L., Fanous, A.H., Chen, X., Kendler, K.S., International Schizophrenia Consortium, Zhao, Z., 2012. A bias-reducing pathway enrichment analysis of genome-wide association data confirmed association of the MHC region with schizophrenia . *J. Med. Genet.* 49, 96-103

Johnstone, E.C., Whaley, K., 1975. Antinuclear antibodies in psychiatric illness: their relationship to diagnosis and drug treatment . *Br. Med. J.* 2, 724-725

Jones, A.L., Mowry, B.J., Pender, M.P., Greer, J.M., 2005. Immune dysregulation and self-reactivity in schizophrenia: do some cases of schizophrenia have an autoimmune basis? . *Immunol. Cell Biol.* 83, 9-17

Kales, A., Soldatos, C.R., Bixler, E.O., Caldwell, A., Cadieux, R.J., Verrechio, J.M., Kales, J.D., 1982. Narcolepsy-cataplexy. II. Psychosocial consequences and associated psychopathology . *Arch. Neurol.* 39, 169-171

Kantrowitz, J.T., Javitt, D.C., 2010. N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor dysfunction or dysregulation: the final common pathway on the road to schizophrenia? . *Brain Res. Bull.* 83, 108-121

Kayser, M.S., Titulaer, M.J., Gresa-Arribas, N., Dalmau, J., 2013. Frequency and characteristics of isolated psychiatric episodes in anti-N-methyl-d-aspartate receptor encephalitis . *JAMA Neurol.* 70, 1133-1139

King, J.E., Eugenin, E.A., Hazleton, J.E., Morgello, S., Berman, J.W., 2010. Mechanisms of HIV-tat-induced phosphorylation of N-methyl-D-aspartate receptor subunit 2A in human primary neurons: implications for neuroAIDS pathogenesis . *Am. J. Pathol.* 176, 2819-2830

Kirch, D.G., 1993. Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: a review and reappraisal . *Schizophr. Bull.* 19, 355-370

Knable, M.B., Weinberger, D.R., 1997. Dopamine, the prefrontal cortex and schizophrenia . *J. Psychopharmacol.* 11, 123-131

Knight, J.G., 1982. Dopamine-receptor-stimulating autoantibodies: a possible cause of schizophrenia . *Lancet.* 2, 1073-1076

Knight, J.G., Knight, A., Menkes, D.B., Mullen, P.E., 1990. Autoantibodies against brain septal region antigens specific to unmedicated schizophrenia? . *Biol. Psychiatry.* 28, 467-474

Kowal, C., Degiorgio, L.A., Lee, J.Y., Edgar, M.A., Huerta, P.T., Volpe, B.T., Diamond, B., 2006. Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment . *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 19854-19859

Kuo, Y.L., Tsai, H.F., Lai, M.C., Lin, C.H., Yang, Y.K., 2012. Anti-NMDA receptor encephalitis with the initial presentation of psychotic mania . *J. Clin. Neurosci.* 19, 896-898

Lancaster, E., Dalmau, J., 2012. Neuronal autoantigens--pathogenesis, associated disorders and antibody testing . *Nat. Rev. Neurol.* 8, 380-390

Le Foll, J., Pelletier, A., 2010. Psychiatric symptoms of a paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: A case report . *Encephale.* 36, 166-171

Le Guen, E., Doukhan, R., Hamdani, N., Tamouza, R., Groc, L., Honnorat, J., Leboyer, M., 2015. Anti-NR1 antibodies in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis and schizophrenia . *Med. Sci. (Paris).* 31, 60-67

Le, L.T., Spudich, S.S., 2016. HIV-Associated Neurologic Disorders and Central Nervous System Opportunistic Infections in HIV . *Semin. Neurol.* 36, 373-381

Lebon, S., Mayor-Dubois, C., Popea, I., Poloni, C., Selvadoray, N., Gumy, A., Roulet-Perez, E., 2012. Anti-N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Receptor Encephalitis Mimicking a Primary Psychiatric Disorder in an Adolescent . *J. Child Neurol.* 27, 1607-1610

Leite, M.I., Coutinho, E., Lana-Peixoto, M., Apostolos, S., Waters, P., Sato, D., Melamud, L., Marta, M., Graham, A., Spillane, J., Villa, A.M., Callegaro, D., Santos, E., da Silva, A.M., Jarius, S., Howard, R., Nakashima, I., Giovannoni, G., Buckley, C., Hilton-Jones, D., Vincent, A., Palace, J., 2012. Myasthenia gravis and neuromyelitis optica spectrum disorder: a multicenter study of 16 patients . *Neurology.* 78, 1601-1607

Lejuste, F., Thomas, L., Picard, G., Desestret, V., Ducray, F., Rogemond, V., Psimaras, D., Antoine, J.C., Delattre, J.Y., Groc, L., Leboyer, M., Honnorat, J., 2016. Neuroleptic intolerance in patients with anti-NMDAR encephalitis . *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 3, e280

Lennox, B.R., Palmer-Cooper, E.C., Pollak, T., Hainsworth, J., Marks, J., Jacobson, L., Lang, B., Fox, H., Ferry, B., Scoriels, L., Crowley, H., Jones, P.B., Harrison, P.J., Vincent, A., PPIp study team, 2017. Prevalence and clinical characteristics of serum neuronal cell surface antibodies in first-episode psychosis: a case-control study . *Lancet Psychiatry.* 4, 42-48

León-Caballero, J., Pacchiarotti, I., Murru, A., Valentí, M., Colom, F., Benach, B., Pérez, V., Dalmau, J., Vieta, E., 2015. Bipolar disorder and antibodies against the N-methyl-d-aspartate receptor: A gate to the involvement of autoimmunity in the pathophysiology of bipolar illness. *Neurosci Biobehav Rev.* 55, 403-412

Levine, J., Gutman, J., Feraro, R., Levy, P., Kimhi, R., Leykin, I., Deckmann, M., Handzel, Z.T., Shinitzky, M., 1997. Side effect profile of azathioprine in the treatment of chronic schizophrenic patients . *Neuropsychobiology.* 36, 172-176

Leypoldt, F., Wandinger, K.P., Bien, C.G., Dalmau, J., 2013. Autoimmune Encephalitis. *European Neurological Review.* 8, 31-37

Lin, C.H., Lane, H.Y., Tsai, G.E., 2012. Glutamate signaling in the pathophysiology and therapy of schizophrenia . *Pharmacol. Biochem. Behav.* 100, 665-677

Louboutin, J.P., Strayer, D.S., 2012. Blood-brain barrier abnormalities caused by HIV-1 gp120: mechanistic and therapeutic implications . *ScientificWorldJournal.* 2012, 482575

Maccaferri, G., Dingledine, R., 2002. Control of feedforward dendritic inhibition by NMDA receptor-dependent spike timing in hippocampal interneurons . *J. Neurosci.* 22, 5462-5472

Maneta, E., Garcia, G., 2014. Psychiatric manifestations of anti-NMDA receptor encephalitis: neurobiological underpinnings and differential diagnostic implications . *Psychosomatics*. 55, 37-44

Masdeu J.C., 2016. NMDA Receptor Internalization by Autoantibodies: A Reversible Mechanism Underlying Psychosis?. *Trends Neurosci*.

Masdeu, J.C., Gonzalez-Pinto, A., Matute, C., Ruiz De Azua, S., Palomino, A., De Leon, J., Berman, K.F., Dalmau, J., 2012. Serum IgG antibodies against the NR1 subunit of the NMDA receptor not detected in schizophrenia . *Am. J. Psychiatry*. 169, 1120-1121

Maxeiner, H.G., Rojewski, M.T., Schmitt, A., Tumani, H., Bechter, K., Schmitt, M., 2009. Flow cytometric analysis of T cell subsets in paired samples of cerebrospinal fluid and peripheral blood from patients with neurological and psychiatric disorders . *Brain Behav. Immun*. 23, 134-142

Meyer, U., 2015. Developmental Immune Activation Models with Relevance to Schizophrenia, in: Muller, N., Myint A., Schwarz, M.J. (Eds.), *Immunology and Psychiatry*. Springer, Switzerland, pp. 15-32

Mignot, E., Lammers, G.J., Ripley, B., Okun, M., Nevsimalova, S., Overeem, S., Vankova, J., Black, J., Harsh, J., Bassetti, C., Schrader, H., Nishino, S., 2002. The role of cerebrospinal fluid hypocretin measurement in the diagnosis of narcolepsy and other hypersomnias . *Arch. Neurol*. 59, 1553-1562

Mignot, E., Lin, X., Kalil, J., George, C., Singh, S., Billiard, M., Montplaisir, J., Arrigoni, J., Guilleminault, C., Dement, W.C., 1992. DQB1-0602 (DQw1) is not present in most nonDR2 Caucasian narcoleptics . *Sleep*. 15, 415-422

Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., Daly, D., 1997. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *J Neurosci*. 17, 2921-2927.

Moghaddam, B., Javitt, D., 2012. From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment . *Neuropsychopharmacology*. 37, 4-15

Moscato, E.H., Peng, X., Jain, A., Parsons, T.D., Dalmau, J., Balice-Gordon, R.J., 2014. Acute mechanisms underlying antibody effects in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis . *Ann. Neurol*. 76, 108-119

Müller, N., Riedel, M., Hadjamu, M., Schwarz, M., Ackenheil, M., Gruber, R., 1999. Increase in expression of adhesion molecule receptors on Thelper cells during antipsychotic treatment and relationship to blood-brain barrier permeability in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. Apr;156 (4), 634-636

Müller, N., Schwarz, M.J., 2010. Immune System and Schizophrenia . *Curr. Immunol. Rev*. 6, 213-220

Müller, N., Schwarz, M.J., 2008. A psychoneuroimmunological perspective to Emil Kraepelin's dichotomy: schizophrenia and major depression as inflammatory CNS disorders . *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci*. 258 Suppl 2, 97-106

Nakimuli-Mpungu, E., Musisi, S., Mpungu, S.K., Katabira, E., 2006. Primary mania versus HIV-related secondary mania in Uganda . *Am. J. Psychiatry.* 163, 1349-54; quiz 1480

Narendran, R., Young, C.M., Valenti, A.M., Nickolova, M.K., Pristach, C.A., 2002. Is psychosis exacerbated by modafinil? . *Arch. Gen. Psychiatry.* 59, 292-293

Nikkila, H.V., Muller, K., Ahokas, A., Rimon, R., Andersson, L.C., 2001. Increased frequency of activated lymphocytes in the cerebrospinal fluid of patients with acute schizophrenia . *Schizophr. Res.* 49, 99-105

Nunes, S.O., Borelli, S.D., Matsuo, T., Watanabe, M.A., Itano, E.N., 2005. The association of the HLA in patients with schizophrenia, schizoaffective disorder, and in their biological relatives . *Schizophr. Res.* 76, 195-198

O'Donnell, L.A., Agrawal, A., Jordan-Sciutto, K.L., Dichter, M.A., Lynch, D.R., Kolson, D.L., 2006. Human immunodeficiency virus (HIV)-induced neurotoxicity: roles for the NMDA receptor subtypes . *J. Neurosci.* 26, 981-990

Ohayon, M.M., 2013. Narcolepsy is complicated by high medical and psychiatric comorbidities: a comparison with the general population . *Sleep Med.* 14, 488-492

Owe-Larsson, B., Sall, L., Salamon, E., Allgulander, C., 2009. HIV infection and psychiatric illness . *Afr. J. Psychiatry. (Johannesbg).* 12, 115-128

Ozcan, M.E., 2006. Human leukocyte antigen DR1 in Japanese and Turkish patients with schizophrenia . *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 30, 423-428

Parsons, M.P., Raymond, L.A., 2014. Extrasynaptic NMDA receptor involvement in central nervous system disorders . *Neuron.* 82, 279-293

Pathmanandavel, K., Starling, J., Merheb, V., Ramanathan, S., Sinmaz, N., Dale, R.C., Brilot, F., 2015. Antibodies to surface dopamine-2 receptor and N-methyl-D-aspartate receptor in the first episode of acute psychosis in children . *Biol. Psychiatry.* 77, 537-547

Pearlman, D.M., Najjar, S., 2014. Meta-analysis of the association between N-methyl-d-aspartate receptor antibodies and schizophrenia, schizoaffective disorder, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Schizophr Res.* 157, 249-258

Pelonero, A.L., Pandurangi, A.K., Calabrese, V.P., 1990. Autoantibodies to brain lipids in schizophrenia . *Am. J. Psychiatry.* 147, 661-662

Pilowsky, L.S., Bressan, R.A., Stone, J.M., Erlandsson, K., Mulligan, R.S., Krystal, J.H., Ell, P.J., 2006. First in vivo evidence of an NMDA receptor deficit in medication-free schizophrenic patients . *Mol. Psychiatry.* 11, 118-119

Pinho, J., Rocha, J., Rodrigues, M., Pereira, J., Mare, R., Ferreira, C., Lourenco, E., Belez, P., 2012. Diversity in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: case-based evidence . *Psychiatry Clin. Neurosci.* 66, 153-156

Pollak, T.A., McCormack, R., Peakman, M., Nicholson, T.R., , David, A.S., 2014. Prevalence of anti-N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor [corrected] antibodies in patients with schizophrenia and related psychoses: a systematic review and meta-analysis. *Psychol Med.* 44, 2475-2487.

Rao, J.S., Harry, G.J., Rapoport, S.I., Kim, H.W., 2010. Increased excitotoxicity and neuroinflammatory markers in postmortem frontal cortex from bipolar disorder patients . *Mol. Psychiatry*. 15, 384-392

Rao, J.S., Kellom, M., Reese, E.A., Rapoport, S.I., Kim, H.W., 2012. Dysregulated glutamate and dopamine transporters in postmortem frontal cortex from bipolar and schizophrenic patients . *J. Affect. Disord*. 136, 63-71

Rasser, P.E., Schall, U., Todd, J., Michie, P.T., Ward, P.B., Johnston, P., Helmbold, K., Case, V., Soyland, A., Tooney, P.A., Thompson, P.M., 2011. Gray matter deficits, mismatch negativity, and outcomes in schizophrenia . *Schizophr. Bull.* 37, 131-140

Reimer, J., Fink, T., Blaker, M., Schafer, I., Otte, C., 2009. Successful treatment of psychosis with infliximab in a patient with Crohn's disease . *Schizophr. Res.* 109, 194-195

Reininghaus, U., Bohnke, J.R., Hosang, G., Farmer, A., Burns, T., McGuffin, P., Bentall, R.P., 2016. Evaluation of the validity and utility of a transdiagnostic psychosis dimension encompassing schizophrenia and bipolar disorder . *Br. J. Psychiatry*. 209, 107-113

Reyes-Corcho, A., Bouza-Jimenez, Y., 2010. Human immunodeficiency virus and AIDS-associated immune reconstitution syndrome. State of the art . *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 28, 110-121

Rhoads, J., Guirgis, H., McKnight, C., Duchemin, A.M., 2011. Lack of anti-NMDA receptor autoantibodies in the serum of subjects with schizophrenia . *Schizophr. Res.* 129, 213-214

Rose, N.R., Bona, C., 1993. Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revisited) . *Immunol. Today*. 14, 426-430

Sacre, K., Lidove, O., Chanson, N., Laganier, J., Vidailhet, M., Lejoyeux, M., Papo, T., 2011. Acute psychosis in anti-NMDA-receptor encephalitis . *Presse Med.* 40, 882-884

Schott, K., Batra, A., Richartz, E., Sarkar, R., Gunthner, A., Bartels, M., Buchkremer, G., 1998. Antibrain antibodies in mental disorder: no evidence for antibodies against synaptic membranes . *J. Neural Transm. (Vienna)*. 105, 517-524

Schott, K., Schaefer, J.E., Richartz, E., Batra, A., Eusterschulte, B., Klein, R., Berg, P.A., Bartels, M., Mann, K., Buchkremer, G., 2003. Autoantibodies to serotonin in serum of patients with psychiatric disorders . *Psychiatry Res.* 121, 51-57

Schwartz, T.L., Sachdeva, S., Stahl, S.M., 2012. Glutamate neurocircuitry: theoretical underpinnings in schizophrenia . *Front. Pharmacol.* 3, 195

Schwarz, M.J., Muller, N., Riedel, M., Ackenheil, M., 2001. Markers of Cellular and Humoral Immune Activity: A Th2 Shift in Schizophrenia?, in: Ebert, D., Ebmeier K.P., Kaschka W.P., Reclin T. (Eds.), *Psychoneuroimmunology*. Karger, Basel (Switzerland), pp. 61-65

Shi, J., Levinson, D.F., Duan, J., Sanders, A.R., Zheng, Y., Pe'er, I., Dudbridge, F., Holmans, P.A., Whitemore, A.S., Mowry, B.J., Olincy, A., Amin, F., Cloninger, C.R., Silverman, J.M., Buccola, N.G., Byerley, W.F., Black, D.W., Crowe, R.R., Oksenberg, J.R., Mirel, D.B., Kendler, K.S., Freedman, R., Gejman, P.V., 2009. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia . *Nature*. 460, 753-757

Shima, S., Yano, K., Sugiura, M., Tokunaga, Y., 1991. Anticerebral antibodies in functional psychoses . *Biol. Psychiatry*. 29, 322-328

Sirota, P., Firer, M.A., Schild, K., Tanay, A., Elizur, A., Meytes, D., Slor, H., 1993. Autoantibodies to DNA in multicase families with schizophrenia . *Biol. Psychiatry*. 33, 450-455

Somers, K.J., Lennon, V.A., Rundell, J.R., Pittock, S.J., Drubach, D.A., Trenerry, M.R., Lachance, D.H., Klein, C.J., Aston, P.A., McKeon, A., 2011. Psychiatric manifestations of voltage-gated potassium-channel complex autoimmunity . *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci*. 23, 425-433

Spatola, M., Petit-Pedrol, M., Simabukuro, M.M., Armangue, T., Castro, F.J., Barcelo Artigues, M.I., Julia Benique, M.R., Benson, L., Gorman, M., Felipe, A., Caparo Oblitas, R.L., Rosenfeld, M.R., Graus, F., Dalmau, J., 2017. Investigations in GABAA receptor antibody-associated encephalitis . *Neurology*. 88, 1012-1020

Stefansson, H., Ophoff, R.A., Steinberg, S., Andreassen, O.A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietilainen, O.P., Mors, O., Mortensen, P.B., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., Tuulio-Henriksson, A., Ingason, A., Hansen, T., Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Borglum, A.D., Hartmann, A., Fink-Jensen, A., Nordentoft, M., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Bottcher, Y., Olesen, J., Breuer, R., Moller, H.J., Giegling, I., Rasmussen, H.B., Timm, S., Mattheisen, M., Bitter, I., Rethelyi, J.M., Magnusdottir, B.B., Sigmundsson, T., Olason, P., Masson, G., Gulcher, J.R., Haraldsson, M., Fossdal, R., Thorgeirsson, T.E., Thorsteinsdottir, U., Ruggeri, M., Tosato, S., Franke, B., Strengman, E., Kiemenev, L.A., Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP), Melle, I., Djurovic, S., Abramova, L., Kaleda, V., Sanjuan, J., de Frutos, R., Bramon, E., Vassos, E., Fraser, G., Ettinger, U., Picchioni, M., Walker, N., Touloupoulou, T., Need, A.C., Ge, D., Yoon, J.L., Shianna, K.V., Freimer, N.B., Cantor, R.M., Murray, R., Kong, A., Golimbet, V., Carracedo, A., Arango, C., Costas, J., Jonsson, E.G., Terenius, L., Agartz, I., Petursson, H., Nothen, M.M., Rietschel, M., Matthews, P.M., Muglia, P., Peltonen, L., St Clair, D., Goldstein, D.B., Stefansson, K., Collier, D.A., 2009. Common variants conferring risk of schizophrenia . *Nature*. 460, 744-747

Steiner, J., Walter, M., Glanz, W., Sarnyai, Z., Bernstein, H.G., Vielhaber, S., Kastner, A., Skalej, M., Jordan, W., Schiltz, K., Klingbeil, C., Wandinger, K.P., Bogerts, B., Stoecker, W., 2013. Increased Prevalence of Diverse N -Methyl-D-Aspartate Glutamate Receptor Antibodies in Patients With an Initial Diagnosis of Schizophrenia: Specific Relevance of IgG NR1a Antibodies for Distinction From N -Methyl-D-Aspartate Glutamate Receptor Encephalitis . *JAMA Psychiatry*. 70, 271-278

Stephan, K.E., Friston, K.J., Frith, C.D., 2009. Dysconnection in schizophrenia: from abnormal synaptic plasticity to failures of self-monitoring . *Schizophr. Bull*. 35, 509-527

Stevens, A., Weller, M., 1992. Ganglioside antibodies in schizophrenia and major depression . *Biol. Psychiatry*. 32, 728-730

Stone, J.M., Bramon, E., Pauls, A., Sumich, A., McGuire, P.K., 2010. Thalamic neurochemical abnormalities in individuals with prodromal symptoms of schizophrenia - relationship to auditory event-related potentials . *Psychiatry Res*. 183, 174-176

Stone, J.M., Day, F., Tsagaraki, H., Valli, I., McLean, M.A., Lythgoe, D.J., O'Gorman, R.L., Barker, G.J., McGuire, P.K., OASIS, 2009. Glutamate dysfunction in people with prodromal symptoms of psychosis: relationship to gray matter volume . *Biol. Psychiatry*. 66, 533-539

Strous, R.D., Shoenfeld, Y., 2006. Schizophrenia, autoimmunity and immune system dysregulation: a comprehensive model updated and revisited . *J. Autoimmun.* 27, 71-80

Takahashi, T., Wood, S.J., Yung, A.R., Soulsby, B., McGorry, P.D., Suzuki, M., Kawasaki, Y., Phillips, L.J., Velakoulis, D., Pantelis, C., 2009. Progressive gray matter reduction of the superior temporal gyrus during transition to psychosis . *Arch. Gen. Psychiatry.* 66, 366-376

Talih, F.R., 2011. Narcolepsy presenting as schizophrenia: a literature review and two case reports . *Innov. Clin. Neurosci.* 8, 30-34

Tanaka, S., Matsunaga, H., Kimura, M., Tatsumi, K., Hidaka, Y., Takano, T., Uema, T., Takeda, M., Amino, N., 2003. Autoantibodies against four kinds of neurotransmitter receptors in psychiatric disorders . *J. Neuroimmunol.* 141, 155-164

Teplizki, H.A., Sela, B., Shoenfeld, Y., 1992. Autoantibodies to brain and polynucleotides in patients with schizophrenia: a puzzle . *Immunol. Res.* 11, 66-73

Thaker, G.K., 2008. Neurophysiological endophenotypes across bipolar and schizophrenia psychosis . *Schizophr. Bull.* 34, 760-773

Thieben, M.J., Lennon, V.A., Boeve, B.F., Aksamit, A.J., Keegan, M., Vernino, S., 2004. Potentially reversible autoimmune limbic encephalitis with neuronal potassium channel antibody . *Neurology.* 62, 1177-1182

Timms, A.E., Dorschner, M.O., Wechsler, J., Choi, K.Y., Kirkwood, R., Girirajan, S., Baker, C., Eichler, E.E., Korvatska, O., Roche, K.W., Horwitz, M.S., Tsuang, D.W., 2013. Support for the N -methyl-d-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia from exome sequencing in multiplex families . *JAMA Psychiatry.* 70, 582-590

Titulaer, M.J., McCracken, L., Gabilondo, I., Armangue, T., Glaser, C., Iizuka, T., Honig, L.S., Benseler, S.M., Kawachi, I., Martinez-Hernandez, E., Aguilar, E., Gresa-Arribas, N., Ryan-Flourance, N., Torrents, A., Saiz, A., Rosenfeld, M.R., Balice-Gordon, R., Graus, F., Dalmau, J., 2013. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study . *Lancet Neurol.* 12, 157-165

Tsutsui, K., Kanbayashi, T., Tanaka, K., Boku, S., Ito, W., Tokunaga, J., Mori, A., Hishikawa, Y., Shimizu, T., Nishino, S., 2012. Anti-NMDA-receptor antibody detected in encephalitis, schizophrenia, and narcolepsy with psychotic features . *BMC Psychiatry.* 12, 37-244X-12-37

Turetsky, B.I., Calkins, M.E., Light, G.A., Olincy, A., Radant, A.D., Swerdlow, N.R., 2007. Neurophysiological endophenotypes of schizophrenia: the viability of selected candidate measures . *Schizophr. Bull.* 33, 69-94

Tuzun, E., Erdag, E., Durmus, H., Brenner, T., Turkoglu, R., Kurtuncu, M., Lang, B., Akman-Demir, G., Eraksoy, M., Vincent, A., 2011. Autoantibodies to neuronal surface antigens in thyroid antibody-positive and -negative limbic encephalitis . *Neurol. India.* 59, 47-50

Umbricht, D., Koller, R., Vollenweider, F.X., Schmid, L., 2002. Mismatch negativity predicts psychotic experiences induced by NMDA receptor antagonist in healthy volunteers . *Biol. Psychiatry.* 51, 400-406



Vincent, A., Bien, C.G., Irani, S.R., Waters, P., 2011. Autoantibodies associated with diseases of the CNS: new developments and future challenges . *Lancet Neurol.* 10, 759-772

Wandinger, K.P., Saschenbrecker, S., Stoecker, W., Dalmau, J., 2011. Anti-NMDA-receptor encephalitis: a severe, multistage, treatable disorder presenting with psychosis . *J. Neuroimmunol.* 231, 86-91

Wang, Y., White, M.G., Akay, C., Chodroff, R.A., Robinson, J., Lindl, K.A., Dichter, M.A., Qian, Y., Mao, Z., Kolson, D.L., Jordan-Sciutto, K.L., 2007. Activation of cyclin-dependent kinase 5 by calpains contributes to human immunodeficiency virus-induced neurotoxicity. *J. Neurochem.* 103, 439-455

Watkins, C.J., Pei, Q., Newberry, N.R., 1998. Differential effects of electroconvulsive shock on the glutamate receptor mRNAs for NR2A, NR2B and mGluR5b . *Brain Res. Mol. Brain Res.* 61, 108-113

Yang, Z.W., Chengappa, K.N., Shurin, G., Brar, J.S., Rabin, B.S., Gubbi, A.V., Ganguli, R., 1994. An association between anti-hippocampal antibody concentration and lymphocyte production of IL-2 in patients with schizophrenia . *Psychol. Med.* 24, 449-455

Young, L.T., Warsh, J.J., Kish, S.J., Shannak, K., Hornykeiwicz, O., 1994. Reduced brain 5-HT and elevated NE turnover and metabolites in bipolar affective disorder . *Biol. Psychiatry.* 35, 121-127

Zandi, M.S., Deakin, J.B., Morris, K., Buckley, C., Jacobson, L., Scoriels, L., Cox, A.L., Coles, A.J., Jones, P.B., Vincent, A., Lennox, B.R., 2014. Immunotherapy for patients with acute psychosis and serum N-Methyl D-Aspartate receptor (NMDAR) antibodies: a description of a treated case series . *Schizophr. Res.* 160, 193-195

Zandi, M.S., Irani, S.R., Lang, B., Waters, P., Jones, P.B., McKenna, P., Coles, A.J., Vincent, A., Lennox, B.R., 2011. Disease-relevant autoantibodies in first episode schizophrenia . *J. Neurol.* 258, 686-688

Zandi, M.S., Paterson, R.W., Ellul, M.A., Jacobson, L., Al-Diwani, A., Jones, J.L., Cox, A.L., Lennox, B., Stamelou, M., Bhatia, K.P., Schott, J.M., Coles, A.J., Kullmann, D.M., Vincent, A., 2015. Clinical relevance of serum antibodies to extracellular N-methyl-D-aspartate receptor epitopes . *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 86, 708-713

Zorrilla, E.P., Cannon, T.D., Gur, R.E., Kessler, J., 1996. Leukocytes and organ-nonspecific autoantibodies in schizophrenics and their siblings: markers of vulnerability or disease? . *Biol. Psychiatry.* 40, 825-833

Zuliani, L., Graus, F., Giometto, B., Bien, C., Vincent, A., 2012. Central nervous system neuronal surface antibody associated syndromes: review and guidelines for recognition . *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 83, 638-645