



## Autoanticorpi anti-recettore della glicina- $\alpha_1$

<b>Abbreviazioni</b>	GlyR- $\alpha_1$
<b>Sinonimi</b>	Recettore glicinergico A, recettore della glicina di tipo A (GlyRA)
<b>Indicazioni</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>▶ <b>E</b>ncefalomielite <b>p</b>rogressiva con <b>r</b>igidità e <b>m</b>ioclonia (PERM)</li><li>▶ <b>S</b>indrome dell'uomo rigido (<b>S</b>indrome di <b>S</b>tiff <b>P</b>erson, SPS)</li><li>▶ Iperecplasia</li><li>▶ Sintomi di rigidità muscolare, degli spasmi muscolari, ipereccitabilità neuro-muscolare</li></ul>
<b>vedi</b>	▶ <u>Autoanticorpi nelle sindromi neurologiche paraneoplastiche</u>

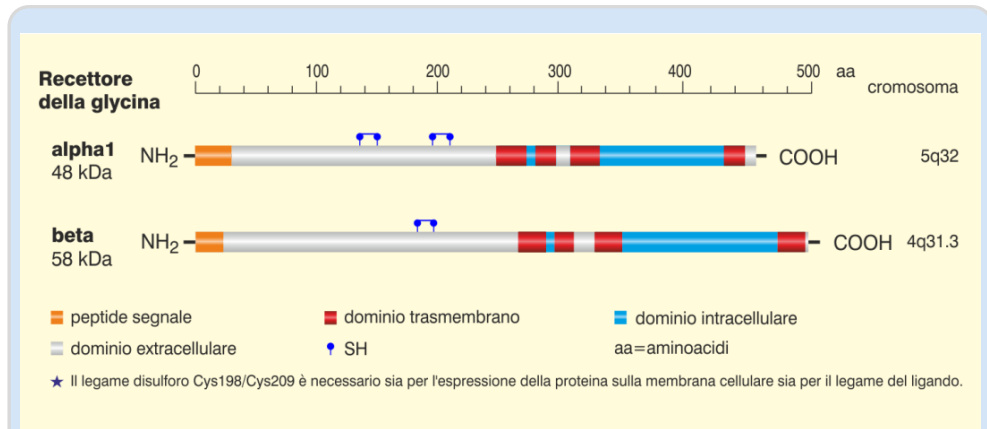
La glicina è il principale neurotrasmettitore inibitorio del sistema nervoso centrale (SNC) e le sinapsi glicinerliche trasmettono rapide neurotrasmissioni inibitorie prevalentemente nel midollo spinale e tronco encefalico. Controllano varie funzioni motorie, sensorie, anche visive e uditive. La glicina svolge i suoi effetti inibitori attraverso specifici recettori glicinerlici, abbondantemente arricchiti nelle membrane postsinaptiche. Dopo il legame della glicina questi canali anionici si aprono e permettono l'afflusso del cloro ( $\text{Cl}^-$ ) nella cellula postsinaptica, che viene iperpolarizzata e diminuisce la sua eccitabilità. In questo modo i recettori controllano la scarica dei motoneuroni e interneuroni e la loro coordinazione nelle corna anteriori del midollo spinale e nel tronco encefalico. Mutazioni nei geni che codificano le subunità dei recettori (*GLRA*, *GLRB*) sono state individuate in pazienti affetti da iperecplasia ereditaria (Bakker et al. 2006), una malattia neurologica rara, caratterizzata da una ipereccitabilità straordinaria, che può portare i muscoli scheletrici fino alla rigidità (sindrome di stiff baby) e vezzi acustici o tattili possono scatenare spasmi muscolari convulsivi tali da determinare situazioni minacciose per la vita a causa della apnea. Sintomi con caratteri simili possono essere rivelati dalla sindrome dell'uomo rigido (stiff-person-syndrome, SPS, inclusa la variante più accentuata la, SPS-plus o la variante meno accentuata (sindrome di stiff-limb) e dalla encefalomielite progressiva con rigidità e mioclonia (PERM). PERM è una malattia caratterizzata da rigidità muscolare, spasmi muscolari stimolo-sensibili, disfunzione del tronco encefalico, infiltrati linfocitari perivascolari, perdita dei neuroni nel tronco encefalico e nel midollo spinale. Le diverse forme dell'SPS sono spesso accompagnate con autoanticorpi anti-GAD (anti-carbossilasi del glutammato, 70 %). La PERM recentemente è stata scoperta in concomitanza con autoanticorpi contro il recettore della glicina (Hutchingson et al. 2008). C'è da supporre che tali autoanticorpi antirecettoriali deteriorino o bloccino i recettori e, neutralizzando l'effetto inibitorio della glicina, evocano i disturbi neuromuscolari.

**Antigene** I recettori glicinerlici appartengono, unitamente ai recettori  $\text{GABA}_A$  e ai recettori colinergici nicotinici, alla famiglia dei canali ionici ligando-dipendenti (recettori-canali di classe I, famiglia di recettori Cys-loop). Rappresentano pentameri canali transmembrana, che permettono il passaggio dello ione di  $\text{Cl}^-$  secondo al gradiente elettrochimico (cioè dall'esterno all'interno o anche viceversa). Il recettore adulto consiste di 2 subunità  $\alpha_1$  e di 3 subunità  $\beta$ , che si dispongono in maniera pseudosimmetrica intorno ad un canale ionico centrale.

Finora sono stati riscontrati quattro isoforme della subunità  $\alpha$  (Gla1-4) con omologie > 80 %. La loro espressione varia secondo allo stato ontogenetico e alla topografia. La subunità  $\alpha_1$  (immagine 1) consiste di un ampio dominio N-terminale extracellulare (220 aminoacidi [aa]), che possiede determinanti cruciali per il legame del ligando (glicina, ma anche  $\beta$ -alanina, taurina, di meno serina e prolina) e dell'antagonista stricnina. I quattro domini transmembrana ( $M_{1-4}$ ; 198 aa) formano due anse di collegamento intracellulari. La più grande di loro (93 aa), situata fra i domini  $M_3$  e  $M_4$ , possiede siti che possono essere fosforilati da proteina chinasi. La subunità termina in un piccolo dominio C-terminale extracellulare (8 aa). Quattro delle subunità  $\alpha$  da sole sono in grado di formare canali con attività funzionale.

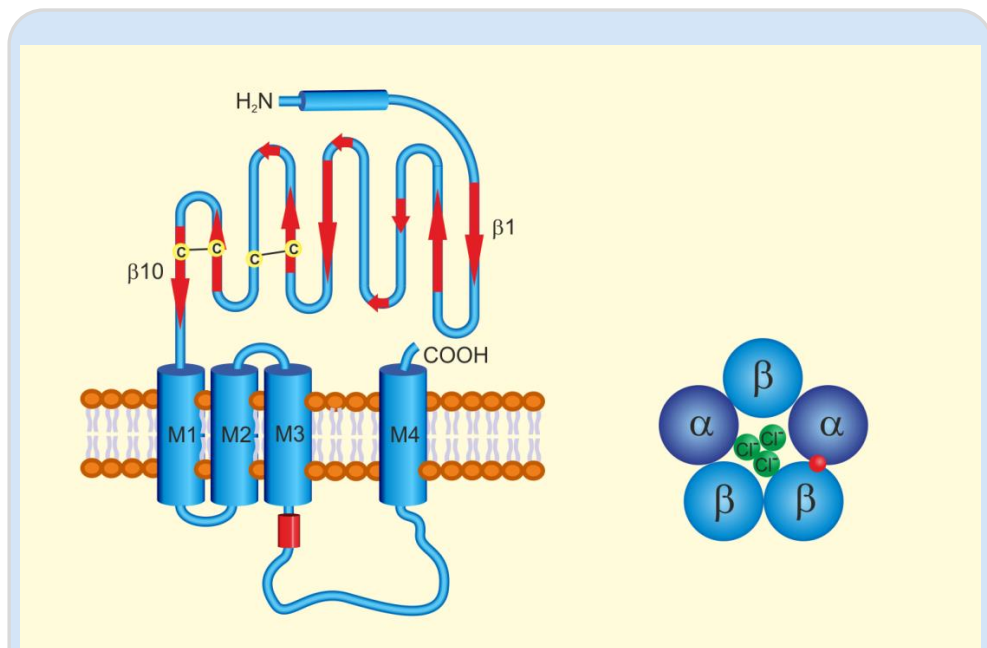


## Autoanticorpi anti-recettore della glicina- $\alpha_1$



**Immagine 1: Recettore della glicina** Struttura delle due subunità e domini molecolari

Il dominio N-terminale extracellulare della subunità  $\alpha$  (immagine 2) costituisce un' $\alpha$ -elica seguita da 10 fogliette  $\beta$ , che formano una struttura di forma a sandwich con due centri idrofobici e rientranze per il legame del ligando nelle interfacce delle subunità  $\alpha$  e  $\beta$ .



**Immagine 2** Modello schematico del recettore della glicina

Il recettore adulto consiste di 2 subunità  $\alpha_1$  e di 3 subunità  $\beta$ , che si dispongono in maniera pseudo-simmetrica intorno ad un canale ionico centrale. Il sito del legame della glicina (rosso) si trova fra le subunità adiacenti  $\alpha$  e  $\beta$ . La subunità  $\alpha$  consiste in un lungo dominio C-terminale extracellulare seguito da quattro domini transmembrana legati da anse. Il dominio extracellulare costituisce un' $\alpha$ -elica seguita da 10 fogliette  $\beta$  (freccie rosse). I due legami disulfuri sono necessari per il legame del ligando.

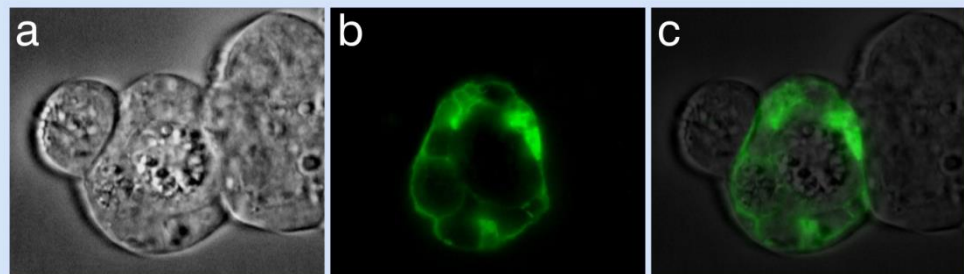
Della subunità  $\beta$  (Glr<sub>b</sub>) esiste solo una forma unica, l'omologia della quale a paragone delle subunità  $\alpha$  è < 50 %. Le subunità  $\beta$  non possono formare canali funzionali ma contribuiscono anche al legame del ligando e a parte questo regolano il traffico intracellulare e la localizzazio-



## Autoanticorpi anti-recettore della glicina- $\alpha_1$

ne dei recettori e li legano alla gefirina (93 kDa), una proteina periferica altamente idrofila, localizzata a livello citoplasmatico in prossimità delle membrane postsinaptiche, la cui funzione è di importanza nell'addensamento (clustering) dei GlyR a livello della membrana sinaptica. La gefirina ormeggia i recettori con gli elementi del citoscheletro (quadri riassuntivi: Lynch 2004; Grudzinska 2005; Grudzinska et al. 2005; Legendre et al. 2009; Dutertre et al. 2012).

Recettori della glicina sono altamente espressi nel tronco encefalico e nel midollo spinale, meno nell'ippocampo e nell'ipotalamo e poco nelle aree cerebrali superiori. Altre regioni in cui si trova il recettore sono: la retina, le ghiandole surrenali, il rene e fegato (cellule di von Kupffer), macrofagi ecc. Nei neuroni postsinaptici la glicina attiva i suoi recettori, permettendo l'apertura al cloro (Cl<sup>-</sup>) in modo che questo entri nella cellula, aumenti la negatività intracellulare, iperpolarizzi la membrana e diminuendo la possibilità che si sviluppi un potenziale d'azione, riduca la eccitabilità del neurone.



**Immagine 3**

Localizzazione cellulare della subunità  $\alpha_1$  del recettore della glicina espressa transiente in cellule HEK293 (cellule embrionali del rene) come proteina di fusione con la GFP gene (proteina fluorescente verde). Cellule esprimenti il recettore si riconoscono a causa della loro fluorescenza verde. Il quadro fluoroscopico (b) mostra unicamente le cellule fluorescenti in verde, che esprimono il recettore, le altre cellule visibili nella microscopia a contrasto di fase (a) non mostrano alcuna fluorescenza. c: Sovrapposizione di a e b. Ingrandimento dell'obiettivo 40-volte.

### Autoanticorpi

Gli anticorpi (anti-GlyR $\alpha_1$ ) riconoscono la subunità  $\alpha$  del recettore, espressa su cellule coltivate (HEK 293, cellule di rene embrionale; immagine 3), transitoriamente trasfettate con il cDNA recettoriale, cioè reagiscono con epitopi conformazionali naturali. Appartengono alla sottoclasse immunoglobulina IgG. Anti-GlyR $\alpha_1$  sono riscontrabili nel siero e/o liquido cerebrospinale e in qualche paziente erano mostrabili solo nel liquido (McKeon et al. 2013). Le loro concentrazioni nel siero e liquido, scarsamente notificate in un solo soggetto, riferite come titolo anticorpale ottenuto mediante l'immunofluorescenza indiretta hanno raggiunto valori di 1:1.000 (siero) e 1:200 (liquore). Le concentrazioni anticorpali si muovono, come pare, in concordanza con l'attività dei sintomi clinici. Le esacerbazioni dei sintomi sono accompagnate da un incremento degli anticorpi nel siero e liquido cerebrospinale, e il miglioramento dei sintomi a causa di terapia è concomitante alla riduzione del livello anticorpale a volte fino alla scomparsa completa (Iizuka et al. 2012, Hutchinson et al. 2008; McKeon et al. 2013; Piotrowicz et al. 2011; Mas et al. 2011). Pertanto il loro dosaggio potrebbe permettere il monitoraggio del decorso della malattia e suggerire modi terapeutici. In un terzo dei casi anti-GlyR si presentavano insieme a autoanticorpi anti-GAD (tabella 1), una volta erano accompagnati con anticorpi anti-recettore NMDA e in quest'ultimo caso pareva, che i sintomi clinici fossero condizionati a modo di encefalite a base degli autoanticorpi anti-recettore NMDA.

### Prevalenza

Anti-GlyR $\alpha_1$  sono autoanticorpi straordinariamente rari che coinvolgono ogni età da 14 mesi (Damásio et al. 2013) a sessanta anni. Finora anti-GlyR $\alpha_1$  sono messi in evidenza soltanto in



## Autoanticorpi anti-recettore della glicina- $\alpha_1$

una ventina di pazienti (tabella 1). La metà di loro rivelò sintomi compatibili con la diagnosi della sindrome di PERM (encefalomielite progressiva, rigidità della muscolatura e mioclonia) incurante di ampie variazioni e sovrapposizioni dei sintomi neurologici. La seconda metà mostrò sintomi dell'uomo rigido, classificati da SPS completo o SPS incompleto. In quei pazienti si trovava anche la maggioranza degli autoanticorpi anti-GAD. Due dei ventuno casi (10 %) rivelarono sintomi neurologici diversi (alterazioni sensitive, perdita della vista). Tumori maligni sono stati trovati in tre pazienti (timoma, carcinoma del polmone e linfoma di Hodgkin (Clerinx et al. 2011; Vincent et al. 2009; McKeon et al. 2013).

Gli anticorpi non sono stati riscontrati in 13 pazienti con opsoclonia/mioclonia o battito (flutter) oculare (Iizuka et al. 2012)

**Tabella 1** Diagnosi, autoanticorpi aggiuntivi, e neoplasie in 21 pazienti con autoanticorpi verso il recettore della glicina.

Malattia	Pazienti	anti-GAD	anti-NMDAR	Tumori in 3 dei pazienti
PERM	9	1	1	timoma <sup>*1</sup> , carcinoma polmonare <sup>*2</sup>
SPS completo	5	2		linfoma di Hodgkin <sup>*3</sup>
SPS incompleto	5	4		
Alterazioni sensitive	1			
Perdita della vista	1			

SPS completo: rigidità dell'estremità inferiore e rigidità lombare con spasmi  
 SPS incompleto: rigidità e spasmi limitati sia ai muscoli assiali sia o alla muscolatura dell'emicorpo superiore.  
 GAD: carbosilasi del glutammato  
 NMDAR: recettore postsinaptico dell'acido glutammico, NMDA = N-Metil-D-Aspartato.  
<sup>\*1</sup> Clerinx et al. 2011, <sup>\*2</sup> Vincent et al. 2009, <sup>\*3</sup> McKeon et al. 2013.

### Immunopatologia

Le cause dello sviluppo degli anticorpi anti-GlyR $\alpha_1$  non sono attualmente chiare. Una stimolazione della risposta immunologica attraverso l'espressione ectopica dell'antigene, per esempio in tessuti tumorali, come avviene con gli autoanticorpi che si sviluppano nelle sindromi neurologiche paraneoplastiche, non è stata evidenziata. Comunque sembra molto probabile, che i sintomi neurologici fossero scatenati direttamente dall'azione degli autoanticorpi perché l'esposizione dei recettori sulla membrana extracellulare glieli rende riconoscibili. Per quanto gli anticorpi si legano al dominio extracellulare, possono ridurre la quantità dei recettori sulla membrana dei neuroni sia in base alla loro distruzione mediante l'attivazione del complemento sia attraverso un processo di internalizzazione aumentata, seguito dalla degradazione intracellulare.

Una riduzione della attività neuronale inibitoria a causa dell'effetto patologico degli anticorpi deluciderebbe i sintomi clinici dell'ipereccitabilità muscolare, della rigidità e degli spasmi. Anche l'assenza o la scarsità di quadri patologici risultanti nella tomografia a risonanza magnetica (MRI) accenna, che probabilmente processi infiammatori non giocano il ruolo chiave nella maggioranza dei pazienti. Ipereccitabilità e mioclonia, i sintomi comuni della PERM probabilmente derivano dal disturbo di circuiti inibitori centrali che avviano l'eccitazione raddoppiata dei motoneuroni spinali e troncali. Il ruolo patogenetico degli anticorpi viene anche confermato dalla salita e discesa dei titoli anticorpali accompagnanti le esacerbazioni e i miglioramenti dei sintomi clinici.



## Autoanticorpi anti-recettore della glicina- $\alpha_1$

In quanto ai diversi sintomi oculari è concepibile, che gli anti-GlyR $\alpha_1$  disturbino i segnali inibitori glicinergici ai motoneuroni del nucleo del nervo abducente e ai neuroni internucleari. In quanto alle convulsioni, osservate in qualche paziente, è pensabile che gli anticorpi svolgano una down-regolazione dei recettori inibitori nell'ippocampo, e per questo favoriscano il loro sviluppo.

### Sintomi clinici

Sintomi clinici riscontrati in concomitanza degli autoanticorpi erano l'ipereclessia, iperreflessia, rigidità della muscolatura più o meno espansa (arti, tronco), scosse miocloniche involontarie, spasmi dolorosi, paraparesi (arti inferiori), disturbi dell'andatura, faccia rigida rassomigliante alla trisma, forte trisma a causa di alta sensibilità tattile (Clerinx et al. 2011), paralisi dello sguardo e altri disturbi del movimento oculare, diplopia, convulsioni, atassia cerebellare, disartria, disfagia, disturbi sensoriali, disautonomia, sintomi dell'angoscia.

### Metodi della ricerca

Il dosaggio degli autoanticorpi anti-GlyR $\alpha_1$  viene condotto specificamente mediante l'immunofluorescenza indiretta (IFI) su cellule HEK293 (cellule di rene embrionali) transitoriamente trasfettate con il cDNA del recettore (Hutchinson et al. 2008). La ricerca degli anticorpi potrebbe essere considerata anche un'aggiunta razionale del dosaggio di anticorpi anti-GAD e anti-amfifisina in malattie con ipereccitabilità del tronco encefalico e del midollo spinale.

### Bibliografia

Bakker MJ, van Dijk JG, van den Maagdenberg AM, Tijssen MA: Startle syndromes. *Lancet Neurol* (2006); 5(6): 513 - 524 (PMID: [16713923](#)).

Damáσιο J, Leite MI, Coutinho E, Waters P, Woodhall M, Santos MA, Carrilho I, Vincent A: Progressive Encephalomyelitis With Rigidity and Myoclonus: The First Pediatric Case With Glycine Receptor Antibodies. *JAMA Neurol* (2013); 4: 1 - 4 (PMID: [23380884](#)).

Dutertre S, Becker CM, Betz H: Inhibitory glycine receptors: an update. *J Biol Chem* (2012); 287(48): 40.216 - 40.223 (PMID: [23038260](#)).

Clerinx K, Breban T, Schrooten M, Leite MI, Vincent A, Verschakelen J, Tousseyn T, Vandenberghe W: Progressive encephalomyelitis with rigidity and myoclonus: resolution after thymectomy. *Neurology* (2011) 76(3): 303 - 304 (PMID: [21242500](#)).

Grudzinska J: Charakterisierung der Ligandenbindung am  $\alpha_1$  homo- und  $\alpha_1\beta$  heterooligomeren Glycinrezeptor. Thesis, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main 2005

Grudzinska J, Schemm R, Haeger S, Nicke A, Schmalzing G, Betz H, Laube B. The beta subunit determines the ligand binding properties of synaptic glycine receptors. *Neuron* (2005); 45(5): 727 - 739 (PMID: [15748848](#)).

Hutchinson M, Waters P, McHugh J, Gorman G, O'Riordan S, Connolly S, Hager H, Yu P, Becker CM, Vincent A: Progressive encephalomyelitis, rigidity, and myoclonus: a novel glycine receptor antibody. *Neurology* (2008); 71(16): 1.291 - 1.292 (PMID: [18852446](#)).

Mas N, Saiz A, Leite MI, Waters P, Baron M, Castaño D, Sabater L, Vincent A, Graus F: Anti-glycine-receptor encephalomyelitis with rigidity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (2011); 82(12): 1.399 - 1.401 (PMID: [21148607](#)).

McKeon A, Martinez-Hernandez E, Lancaster E, Matsumoto JY, Harvey RJ, McEvoy KM, Pittock SJ, Lennon VA, Dalmau J: Glycine Receptor Autoimmune Spectrum With Stiff-Man Syndrome Phenotype. *Arch Neurol* (2012); 22: 1 - 9 (PMID: [23090334](#)).

Iizuka T, Leite MI, Lang B, Waters P, Urano Y, Miyakawa S, Hamada J, Sakai F, Mochizuki H, Vincent A: Glycine receptor antibodies are detected in progressive encephalomyelitis with rigid-



## Autoanticorpi anti-recettore della glicina- $\alpha_1$

ity and myoclonus (PERM) but not in saccadic oscillations. *J Neurol* (2012) 259(8): 1.566 - 1.573 (PMID:[22215239](#)).

Legendre P, Förstera B, Jüttner R, Meier JC: Glycine Receptors Caught between Genome and Proteome - Functional Implications of RNA Editing and Splicing. *Front Mol Neurosci* (2009); 2: 23 (PMID: [19936314](#)).

Lynch JW: Molecular structure and function of the glycine receptor chloride channel. *Physiol Rev* (2004) 84(4): 1.051 - 1.095 (PMID: [15383648](#)).

Piotrowicz A, Thümen A, Leite MI, Vincent A, Moser A: A case of glycine-receptor antibody-associated encephalomyelitis with rigidity and myoclonus (PERM): clinical course, treatment and CSF findings. *J Neurol* (2011); 258(12): 2.268 - 2.270 (PMID: [21541785](#)).

Turner MR, Irani SR, Leite MI, Nithi K, Vincent A, Ansorge O: Progressive encephalomyelitis with rigidity and myoclonus: glycine and NMDA receptor antibodies. *Neurology* (2011); 77(5): 439 - 443 (PMID: [21775733](#)).

Vincent A, Leite IM, Waters P, Jacobi C, Becker CM, Meinck HM: Glycine receptor antibodies in progressive encephalomyelitis with rigidity, hyperekplexia, and stiff-person syndrome. *Ann Neurol* (2009); 66, S50.