



## Autoanticorpi anti-Lrp4

### Sinonimi

Low density lipoprotein receptor-related protein-4;  
MEGF7 (**m**ultiple epidermal growth factor [**EGF**]-like domain **7**).

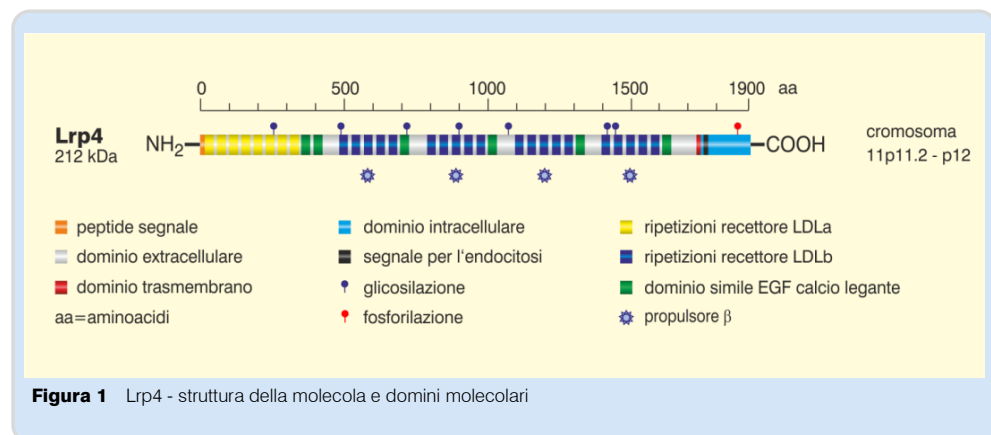
### Indicazioni

- ▶ Miastenia gravis
- ▶ Sintomi di miastenia gravis in pazienti che non mostrano né autoanticorpi anti-recettore dell'acetilcolina muscolare (AChR) né autoanticorpi anti-tirosin-chinasi muscolo specifica (MuSK), soggetti doppio sieronegativi.

### vedi

- ▶ Autoanticorpi nelle malattie della giunzione neuromuscolare

Gli anticorpi anti-Lrp4 (anti-low density lipoprotein receptor-related proteina 4) si sono rivelati come il terzo marcatore sierologico nella diagnostica della miastenia gravis oltre agli anticorpi contro il recettore dell'acetilcolina (AChR) e contro la tirosin-chinasi muscolo specifica (MuSK). Tutti e tre provocano, mediante diversi meccanismi patologici, l'inibizione dell'effetto stimolante del neurotrasmettitore acetilcolina inducendo dunque i sintomi della debolezza muscolare. Siccome la diagnosi clinica della miastenia gravis non è sempre agevole, specialmente nei casi non particolarmente gravi, l'individuazione della presenza di anticorpi anti-AChR alcuni decenni prima (Simpson 1960; Lindsdrom et al. 1976) e anche di anticorpi anti-MuSK da dieci anni (Hoch et al. 2001) è divenuto uno strumento diagnostico irrinunciabile. La sensibilità del test anti-AChR giunge al massimo al 90 % nelle forme generalizzate, nelle forme di miastenia oculare la sua sensibilità è decisamente minore (< 50%). Siccome gli anticorpi anti-MuSK si rilevano al massimo nel 50 % (a livello mondiale) dei soggetti anti-AChR negativi, affetti dalla forma generalizzata, la diagnostica sierologica finora fallisce in una quota percentuale notevole (circa 10 %), che adesso potrebbe essere ridotta in virtù dell'individuazione degli autoanticorpi anti-Lrp4.



### Antigene

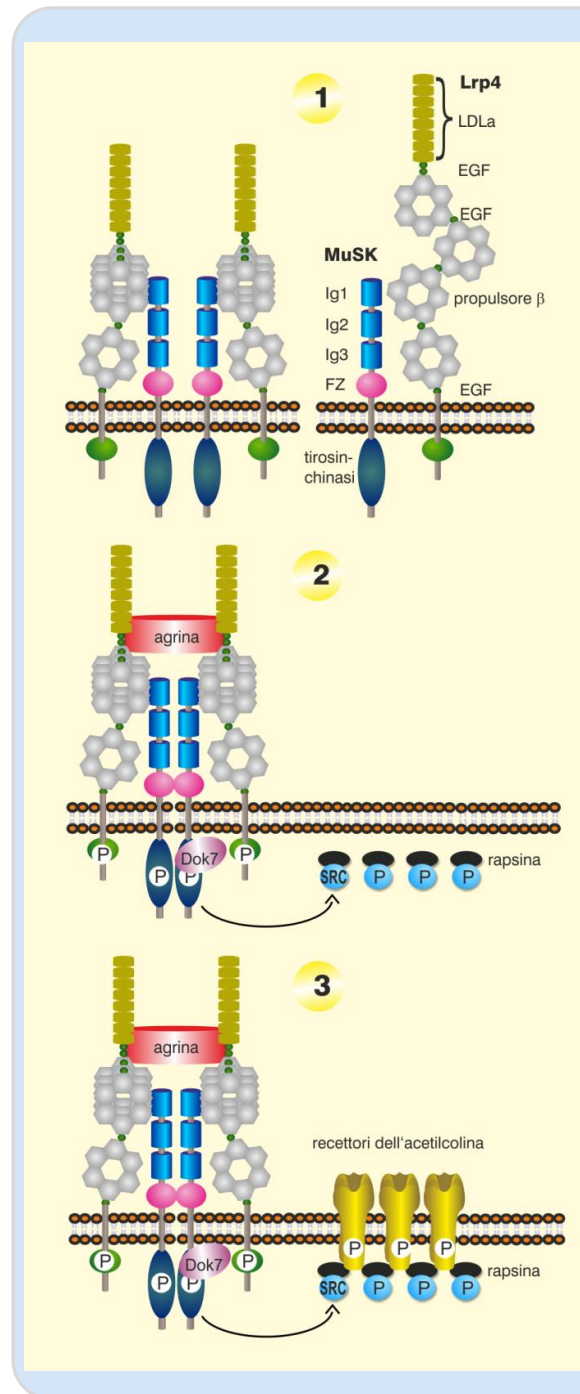
La proteina Lrp4 (Figura 3) appartiene alla famiglia dei recettori per le lipoproteine di bassa densità (LDL). Lrp4 è una proteina transmembrana (tipo 1) con un dominio intracitoplasmatico corto (159 aminoacidi [aa]), una sezione transmembrana (20 aa) e un grande dominio extracellulare (1706 aa), il quale porta multiple sequenze di ripetizioni simili al recettore di LDL, al fattore di crescita epidermica (EGF) calcio legante e quattro ripetizioni delle sequenze di propulsori  $\beta$ . Quest'ultimi costituiscono strutture simmetriche fatte da ripetizioni ognuna comprendente un piccolo foglio  $\beta$  a quattro eliche antiparallele (figura 1, 2).

La Lrp4, l'espressione della quale si svolge in multipli tessuti, dispiega funzioni importanti durante l'ontogenesi e morfogenesi degli arti e organi ectodermici, dei polmoni e dei reni (Johnson



## Autoanticorpi anti-Lrp4

et al. 2005; Simon-Chazottes et al. 2006; Karner et al. 2010). La Lrp4 espressa nel muscolo è essenziale per la formazione delle sinapsi neuromuscolari. Mutazioni del gene *LRP4* menomano notevolmente la sinaptogenesi (mancanza, malformazione) e portano alla nascita di topi privi di giunzioni neuromuscolari i quali giungono ad una condizione terminale immediatamente in periodo neonatale. I fenotipi dei loro difetti rassomigliano a quelli visti negli animali privi di MuSK.



**Figura 2**

Schema semplificato della sinaptogenesi nella giunzione neuromuscolare.

[1] Interazione fra Lrp4 e MuSK: Lrp4 interagisce col primo dominio immunoglobulinico (dominio Ig1) della MuSK con l'interessamento dei cinque ultimi motivi N-terminali simile al recettore LDLa, dei primi due motivi N-terminali simile all'EGF e delle prime tre sequenze dei propulsori  $\beta$ . Questa interazione può compiersi anche in assenza dell'agrina.

[2] L'interazione fra Lrp4 e l'agrina rafforza in modo rilevante le proprietà attivanti della Lrp4 nei confronti di MuSK. Il legame fra l'agrina e Lrp4 avviene per i due ultimi motivi N-terminali simile al recettore LDLa, i due motivi seguenti simile all'EGF e la prima sequenza N-terminale del propulsore  $\beta$  (Zhang et al. 2011). Questo legame provoca la fosforilazione delle tirosine intracitoplasmatiche di Lrp4 e di MuSK, la dimerizzazione della MuSK e la sua attivazione rafforzata. Attivata, la MuSK recluta e attiva la Dok7, una proteina muscolo specifica. L'approntamento e la fosforilazione della Dok7 avvia la trascrizione e l'accumulo delle proteine postsinaptiche. Attraverso multipli procedimenti diversi delle traduzioni dei segnali la MuSK attivata causa l'aggregazione e l'attivazione della rapsina sulla membrana postsinaptica.

[3] Rapsina, una proteina associata alla membrana, a sua volta si lega ai recettori dell'acetilcolina facendoli aggregare in modo ortotopico.



## Autoanticorpi anti-Lrp4

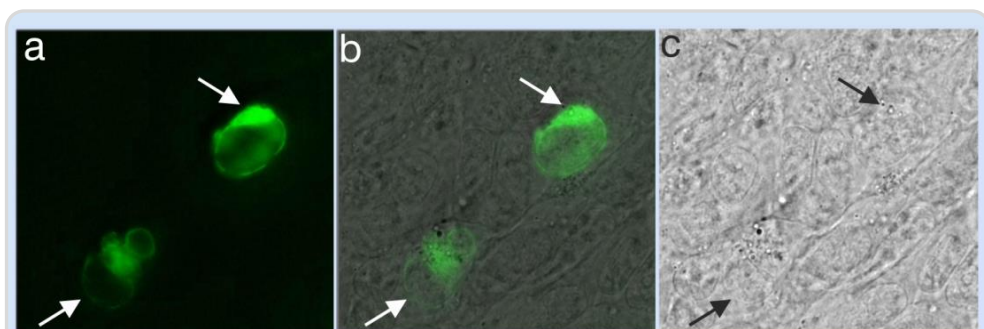
Nei muscoli striati Lrp4 costituisce il ligando della tirosin-chinasi muscolo specifica (MuSK). L'interazione fra Lrp4 e MuSK, causando la fosforilazione e l'attivazione della MuSK, decisamente viene modulata dall'agrina neurogenica, la quale in questo contesto agisce sulla Lrp4 come regolatore allosterico (Zhang, B. et al. 2008; Zhang, W. et al. 2011). Ora Lrp4 si è rivelata il recettore post-sinaptico per l'agrina, tanto a lungo ricercato e, in quanto sconosciuto, provvisoriamente denominato myotube-associated specificity component (MASC) (figura 2).

Durante la miogenesi la Lrp4 viene espressa insieme a MuSK nei miotubi (Zhang et al. 2008) e viene concentrata nella regione centrale della giunzione neuromuscolare nel suo divenire. Nel muscolo scheletrico adulto il gene *LRP4* viene espresso specificamente dai mionuclei sub-sinaptici.

Anche in miotubi non innervati, cioè a dire in assenza dell'agrina, Lrp4 può legarsi alla MuSK e attivarla. Questo legame è malfermo ma sufficiente per iniziare le trasduzioni dei segnali che rendono possibile l'aggregazione e la pre-configurazione (pre-patterning) dei recettori dell'acetilcolina presso la sinapsi nascente. Appena l'assone del motoneurone sarà giunto a quel sito dell'aggregazione recettoriale, l'agrina, sintetizzata dai motoneuroni, viene rilasciata dai terminali assonici, sbocca nella placca postsinaptica e interagisce lì con Lrp4 stimolando la sua fosforilazione. Avendo legata l'agrina Lrp4 viene messa in grado di rilegare e di attivare MuSK più efficacemente. L'agrina stessa non interagisce direttamente con MuSK, anzi abbisogna della Lrp4 come mediatore. Appena attivata, MuSK propaga l'aggregazione dei recettori dell'acetilcolina presso la sinapsi, giocando così il ruolo chiave nella formazione, nel mantenimento e nella rigenerazione delle sinapsi neuromuscolari (Apel et al. 1997; Glass et al. 1996; Zhang et al. 2008; Kim et al. 2008).

### Autoanticorpi

Gli autoanticorpi anti-Lrp4 probabilmente puntano ad epitopi conformazionali del suo dominio extracellulare. Quindi gli autoanticorpi dei pazienti non sono più in grado di legarsi alla proteina Lrp4 espressa sulla membrana delle cellule trasfettate dopo il loro fissaggio e la loro denaturazione mentre anticorpi anti-Lrp4 del coniglio, reagiscono anche con epitopi senza conformazione naturale (epitopi lineari), riconoscono l'antigene denaturato. Essendo in grado di inibire *in vitro* l'associazione dell'agrina con Lrp4 (Higuchi et al. 2011), può darsi che anti-Lrp4 riconoscano e blocchino i siti dell'allacciamento dell'agrina e si può immaginare, che si appuntino contro le due ultime ripetizione dei recettori LDLa e/o contro il propulsore  $\beta$  N-terminale. Gli anti-Lrp4 appartengono alla sottoclasse di immunoglobuline IgG<sub>1</sub>, cioè sono in grado di attivare il sistema del complemento.



**Figura 3** Cellule di rene embrionali (HEK293) transitoriamente trasfettate con cDNA di LRP4-GFP esprimono LRP4-GFP sulla membrana cellulare. Il quadro fluoroscopico (a) mostra unicamente le cellule fluorescenti in verde, che esprimono la LRP4-GFP, le altre cellule visibili nella microscopia a contrasto di fase (c) non mostrano alcuna fluorescenza. b: Sovrapposizione di a e c. Ingrandimento dell'obiettivo 40-volte.

### Immunopatologia

Le cause dello sviluppo degli anticorpi anti-Lrp4 non sono attualmente chiare nel loro ruolo patogenetico nella genesi dei sintomi miastenici. Secondo i risultati finora ottenuti si può



## Autoanticorpi anti-Lrp4

presupporre che provochino direttamente le lesioni neurologiche e non costituiscano solo un epifenomeno della malattia. Dato che la maggior parte della proteina Lrp4 si trova in posizione extracellulare, è da supporre che essa sia accessibile agli anticorpi nella sinapsi neuromuscolare e che gli anticorpi legati alla Lrp4 inibiscano l'allacciamento dell'agrina disturbando la formazione ortotopica delle sinapsi. Gli anti-Lrp4 inibiscono *in vitro* da una parte il legame fra Lrp4 e l'agrina (Higuchi et al. 2011), dall'altra l'aggregazione degli AChR nei miotubi in modo dosaggio dipendente (Pevzner et al. 2011; Zhang et al. 2012). Ci sarebbe anche da discutere, che gli anticorpi intralcino non solo l'allacciamento dell'agrina ma anche l'attivazione della MuSK. A parte questo ci si può immaginare, che provochino e aumentino l'internalizzazione dei recettori facilitando la loro degradazione e diminuendo la loro concentrazione nella fessura sinaptica. Siccome gli anticorpi appartengono alla sottoclasse IgG<sub>1</sub>, è pensabile che avviano la distruzione dei recettori mediante l'attivazione del complemento. Comunque, visto che non è nota in dettaglio la funzione di Lrp4 nel muscolo adulto, il preciso ruolo patogenetico degli anticorpi al momento rimane oscuro.

### Prevalenza

Finora esistono tre indagini riguardanti la prevalenza degli autoanticorpi anti-Lrp4 nei pazienti sieronegativi (anti-AChR-, anti-MuSK-) affetti da miastenia gravis, che mostrano prevalenze medie di 3,3 %, 9,2 % o 50 % (tabella 1). L'ampia divergenza di questi risultati preliminari sembra essere causata in prima linea da problemi di natura analitica finendo in divergenti sensibilità dei dosaggi, di meno da fattori etnici o ambientali. Relativamente ai risultati negativi dei test anti-AChR si è osservato, che i test routinari non mettono in evidenza una certa quota percentuale degli anticorpi anti-AChR, i quali però vengono riscontrati usando per il dosaggio cellule arricchite per trasfezione dei recettori e quindi rivelando una sensibilità più alta (Leite et al. 2008). Per questo è concepibile che qualche paziente preso per anti-AChR negativo, in realtà detenga anti-AChR a piccole dosi.

**Tabella 1** Presenza degli autoanticorpi anti-Lrp4 [%] nei pazienti con miastenia gravis, altre malattie e oggetti sani.

Autori	Higuchi (2011)		Pevzner (2011)		Zhang (2012)		Seelig (2013) <sup>◇</sup>	
	n	[%]	n	[%]	n	[%]	n	[%]
Miastenia								
a-AChR – a-MuSK –	272	<b>3,3</b>	38	<b>50,0</b>	120	<b>9,2</b>		
a-AChR + a-MuSK –	100	<b>0,0</b>			61	<b>0,0</b>		
a-AChR – a-MuSK +	28	<b>10,7</b>	11	<b>9,2</b>	36	<b>2,8</b>	33	<b>3,0</b>
Sindrome di Lambert-Eaton	101	<b>1,0</b>						
Neuromielite ottica					16	<b>12,5</b>		
Malattie neurologiche *					60	<b>0,0</b>		
Oggetti sani	100	<b>0,0</b>	4	<b>0,0</b>	45	<b>0,0</b>		

a-AChR: anticorpi anti-AChR      a-MuSK: anticorpi anti-MuSK.  
AChR: recettore dell'acetilcolina      MuSK: tirosin-chinasi muscolo specifica.

n: numero dei campioni; +/-: pazienti positivi o negativi per l'anticorpo relativo.

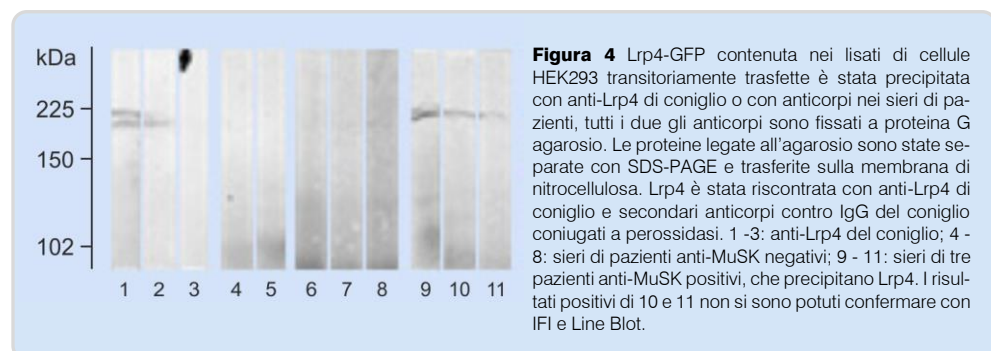
\* Malattie psichiatriche (10), neurologiche diverse (41), sclerosi laterale amiotrofica (9).  
<sup>◇</sup> Risultati di propri lavori non ancora pubblicati.



## Autoanticorpi anti-Lrp4

Gli anti-Lrp4 non sono stati riscontrati né in soggetti sani (n=149) né in pazienti affetti da miastenia che non mostrano anticorpi contro i recettori dell'acetilcolina (n=161), né in 76 pazienti con varie malattie neurologiche e psichiatriche (sclerosi laterale amiotrofica, schizofrenia, sclerosi multipla, sindrome di Guillain-Barré e. a.). Uno su 101 pazienti con sindrome Lambert-Eaton ha manifestato anti-Lrp4 positivo. La prevalenza anticorpale in pazienti anti-MuSK positivi risultava 2,8 - 10,7 %. Con specifiche indagini preliminari anti-LRP4 è stato riscontrato in 3 di 33 dei campioni anti-MuSK positivi mediante l'immunoprecipitazione con lisati di cellule HEK293 transitoriamente trasfettate con cDNA di LRP4-GFP, di cui invece solo uno è stato confermato mediante l'immunofluorescenza indiretta (IFI) e il Line Blot (figure 4, 5, 6; tabella 1).

In due dei 16 pazienti (12,5 %) affetti da neuromielite ottica (NMO) sono stati trovati anti-Lrp4 in concentrazioni equivalenti a quelle dei pazienti affetti da miastenia gravis. Considerando solo la statistica la prevalenza degli anticorpi nell'indagine di Zhang e collaboratori (2012) sarebbe più alta (12,5 %) in pazienti con NMO che in pazienti con miastenia gravis sieronegativa (9,2 %). Ma c'è da considerare che sono stati indagati soltanto 16 pazienti e che non sono stati messi in evidenza né lo stato clinico né lo stato sierologico dei due soggetti. Esiste anche la possibilità della associazione di NMO e miastenia gravis più di quanto tali associazioni siano state descritte (McKeon et al. 2009; Vaknin-Dembinsky et al. 2011; Jarius et al. 2012). Riguardando gli anticorpi marcatori delle due malattie (anti-acquaporina 4 [NMO], anti-AChR [MG]) si presentavano tutte le possibilità combinatorie. Si trovavano prevalentemente pazienti positivi per due anticorpi (anti-acquaporina 4 e anti-AChR), ma anche soggetti con nessuno o soltanto uno dei due anticorpi. Comunque la prevalenza degli anti-Lrp4 in pazienti con NMO deve essere investigata particolarmente in campioni più grandi.



### Sintomi clinici

Al contrario dei pazienti anti-AChR positivi, associazioni con timoma finora non sono stati riscontrati nei pazienti con anti-Lrp4. La preponderanza femminile nei pazienti anti-Lrp4 positivi (Pevzner et al. 2011), deve essere confermata attraverso ricerche in campioni più grandi.

### Metodi della ricerca

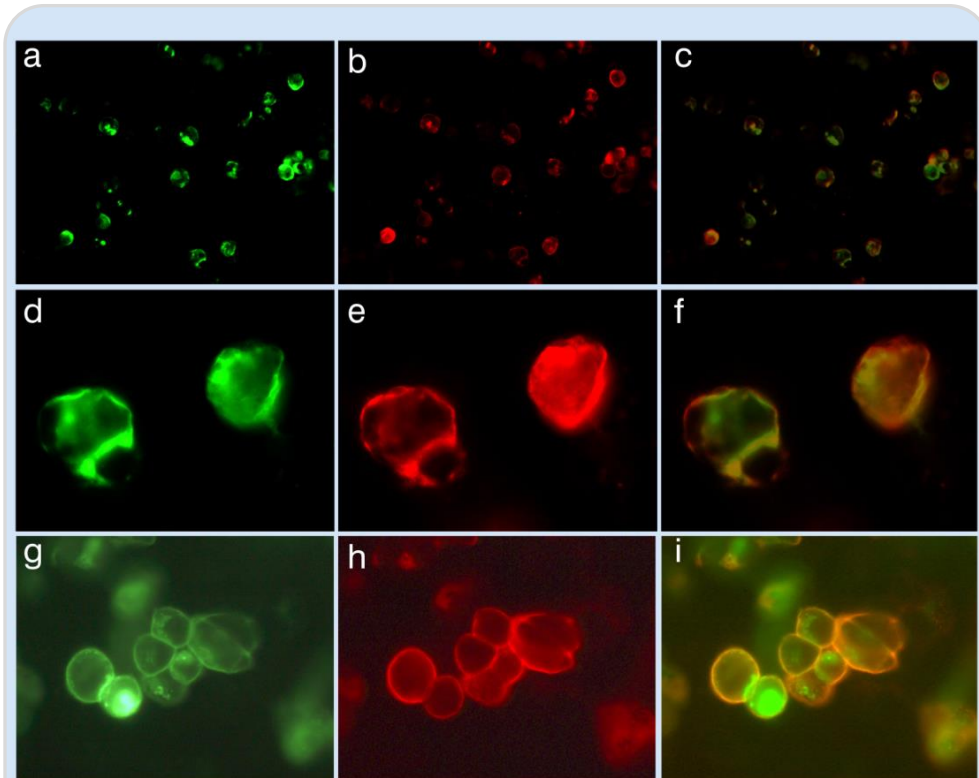
Il dosaggio degli anticorpi anti-Lrp4 è stato condotto mediante diversi metodi come

- ▶ immunofluorescenza indiretta (figura 5) usando cellule HEK293 transitoriamente sia trasfettate col cDNA di Lrp4 (Higuchi et al, 2011), sia transitoriamente trasfettate con un vettore bicistronico contenente il cDNA della Lrp4 umana insieme a una proteina fluorescente verde rafforzata (EGFP) (Pevzner et al. 2011) sia transitoriamente trasfettate con il vettore pcDNA 3.1/ CT-GFP-Topo<sup>®</sup>, che, contenente oltre al cDNA codificante per la Lrp4 intera anche il cDNA codificante per una proteina fluorescente verde (GFP), forma una proteina di fusione (Lrp4-GFP), che viene espressa soltanto nella presenza del cDNA della Lrp4 correttamente orientata (proprie indagini).
- ▶ immunoprecipitazione della Lrp4 (figura 4) estratta da cellule HKE293 trasfettate con cDNA di Lrp4 (Higuchi et al. 2011, Zhang et al. 2012). Immunoprecipitazione della Lrp4-GFP estratta



## Autoanticorpi anti-Lrp4

da cellule HEK293 transitoriamente trasfettate o immunoprecipitazione del dominio extracellulare della Lrp4 ottenuto e purificato dalle surnatanti delle colture cellulari di cellule CHO stabilmente trasfettate con il cDNA appropriato (proprie indagini).

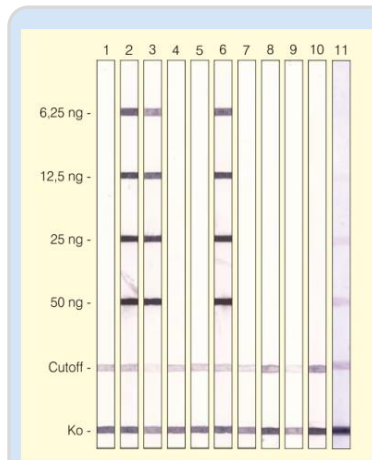


**Figura 5** Determinazione degli anticorpi anti-LRP4 con immunofluorescenza indiretta. Cellule HEK293 transitoriamente trasfettate con il cDNA codificante per Lrp4-GFP sono state incubate con anti-LRP4 di coniglio (anticorpo diretto contro un frammento del dominio extracellulare vicino alla parte transmembrana) in a - f rispettivamente con il siero di un paziente anti-MuSK positivo con miastenia gravis in g - i. Anticorpi legati alla Lrp4 sulla membrana cellulare sono stati riscontrati con IgG di capra anti-coniglio coniugata a rodamina oppure con anti-IgG umana coniugata a Alexa Fluor 568. a, d, g: fluorescenza verde propria (GFP) delle cellule trasfettate; b, e: la presenza di anti-LRP4 del coniglio legata alla membrana cellulare è messa in evidenza con anticorpi secondari coniugati a rodamina; h: la presenza dell'anti-Lrp4 del paziente è visualizzata con anticorpo secondario coniugato a Alexa Fluor. c, f, i: sovrapposizioni delle immagini. Ingrandimenti dell'obiettivo: a - c: 10 volte; d - f: 40 volte; g - i: 20 volte.

- ▶ Line Blot usando come antigene il dominio extracellulare della Lrp4 ottenuto e purificato dalle surnatanti delle colture cellulari di cellule CHO stabilmente trasfettate con il cDNA appropriato e spruzzato nelle membrane di nitrocellulosa (proprie indagini).
- ▶ metodo immunometrico (Elisa) usando il dominio extracellulare della Lrp4, sintetizzato in cellule HEK293 (Zhang et al. 2012).
- ▶ test di luminescenza usando come antigene Lrp4 legato alla luciferasi Gaussia sintetizzato nelle cellule HEK293 (Higuchi et al. 2011).



## Autoanticorpi anti-Lrp4



**Figura 6** Line Blot semi-quantitativo per il dosaggio di anti-Lrp4 nei sieri dei pazienti.

Il dominio extracellulare intero della Lrp4, contenente un His-Tag, è stato sintetizzato in cellule CHO stabilmente trasfettate usando il vettore modificato pSecTag2A (Invitrogen). La proteina è stata purificata due volte mediante cromatografia di affinità con  $Ni^{2+}$  fissato, dializzata e spruzzata su membrane di nitrocellulosa in concentrazioni [ng/mL] indicate (Nanoplotter: Sx sciDROP NANO, Scienion, Berlino).

1: controllo negativo; 2, 3: controllo positivo (anti-Lrp4 di coniglio); 4 - 10: sieri di pazienti con miastenia gravis anti-AChR negativi, anti-MuSK positivi di cui uno (6) rivela anti-Lrp4. 11: paziente con miastenia sieronegativo di anti-AChR e anti-MuSK da cui si rileva un risultato equivoco non da confermare mediante IFI, probabilmente a causa della concentrazione anticorpale troppo bassa.

Ko: controllo della funzionalità.

## Bibliografia

Apel ED, Glass DJ, Moscoso LM, Yancopoulos GD, Sanes JR: Rapsyn is required for MuSK signaling and recruits synaptic components to a MuSK-containing scaffold. *Neuron* (1997); 18(4): 623 - 635 (PMID: [9136771](#)).

Glass DJ, DeChiara TM, Stitt TN, DiStefano PS, Valenzuela DM, Yancopoulos GD: The receptor tyrosine kinase MuSK is required for neuromuscular junction formation and is a functional receptor for agrin. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* (1996); 61: 435 - 444 (PMID: [9246472](#)).

Higuchi O, Hamuro J, Motomura M, Yamanashi Y: Autoantibodies to low-density lipoprotein receptor-related protein 4 in myasthenia gravis. *Ann Neurol* (2011); 69(2): 418 - 422 (PMID: [21387385](#)).

Hoch W, McConville J, Helms S, Newsom-Davis J, Melms A, Vincent A: Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. *Nat Med* (2001); 7(3): 365 - 368 (PMID: [11231638](#)).

Jarius S, Paul F, Franciotta D, de Seze J, Münch C, Salvetti M, Ruprecht K, Liebetrau M, Wandinger KP, Akman-Demir G, Melms A, Kristoferitsch W, Wildemann B: Neuromyelitis optica spectrum disorders in patients with myasthenia gravis: ten new aquaporin-4 antibody positive cases and a review of the literature. *Mult Scler* (2012) 18(8): 1.135 - 1.143 (PMID: [22183934](#)).

Johnson EB, Hammer RE, Herz J. Abnormal development of the apical ectodermal ridge and polysyndactyly in Megf7-deficient mice. *Hum Mol Genet* (2005); 14(22): 3.523 - 3.538 (PMID: [16207730](#)).

Karner CM, Dietrich MF, Johnson EB, Kappesser N, Tennert C, Percin F, Wollnik B, Carroll TJ, Herz J: Lrp4 regulates initiation of ureteric budding and is crucial for kidney formation-a mouse model for Cenani-Lenz syndrome. *PLoS One* (2010); 5(4): e10418 (PMID: [20454682](#)).

Kim N, Stiegler AL, Cameron TO, Hallock PT, Gomez AM, Huang JH, Hubbard SR, Dustin ML, Burden SJ: Lrp4 is a receptor for Agrin and forms a complex with MuSK. *Cell* (2008); 135(2): 334 - 342 (PMID: [18848351](#)).

Leite MI, Jacob S, Viegas S, Cossins J, Clover L, Morgan BP, Beeson D, Willcox N, Vincent A: IgG1 antibodies to acetylcholine receptors in 'seronegative' myasthenia gravis. *Brain* (2008); 131(Pt 7): 1.940 - 1.952 (PMID: [18515870](#)).

Lindstrom JM, Seybold ME, Lennon VA, Whittingham S, Duane DD: Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis. Prevalence, clinical correlates, and diagnostic value. *Neurology* (1976); 26(11): 1.054 - 1.059 (PMID: [988512](#)).



## Autoanticorpi anti-Lrp4

Pevzner A, Schoser B, Peters K, Cosma NC, Karakatsani A, Schalke B, Melms A, Kröger S: Anti-LRP4 autoantibodies in AChR- and MuSK-antibody-negative myasthenia gravis. *J Neurol* (2012) 259(3): 427 - 435 (PMID: [21814823](#)).

Simon-Chazottes D, Tutois S, Kuehn M, Evans M, Bourgade F, Cook S, Davisson MT, Guénet JL: Mutations in the gene encoding the low-density lipoprotein receptor LRP4 cause abnormal limb development in the mouse. *Genomics* (2006); 87(5): 673 - 677 (PMID: [16517118](#)).

Simpson JA. Myasthenia gravis: a new hypothesis. *Scott Med J* (1960); 5: 419 - 439

Vaknin-Dembinsky A, Abramsky O, Petrou P, Ben-Hur T, Gotkine M, Brill L, Brenner T, Argov Z, Karussis D: Myasthenia gravis-associated neuromyelitis optica-like disease: an immunological link between the central nervous system and muscle? *Arch Neurol* (2011) 68(12): 1.557 - 1.561 (PMID: [21825214](#)).

Zhang B, Luo S, Wang Q, Suzuki T, Xiong WC, Mei L: LRP4 serves as a coreceptor of agrin. *Neuron* (2008); 60(2): 285 - 297 (PMID: [18957220](#)).

Zhang B, Tzartos JS, Belimezi M, Ragheb S, Bealmear B, Lewis RA, Xiong WC, Lisak RP, Tzartos SJ, Mei L: Autoantibodies to lipoprotein-related protein 4 in patients with double-seronegative myasthenia gravis. *Arch Neurol*. (2012) 69(4): 445 - 451 (PMID: [22158716](#)).

Zhang W, Coldefy AS, Hubbard SR, Burden SJ: Agrin binds to the N-terminal region of Lrp4 protein and stimulates association between Lrp4 and the first immunoglobulin-like domain in muscle-specific kinase (MuSK). *J Biol Chem* (2011) 286(47): 40.624 - 40.630 (PMID: [21969364](#)).

**Bibliografia ulteriore** Zisimopoulou P, Evangelakou P, Tzartos J, Lazaridis K, Zouvelou V, Mantegazza R, Antozzi C, Andreetta F, Evoli A, Deymeer F, Saruhan-Direskeneli G, Durmus H, Brenner T, Vaknin A, Berrih-Aknin S, Frenkian Cuvelier M, Stojkovic T, DeBaets M, Losen M, Martinez-Martinez P, Kleopa KA, Zamba-Papanicolaou E, Kyriakides T, Kostera-Pruszczyk A, Szczudlik P, Szyluk B, Lavnrc D, Basta I, Peric S, Tallaksen C, Maniaol A, Tzartos SJ. A comprehensive analysis of the epidemiology and clinical characteristics of anti-LRP4 in myasthenia gravis. *J Autoimmun* (2014); 52: 139 - 145 (PMID: [24373505](#)).