



## Autoanticorpi anti-Recettori AMPA (iGluR)

<b>Acronimo</b>	AMPA ( $\alpha$ -amino-3-idrossi-5-metil-4-isoxazole-propionato [l'acido])  I recettori AMPA appartengono ai recettori ionotropici del glutammato e costituiscono macromolecole assemblate a quattro subunità GluR <sub>1-4</sub> (talvolta anche chiamate GluR <sub>A-D</sub> , AMPAR <sub>1-4</sub> , vedi tabella 1).
<b>Specificità degli autoanticorpi</b>	Nell'uomo finora sono stati riscontrati autoanticorpi contro tutte le subunità GluR <sub>1-4</sub> , di cui segnalate <b>iGluR<sub>1</sub></b> , <b>iGluR<sub>2</sub></b> , <b>iGluR<sub>3</sub></b> e <b>iGluR<sub>4</sub></b> a distinguerle dai recettori metabotropici del glutammato ( <b>mGluR<sub>1-8</sub></b> ), perché autoanticorpi possono svilupparsi parimenti anche contro quest'ultimi.
<b>Ricerche vedi</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>▶ <u>Autoanticorpi anti-recettore iGluR<sub>1</sub></u> (anti-AMPA<sub>1</sub>)</li><li>▶ <u>Autoanticorpi anti-recettore iGluR<sub>2</sub></u> (anti-AMPA<sub>2</sub>)</li><li>▶ <u>Autoanticorpi anti-recettore iGluR<sub>3</sub></u> (anti-AMPA<sub>3</sub>)</li><li>▶ <u>Autoanticorpi anti-recettore iGluR<sub>4</sub></u> (anti-AMPA<sub>4</sub>)</li></ul>
<b>Indicazioni</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>▶ <b>Encefalite limbica</b> (anti-iGluR<sub>1,2</sub>, anti-AMPA<sub>1,2</sub>)  Autoanticorpi anti-recettore AMPA, dimostrabili nei pazienti affetti da encefalite limbica, spesso nel contesto di una sindrome paraneoplastica (p. e. microcitoma polmonare [SCLC], carcinoma della tiroide, della mammella) reagiscono perlopiù contro le subunità iGluR<sub>1</sub> e iGluR<sub>2</sub>. Spesso si trovano simultaneamente anticorpi diretti contro entrambe le subunità (Lai et al. 2009; Bataller et al. 2010). Anticorpi contro il recettore AMPA<sub>4</sub> (anti-iGluR<sub>4</sub>) sono stati descritti una volta in un paziente affetto da neuropatia paraneoplastica (Gahring et al 1995).</li><li>▶ <b>Malattie epilettiformi</b>  Autoanticorpi, il bersaglio di quali era la subunità iGluR<sub>3</sub>, furono rilevati la prima volta in pazienti con encefalite di Rasmussen (Rogers et al. 1994 a, b), ma in seguito essi furono considerati non specifici per quella malattia (Mantegazza et al. 2002). Da allora in poi tali anticorpi sono stati descritti continuamente in contesto di sintomi epilettiformi diversi (<i>bi-bliografia</i> vedi autoanticorpi anti-iGluR<sub>3</sub> ), oltretutto in un soggetto con mioclono, esibito dopo il trapianto del midollo osseo (Solaro et al. 2006). Considerando ciò, il significativo clinico e diagnostico di questi anticorpi anti-iGluR<sub>3</sub> pare essere dubitativo.</li></ul>
<b>Vedi</b>	▶ <u>Autoanticorpi nelle sindromi neurologiche paraneoplastiche</u>
<b>Riassunto degli antigeni</b>	<p>I recettori del glutammato si suddividono in recettori ionotropici (recettori canale; iGluR) e in recettori metabotropici, gli ultimi dei quali accoppiati alla proteina G, mediano la sintesi dei messaggeri secondari intracellulari (vedi autoanticorpi anti-recettore <u>mGluR<sub>1</sub></u>, <u>mGluR<sub>3</sub></u>).</p> <p>I recettori ionotropici vengono denominati ed elencati in tre sottogruppi secondo loro agoniste selettive, cinetiche di attivazione e desensitizzazione, permeabilità e conduttanza ionica:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>▶ Recettori AMPA (<math>\alpha</math>-amino-3-idrossi-5-metil-ossazol-4-propionato)</li><li>▶ Recettori del Kainato (acido kainico)</li><li>▶ Recettori NMDA (N-metil-D-aspartato)</li></ul> <p>Tutti i tre recettori vengono attivati per glutammato, il principale trasmettitore eccitatorio del sistema nervoso centrale (SNC). Trasmissioni sinaptiche rapide vengono avviate attraverso l'attivazione dei recettori AMPA e Kainato, l'attivazione dei recettori NMDA invece genera potenziali sinaptici più lenti, che sono interessati anche da diverse forme della plasticità sinaptica attivazione-dipendente.</p>



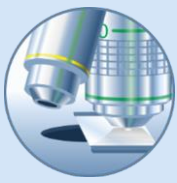
## Autoanticorpi anti-Recettori AMPA (iGluR)

**Tabella 1** La denominazione delle subunità dei recettori segue la nomenclatura dell'*International Union of Basic and Clinical Pharmacology* (Collingridge et al. 2009). Le denominazioni precedenti vengono aggiunte fra parentesi. La denominazione degli autoanticorpi riscontrati contro le varie subunità dei recettori altrettanto segue la nomenclatura precedente a causa della migliore comprensione. Tali subunità recettoriali vengono marcate in colori (rossi: anticorpi spesso da riscontrare; verdi: anticorpi rari)

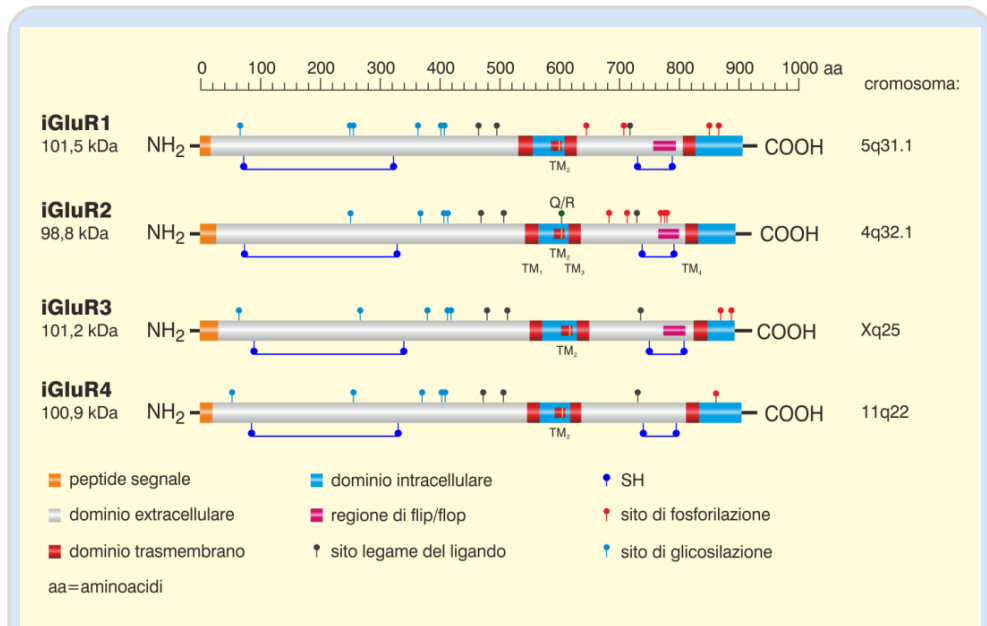
Classe	Agonista	Subunità	Autoanticorpi	Clinica
	<b>AMPA</b> tetrameri	GluA1 (GluR <sub>1</sub> )	anti-AMPA <sub>1</sub> , anti-iGluR <sub>1</sub>	EL
		GluA2 (GluR <sub>2</sub> )	anti-AMPA <sub>2</sub> , anti-iGluR <sub>2</sub>	EL
		GluA3 (GluR <sub>3</sub> )	anti-AMPA <sub>3</sub> , anti-iGluR <sub>3</sub>	SP
		GluA4 (GluR <sub>4</sub> )	anti-AMPA <sub>4</sub> , anti-iGluR <sub>4</sub>	
	<b>Kainato</b> tetrameri	GuK1 (GluR <sub>5</sub> )	anti-iGluR <sub>5</sub>	SP
		GluK2 (GluR <sub>6</sub> )	anti-iGluR <sub>6</sub>	SP
		GluK3 (GluR <sub>7</sub> )		
		GluK4 (Ka1)		
		GluK5 (Ka2)		
	<b>NMDA</b> tetrameri	GluN1 (*R1, ζ)	anti-NMDA	EL
		GluN2A (*R2A, ε <sub>1</sub> )		
		GluN2B (*R2B, ε <sub>2</sub> )		
		GluN2C (*R2C, ε <sub>3</sub> )		
		GluN2D (*R2D, ε <sub>4</sub> )		
		GluN3A (*R3A)		
GluN3B (*R3B)				
<b>Recettori δ</b>	GuD1 (GluRδ1)			
	GluD2 (GluRδ2)			
<b>metabotropici</b> classe II	<b>Gruppo I</b> (fosfolipasi C)	mGluR <sub>1</sub>	anti-mGluR <sub>1</sub>	AC, EL SO
		mGluR <sub>5</sub>	anti-mGluR <sub>5</sub>	
	<b>Gruppo II</b> (adenilato ciclasi)	mGluR <sub>2</sub>		
		mGluR <sub>3</sub>		
	<b>Gruppo III</b> (adenilato ciclasi)	mGluR <sub>4</sub>		
		mGluR <sub>6</sub>		
		mGluR <sub>7</sub>		
		mGluR <sub>8</sub>		

AC atassia cerebellare      EL encefalite limbica      SP sindrome paraneoplastica  
E epilessia      OS sindrome di Ophelia      \* = NMDA

I recettori ionotropici AMPA appartengono alla famiglia dei canali cationici ligando-dipendenti (classe II), che dimostrano una alta permeabilità per il Na<sup>+</sup> e perlopiù una bassa permeabilità ai cationi bivalenti (Ca<sup>2+</sup>). Essi vengono attivati attraverso AMPA, quisqualato e i neurotrasmettitori endogeni L-glutammato, L-aspartato, talvolta anche kainato e bloccati attraverso CNQX (6-ciano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione). Espresi in tutto il SNC dimostrano un alto livello di eterogeneità. Coesistono spesso con i recettori NMDA. Localizzati nella membrana postsinaptica, mediano la neurotrasmissione (risposta eccitatoria, depolarisante) rapida (nell'ordine di millesimi di secondo).

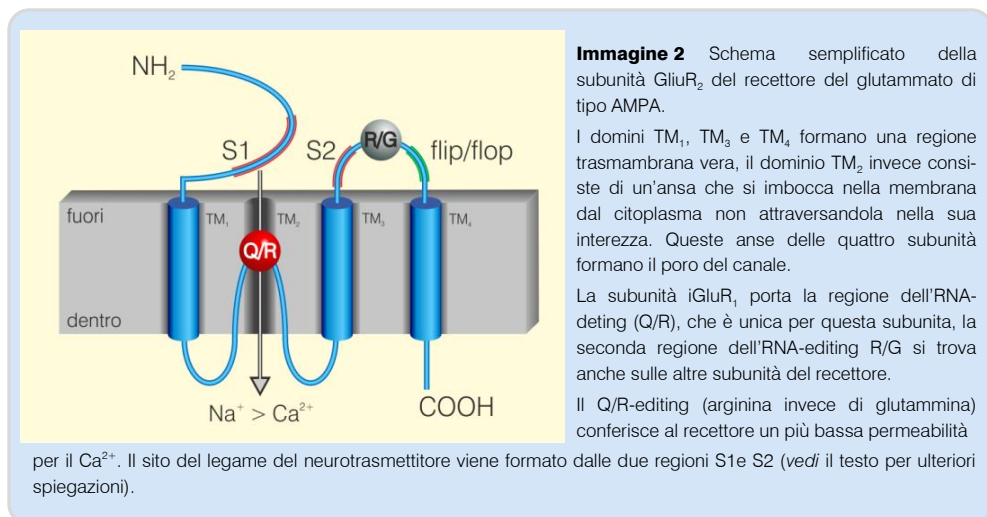


## Autoanticorpi anti-Recettori AMPA (iGluR)



**Immagine 1** Le subunità dei recettori AMPA (iGluR<sub>1-4</sub>). Strutture delle molecole e domini molecolare. TM1, TM2, TM3, TM4 segnalano i domini transmembrana, TM2 non è una regione transmembrana vera (vedi il testo).

Relativo alla struttura i recettori AMPA sono eterotetrameri che nascono dalla combinazione di quattro subunità GluR<sub>1-4</sub>. (immagine 1), che rivelano omologie fino al 70 % nel livello proteico. Si legano tra loro in diverse stechiometrie e per nessuno di questi recettori si conosce con certezza il numero e il tipo di subunità che li compongono (Hollmann e Heinemann 1994).



**Immagine 2** Schema semplificato della subunità GliuR<sub>2</sub> del recettore del glutammato di tipo AMPA.

I domini TM<sub>1</sub>, TM<sub>3</sub> e TM<sub>4</sub> formano una regione transmembrana vera, il dominio TM<sub>2</sub> invece consiste di un'ansa che si imbecca nella membrana dal citoplasma non attraversandola nella sua interezza. Queste anse delle quattro subunità formano il poro del canale.

La subunità iGluR<sub>1</sub> porta la regione dell'RNA-deting (Q/R), che è unica per questa subunita, la seconda regione dell'RNA-editing R/G si trova anche sulle altre subunità del recettore.

Il Q/R-editing (arginina invece di glutamina) conferisce al recettore un più bassa permeabilità

per il Ca<sup>2+</sup>. Il sito del legame del neurotrasmettitore viene formato dalle due regioni S1e S2 (vedi il testo per ulteriori spiegazioni).

Ciascuna delle subunità contiene un esteso dominio N-terminale extracellulare seguito da tre  $\alpha$ -eliche transmembrana (TM<sub>1,3,4</sub>) (immagine 2). Il tratto della catena di aminoacidi fra TM<sub>1</sub> e TM<sub>3</sub> non forma una regione transmembrana vera, siccome essa imbecca nella membrana citoplasmatica ma non l'attraversa nella sua interezza, bensì si gira indietro e sbuca fuori da essa rientrando nel citoplasma, formando un'ansa, che giunge alla seconda regione transmembrana vera (TM<sub>3</sub>). Questo tratto intracitoplasmatico pseudo-integrale legante il primo e il secondo dominio transmembrana (TM<sub>1</sub>, TM<sub>3</sub>), viene chiamato TM<sub>2</sub> (Hollmann et al. 1994; Wo und Oswald 1995).



## Autoanticorpi anti-Recettori AMPA (iGluR)

La spiazzante nomenclatura è dovuta alla ex-ipotesi, che le subunità del recettore possiederebbero quattro domini transmembrana. Le regioni  $TM_2$  di tutte e quattro le subunità formano insieme il poro del canale con un diametro di 0,7 - 0,8 nm (Burnashev et al. 1996).

In ciascuna subunità esiste fra i primi 150 aminoacidi controcorrenti da  $TM_1$ , un dominio (detto  $S_1$ ), che insieme a l'ansa extracellulare, che congiunge i domini  $TM_3$  e  $TM_4$  (detta  $S_2$ ) forma un solco per il legame dell'agonista (Armstrong et al. 1998), cioè ogni subunità può legarsi con il neurotrasmettitore. Il legame dell'agonista cambia la sua conformazione, che induce l'aprire del poro permettendo ai cationi ( $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ) di passare il canale e di entrare nella cellula, che finisce nella depolarizzazione della sua membrana.

La maggioranza dei recettori AMPA è rappresentata dalla subunità  $GluR_2$  che notevolmente determina la permeabilità ionica dei canali. Gli aminoacidi che regolano il flusso degli ioni si trovano nel suo dominio  $TM_2$ . La particolarità della subunità  $GluR_2$  si contraddistingue per la sua sequenza degli aminoacidi, che costituiscono la parete del poro canale. Ci si trovano dei residui dell'arginina (R in posizione 607) che rendono il recettore permeabile al sodio ma solo poco al calcio. Nelle subunità  $GluR_1$ ,  $GluR_3$  e  $GluR_4$  invece, si trova l'aminoacido glutammina (Q). Degno di nota è che l'arginina non viene codificata dal gene della  $GluR_2$ , la sua sequenza genica presenta, come la sequenza delle altre subunità, il codone della glutammina (CAG), mentre l'RNA messaggero presenta il codone per l'arginina (CGG) (Sommer et al., 1991), cioè ha luogo una modificazione dell'RNA della subunità  $GluR_2$  attraverso il meccanismo dell'RNA editing (Higuchi et al., 1993). Questo sito, detto Q/R, localizzato sulla  $TM_2$  della  $GluR_2$  è importante per il controllo della permeabilità del recettore per il calcio. Canali che portano la subunità  $GluR_2$  con glutammina nel sito Q/R sono permeabili anche per il calcio.

Un'altra forma dell'RNA-editing si può svolgere nelle subunità  $GluR_1$ ,  $GluR_3$ ,  $GluR_4$  nell'ansa extracellulare fra i domini  $TM_3$  e  $TM_4$ , che finisce in una sostituzione dell'arginina attraverso la glicina (detto sito R/G). Recettori con tale subunità si ricostituiscono più velocemente dopo la loro desensitizzazione.

Ulteriori modificazioni delle subunità originano da uno splicing alternativo. Sono possibili due varianti per ciascuna subunità recettoriale, cioè ciascuna subunità può rappresentarsi in due isoforme (dette flip / flop) che si distinguono in sette aminoacidi restanti in una cassetta di 38 aminoacidi, localizzata nella sequenza extracellulare che precede il dominio  $TM_3$ . Le due varianti condizionano le proprietà farmacologiche e cinetiche del recettore, conferendogli maggiore o minore permeabilità del corrente.

Nel SNC adulto i recettori AMPA sono costituiti da più subunità di cui perlopiù almeno una appartiene a  $GluR_2$ , che viene espressa (quasi solo nella forma modificata post-trascrizionalmente [ $> 99\%$ ]) in quasi tutte le cellule del SNC. Eccezioni fanno la glia di Bergmann e le cellule di Purkinje nel cervello, le cellule di tipo 2 nell'ippocampo, cellule nel globo pallido, tronco encefalico e midollo spinale che contengono recettori AMPA calcio permeabili.

I canali AMPA si contraddistinguono per la loro alta capacità conduttiva e per la desensitizzazione veloce. Studi condotti su recettori ricombinanti hanno dimostrato che le loro caratteristiche (permeabilità al  $Ca^{2+}$ , desensitizzazione, inattivazione) dipendono dalle subunità che li compongono (Burnashev et al. 1992; Mosbacher et al 1994). Lo splicing alternativo, il RNA-editing e la formazione degli eteromeri da una combinazione di subunità diverse rendono possibile le formazioni di una molteplicità di recettori con diverse proprietà farmacologiche e elettrofisiologiche a seconda dei compiti specifici dei neuroni in una certa regione dell'encefalo.



## Autoanticorpi anti-Recettori AMPA (iGluR)

### Bibliografia

Armstrong et al. 1998 Armstrong N, Sun Y, Chen GQ, Gouaux E: Structure of a glutamate-receptor ligand-binding core in complex with kainate. *Nature* (1998); 395(6705): 913 - 917. (PMID: [9804426](#)).

Bataller L, Galiano R, García-Escrig M, Martínez B, Sevilla T, Blasco R, Vilchez JJ, Dalmau J: Reversible paraneoplastic limbic encephalitis associated with antibodies to the AMPA receptor. *Neurology* (2010); 74(3): 265 - 267 (PMID: [20083804](#)).

Burnashev N, Monyer H, Seeburg PH, Sakmann B: Divalent ion permeability of AMPA receptor channels is dominated by the edited form of a single subunit. *Neuron* (1992); 8(1): 189 - 198. (PMID: [1370372](#)).

Burnashev et al. 1996 Burnashev N, Villarroel A, Sakmann B: Dimensions and ion selectivity of recombinant AMPA and kainate receptor channels and their dependence on Q/R site residues. *J Physiol* (1996); 496 ( Pt 1): 165 - 173 (PMID: [8910205](#)).

Collingridge GL, Olsen RW, Peters J, Spedding M: A nomenclature for ligand-gated ion channels. *Neuropharmacology* (2009); 56(1): 2 - 5 (PMID: [18655795](#)).

Gahring LC, Twyman RE, Greenlee JE, Rogers SW: Autoantibodies to neuronal glutamate receptors in patients with paraneoplastic neurodegenerative syndrome enhance receptor activation. *Mol Med* (1995); 1(3): 245 - 253 (PMID: [8529103](#)).

Higuchi M, Single FN, Köhler M, Sommer B, Sprengel R, Seeburg PH: RNA editing of AMPA receptor subunit GluR-B: a base-paired intron-exon structure determines position and efficiency. *Cell* (1993); 75(7): 1.361 - 1.370 (PMID: [8269514](#)).

Hollmann M, Boulter J, Maron C, Heinemann S: Molecular biology of glutamate receptors. Potentiation of N-methyl-D-aspartate receptor splice variants by zinc. *Ren Physiol Biochem* (1994); 17(3-4): 182 - 183 (PMID: [7518953](#)).

Hollmann M, Maron C, Heinemann S: N-glycosylation site tagging suggests a three transmembrane domain topology for the glutamate receptor GluR1. *Neuron* (1994); 13(6): 1.331 - 1.343 (PMID: [7993626](#)).

Hollmann M, Heinemann S: Cloned glutamate receptors. *Annu Rev Neurosci* (1994); 17: 31-108. Review. PubMed PMID: [8210177](#).

Lai M, Hughes EG, Peng X, Zhou L, Gleichman AJ, Shu H, Matà S, Kremens D, Vitaliani R, Geschwind MD, Bataller L, Kalb RG, Davis R, Graus F, Lynch DR, Balice-Gordon R, Dalmau J: AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location. *Ann Neurol* (2009); 65(4): 424 - 434 (PMID: [19338055](#)).

Mantegazza, R., Bernasconi, P., Baggi, F., Spreafico, R., Ragona, F., Antozzi, C., Bernardi, G., Granata, T: Antibodies against GluR3 peptides are not specific for Rasmussen's encephalitis but are also present in epilepsy patients with severe, early onset disease and intractable seizures. *J Neuroimmunol* (2002); 131(1-2): 179 - 185 (PMID: [12458050](#)).

Mosbacher et al 1994 Mosbacher J, Schoepfer R, Monyer H, Burnashev N, Seeburg PH, Ruppersberg JP: A molecular determinant for submillisecond desensitization in glutamate receptors. *Science* (1994); 266(5187): 1.059 - 1.062 (PMID: [7973663](#)).

Rogers SW, Andrews PI, Gahring LC, Whisenand T, Cauley K, Crain B, Hughes TE, Heinemann SF, McNamara JO: Autoantibodies to glutamate receptor GluR3 in Rasmussen's encephalitis. *Science* (1994); 265(5172): 648 - 651 (PMID: [8036512](#)).

Rogers SW, Andrews PI, Gahring LC, Whisenand T, Cauley K, Crain B et al: Autoantibodies to glutamate receptor GluR3 in Rasmussen's encephalitis. *Science* (1994); 265(5172): 648 - 651.



## Autoanticorpi anti-Recettori AMPA (iGluR)



Solaro C, Mantegazza R, Bacigalupo A, Uccelli A: Intractable myoclonus associated with anti-GluR3 antibodies after allogeneic bone marrow transplantation. *Haematologica* (2006); 91(12 Suppl):ECR62 (PMID: [17194668](#)).

Sommer et al., 1991 Sommer B, Köhler M, Sprengel R, Seeburg PH: RNA editing in brain controls a determinant of ion flow in glutamate-gated channels. *Cell* (1991); 67(1): 11 - 19 (PMID: [1717158](#)).

Wo ZG, Bian ZC, Oswald RE: Asn-265 of frog kainate binding protein is a functional glycosylation site: implications for the transmembrane topology of glutamate receptors. *FEBS Lett* (1995); 368(2): 230 - 234 (PMID: [7628611](#)).