

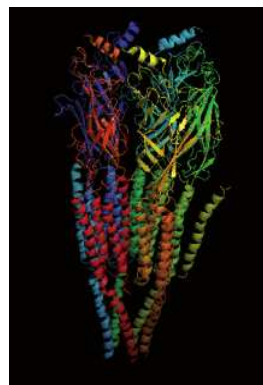
> La myasthénie est une maladie auto-immune avec, dans 80 % des cas, des anticorps dirigés contre le récepteur de l'acétylcholine (anti-RACH) positifs et deux formes cliniques distinctes, oculaire et généralisée. Les formes séronégatives sont relativement rares et cliniquement hétérogènes. Le diagnostic de la myasthénie séronégative reste souvent difficile, notamment pour les formes oculaires et est essentiellement basé sur une symptomatologie fluctuante caractéristique. La découverte des anticorps anti-RACH à faible affinité et des nouveaux anticorps comme les anti-MuSK (dirigés contre le récepteur spécifique de la tyrosine kinase), les anti-LRP4 (dirigés contre la protéine 4 reliée au récepteur des lipoprotéines de faible densité), les anti-*agraine* ou les anti-cortactine constitue un avancement considérable dans la compréhension de la physiopathologie de la myasthénie. Selon le profil sérologique, il est possible de prévoir la gravité potentielle de la maladie, la réponse aux traitements et le risque de pathologie thymique associée. ◀

Diagnostic de la myasthénie séronégative

En l'absence d'anticorps spécifiques (anti-RACH ou anti-MuSK), le diagnostic de la myasthénie séronégative repose avant tout sur le tableau clinique caractéristique qui se manifeste essentiellement par une fatigabilité musculaire excessive à l'effort. La fluctuation des symptômes cliniques, le déficit moteur réversible et non systématisé constituent des éléments essentiels dans le diagnostic de la myasthénie ; diagnostic qui devrait encore être confirmé :

Myasthénie auto-immune séronégative

Oana Catar, Anne-Catherine Aubé-Nathier,
Aleksandra Nadaj-Pakleza



Centre de Référence des
Maladies Neuromusculaires
Atlantique-Occitanie-Caraïbes,
FILNEMUS, Service de Neurologie,
CHU d'Angers, France.
alpakleza@chu-angers.fr

– par la présence d'un défaut de transmission neuromusculaire mise en évidence par une étude électroneuromyographique (décrément significatif sur plusieurs couples nerf-muscles supérieur à 10 % ou allongement du « jitter » lors de l'étude en fibre unique) ;
– et/ou par la réponse positive au traitement anticholinestérasique (test pharmacologique à l'édrophonium par voie intraveineuse ou traitement oral avec la pyridostigmine ou l'ambénonium) [1].

Il existe un intérêt à refaire le dosage des anticorps anti-RACH à distance du diagnostic de la myasthénie, notamment à 6-12 mois si le premier dosage a été négatif [2].

Par ailleurs, il est nécessaire de rechercher des arguments en faveur d'une coexistence avec une autre pathologie auto-immune ; la plus fréquente étant la dysthyroïdie [1, 3].

Dans le diagnostic différentiel, il est essentiel de prendre en compte le syndrome myasthénique congénital à début tardif dont les manifestations cliniques peuvent être quasi identiques à celles observées dans la myasthénie auto-immune séronégative [4]. L'ensemble des éléments cliniques et paracliniques doit être analysé attentivement (Tableau I). Par conséquent, l'existence d'un ou de plusieurs éléments parmi les suivants doit faire penser au syndrome myasthénique congénital :

- une amyotrophie et/ou un déficit musculaire permanent ;
- des rétractions tendineuses ;
- des antécédents familiaux de maladie neuromusculaire ;
- une coexistence d'un défaut de transmission neuromusculaire et d'un tracé myogène à l'examen électroneuromyographique (ENMG) ;
- une élévation modérée des créatinines phosphokinases (CPK) [1].



« Nouveaux anticorps » : physiopathologie et aspects cliniques

L'origine auto-immune de la myasthénie a été déjà évoquée dans les années 1960 mais l'identification de l'anticorps anti-RACH n'a eu lieu qu'en 1976 [5]. Déjà à l'époque, il était clair que cet anticorps n'est pas systématiquement présent et que malgré des manifestations cliniques et électrophysiologiques évocatrices de la myasthénie, environ 20 % des patients avec des symptômes généralisés et environ 50 % de ceux avec une forme oculaire restent séronégatifs.

Les études menées dans les années 90 ont permis de confirmer que le facteur humoral est bien à l'origine de la myasthénie séronégative. Il faut notamment citer ici l'effet bénéfique des échanges plasmatiques dans ce groupe de patients ainsi que la présence de troubles de la transmission neuromusculaire chez la souris recevant du sérum de patients myasthéniques séronégatifs [6].

Deux hypothèses ont été émises pour expliquer ce phénomène de « séronégativité » : 1/ que la technique de radioimmunoprécipitation (RIPA) pourrait ne pas être suffisamment sensible pour détecter les anticorps anti-RACH à faible concentration et 2/ qu'il existerait peut-être d'autres anticorps impliqués dans la pathophysiologie de la myasthénie auto-immune. Ces deux hypothèses ont été confirmées par la suite.

Anticorps anti-RACH à faible affinité

L'existence d'une séroconversion a incité l'équipe anglaise d'Angela Vincent à rechercher les anticorps anti-RACH à faible affinité [7]. Il a été mis en évidence que ces anticorps ne peuvent pas être détectés par RIPA mais le sont par des techniques de transfection cellulaire. En effet, les anticorps anti-RACH à faible affinité se fixent uniquement sur les récepteurs agrégés comme c'est le cas sur la membrane des fibres musculaires. Ces anticorps sont majoritairement de sous-classe IgG1 et peuvent donc activer le complément (comme d'ailleurs les anti-RACH détectés par RIPA).

Ces anticorps anti-RACH à faible affinité sont à 100 % spécifiques de la myasthénie et peuvent être responsables de 16 à 38 % des cas de myasthénie séronégative [8, 9].

D'un point de vue clinique, les anticorps anti-RACH à faible affinité sont habituellement retrouvés chez les patients myasthéniques présentant un tableau peu sévère, le plus souvent de forme oculaire. La réponse aux traitements habituels est bonne avec un faible recours à la thymectomie chez 6 % des patients et un taux élevé de rémission estimé à 50 % [9].

Anticorps anti-MuSK

En 2000, Blaes *et al.* ont rapporté la présence d'un anticorps se fixant sur un antigène musculaire différent du récepteur de l'acétylcholine [10]. Il a été rapidement conclu qu'il s'agit d'un anticorps anti-MuSK. Ces anticorps sont de type IgG4 et n'activent pas le complément. Les séries des patients myasthéniques décrits dans les années suivantes ont permis d'affirmer que cet anticorps

est responsable de 30 à 70 % des myasthénies sans anticorps anti-RACH et qu'il est hautement spécifique de la myasthénie. De plus, la sensibilité paraît nettement meilleure avec les techniques cellulaires qu'avec la RIPA, habituellement utilisée en routine pour le screening de ces anticorps [11].

La myasthénie aux anticorps anti-MuSK se distingue par un aspect clinique particulier (atteintes bulbaire et respiratoire fréquentes avec parfois une amyotrophie de la langue), par une mauvaise réponse aux traitements anticholinestérasiques et par une meilleure réponse aux échanges plasmatiques qu'aux perfusions d'immunoglobulines polyvalentes [12]. En général, aucune pathologie thymique n'est observée dans cette forme particulière.

La découverte de la physiopathologie de la myasthénie aux anticorps anti-MuSK a permis une meilleure compréhension du fonctionnement de la jonction neuromusculaire. Les études menées dans les années 2000 ont montré le rôle crucial du complexe « agrine-LRP4-MuSK » (Figure 1) dans l'agrégation des récepteurs d'acétylcholine à la membrane des fibres musculaires. Cela a été confirmé ensuite par la mise en évidence d'une implication des anticorps contre les protéines de ce complexe dans la physiopathologie de la myasthénie.

Anticorps anti-LRP4

Détectés pour la première fois en 2011 dans la cohorte des patients myasthéniques [13], les anticorps anti-LRP4 interfèrent très vraisemblablement dans la liaison de l'agrine à son récepteur LRP4 et modifient l'agrégation des récepteurs de l'acétylcholine sur la membrane des fibres musculaires. Ils sont principalement de sous-classe IgG1 et activent le complément.

La pathogénicité de ces anticorps a été démontrée en injectant chez la souris des IgG de lapin immunisé avec l'antigène LRP4. Ces souris développaient alors des symptômes myasthéniques [14]. Néanmoins, il existe encore des éléments à clarifier. En effet, les premières études montrent que cet anticorps n'est pas complètement spécifique de la myasthénie et peut être retrouvé dans différentes pathologies neurologiques comme la sclérose amyotrophique latérale et la polymyosite. Il reste également à élucider l'existence d'une double positivité sérologique estimée à environ 13 % des myasthénies anti-RACH et anti-MuSK positives [15].

Selon les études menées ces cinq dernières années, les myasthénies aux anticorps anti-LRP4 sont retrouvées plus souvent chez les femmes et se distinguent cliniquement par la prédominance de formes bénignes, surtout oculaires et par une bonne réponse aux traite-

	Anti-RACH	Anti-RACH à faible affinité	Anti-MuSK	Anti-LRP4
Pourcentage des patients myasthéniques atteints	80 %	~ 5 %	~5 %	~ 5 %
Population	Jeunes adultes F > H Personnes âgées F = H	Jeunes adultes F > H Personnes âgées F = H	Jeunes femmes	Jeunes femmes
Gravité	Tous les grades de sévérité possibles	Principalement formes bénignes, le plus souvent oculaires	Principalement formes graves	Principalement formes bénignes, le plus souvent oculaires
Implication du thymus	Hyperplasie thymique, thymome	Hyperplasie thymique	Non	Hyperplasie thymique chez 30 % des patients
Spécificités pour la myasthénie	Oui	Oui	Oui	Non

Tableau 1. Principales caractéristiques des patients myasthéniques selon la sérologie retrouvée.

ments habituels. En revanche, les patients avec une double séropositivité semblent présenter des formes plus sévères sur le plan clinique. Il a donc été suggéré que l'anticorps anti-LRP4 constitue un facteur pronostique aggravant chez les patients doublement positifs [15].

Anticorps anti-agrine

Seule une quinzaine de patients myasthéniques avec des anticorps contre l'agrine ont été jusqu'à présent rapportés dans la littérature [3, 16, 17] et, à l'exception de trois cas, ils ont été décrits en association avec un autre anticorps pathogène connu (anti-RACH, anti-MuSK ou anti-LRP4). Selon quelques études, ces anticorps seraient présents en proportion égale chez l'homme et la femme, le plus souvent chez les adultes de 30 à 50 ans. Sur le plan clinique, il s'agit principalement de formes graves, avec une atteinte à prédominance bulbaire [17].

Anticorps anti-cortactine

Décrit en 2014 par une équipe catalane, l'anticorps contre la cortactine [18] pourrait avoir son utilité dans le diagnostic de la myasthénie oculaire séronégative. Cet anticorps est retrouvé chez environ 20 à 24 % de patients présentant une myasthénie séronégative, définie dans cette étude comme étant sans anti-RACH, anti-MuSK ni anti-LRP4. Les deux tiers de ces patients ont des symptômes purement oculaires.

Les anticorps anti-cortactine peuvent être également détectés dans le sérum de 5 à 10 % des patients présentant une myasthénie aux anticorps anti-RACH. Les quelques études montrent déjà qu'il s'agit d'un anticorps relativement peu spécifique de la myasthénie puisque retrouvé dans de nombreuses maladies auto-immunes et également chez 5 % des sujets sains [18].

Anticorps anti-ColQ

Le collagène Q joue un rôle capital dans le fonctionnement de la jonction neuromusculaire en ancrant l'acétylcholinestérase à la protéine MuSK. Il est donc une cible potentielle dans la myasthénie auto-immune. Les anti-

corps contre le collagène Q ont été décrits dans une seule étude [19]. Ils sont rarement détectés ; sur 415 patients étudiés, seulement 12 se sont avérés positifs, soit 2,9 % de la cohorte. Parmi ces 12 patients, 5 étaient également positifs aux anti-RACH (dont 4 à faible affinité) et 2 aux anticorps anti-MuSK. Dans le groupe témoin, 1 sérum sur 43 était positif (chez un patient épileptique).

La pathogénicité de ces anticorps paraît donc incertaine pour l'instant.

Anticorps anti-titine

Connus depuis presque 30 ans, les anticorps anti-titine ont fait leur retour dans de récentes publications. Ces anticorps ont été longtemps considérés comme associés exclusivement à la myasthénie aux anticorps anti-RACH (20-40 %). Rarement détectés dans la myasthénie « anti-RACH positive » à début précoce (chez 6 %), ils indiquent dans cette population un haut risque de thymome concomitant (estimé à 50-95 % selon différentes études). Les anticorps anti-titine sont largement plus fréquents dans la myasthénie « anti-RACH positive » à début tardif (50-80 %) mais leur association avec le thymome est par contre ici beaucoup moins spécifique [20]. Ces dernières années, il a été possible d'affiner les techniques de détection des anticorps anti-titine et de remplacer le test ELISA par la RIPA, technique plus sensible. Ce test a permis d'identifier les patients myasthéniques triple-séronégatifs (sans anticorps anti-RACH, anti-MuSK ni anti-LRP4) mais porteurs d'anticorps anti-titine [3, 21]. Ces patients présentent une myasthénie cliniquement bénigne (n'excédant pas le stade III selon la classification MGFA) qui se manifeste le plus souvent par une fatigabilité modérée des quatre



Anti-agrine	Anti-cortactine	Anti-titine	Myasthénie séronégative (anti-RACH - anti-MuSK- anti-LRP4 -)
~ 4 %	~ 15 %	~ 40 %	~ 10 %
F = H Adultes	F > H Adultes	F < H Adultes, personnes âgées	F < H Adultes
Principalement formes graves	Principalement formes oculaires ou bénignes généralisées	Formes graves surtout si les anti-RACH également présents	Principalement formes bénignes, oculaires
Non	Non	Thymome	Rarement hyperplasie thymique
Non	Non	Non	-

membres ou par une atteinte oculaire isolée. Le thymome n'a pas été retrouvé dans cette population.

En revanche, la présence des anticorps anti-titine chez les patients ayant déjà des anticorps anti-RACH ou anti-MuSK constitue un facteur prédictif aggravant. Ces patients présentent habituellement des formes cliniques plus graves et, pour ceux qui ont également les anticorps anti-RACH, il existe un risque élevé de thymome [3].

Les anticorps anti-titine ne sont pas spécifiques de la myasthénie et peuvent être retrouvés notamment dans les différents syndromes neurologiques paranéoplasiques.

Myasthénie « tri-séronégative »

Il existe pour l'instant très peu de cohortes publiées caractérisant les patients séronégatifs sans anticorps anti-RACH, anti-MuSK ni anti-LRP4 [3, 15, 22]. La recherche des anticorps anti-agrine et anti-titine n'a été réalisée que dans une seule cohorte [3].

Les données cliniques sont assez concomitantes. Les patients sont le plus souvent des femmes (ratio femme : homme entre 2 : 1 à 9 : 1). Le début des symptômes est variable mais les formes tardives semblent prédominer. Quant à la gravité de la maladie, les formes bénignes (MGFA I ou II) sont les plus fréquentes. En revanche, la réponse aux traitements est habituellement moins bonne que dans la myasthénie avec les anticorps anti-RACH, et la rémission complète est rarement observée. Les anomalies thymiques semblent être rarement associées (un cas de thymome [15] et une hyperplasie thymique chez 13 % des patients [3]).

Résultats de l'étude clinique d'une cohorte angevine de patients myasthéniques séronégatifs

Parmi les 145 patients adultes suivis au Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires d'Angers, 35 ont été considérés comme séronégatifs (sans anticorps anti-RACH ni anti-MuSK détectés par RIPA). Une séroconversion en anti-RACH a été observée chez 6 des

35 patients (17 %), le plus souvent dans le courant de la première année après l'apparition des symptômes mais chez une patiente, la séroconversion s'est produite après plusieurs dizaines d'années d'évolution de la maladie. Parmi les 29 patients restés séronégatifs, 59 % (17 patients) présentaient une forme oculaire et 41 % (12 patients) une forme généralisée. La sensibilité diagnostique de la recherche d'un bloc neuromusculaire et du test pharmacologique à l'édrophonium est restée faible (respectivement 28 % et 55,5 %). Les pathologies thymiques ont été rares (1 cas de thymome et 2 cas d'hyperplasie thymique).

Sur le plan clinique, la majorité des patients séronégatifs (70 %) avaient un score MGFA de I ou II ce qui correspond à la myasthénie d'expression clinique bénigne. Quarante-six pourcent des patients avec la forme généralisée et 27,7 % des patients avec la forme oculaire ont nécessité un traitement par immunosuppresseur et/ou par corticoïdes. La rémission pharmacologique complète a pu être induite chez la moitié des patients (15 sur 29). Ce résultat contraste avec le faible taux habituel des rémissions complètes chez les patients « tri-séronégatifs ». Il est probable que cette meilleure réponse aux traitements soit en lien avec la présence dans notre cohorte de patients avec des anticorps anti-RACH à faible affinité ou avec des anti-LRP4.

Conclusions

Le diagnostic de la myasthénie séronégative est parfois difficile à établir. La symptomatologie peut être assez limitée, les formes oculaires étant les plus fréquentes. Les examens complémentaires comme la recherche du

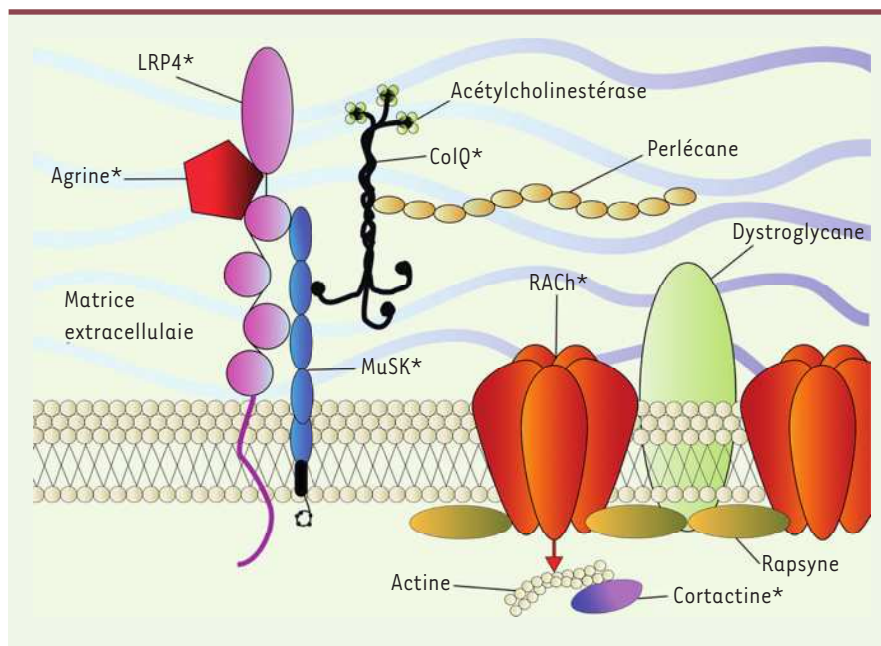


Figure 1. Protéines de la jonction neuromusculaire. *Protéines impliquées ou potentiellement impliquées dans la myasthénie auto-immune.

bloc neuromusculaire ou le traitement anticholinesthésique d'épreuve peuvent parfois ne pas être concluants.

La séroconversion en myasthénie anti-RACH n'est pas rare (17 % dans notre cohorte angevine) ; il existe donc un intérêt de refaire le dosage des anticorps anti-RACH et anti-MuSK à distance du diagnostic.

Grâce à la découverte des anticorps anti-RACH à faible affinité il est actuellement possible de confirmer le diagnostic chez 16 à 38 % des patients présentant une la myasthénie séronégative, principalement oculaire. La présence des « nouveaux anticorps » comme les anti-LRP4 ou les anti-agrine, dont la spécificité n'est pour l'instant pas clairement établie, apporte néanmoins un argument complémentaire quant à l'implication d'un facteur humoral dans la myasthénie séronégative. Ces avancées dans le domaine de la myasthénie auto-immune ont été possibles avec le développement des techniques cellulaires. Ces techniques sont laborieuses et permettent uniquement une estimation semi-quantitative de la concentration en anticorps. Leur utilisation comme examen de routine dans le diagnostic de la myasthénie auto-immune reste donc pour l'instant limitée aux anticorps anti-RACH à faible affinité¹.

Seronegative myasthenia gravis

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDs). *Myasthénie auto-immune*. Centre de références de pathologie neuromusculaire Paris Est, juillet 2015.
2. Sanders DB, Andrews I, Howard JF, Massey JM. Seronegative myasthenia gravis. *Neurology* 1997 ; 48 : S40-5.

3. Cordts I, Bodart N, Hartmann K, et al. Screening for lipoprotein receptor-related protein 4-, agrin-, and titin-antibodies and exploring the autoimmune spectrum in myasthenia gravis. *J Neurol* 2017 ; 264 : 1193-203.
4. Garg N, Yiannikas C, Hardy TA, et al. Late presentations of congenital myasthenic syndromes: how many do we miss? *Muscle Nerve* 2016 ; 54 : 721-7.
5. Lindstrom JM, Seybold ME, Lennon VA, et al. Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis. Prevalence, clinical correlates, and diagnostic value. *Neurology* 1976 ; 26 : 1054-9.
6. Burges J, Vincent A, Molenaar PC, et al. Passive transfer of seronegative myasthenia gravis to mice. *Muscle Nerve* 1994 ; 17 : 1393-400.
7. Leite MI, Jacob S, Viegas S, et al. IgG1 antibodies to acetylcholine receptors in 'seronegative' myasthenia gravis. *Brain* 2008 ; 131 : 1940-52.
8. Devic P, Petiot P, Simonet T, et al. Antibodies to clustered acetylcholine receptor: expanding the phenotype. *Eur J Neurol* 2014 ; 21 : 130-4.
9. Rodríguez Cruz PM, Al-Hajjar M, et al. Clinical features and diagnostic usefulness of antibodies to clustered acetylcholine receptors in the diagnosis of seronegative myasthenia gravis. *JAMA Neurol* 2015 ; 72 : 642-9.
10. Blaes F, Beeson D, Plested P, et al. IgG from seronegative myasthenia gravis patients binds to a muscle cell line, TE671, but not to human acetylcholine receptor. *Ann Neurol* 2000 ; 47 : 504-10.
11. Huda S, Waters P, Woodhall M, et al. IgG-specific cell-based assay detects potentially pathogenic MuSK-Abs in seronegative MG. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2017 ; 4 : e357.
12. Guptill JT, Sanders DB, Evoli A. Anti-MuSK antibody myasthenia gravis: clinical findings and response to treatment in two large cohorts. *Muscle Nerve* 2011 ; 44 : 36-40.
13. Higuchi O, Hamuro J, Motomura M, Yamanashi Y. Autoantibodies to low-density lipoprotein receptor-related protein 4 in myasthenia gravis. *Ann Neurol* 2011 ; 69 : 418-22.
14. Shen C, Lu Y, Zhang B, et al. Antibodies against low-density lipoprotein receptor-related protein 4 induce myasthenia gravis. *J Clin Invest* 2013 ; 123 : 5190-202.
15. Marino M, Scuderi F, Samengo D, et al. Flow cytometric analysis of anti-LRP4 (LDL receptor-related protein 4) autoantibodies in Italian patients with myasthenia gravis. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0135378.
16. Zhang B, Shen C, Bealmeir B, et al. Autoantibodies to agrin in myasthenia gravis patients. *PLoS One* 2014 ; 9 : e91816.
17. Gasperi C, Melms A, Schoser B, et al. Anti-agrin autoantibodies in myasthenia gravis. *Neurology* 2014 ; 82 : 1976-83.
18. Gallardo E, Martínez-Hernández E, Titulaer MJ, et al. Cortactin autoantibodies in myasthenia gravis. *Autoimmun Rev* 2014 ; 13 : 1003-7.
19. Zoltowska KM, Belaya K, Leite M, et al. Collagen Q: a potential target for autoantibodies in myasthenia gravis. *J Neurol Sci* 2015 ; 348 : 241-4.
20. Szczudlik P, Szyluk B, Lipowska M, et al. Antititin antibody in early- and late-onset myasthenia gravis. *Acta Neurol Scand* 2014 ; 130 : 229-33.
21. Stergiou C, Lazaridis K, Zouvelou V, et al. Titin antibodies in seronegative myasthenia gravis: a new role for an old antigen. *J Neuroimmunol* 2016 ; 292 : 108-15.
22. Huda S, Woodhall MR, Vincent A, Heckmann JM. Characteristics of acetylcholine-receptor-antibody-negative myasthenia gravis in a South African cohort. *Muscle Nerve* 2016 ; 54 : 1023-9.

TIRÉS À PART

A. Nadaj-Pakleza

¹ Dosage d'anticorps anti-Rach de faible affinité. Adresse d'envoi du prélèvement : Pr L. Schaeffer, Dr T. Simonet et Dr I. Rouvet, Centre de Biotechnologie Cellulaire - Centre de Biologie Est, 59, boulevard Pinel, 69500 Bron, France.