



HAL
open science

Influences des modifications des glycosylations sur la pathogénicité des auto-anticorps associés aux pathologies neurologiques

Maylis Adi Wijayanto

► **To cite this version:**

Maylis Adi Wijayanto. Influences des modifications des glycosylations sur la pathogénicité des auto-anticorps associés aux pathologies neurologiques. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-03833150

HAL Id: dumas-03833150

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03833150v1>

Submitted on 28 Oct 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Influences des modifications des glycosylations sur la pathogénicité
des autoanticorps associés aux pathologies neurologiques**

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES

DE MARSEILLE

Le 24 Octobre 2022

Par Madame Maylis ADI WIJAYANTO

Née le 21 août 1993 à Poitiers (86)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de BIOLOGIE MÉDICALE

OPTION BIOLOGIE GÉNÉRALE

Membres du Jury de la Thèse :

Madame le Professeur GRANEL-REY Brigitte

Président

Monsieur le Docteur BOUCRAUT Joseph

Directeur

Monsieur le Professeur GUIEU Régis

Assesseur

Monsieur le Docteur DELMONT Emilien

Assesseur

**Influences des modifications des glycosylations sur la pathogénicité
des autoanticorps associés aux pathologies neurologiques**

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES

DE MARSEILLE

Le 24 Octobre 2022

Par Madame Maylis ADI WIJAYANTO

Née le 21 août 1993 à Poitiers (86)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de BIOLOGIE MÉDICALE

OPTION BIOLOGIE GÉNÉRALE

Membres du Jury de la Thèse :

Madame le Professeur GRANEL-REY Brigitte

Président

Monsieur le Docteur BOUCRAUT Joseph

Directeur

Monsieur le Professeur GUIEU Régis

Assesseur

Monsieur le Docteur DELMONT Emilien

Assesseur



FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES & PARAMÉDICALES

Doyen	:	Pr. Georges LEONETTI
Vice-Doyen aux affaires générales	:	Pr. Patrick DESSI
Vice-Doyen aux professions paramédicales	:	Pr. Philippe BERBIS
Conseiller	:	Pr. Patrick VILLANI
Asseseurs :		
➤ aux études	:	Pr. Kathia CHAUMOITRE
➤ à la recherche	:	Pr. Jean-Louis MEGE
➤ à l'unité mixte de formation continue en santé	:	Pr. Justin MICHEL
➤ pour le secteur NORD	:	Pr. Stéphane BERDAH
➤ Groupements Hospitaliers de territoire	:	Pr. Jean-Noël ARGENSON
➤ aux masters	:	Pr. Pascal ADALIAN

Chargés de mission :

➤ sciences humaines et sociales	:	Pr. Pierre LE COZ
➤ relations internationales	:	Pr. Stéphane RANQUE
➤ DU/DIU	:	Pr. Véronique VITTON
➤ DPC, disciplines médicales & biologiques	:	Pr. Frédéric CASTINETTI
➤ DPC, disciplines chirurgicales	:	Dr. Thomas GRAILLON

ÉCOLE DE MEDECINE

Directeur	:	Pr. Jean-Michel VITON
------------------	---	------------------------------

Chargés de mission

▪ PACES – Post-PACES	:	Pr. Régis GUIEU
▪ DFGSM	:	Pr. Anne-Laure PELISSIER
▪ DFASM	:	Pr. Marc BARTHET
▪ Préparation aux ECN	:	Dr Aurélie DAUMAS
▪ DES spécialités	:	Pr. Pierre-Edouard FOURNIER
▪ DES stages hospitaliers	:	Pr. Benjamin BLONDEL
▪ DES MG	:	Pr. Christophe BARTOLI
▪ Démographie médicale	:	Dr. Noémie RESSEGUIER
▪ Etudiant	:	Elise DOMINJON

ÉCOLE DE DE MAIEUTIQUE

Directrice : **Madame Carole ZAKARIAN**

Chargés de mission

- 1^{er} cycle : Madame Estelle BOISSIER
- 2^{ème} cycle : Madame Cécile NINA

ÉCOLE DES SCIENCES DE LA RÉADAPTATION

Directeur : **Monsieur Philippe SAUVAGEON**

Chargés de mission

- Masso- kinésithérapie 1^{er} cycle : Madame Béatrice CAORS
- Masso-kinésithérapie 2^{ème} cycle : Madame Joannie HENRY
- Mutualisation des enseignements : Madame Géraldine DEPRES

ÉCOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

Directeur : **Monsieur Sébastien COLSON**

Chargés de mission

- Chargée de mission : Madame Sandrine MAYEN RODRIGUES
- Chargé de mission : Monsieur Christophe ROMAN

PROFESSEURS HONORAIRES

MM	AGOSTINI Serge	MM	DELARQUE Alain
	ALBANESE Jacques		DEVIN Robert
	ALDIGHIERI René		DEVRED Philippe
	ALESSANDRINI Pierre		DJIANE Pierre
	ALLIEZ Bernard		DONNET Vincent
	AQUARON Robert		DUCASSOU Jacques
	ARGEME Maxime		DUFOUR Michel
	ASSADOURIAN Robert		DUMON Henri
	AUFFRAY Jean-Pierre		DURAND Jean-Marc
	AUTILLO-TOUATI Amapola		ENJALBERT Alain
	AZORIN Jean-Michel		FAUGERE Gérard
	BAILLE Yves		FAVRE Roger
	BARDOT Jacques		FIECHI Marius
	BARDOT André		FARNARIER Georges
	BERARD Pierre		FIGARELLA Jacques
	BERGOIN Maurice		FIGARELLA-BRANGER Dominique
	BERLAND Yvon		FONTES Michel
	BERNARD Dominique		FRANCES Yves
	BERNARD Jean-Louis		FRANCOIS Georges
	BERNARD Pierre-Marie		FUENTES Pierre
	BERTRAND Edmond		GABRIEL Bernard
	BISSET Jean-Pierre		GALINIER Louis
	BLANC Bernard		GALLAIS Hervé
	BLANC Jean-Louis		GAMERRE Marc
	BOLLINI Gérard		GARCIN Michel
	BONGRAND Pierre		GARNIER Jean-Marc
	BONNEAU Henri		GAUTHIER André
	BONNOIT Jean		GERARD Raymond
	BORY Michel		GEROLAMI-SANTANDREA André
	BOTTA Alain		GIUDICELLI Sébastien
	BOTTA-FRIDLUND Daniëlle		GOUDARD Alain
	BOUBLI Léon		GOUIN François
	BOURGEADE Augustin		GRILLO Jean-Marie
	BOUVENOT Gilles		GRIMAUD Jean-Charles
	BOUYALA Jean-Marie		GRISOLI François
	BREMOND Georges		GROULIER Pierre
	BRICOT René		GUYS Jean-Michel
	BRUNET Christian		HADIDA/SAYAG Jacqueline
	BUREAU Henri		HARLE Jean-Robert
	CAMBOULIVES Jean		HASSOUN Jacques
	CANNONI Maurice		HEIM Marc
	CARTOUZOU Guy		HOUEL Jean
	CAU Pierre		HUGUET Jean-François
	CHABOT Jean-Michel		JAQUET Philippe
	CHAMLIAN Albert		JAMMES Yves
	CHARPIN Denis		JOUVE Paulette
	CHARREL Michel		JUHAN Claude
	CHAUVEL Patrick		JUIN Pierre
	CHOUX Maurice		KAPHAN Gérard
	CIANFARANI François		KASBARIAN Michel
	CLAVERIE Jean-Michel		KLEISBAUER Jean-Pierre
	CLEMENT Robert		LACHARD Jean
	COMBALBERT André		LAFFARGUE Pierre
	CONTE-DEVOLX Bernard		LAUGIER René
	CORRIOL Jacques		LE TREUT Yves
	COULANGE Christian		LEGRE Régis
	CURVALE Georges		LEVY Samuel
	DALMAS Henri		LOUCHET Edmond
	DE MICO Philippe		LOUIS René
	DELPERO Jean-Robert		LUCIANI Jean-Marie
	DESSEIN Alain		MAGALON Guy

PROFESSEURS HONORAIRES

MM MAGNAN Jacques
MALLAN- MANCINI Josette
MALMEJAC Claude
MARANINCHI Dominique
MARTIN Claude
MATTEI Jean François
MERCIER Claude
MICHOTEY Georges
MIRANDA François
MONFORT Gérard
MONGES André
MONGIN Maurice
MUNDLER Olivier
NAZARIAN Serge
NICOLI René
NOIRCLERC Michel
OLMER Michel
OREHEK Jean
PANUEL Michel
PAPY Jean-Jacques
PAULIN Raymond
PELOUX Yves
PENAUD Antony
PENE Pierre
PIANA Lucien
PICAUD Robert
PIGNOL Fernand
POGGI Louis
POITOUT Dominique
PONCET Michel
POUGET Jean
PRIVAT Yvan
QUILICHINI Francis
RANQUE Jacques
RANQUE Philippe
RAOULT Didier
RICHAUD Christian
RIDINGS Bernard
ROCHAT Hervé
ROHNER Jean-Jacques
ROUX Hubert
ROUX Michel
RUFO Marcel
SAHEL José
SALAMON Georges
SALDUCCI Jacques
SAMBUC Roland
SAN MARCO Jean-Louis
SANKALE Marc
SARACCO Jacques
SARLES Jacques
SARLES - PHILIP Nicole
SASTRE Bernard
SCHIANO Alain
SCOTTO Jean-Claude
SEBAHOUN Gérard
SEITZ Jean-François
SERMENT Gérard
SOULAYROL René
TAMALET Jacques
TARANGER-CHARPIN Colette
THIRION Xavier
THOMASSIN Jean-Marc
TRIGLIA Jean-Michel
UNAL Daniel
VAGUE Philippe
VAGUE/JUHAN Irène
VANUXEM Paul
VERVLOET Daniel
VIALETTES Bernard
WEILLER Pierre-Jean

EMERITAT

2008

M. le Professeur	LEVY Samuel	31/08/2011
Mme le Professeur	JUHAN-VAGUE Irène	31/08/2011
M. le Professeur	PONCET Michel	31/08/2011
M. le Professeur	KASBARIAN Michel	31/08/2011
M. le Professeur	ROBERTOUX Pierre	31/08/2011

2009

M. le Professeur	DJIANE Pierre	31/08/2011
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2012

2010

M. le Professeur	MAGNAN Jacques	31/12/2014
------------------	----------------	------------

2011

M. le Professeur	DI MARINO Vincent	31/08/2015
M. le Professeur	MARTIN Pierre	31/08/2015
M. le Professeur	METRAS Dominique	31/08/2015

2012

M. le Professeur	AUBANIAC Jean-Manuel	31/08/2015
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2015
M. le Professeur	CAMBOULIVES Jean	31/08/2015
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2015
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2015
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2015
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2015

2013

M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUFO Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016

2014

M. le Professeur	FUENTES Pierre	31/08/2017
M. le Professeur	GAMERRE Marc	31/08/2017
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2017
M. le Professeur	PERAGUT Jean-Claude	31/08/2017
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2017

2015

M. le Professeur	COULANGE Christian	31/08/2018
M. le Professeur	COURAND François	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2016
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2016
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2016

EMERITAT

2016

M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2017
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2019
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2017
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2017
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2019
M. le Professeur	JAMMES Yves	31/08/2019
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2017
M. le Professeur	POITOUT Dominique	31/08/2019
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2017
M. le Professeur	VIALETES Bernard	31/08/2019

2017

M. le Professeur	ALESSANDRINI Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2018
M. le Professeur	CHAUVEL Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2018
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2018
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2018
M. le Professeur	SEBBAHOUN Gérard	31/08/2018

2018

M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2021
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2019
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2019
M. le Professeur	RIDINGS Bernard	31/08/2021

2019

M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2020
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2020
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2020
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2020
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2020
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2020
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2020

2020

M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2021
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2021
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2021
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2021

EMERITAT

2020

M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2021
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2021

2021

M. le Professeur	BOUBLI Léon	31/08/2024
M. le Professeur	LEGRE Régis	31/08/2024
M. le Professeur	RAOULT Didier	31/08/2024
M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2022
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2022
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2022
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2022
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2022
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2022
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2022

2020

2022

Mme le Professeur	FIGARELLA-BRANGER Dominique	31/08/2025
M. le Professeur	HARLE Jean-Robert	31/08/2025
M. le Professeur	PANUEL Michel	31/08/2025
M. le Professeur	BOUBLI Léon	31/08/2024
M. le Professeur	LEGRE Régis	31/08/2024
M. le Professeur	RAOULT Didier	31/08/2024
M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2023
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2023
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2023
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2023
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2023
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2023
M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2023
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2023

DOCTEURS HONORIS CAUSA

1967

MM. les Professeurs DADI (Italie)
CID DOS SANTOS (Portugal)

1974

MM. les Professeurs MAC ILWAIN (Grande-Bretagne)
T.A. LAMBO (Suisse)

1975

MM. les Professeurs O. SWENSON (U.S.A.)
Lord J.WALTON of DETCHANT (Grande-Bretagne)

1976

MM. les Professeurs P. FRANCHIMONT (Belgique)
Z.J. BOWERS (U.S.A.)

1977

MM. les Professeurs C. GAJDUSEK-Prix Nobel (U.S.A.)
C.GIBBS (U.S.A.)
J. DACIE (Grande-Bretagne)

1978

M. le Président F. HOUPHOUET-BOIGNY (Côte d'Ivoire)

1980

MM. les Professeurs A. MARGULIS (U.S.A.)
R.D. ADAMS (U.S.A.)

1981

MM. les Professeurs H. RAPPAPORT (U.S.A.)
M. SCHOU (Danemark)
M. AMENT (U.S.A.)
Sir A. HUXLEY (Grande-Bretagne)
S. REFSUM (Norvège)

1982

M. le Professeur W.H. HENDREN (U.S.A.)

1985

MM. les Professeurs S. MASSRY (U.S.A.)
KLINSMANN (R.D.A.)

1986

MM. les Professeurs E. MIHICH (U.S.A.)
T. MUNSAT (U.S.A.)
LIANA BOLIS (Suisse)
L.P. ROWLAND (U.S.A.)

1987

M. le Professeur P.J. DYCK (U.S.A.)

1988

MM. les Professeurs R. BERGUER (U.S.A.)
W.K. ENGEL (U.S.A.)
V. ASKANAS (U.S.A.)
J. WEHSTER KIRKLIN (U.S.A.)
A. DAVIGNON (Canada)
A. BETTARELLO (Brésil)

1989

M. le Professeur P. MUSTACCHI (U.S.A.)

1990		DOCTEURS HONORIS CAUSA
MM. les Professeurs		J.G. MC LEOD (Australie) J. PORTER (U.S.A.)
1991		
MM. les Professeurs		J. Edward MC DADE (U.S.A.) W. BURGDORFER (U.S.A.)
1992		
MM. les Professeurs		H.G. SCHWARZACHER (Autriche) D. CARSON (U.S.A.) T. YAMAMURO (Japon)
1994		
MM. les Professeurs		G. KARPATI (Canada) W.J. KOLFF (U.S.A.)
1995		
MM. les Professeurs		D. WALKER (U.S.A.) M. MULLER (Suisse) V. BONOMINI (Italie)
1997		
MM. les Professeurs		C. DINARELLO (U.S.A.) D. STULBERG (U.S.A.) A. MEIKLE DAVISON (Grande-Bretagne) P.I. BRANEMARK (Suède)
1998		
MM. les Professeurs		O. JARDETSKY (U.S.A.)
1999		
MM. les Professeurs		J. BOTELLA LLUSIA (Espagne) D. COLLEN (Belgique) S. DIMAURO (U. S. A.)
2000		
MM. les Professeurs		D. SPIEGEL (U. S. A.) C. R. CONTI (U.S.A.)
2001		
MM. les Professeurs		P-B. BENNET (U. S. A.) G. HUGUES (Grande Bretagne) J-J. O'CONNOR (Grande Bretagne)
2002		
MM. les Professeurs		M. ABEDI (Canada) K. DAI (Chine)
2003		
M. le Professeur Sir		T. MARRIE (Canada) G.K. RADDI (Grande Bretagne)
2004		
M. le Professeur		M. DAKE (U.S.A.)
2005		
M. le Professeur		L. CAVALLI-SFORZA (U.S.A.)
2006		
M. le Professeur		A. R. CASTANEDA (U.S.A.)
2007		
M. le Professeur		S. KAUFMANN (Allemagne)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert	COSTELLO Régis	HABIB Gilbert
ALIMI Yves	COURBIERE Blandine	HARDWIGSEN Jean
AMABILE Philippe	CRAVELLO Ludovic	HOUVENAEGHEL Gilles
<i>AMBROSI Pierre Surnombre</i>	CUISSET Thomas	HRAIECH Sami
ANDRE Nicolas	DA FONSECA David	JACQUIER Alexis
ARGENSON Jean-Noël	DAHAN-ALCARAZ Laetitia	JOURDE-CHICHE Noémie
ASTOUL Philippe	DANIEL Laurent	JOUVE Jean-Luc
ATTARIAN Shahram	DARMON Patrice	KAPLANSKI Gilles
AUDOUIN Bertrand	DAUMAS Aurélie	KARSENTY Gilles
AUQUIER Pascal	DAVID Thierry	<i>KERBAUL François détachement</i>
AVIERINOS Jean-François	D'ERCOLE Claude	KRAHN Martin
AZULAY Jean-Philippe	D'JOURNO Xavier	LAFFORGUE Pierre
<i>BAILLY Daniel Retraite au 2/11/2022</i>	DEHARO Jean-Claude	LAGIER Jean-Christophe
BARLIER-SETTI Anne	DELAPORTE Emmanuel	LAMBAUDIE Eric
BARLOGIS Vincent	<i>DENIS Danièle Surnombre</i>	LANCON Christophe
BARTHET Marc	DEVILLIER Raynier	LA SCOLA Bernard
BARTOLI Christophe	DISDIER Patrick	LAUNAY Franck
BARTOLI Jean-Michel	DODDOLI Christophe	LAVIEILLE Jean-Pierre
BARTOLI Michel	DRANCOURT Michel	LE CORROLLER Thomas
BARTOLOMEI Fabrice	DUBUS Jean-Christophe	LECHEVALLIER Eric
BASTIDE Cyrille	DUFFAUD Florence	LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
BELIARD-LASSERRE Sophie	DUFOUR Henry	LEONE Marc
BENSOUSSAN Laurent	DUSSOL Bertrand	LEONETTI Georges
BERBIS Philippe	EBBO Mikaël	LEPIDI Hubert
BERBIS Julie	EUSEBIO Alexandre	<i>LEVY Nicolas disponibilité</i>
BERDAH Stéphane	FABRE Alexandre	LOOSVELD Marie
BEROUD Christophe	FAKHRY Nicolas	MACE Loïc
BERTRAND Baptiste	FAURE Alice	MAGNAN Pierre-Edouard
BERTUCCI François	FELICIAN Olivier	MANCINI Julien
BEYER-BERJOT Laura	FENOLLAR Florence	MEGE Jean-Louis
BLAISE Didier	FLECHER Xavier	MERROT Thierry
BLIN Olivier	FOUILLOUX Virginie	METZLER/GUILLEMAIN Catherine
BLONDEL Benjamin	FOURNIER Pierre-Edouard	MEYER/DUTOUR Anne
BOISSIER Romain	FRANCESCHI Frédéric	MICCALEF/ROLL Joëlle
BONIN/GUILLAUME Sylvie	FUENTES Stéphane	MICHEL Fabrice
BONELLO Laurent	GABERT Jean	MICHEL Gérard
BONNET Jean-Louis	GABORIT Bénédicte	MICHEL Justin
<i>BOUFI Mourad</i>	GAINNIER Marc	<i>MICHELET Pierre disponibilité</i>
BOYER Laurent	<i>GARCIA Stéphane disponibilité</i>	MILH Mathieu
BREGEON Fabienne	GARIBOLDI Vlad	MILLION Matthieu
BRETELLE Florence	GAUDART Jean	MOAL Valérie
BROUQUI Philippe	GAUDY-MARQUESTE Caroline	MORANGE Pierre-Emmanuel
BRUDER Nicolas	GENTILE Stéphanie	MOULIN Guy
BRUE Thierry	GERBEAUX Patrick	MOUTARDIER Vincent
BRUNET Philippe	GEROLAMI/SANTANDREA René	NAUDIN Jean
BURTEY Stéphane	GILBERT/ALESSI Marie-Christine	NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
CARCOPINO-TUSOLI Xavier	GIORGI Roch	NICOLLAS Richard
CASANOVA Dominique	GIOVANNI Antoine	NGUYEN Karine
CASTINETTI Frédéric	GIRARD Nadine	OLIVE Daniel
CECCALDI Mathieu	GIRAUD/CHABROL Brigitte	OLLIVIER Matthieu
CERMOLACCE Michel	GONCALVES Anthony	OUAFIK L'Houcine
CHAGNAUD Christophe	GONZALEZ Jean- Michel	OVAERT-REGGIO Caroline
CHAMBOST Hervé	GRAILLON Thomas	PADOVANI Laetitia
CHAMPSAUR Pierre	GRANEL/REY Brigitte	PAGANELLI Franck
CHANEZ Pascal	GRANDVAL Philippe	PAPAZIAN Laurent
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle	GREILLIER Laurent	PAROLA Philippe
CHARREL Rémi	<i>GROB Jean-Jacques Retraite au 1/10/2022</i>	PELISSIER-ALICOT Anne-Laure
CHAUMOITRE Kathia	GUEDJ Eric	PELLETIER Jean
CHIARONI Jacques	GUIEU Régis	PERRIN Jeanne
CHINOT Olivier	GUIS Sandrine	PESENTI Sébastien
CHOSSEGROS Cyrille	GUYE Maxime	PETIT Philippe
COLLART Frédéric	GUYOT Laurent	PHAM Thao

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	ROUDIER Jean	VALERO René
PIQUET Philippe	SALAS Sébastien	VAROQUAUX Arthur Damien
PIRRO Nicolas	SARLON-BARTOLI Gabrielle	VELLY Lionel
POINSO François	SCAVARDA Didier	VEY Norbert
RACCAH Denis	SCHLEINITZ Nicolas	VIDAL Vincent
RADULESCO Thomas	SEBAG Frédéric	VIENS Patrice
RANQUE Stéphane	SIELEZNEFF Igor	VILLANI Patrick
REGIS Jean	SIMON Nicolas	VITON Jean-Michel
REYNAUD/GAUBERT Martine	STEIN Andréas	VITTON Véronique
REYNAUD Rachel	SUISSA Laurent	<i>VIEHWEGER Heide Elke détachement</i>
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	TAIEB David	VIVIER Eric
RICHERI Raphaëlle	THOMAS Pascal	XERRI Luc
ROCHE Pierre-Hugues	THUNY Franck	ZIELESKIEWICZ Laurent
ROCH Antoine	TOSELLO Barthélémy	
ROCHWERGER Richard	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès	
ROLL Patrice	TROPIANO Patrick	
ROSSI Dominique	<i>TSIMARATOS Michel détachement</i>	
ROSSI Pascal	TURRINI Olivier	

PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ADALIAN Pascal
AGHABABIAN Valérie
BELIN Pascal
CHABANNON Christian
CHABRIERE Eric
COLSON Sébastien
FERON François
LE COZ Pierre
LEVASSEUR Anthony
RANJEVA Jean-Philippe
SOBOL Hagay

PROFESSEUR CERTIFIE

FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne

PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE à MI-TEMPS

REVIS Joana

PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECINE GENERALE

GENTILE Gaëtan

PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES à MI-TEMPS MEDECINE GENERALE

BARGIER Jacques
JANCZEWSKI Aurélie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE à TEMPS PLEIN DES DISCIPLINES MEDICALES

BOUSSUGES Alain

PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE A MI-TEMPS DES DISCIPLINES MEDICALES

BOURVIS Nadège

Secrétariat Général - RH

MAJ 01.09.2022

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AHERFI Sarah	GASTALDI Marguerite	ROBERT Thomas
ANGELAKIS Emmanouil (<i>disponibilité</i>)	GAUDRY Marine	ROMANET Pauline
APPAY Romain	GELSI/BOYER Véronique	SABATIER Renaud
ATLAN Catherine (<i>disponibilité</i>)	GIUSIANO COURCAMBECK Sophie	SARI-MINODIER Irène
BEGE Thierry	GOURIET Frédérique	SAULTIER Paul
BENYAMINE Audrey	GUERIN Carole	SAVEANU Alexandru
BIRNBAUM David	GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné	STELLMANN Jan-Patrick
BOBOT Mickael	GUIDON Catherine	SUCHON Pierre
BONINI Francesca	GUIVARCH Jokthan	TABOURET Emeline
BOUCRAUT Joseph	HABERT Paul	TOGA Isabelle
BOULAMERY Audrey	HAUTIER Aurélie	TOMASINI Pascale
BOULLU/CIOCCA Sandrine	IBRAHIM KOSTA Manal	TROUDE Lucas
BOUSSEN Salah Michel	JALOUX Charlotte	TROUSSE Delphine
BUFFAT Christophe	JARROT Pierre-André	TUCHTAN-TORRENTS Lucile
CAMILLERI Serge	KASPI-PEZZOLI Elise	VELY Frédéric
CARRON Romain	L'OLLIVIER Coralie	VENTON Geoffroy
CASSAGNE Carole	LABIT-BOUVIER Corinne	VION-DURY Jean
CHAUDET Hervé	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	ZATTARA/CANNONI Hélène
CHRETIEN Anne-Sophie	LAGARDE Stanislas	
COZE Carole	LAGIER Aude (<i>disponibilité</i>)	
CUNY Thomas	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	
DADOUN Frédéric (<i>disponibilité</i>)	LAMBERT Isabelle	
DALES Jean-Philippe	LENOIR Marien	
DARIEL Anne	LEVY/MOZZICONACCI Annie	
DEGEORGES/VITTE Joëlle (<i>disponibilité</i>)	MAAROUF Adil	
DEHARO Pierre	MACAGNO Nicolas	
DELLIAUX Stéphane	MALISSEN Nausicaa	
DELTEIL Clémence	MAUES DE PAULA André	
DESPLAT/JEGO Sophie	MEGE Diane	
DUBOURG Grégory	MORAND-HUGGET Aurélie	
DUONSEIL Pauline	MOTTOLA GHIGO Giovanna	
DUFOUR Jean-Charles	NINOVE Laetitia	
ELDIN Carole	NOUGAIREDE Antoine	
FOLETTI Jean- Marc	PAULMYER/LACROIX Odile	
FRANKEL Diane	RESSEGUIER Noémie	
FROMNOT Julien	ROBERT Philippe	

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZAINEH Mohammad	DESNUES Benoît	POGGI Marjorie
BARBACARU/PERLES T. A.	MARANINCHI Marie	RUEL Jérôme
BERLAND Caroline	MERHEJ/CHAUVEAU Vicky	THOLLON Lionel
BOYER Sylvie	MEZOUAR Soraya	THIRION Sylvie
DEGIOANNI/SALLE Anna	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte retraite au 1/10/2022	VERNA Emeline

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic
JEGO SABLIER Maëva

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BERNAL Alexis	ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle
FIERLING Thomas	THERY Didier
FORTE Jenny	
MITILIAN Eva	

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES à MI-TEMPS

BOURRIQUEN Maryline
LAZZAROTTO Sébastien
LUCAS Guillaume
MATHIEU Marion
MAYENS-RODRIGUES Sandrine
MELLINAS Marie
MORIN-GALFOUT Sara
ROMAN Christophe

TRINQUET Laure
VILLA Milène

CDI LRU TEMPS PLEIN ECOLE DES SCIENCES ET DE LA READAPTION

FORMATION ERGOTHERAPIE

BLANC Catheline
DESPRES Géraldine
GIRAUDIER Anaïs
PAVE Julien

FORMATION PODOLOGIE

GRIFFON Patricia
PETITJEAN Aurélie

FORMATION ORTHOPTIE

MONTICOLO Chloé

FORMATION MASSO-KINESITHERAPIE

AUTHIER Guillaume
CAORS Béatrice
CHAULLET Karine
ERCOLANO Bruno
HENRY Joannie
HOUDANT Benjamin
MIRAPEIX Sébastien
MULLER Philippe
ROSTAGNO Stéphan

CDD LRU TEMPS PLEIN ECOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

CHAYS-AMANIA Audrey

CDD LRU TEMPS PLEIN ANGLAIS

GILSINN Amanda

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

SACHAU-CARCEL Géraldine

CDI LRU ECOLE DE MAÏEUTIQUE

CLADY Emilie
FREMONDIERE Pierre
MATTEO Caroline
MONLEAU Sophie
MUSSARD-HASSLER Pascale
RIQUET Sébastien
ZAKARIAN Carole

PROFESSEURS DES UNIVERSITES et MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS
PROFESSEURS ASSOCIES, MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES mono-appartenants

ANATOMIE 4201

CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)
LE CORROLLER Thomas (PU-PH)
PIRRO Nicolas (PU-PH)

GUENOUN-MEYSSIGNAC Daphné (MCU-PH)
LAGIER Aude (MCU-PH) *disponibilité*

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203

CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (PU-PH)
DANIEL Laurent (PU-PH)
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)
GARCIA Stéphane (PU-PH)
XERRI Luc (PU-PH)

APPAY Romain (MCU-PH)
DALES Jean-Philippe (MCU-PH)
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)
MACAGNO Nicolas (MCU-PH)
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)

**ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ;
MEDECINE URGENCE 4801**

BRUDER Nicolas (PU-PH)
LEONE Marc (PU-PH)
MICHEL Fabrice (PU-PH)
VELLY Lionel (PU-PH)
ZIELESKIEWICZ Laurent (PU-PH)

BOUSSEN Salah Michel (MCU-PH)
GUIDON Catherine (MCU-PH)

ANGLAIS 11

FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne (PRCE)

**BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT
ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5405**

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (PU-PH)
PERRIN Jeanne (PU-PH)

ANTHROPOLOGIE 20

ADALIAN Pascal (PR)

DEGIOANNI/SALLE Anna (MCF)
VERNA Emeline (MCF)

SACHAU-CARCEL Géraldine (ATER)

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501

CHARREL Rémi (PU PH)
DRANCOURT Michel (PU-PH)
FENOLLAR Florence (PU-PH)
FOURNIER Pierre-Edouard (PU-PH)
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)
LA SCOLA Bernard (PU-PH)

AHERFI Sarah (MCU-PH)
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) *disponibilité*
DUBOURG Grégory (MCU-PH)
GOURIET Frédérique (MCU-PH)
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

CHABRIERE Eric (PR) (64ème section)

LEVASSEUR Anthony (PR) (64ème section)
DESNUES Benoit (MCF) (65ème section)
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky (MCF) (87ème section)

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401

BARLIER/SETTI Anne (PU-PH)
GABERT Jean (PU-PH)
GUIEU Régis (PU-PH)
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

BUFFAT Christophe (MCU-PH)
FROMNOT Julien (MCU-PH)
MARLINGE Marion (MCU-PH)
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)
ROMANET Pauline (MCU-PH)
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

BIOLOGIE CELLULAIRE 4403

ROLL Patrice (PU-PH)

FRANKEL Diane (MCU-PH)
GASTALDI Marguerite (MCU-PH)
KASPI-PEZZOLI Elise (MCU-PH)
LEVY-MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)

GUEDJ Eric (PU-PH)
 GUYE Maxime (PU-PH)
 TAIEB David (PU-PH)

BELIN Pascal (PR) (69ème section)
 RANJEVA Jean-Philippe (PR) (69ème section)

CAMMILLERI Serge (MCU-PH)
 VION-DURY Jean (MCU-PH)

BARBACARU/PERLES Téodora Adriana (MCF) (69ème section)

**BIOSTATISTIQUES, INFORMATIQUE MEDICALE
 ET TECHNOLOGIES DE COMMUNICATION 4604**

GAUDART Jean (PU-PH)
 GIORGI Roch (PU-PH)
 MANCINI Julien (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)
 DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)

ABU ZAINEH Mohammad (MCF) (5ème section)
 BOYER Sylvie (MCF) (5ème section)

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)
 BLONDEL Benjamin (PU-PH)
 FLECHER Xavier (PU PH)
 OLLIVIER Matthieu (PU-PH)
 ROCHWERGER Richard (PU-PH)
 TROPIANO Patrick (PU-PH)

CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE 4702

BERTUCCI François (PU-PH)
 CHINOT Olivier (PU-PH)
 DUFFAUD Florence (PU-PH)
 GONCALVES Anthony (PU-PH)
 HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)
 LAMBAUDIE Eric (PU-PH)
 PADOVANI Laetitia (PH-PH)
 SALAS Sébastien (PU-PH)
 VIENS Patrice (PU-PH)

SABATIER Renaud (MCU-PH)
 TABOURET Emeline (MCU-PH)

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)
 BONELLO Laurent (PU PH)
 BONNET Jean-Louis (PU-PH)
 CUISSET Thomas (PU-PH)
 DEHARO Jean-Claude (PU-PH)
 FRANCESCHI Frédéric (PU-PH)
 HABIB Gilbert (PU-PH)
 PAGANELLI Franck (PU-PH)
 THUNY Franck (PU-PH)

DEHARO Pierre (MCU PH)

CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE 5202

BERDAH Stéphane (PU-PH)
 BEYER-BERJOT Laura (PU-PH)
 HARDWIGSEN Jean (PU-PH)
 MOUTARDIER Vincent (PU-PH)
 SEBAG Frédéric (PU-PH)
 SIELEZNEFF Igor (PU-PH)
 TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)
 BIRNBAUM David (MCU-PH)
 DUONSEIL Pauline (MCU-PH)
 GUERIN Carole (MCU PH)
 MEGE Diane (MCU-PH)

CHIRURGIE INFANTILE 5402

FAURE Alice (PU PH)
 JOUVE Jean-Luc (PU-PH)
 LAUNAY Franck (PU-PH)
 MERROT Thierry (PU-PH)
 PESENTI Sébastien (PU-PH)
 VIEHWEGER Heide Elke (PU-PH) *détachement*

DARIEL Anne (MCU-PH)

CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503

CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)
 GUYOT Laurent (PU-PH)

FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103

COLLART Frédéric (PU-PH)
D'JOURNO Xavier (PU-PH)
DODDOLI Christophe (PU-PH)
FOUILLOUX Virginie (PU-PH)
GARIBOLDI Vlad (PU-PH)
MACE Loïc (PU-PH)
THOMAS Pascal (PU-PH)

LENOIR Marien (MCU-PH)
TROUSSE Delphine (MCU-PH)

**CHIRURGIE PLASTIQUE,
RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛLOGIE 5004**

BERTRAND Baptiste (PU-PH)
CASANOVA Dominique (PU-PH)

HAUTIER Aurélie (MCU-PH)
JALOUX Charlotte (MCU PH)

CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104

ALIMI Yves (PU-PH)
AMABILE Philippe (PU-PH)
BARTOLI Michel (PU-PH)
BOUFI Mourad (PU-PH)
MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)
PIQUET Philippe (PU-PH)
SARLON-BARTOLI Gabrielle (PU PH)

GAUDRY Marine (MCU PH)

GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201

BARTHET Marc (PU-PH)
DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)
GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)
GONZALEZ Jean-Michel (PU-PH)
GRANDVAL Philippe (PU-PH)
VITTON Véronique (PU-PH)

HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE 4202

LEPIDI Hubert (PU-PH)

PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003

BERBIS Philippe (PU-PH)
DELAPORTE Emmanuel (PU-PH)
GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)
GROB Jean-Jacques (PU-PH) Retraite au 1/10/2022
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

MALISSEN Nausicaa (MCU-PH)

GENETIQUE 4704

BEROUD Christophe (PU-PH)
KRAHN Martin (PU-PH)
LEVY Nicolas (PU-PH) Disponibilité
NGYUEN Karine (PU-PH)

ZATTARA/CANNONI Hélène (MCU-PH)

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403

AGOSTINI Aubert (PU-PH)
BRETELLE Florence (PU-PH)
CARCOPINO-TUSOLI Xavier (PU-PH)
COURBIERE Blandine (PU-PH)
CRAVELLO Ludovic (PU-PH)
D'ERCOLE Claude (PU-PH)

**ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ;
GYNECOLOGIE MEDICALE 5404**

BRUE Thierry (PU-PH)
CASTINETTI Frédéric (PU-PH)

CUNY Thomas (MCU PH)

AUQUIER Pascal (PU-PH)
 BERBIS Julie (PU-PH)
 BOYER Laurent (PU-PH)
 GENTILE Stéphanie (PU-PH)

LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)
 RESSEGUIER Noémie (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF) Retraite au 1/10/2022

BLAISE Didier (PU-PH)
 COSTELLO Régis (PU-PH)
 CHIARONI Jacques (PU-PH)
 DEVILLIER Raynier (PU PH)
 GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)
 LOOSVELD Marie (PU-PH)
 MORANGE Pierre-Emmanuel (PU-PH)
 VEY Norbert (PU-PH)

GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)
 IBRAHIM KOSTA Manal (MCU PH)
 LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)
 SUCHON Pierre (MCU-PH)
 VENTON (MCU-PH)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

IMMUNOLOGIE 4703

KAPLANSKI Gilles (PU-PH)
 MEGE Jean-Louis (PU-PH)
 OLIVE Daniel (PU-PH)
 VIVIER Eric (PU-PH)

FERON François (PR) (69ème section)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)
 CHRETIEN Anne-Sophie (MCU PH)
 DEGEORGES/VITTE Joëlle (MCU-PH)
 DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)
 JARROT Pierre-André (MCU PH)
 ROBERT Philippe (MCU-PH)
 VELY Frédéric (MCU-PH)

MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4603

BARTOLI Christophe (PU-PH)
 LEONETTI Georges (PU-PH)
 PELISSIER-ALICOT Anne-Laure (PU-PH)
 PIERCECCHI-MARTI Marie-Dominique (PU-PH)

DELTEIL Clémence (MCU PH)
 TUCHANT-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BERLAND Caroline (MCF) (1ère section)

MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503

BROUQUI Philippe (PU-PH)
 LAGIER Jean-Christophe (PU-PH)
 MILLION Matthieu (PU-PH)
 PAROLA Philippe (PU-PH)
 STEIN Andréas (PU-PH)

ELDIN Carole (MCU-PH)

MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905

BENSOUSSAN Laurent (PU-PH)
 VITON Jean-Michel (PU-PH)

MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

MEDECINE D'URGENCE 4805

GERBEAUX Patrick (PU PH)
KERBAUL François (PU-PH) détachement
MICHELET Pierre (PU-PH) Disponibilité

SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

**MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU
 VIEILLISSEMENT ; ADDICTOLOGIE 5301**

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)
 DISDIER Patrick (PU-PH)
 EBBO Mikael (PU-PH)
 GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)
 ROSSI Pascal (PU-PH)
 SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

BENYAMINE Audrey (MCU-PH)

MEDECINE GENERALE 5303

GENTILE Gaëtan (PR Méd. Gén. Temps plein)

BARGIER Jacques (PR associé Méd. Gén. À mi-temps)

JANCZEWSKI Aurélie (PR associé Méd. Gén. À mi-temps)

CASANOVA Ludovic (MCF Méd. Gén. Temps plein)

JEGO SABLIER Maëva (MCF Méd. Gén. Temps plein)

BERNAL Alexis (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

FIERLING Thomas (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

FORTE Jenny (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

MITILIAN Eva (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

THERY Didier (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) (nomination au 1/10/2019)

NUTRITION 4404

BELIARD Sophie (PU-PH)

DARMON Patrice (PU-PH)

RACCAH Denis (PU-PH)

VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)

SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

MEZOUAR Soraya (65ème section)

OPHTALMOLOGIE 5502

DAVID Thierry (PU-PH)

*DENIS Danièle (PU-PH) Surnombre***OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501**

DESSI Patrick (PU-PH)

FAKHRY Nicolas (PU-PH)

GIOVANNI Antoine (PU-PH)

LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)

MICHEL Justin (PU-PH)

NICOLLAS Richard (PU-PH)

RADULESCO Thomas (PU-PH)

NEPHROLOGIE 5203

BRUNET Philippe (PU-PH)

BURTEY Stéphanne (PU-PH)

DUSSOL Bertrand (PU-PH)

JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)

MOAL Valérie (PU-PH)

BOBOT Mickael (MCU-PH)

ROBERT Thomas (MCU-PH)

NEUROCHIRURGIE 4902

DUFOUR Henry (PU-PH)

FUENTES Stéphane (PU-PH)

GRAILLON Thomas (PU PH)

REGIS Jean (PU-PH)

ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)

SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)

TROUDE Lucas (MCU-PH)

NEUROLOGIE 4901

ATTARIAN Sharham (PU PH)

AUDOIN Bertrand (PU-PH)

AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)

CECCALDI Mathieu (PU-PH)

EUSEBIO Alexandre (PU-PH)

FELICIAN Olivier (PU-PH)

PELLETIER Jean (PU-PH)

SUISSA Laurent (PU-PH)

MAAROUF Adil (MCU-PH)

PEDOPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE 4904

DA FONSECA David (PU-PH)

POINSO François (PU-PH)

BOURVIS Nadège (PR associée)

GUIVARCH Jokthan (MCU-PH)

**PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE -
PHARMACOLOGIE CLINIQUE; ADDICTOLOGIE 4803**

BLIN Olivier (PU-PH)

MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)

SIMON Nicolas (PU-PH)

BOULAMERY Audrey (MCU-PH)

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE 4502

RANQUE Stéphane (PU-PH)

CASSAGNE Carole (MCU-PH)

L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)

TOGA Isabelle (MCU-PH)

PHILOSOPHIE 17

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)

MATHIEU Marion (MAST)

PEDIATRIE 5401

ANDRE Nicolas (PU-PH)

BARLOGIS Vincent (PU-PH)

CHAMBOST Hervé (PU-PH)

DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)

FABRE Alexandre (PU-PH)

GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)

MICHEL Gérard (PU-PH)

MILH Mathieu (PU-PH)

OVAERT-REGGIO Caroline (PU-PH)

REYNAUD Rachel (PU-PH)

TOSELLO Barthélémy (PU-PH)

TSIMARATOS Michel (PU-PH)

COZE Carole (MCU-PH)

MORAND-HUGGET Aurélie (MCU-PH)

SAULTIER Paul (MCU-PH)

PHYSIOLOGIE 4402

BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)

BREGEON Fabienne (PU-PH)

GABORIT Bénédicte (PU-PH)

MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)

TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)

BOUSSUGES Alain (PR associé à temps plein)

BONINI Francesca (MCU-PH)

BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)

DADOUN Frédéric (MCU-PH) (disponibilité)

DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)

LAGARDE Stanislas (MCU-PH)

LAMBERT Isabelle (MCU-PH)

RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)

THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)

PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE 4903*BAILLY Daniel (PU-PH) Retraite au 2/11/2022*

CERMOLACCE Michel (PU-PH)

LANCON Christophe (PU-PH)

NAUDIN Jean (PU-PH)

RICHIERI Raphaëlle (PU-PH)

PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE 5101

ASTOUL Philippe (PU-PH)

CHANEZ Pascal (PU-PH)

GREILLIER Laurent (PU PH)

REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)

TOMASINI Pascale (MCU-PH)

PSYCHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PCYCHOLOGIE SOCIALE 16

AGHABABIAN Valérie (PR)

RHUMATOLOGIE 5001**RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302**

BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)

CHAGNAUD Christophe (PU-PH)

CHAUMOITRE Kathia (PU-PH)

GIRARD Nadine (PU-PH)

JACQUIER Alexis (PU-PH)

MOULIN Guy (PU-PH)

PETIT Philippe (PU-PH)

VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)

VIDAL Vincent (PU-PH)

HABERT Paul (MCU PH)

STELLMANN Jan-Patrick (MCU-PH)

GUIS Sandrine (PU-PH)

LAFFORGUE Pierre (PU-PH)

PHAM Thao (PU-PH)

ROUDIER Jean (PU-PH)

THERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE 4804*AMBROSI Pierre (PU-PH) Surnombre*

DAUMAS Aurélie (PU-PH)

VILLANI Patrick (PU-PH)

REANIMATION MEDICALE ; MEDECINE URGENCE 4802

GAINNIER Marc (PU-PH)
 HRAIECH Sami (PU-PH)
 PAPAZIAN Laurent (PU-PH)
 ROCH Antoine (PU-PH)

UROLOGIE 5204

BASTIDE Cyrille (PU-PH)
 BOISSIER Romain (PU-PH)
 KARSENTY Gilles (PU-PH)
 LECHEVALLIER Eric (PU-PH)
 ROSSI Dominique (PU-PH)

SCIENCES DE LA REEDUCATION ET READAPTATION 91

REVIS Joana (PAST)

AUTHIER Guillaume
 BLANC Catheline
 CAORS Béatrice
 CHAULLET Karine
 ERCOLANO Bruno
 GRIFFON Patricia
 GIRAUDIER Anaïs
 GRIFFON Patricia
 HENRY Joannie
 HOUDANT Benjamin
 MIRAPEIX Sébastien
 MONTICOLO Chloé
 MULLER Philippe
 PAVE Julien
 PETITJEAN Aurélie
 ROSTAGNO Stéphane

LAZZAROTTO Sébastien (MAST)
 TRINQUET Laure (MAST)

MAÏEUTIQUE 90

CLADY Emilie
 FREMONDIERE Pierre
 MATTEO Caroline
 MONLEAU Sophie
 MUSSARD-HASSLER Pascale
 REPELLIN David
 RIQUET Sébastien
 ZAKARIAN Carole

SCIENCES INFIRMIERES 92

COLSON Sébastien (PR)
 BOURRIQUEN Maryline (MAST)
 LUCAS Guillaume (MAST)
 MAYEN-RODRIGUES Sandrine (MAST)
 MELLINAS Marie (MAST)
 ROMAN Christophe (MAST)
 VILLA Milène (MAST)

ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE ET ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE 56-01

CAMOIN Ariane (MCU-PH)
 GAUBERT Jacques (MCU-PH)

BLANCHET Isabelle (MCF ASS)

CHIRURGIE ORALE; PARODONTOLOGIE; BIOLOGIE ORALE 57-01

MONNET-CORTI Virginie (PU-PH)
 CAMPANA Fabrice (MCU-PH)
 CATHERINE Jean-Hugues (MCU-PH)
 ANTEZACK Angéline (MCU-PH)

PREVENTION, EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE, ODONTOLOGIE LEGALE 56-02

FOTI Bruno (PU-PH)
 LE GALL Michel (PU-PH)

LAN Romain (MCU-PH)

DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTION-DYSFONCTION, IMAGERIE, BIOMATERIAUX 58-01

TERRER Elodie (PU-PH)

ABOUDHARAM Gérard (MCU-PH)
 GIRAUD Thomas (MCU-PH)
 GIRAudeau Anne (MCU-PH)
 GUIVARC'H Maud (MCU-PH)
 JACQUOT Bruno (MCU-PH)
 LABORDE Gilles (MCU-PH)
 LAURENT Michel (MCU-PH)
 MAILLE Gérald (MCU-PH)

MENSE Chloé (MCU-PH)
 SILVESTRI Frédéric (MCU-PH)
 BALLESTER Benoît (MCF ASS)
 CASAZZA Estelle (MCF ASS)

Remerciements

J'aimerais remercier le Pr. Brigitte GRANEL de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être la Présidente de ce jury.

Merci au Pr. Régis GUIEU et au Dr. Emilien DELMONT d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Je tiens à remercier chaleureusement mon directeur de thèse, le Dr. José BOUCRAUT pour m'avoir accompagnée dans ce travail de thèse avec passion et bienveillance, merci pour votre disponibilité et votre confiance.

Une pensée aux biologistes, techniciens et étudiants avec qui j'ai pu travailler au laboratoire d'immunologie dans lequel j'ai passé un an de stage. Un merci à Alexandre pour ses magnifiques illustrations.

Un grand merci à ma famille, mes amis et co-internes de Toulouse et de Marseille pour leur soutien et leur présence pendant ces longues études.

Table des matières

I. Les immunoglobulines: Structure, biosynthèse et fonctions	3
A. Structure et biosynthèse des immunoglobulines	3
1. Structure générale d'une immunoglobuline : le prototype d'une IgG1	3
a) Structure en Y.....	3
b) Domaine immunoglobuline.....	3
c) Domaines variables et constants	4
d) Régions Fab et Fc	4
2. Les classes et sous-classes des immunoglobulines.....	4
a) Les IgG et ses sous classes.....	4
b) Les IgA et ses sous classes	5
c) Les IgM.....	6
d) Les IgD.....	7
e) Les IgE	7
3. Les mécanismes de génération de la diversité des immunoglobulines.....	7
a) Recombinaison des chaînes lourdes	8
b) Recombinaison des chaînes légères.....	8
c) Autres mécanismes de génération de la diversité	9
4. Synthèse des chaînes polypeptidiques des immunoglobulines.....	9
a) Le stade pré-pro B.....	10
b) Le stade pro-B	10
c) Le stade pré-B	10
d) Le lymphocyte B immature	10
e) Activation du lymphocyte	10
5. Synthèse des chaînes glucidiques des immunoglobulines	11
a) La N-glycosylation	13
(1) Etapes et mécanismes	13
(2) Glycoformes majoritaires	15
b) La O-glycosylation	16
B. Fonctions des immunoglobulines	16
1. Fonctions portées par le fragment Fab	17
a) Neutralisation	17
b) Mimétisme	17
c) Endocytose.....	17
2. Fonctions portées par le fragment Fc et influence des modifications de la glycosylation	18
a) Activation de la cascade du complément.....	18
b) Activation des cellules immunitaires via les récepteurs au fragment Fc.....	20
(1) Les récepteurs au fragment Fc	20
(2) Activité cytotoxique dépendante des anticorps (ADCC).....	22
(3) Phagocytose dépendante des anticorps (ADCP)	24
(4) Orientation de la réponse immunitaire adaptative	24
II. Les maladies auto-immunes	27
1. Mécanismes de tolérance immunitaire.....	27
2. Déclenchement de l'auto-immunité.....	27
3. Mécanismes lésionnels : les effecteurs de l'auto-immunité	28
a) L'inflammation	28
b) Les effecteurs cellulaires	28
c) Les autoanticorps	28
(1) Cytolyse de la cellule cible.....	28
(2) Modification de la fonctionnalité de l'antigène cible.....	28
(3) Formation de complexes immuns	28

III. Les principaux autoanticorps pathogènes associés aux pathologies neurologiques	29
A. Les maladies auto-immunes du système nerveux central	29
1. Les encéphalites auto-immunes	29
2. Les myélites auto-immunes	30
a) Les auto-anticorps anti-Aquaporine 4	30
b) Les auto-anticorps anti-MOG	31
B. Du système nerveux périphérique	31
1. Les auto-anticorps anti-MAG	31
2. Les anti-gangliosides	31
3. Les anti-glycoprotéines du nœud de Ranvier (Neurofascines 155, 186, Contactine 1, Caspr1)	33
4. Maladies auto-immunes de la jonction neuro-musculaire	34
IV. Altération des patterns de glycosylations des autoanticorps	35
a) Les ACPA et la polyarthrite rhumatoïde	35
b) Les anti-dsDNA et le lupus érythémateux systémique	36
c) Les anti-thyroglobulines et les thyroïdites	36
d) N-glycosylations et pathologies du système nerveux périphérique	36
V. Les techniques d'analyse des glycosylations	37
A. Stratégies d'analyse en glycoprotéomique	37
B. Analyse du glycome	38
1. Les lectines	38
2. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire	38
3. La spectrométrie de masse	38
A. Etapes pré-analytiques pour l'analyse des anticorps	39
a) Séparation des isotypes	39
b) Isolement des auto-anticorps spécifiques	39
VI. Principes et intérêts de la détection et de la caractérisation, en cytométrie en flux avec des billes magnétiques, des autoanticorps associés aux pathologies du système nerveux périphérique	40
A. Objectifs	40
B. Intérêts des approches en cytométrie en flux pour le diagnostic des autoanticorps	40
C. Avantages et limites des analyses sur billes magnétiques	42
D. Evaluation des anticorps anti-GM1, HNK1 et NF 155 sur billes par rapport aux techniques de référence	43
1. Evaluation de la technique anti-GM1	43
a) Techniques de routine et de référence	43
b) Mise au point du test sur billes en cytométrie en flux	44
c) Evaluation de la méthode	46
2. Evaluation de la technique pour les anticorps anti-HNK1	48
3. Mise au point de la détection des anticorps anti-NF155	49
E. Approches de caractérisation des autoanticorps immobilisés sur billes	50
1. Caractérisation des principales modifications de glycosylation	50
2. Capacité d'interaction des autoanticorps avec le C1q, la MBL ou le FcγRIII (CD16) recombinant	51
3. Corrélations entre les profils de glycosylation et les fonctions effectrices des autoanticorps	52
VII. Conclusion	53

I. Les immunoglobulines: Structure, biosynthèse et fonctions

Les immunoglobulines sont les prototypes de la superfamille des immunoglobulines. C'est un ensemble de protéines partageant des séquences communes, des homologies de structure et des homologies mécaniques ou fonctionnelles.

Cette superfamille comprend notamment : les immunoglobulines, les récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines (FcR), le récepteur T (TCR), les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I et II, des molécules d'adhésion cellulaire appartenant à la famille des Ig-CAM, les corécepteurs du TCR (CD4 et CD8), certains récepteurs de cytokines, etc. Ces molécules remplissent des fonctions à priori très différentes dans l'organisme, on peut cependant mettre en évidence une particularité fonctionnelle commune, celle de reconnaissance moléculaire et d'adhésion cellulaire (Halaby et Mornon, s. d.).

Les immunoglobulines sont les effecteurs solubles de la réponse humorale adaptative, déclenchée par la reconnaissance spécifique d'un antigène. Elles sont caractérisées par une dualité structurale et fonctionnelle : la reconnaissance de l'antigène portée par les régions variables et les fonctions effectrices portées par les régions constantes.

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines, les variations du pattern de glycosylation ont un impact sur leur structure, leur synthèse ainsi que sur leurs fonctions.

A. Structure et biosynthèse des immunoglobulines

1. Structure générale d'une immunoglobuline : le prototype d'une IgG1

a) *Structure en Y*

Une immunoglobuline est constituée de 4 chaînes polypeptidiques : deux chaînes lourdes identiques (notées H pour heavy) et deux chaînes légères identiques (notées L pour light). Elles sont assemblées entre elles grâce à des ponts disulfures, de manière à former une molécule symétrique représentée schématiquement par un « Y ». Un pont disulfure relie une chaîne légère à une chaîne lourde et les deux chaînes lourdes sont reliées entre elles par un autre pont disulfure (Vidarsson, Dekkers, et Rispens 2014).

b) *Domaine immunoglobuline*

Les chaînes lourdes et légères sont constituées de plusieurs domaines immunoglobulines. Il s'agit d'un repliement de la chaîne polypeptidique, sur environ 110 acides aminés, qui forme 2 couches de feuillets bêta-plissés antiparallèles, stabilisées par un pont disulfure intra-caténaire.

Les chaînes lourdes gamma1 comportent 4 domaines immunoglobulines et les chaînes légères en possèdent 2.

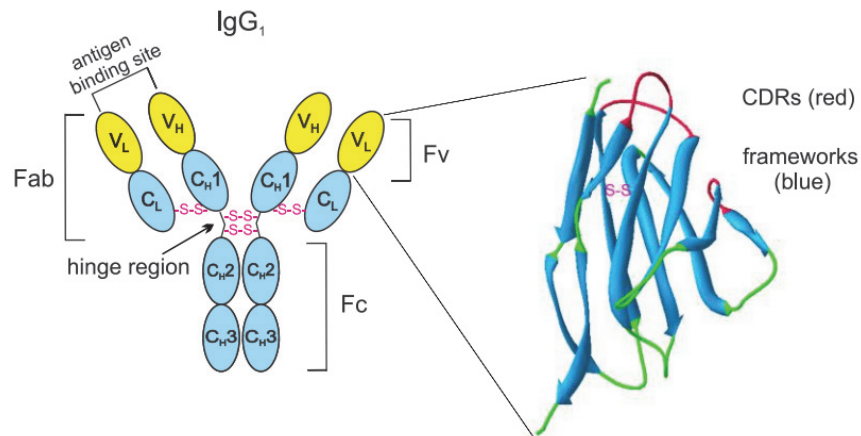


Figure 1 : Structure générale d'une immunoglobuline de type IgG1 avec représentation schématique d'un domaine immunoglobuline. ¹

c) Domaines variables et constants

Ainsi, une molécule d'immunoglobuline IgG étant constituée de 2 chaînes lourdes et de 2 chaînes légères, elle comporte en tout 12 domaines. De plus, le domaine situé à l'extrémité N-terminale des chaînes lourdes et légères est constitué d'une séquence en acide aminés très variable. Ce domaine est nommé V pour variable : on notera donc VL le domaine variable de la chaîne légère et VH le domaine variable de la chaîne lourde. Les autres domaines de la chaîne, dits C-terminaux, sont constants pour un même type de chaîne et sont notés C.

d) Régions Fab et Fc

On individualise deux régions différentes sur les immunoglobulines : une région Fab et une région Fc. Elles sont obtenues par digestion de la protéine par la papaïne qui sépare la molécule en 2 Fab et 1 Fc. La région Fab (fragment antigen binding) est constituée des domaines VL et CL de la chaîne légère et des domaines VH et CH1 de la chaîne lourde. Il y a donc deux fragments Fab par immunoglobuline. L'extrémité de cette région, constituée par l'association du VH et du VL, délimite le site de fixation de l'antigène. La région Fc (fraction cristallisable) est constituée des domaines CH2, CH3 et CH4 des chaînes lourdes.

2. Les classes et sous-classes des immunoglobulines

a) Les IgG et ses sous classes

Les IgG représentent la classe d'anticorps la plus abondante puisqu'elle représente 60 à 80 % des immunoglobulines totales (entre 7 et 15 g/L chez l'adulte). Elles se présentent sous forme de monomères et sont retrouvées dans les compartiments intra et extravasculaire. La classe des IgG a la

¹ Les figures 1, 3, 4 et 5 sont issues de (Gąciarz 2017) « Production of antibody fragments and other disulfide bonded proteins in the cytoplasm of Escherichia coli. »

particularité d'être subdivisée en 4 sous classes : IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4. Les IgG1 constituent environ 65% des IgG totaux, les IgG2 25%, les IgG3 7% et les IgG4 3%. Ces taux plasmatiques peuvent varier entre les individus et en fonction de l'âge. Les chaînes lourdes des différentes sous classes diffèrent légèrement par leur composition en acide aminés et par la longueur de leur région charnière.

Caractéristiques\Isotypes	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Poids moléculaire (kDa)	146	146	170	146
Nombre d'acides aminés de la région charnière	15	12	62	12
Abondance relative (%)	65	25	7	3
Normes chez l'adulte (g/L)	4,56-8,93	1,99-5,27	0,17-1	0,13-0,74
Demi-vie (jours)	21	21	7	21

Figure 2 : Tableau résumant les caractéristiques générales des sous-classes d'immunoglobulines G.

Les IgG4 présentent des variations d'acides aminés au niveau de la région charnière induisant, une flexibilité à la structure et des liaisons plus faibles entre les domaines CH3 des deux chaînes lourdes. Il en résulte une caractéristique des IgG4 qu'est la Fab-Arm exchange, soit une recombinaison entre deux molécules d'IgG4, formant une immunoglobuline asymétrique bivalente (Rispen et al. 2011).

b) Les IgA et ses sous classes

Cette classe est caractérisée par une chaîne lourde de type alpha, composée de 4 domaines immunoglobulines. Elle est subdivisée en 2 sous classes : IgA1 et IgA2, se différenciant par la composition en acides aminés de leur chaîne lourde et par la longueur de leur région charnière. Les IgA représentent 10 à 18% des immunoglobulines totales et sont retrouvées majoritairement sous forme de dimères, maintenue grâce à la pièce J, et plus rarement sous forme de monomère (respectivement 80% et 20% des IgA). Elles sont retrouvées majoritairement dans les sécrétions muqueuses jouant un rôle prédominant dans la défense de première ligne contre les agressions externes.

Les IgA sériques, produites par la moelle osseuse, représentent sont retrouvées majoritairement sous forme monomérique et dans une moindre mesure sous forme de dimère mais aussi de trimère et polymère. Les IgA sécrétoires, produites localement suite à une stimulation antigénique dans un tissu lymphoïde (GALT ou BALT par exemple). Elles sont présentes sous forme de dimères ou de polymères, et sont entourées par le composant sécrétoire synthétisé par les cellules

épithéliales des muqueuses et les protégeant de la protéolyse. Elles reconnaissent un grand nombre d'antigènes bactériens (polysaccharides et lipopolysaccharides), et du fait de leur multiple valence, forment des complexes immuns qui empêchent la pénétration des antigènes dans les muqueuses.

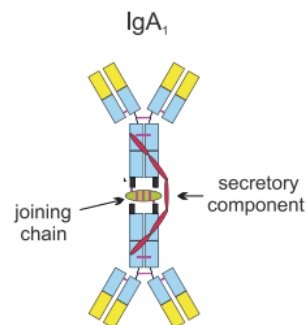


Figure 3 : Structure d'une IgA1, maintenue sous forme dimérique grâce à la pièce J, associée à la pièce sécrétoire.

c) Les IgM

Cette classe est caractérisée par une chaîne lourde de type mu, qui a la particularité de posséder 5 domaines immunoglobulines. Les IgM représentent 15 à 20% des immunoglobulines totales et sont retrouvées sous forme de pentamères, maintenue grâce à une pièce J, elles ont un fort pouvoir agglutinant du fait de cette valence multiple (valence de 5 et non 10, car limité par l'encombrement stérique). Elles sont essentiellement confinées dans le compartiment intravasculaire du fait de leur masse moléculaire. Les IgM constituent les anticorps majoritaires lors de la réponse primaire et ont un fort pouvoir d'activation du complément.

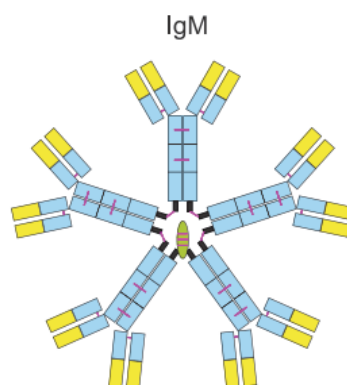


Figure 4 : Structure d'une IgM, maintenue sous forme pentamérique grâce à la pièce J.

d) Les IgD

Cette classe est caractérisée par une chaîne lourde de type delta. Les IgD représentent moins de 1% des immunoglobulines totales, où elles sont retrouvées sous forme de monomères. Leurs fonctions sont peu connues.

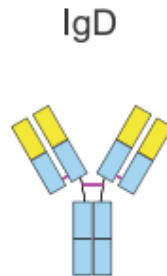


Figure 5 : Structure d'une IgD.

e) Les IgE

Cette classe est caractérisée par une chaîne lourde de type epsilon, qui comme la chaîne mu, a la particularité de posséder 5 domaines immunoglobulines. Elles sont retrouvées sous forme de traces dans le sérum ou fixées à la surface des mastocytes et des basophiles via un récepteur. Les IgE jouent un rôle dans l'immunité anti-parasitaire, et dans les réactions d'hypersensibilité immédiate.

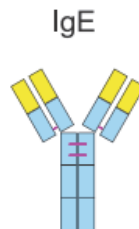


Figure 6 : Structure d'une IgE.

3. Les mécanismes de génération de la diversité des immunoglobulines

Du fait de sa fonction de reconnaissance des antigènes étrangers au soi, les immunoglobulines doivent reconnaître un très grand nombre, quasi infini, d'antigènes. La reconnaissance de l'antigène se fait au niveau de la région VL-VH, il est nécessaire de générer une grande variabilité de la séquence d'acides aminés au niveau de cette zone. Le nombre de gènes étant limité, cette variabilité est permise par différents mécanismes liés au réarrangement des gènes des immunoglobulines codant pour cette partie de l'immunoglobuline : diversité de recombinaison, diversité jonctionnelle et insertions nucléotidiques, portant sur les chaînes lourdes et les chaînes légères. De plus, l'association entre une chaîne lourde et une chaîne légère au niveau du site de reconnaissance crée une diversité et est multiplié par des phénomènes d'hypermutation somatique secondaire.

a) Recombinaison des chaînes lourdes

Les chaînes lourdes sont codées par un ensemble de gènes situés sur le chromosome 14. La partie constante de la chaîne est codée par 9 gènes, un pour chaque classe et sous-classe d'immunoglobulines. La partie variable de la chaîne est codée par un grand nombre de gènes qui sont subdivisés en 3 familles : les gènes de variabilité V, les gènes de diversité D et les gènes de jonction J.²

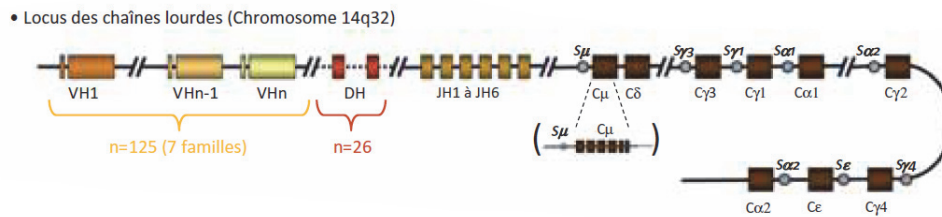


Figure 7 : Organisation des familles de gènes codant pour les chaînes lourdes (H). Les gènes de variabilité sont notés V, les gènes de jonction J, les gènes des domaines constants C, et les gènes de diversité D.²

La diversité combinatoire. C'est la recombinaison aléatoire entre un gène V, un gène D et un gène J qui va permettre la diversité de la partie variable de la chaîne lourde. Le processus commence par l'association aléatoire entre un segment D et un segment J. Le réarrangement DJ vient ensuite s'associer avec un segment V au hasard. (Chi, Li, et Qiu 2020)

La diversité jonctionnelle. Lors du réarrangement VDJ, les coupures de part et d'autre de ces segments se font de manière imprécise, de bases peuvent être supprimées ou ajoutées, apportant un degré supplémentaire de variabilité au niveau des zones de jonction.

b) Recombinaison des chaînes légères

Les chaînes légères kappa sont codées par un ensemble de gènes situés sur le chromosome 2. La partie constante est codée par un seul gène Ckappa. Dans la même logique que pour les chaînes lourdes, la partie variable est codée par plusieurs gènes, mais subdivisées en 2 familles seulement pour les chaînes légères : les gènes de variabilité V et les gènes de jonction J. La partie variable est codée par une recombinaison au hasard entre un gène V et un gène J.

Les chaînes légères lambda sont codées par un ensemble de gènes situés sur le chromosome 22. Il existe 6 gènes C lambda codant pour la partie constante. Chaque gène C est précédé d'un gène J. La partie variable est codée par la recombinaison aléatoire d'un gène V et d'un gène J.

² Les figures 7 et 8 sont issues de (*Immunologie fondamentale et immunopathologie. Enseignements thématique et intégré - ASSIM s. d.*)

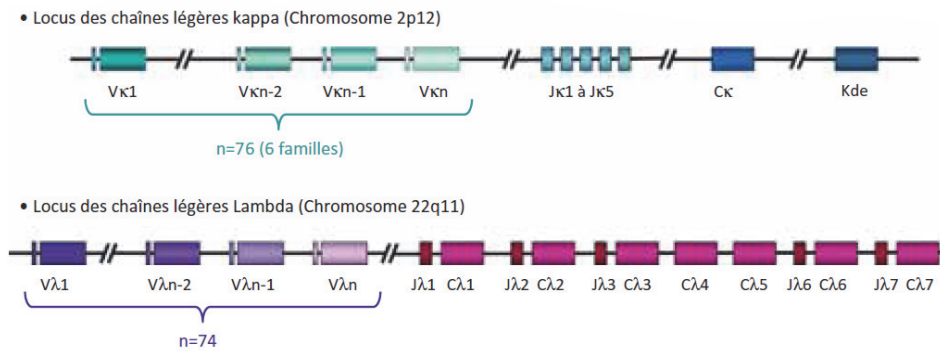


Figure 8 : Organisation des familles de gènes codant pour les chaînes légères (kappa et lambda). Les gènes de variabilité sont notés V, les gènes de jonction J et les gènes des domaines constants C.¹

c) Autres mécanismes de génération de la diversité

Le premier est lié à l'association entre les régions variables des chaînes lourdes et des chaînes légères pour la constitution du site anticorps.

Le dernier mécanisme est l'hypermutation somatique, il s'agit de l'apparition de mutations ponctuelles le plus souvent au niveau des régions hypervariables CDR des chaînes lourdes et légères sous l'action de l'enzyme AID (Activation Induced cytidine Deaminase) qui est exprimé dans les centres germinatifs (Tonegawa 1983). L'action de l'AID au niveau des locus des immunoglobulines consiste en la désamination des cytidines en uraciles et déclenche des mécanismes de réparation de l'ADN qui génèrent des mutations ponctuelles. (Di Noia et Neuberger 2007). Ces mutations s'accumulent au cours des divisions cellulaires.

4. Synthèse des chaînes polypeptidiques des immunoglobulines

Les immunoglobulines sont synthétisées par les lymphocytes et exprimées à la surface de leur membrane. Associées à d'autres protéines, elles forment ainsi le BCR, le récepteur membranaire des lymphocytes B. La reconnaissance d'un antigène par le récepteur induit l'activation du lymphocyte B qui se différencie en plasmocytes. Ces cellules ont la capacité de synthétiser et sécréter l'immunoglobuline de même spécificité que leur BCR.

La lymphopoïèse débute dans la moelle osseuse par la différenciation d'une cellule souche hématopoïétique (CSH) en cellule souche lymphoïde (CSL) qui pourra donner les trois types de lymphocytes : T, B et NK. On peut séparer la maturation en plusieurs étapes selon l'expression séquentielle des antigènes de différenciation (CD) (Sagaert et De Wolf-Peeters 2003).

a) Le stade pré-pro B

Les cellules pré-pro B se trouvent dans la moelle osseuse et constituent les précurseurs les plus immatures, n'ayant pas encore réarrangé les gènes des immunoglobulines. L'engagement dans la différenciation lymphocytaire B est caractérisé par l'expression de CD79a intra cytoplasmiques. On détecte dans ces cellules une expression très faible des gènes RAG1 et RAG2, codant pour les recombinases à l'origine de la recombinaison V(D)J.

b) Le stade pro-B

Le stade pro-B signe le début des réarrangements des gènes des immunoglobulines. Les gènes des chaînes lourdes sont réarrangés en premier. Lors du stade pro-B précoce, on assiste sur les deux chromosomes à la jonction d'un segment DH avec un segment JH. Ce stade est reconnaissable grâce à l'apparition du CD19 à la surface des cellules. Lors du stade pro-B tardif, un segment VH vient s'assembler avec le segment DJH réarrangé précédemment, et ce, sur un seul des deux allèles. A partir de ce moment, la cellule synthétise sa chaîne lourde mu qui initialement, reste intra cytoplasmique.

c) Le stade pré-B

Le stade pré-B est caractérisé par l'apparition de la chaîne lourde mu à la surface des lymphocytes. Associée à d'autres protéines, elle forme le pré-BCR qui va permettre l'expansion clonale et l'exclusion du deuxième allèle par la diminution de l'expression de RAG. Une fois que l'expansion clonale a eu lieu, sont déclenchés les réarrangements géniques des chaînes légères. Elles sont mono-alléliques et débutent par le gène des chaînes kappa, si aucun réarrangement kappa n'est effectif, le réarrangement se poursuit sur le locus des chaînes lambda. Ce mécanisme permet l'exclusion isotypique : un lymphocyte n'exprime jamais à la fois une chaîne légère kappa et lambda.

d) Le lymphocyte B immature

Le lymphocyte devient un lymphocyte B immature lorsqu'il produit sa chaîne légère qui vient s'exprimer avec la chaîne lourde sur la membrane, formant une IgM de surface spécifique à un antigène. Si l'immunoglobuline de surface reconnaît un antigène du soi, le lymphocyte est éliminé (sélection négative). Les lymphocytes restants, produisent une IgD de même spécificité qui vient s'exprimer à la surface, en même temps que l'IgM. Ces lymphocytes mu-delta sont prêts à quitter la moelle osseuse pour continuer leur maturation dans les organes lymphoïdes secondaires.

e) Activation du lymphocyte

L'activation du lymphocyte B lors de sa rencontre avec un antigène spécifique, entraîne sa prolifération et sa différenciation en plasmocytes à longue durée de vie (sécrétant des immunoglobulines de classe IgG, IgA et IgE) ou en cellules B mémoires. Au cours de cette transformation, elle va subir les processus d'hyper-mutation somatique et de commutation isotypique.

L'hyper-mutation somatique permet l'augmentation de l'affinité de l'immunoglobuline pour l'antigène. Ces mutations s'accumulent au fur et à mesure de la réponse immunitaire. Les lymphocytes les plus affins sont sélectionnés induisant une augmentation de l'affinité de l'anticorps pour son antigène. Au contraire les lymphocytes ayant perdu de l'affinité à la suite des hyper-mutations somatiques sont éliminés par apoptose et phagocytés par les macrophages.

Les lymphocytes sélectionnés subissent la commutation de classe. Sur le locus des chaînes lourdes, les gènes des domaines constants des régions sont retrouvés dans l'ordre suivant : Cmu, Cdelta, Cgamma3, Cgamma1, Cepsilon2, Calpha1, Cgamma2, Cgamma4, Cepsilon1, Calpha2 (Cepsilon2 étant un pseudogène). Devant chaque exon correspondant aux différents isotypes de chaînes lourdes, se trouve des régions S pour « switch régions » (sauf pour mu et gamma qui partagent une même région S). Lors de la commutation de classe, deux régions S seront modifiées par l'enzyme AID, entraînant la survenue de mécanismes de réparation de l'ADN. Il en résulte la suppression de la portion se trouvant entre les deux régions S. Ainsi, lors de la réparation de l'ADN, le segment VDJ est relié à l'exon de l'isotype voulu (Xu et al. 2012).

5. Synthèse des chaînes glucidiques des immunoglobulines

La glycosylation est une réaction enzymatique consistant à lier de façon covalente un glucide à un substrat. On estime que plus de 50% des protéines sont glycosylées (Apweiler, Hermjakob, et Sharon 1999). La glycosylation des protéines a des fonctions multiples, elle permet de maintenir la conformation des protéines, de modifier sa demi-vie, sa localisation cellulaire, ses interactions et sa fonction biologique.

Il existe plusieurs types de glycosylation, qui diffèrent selon le type de liaison covalente qui lie la chaîne glucidique à la chaîne aglycone. Concernant les immunoglobulines, les principales sont la N-glycosylation et la O-glycosylation. N-glycosylation donne des chaînes longues et ramifiées, tandis que la O-glycosylation donne des chaînes plus courtes, de quelques oses.

Chez l'homme, les chaînes polysaccharidiques sont composées principalement des résidus de mannose (Man), fucose (Fuc), galactose (Gal), N-acétylglycosamine (GlcNAc) et N-acétylneuraminique (NeuAc) qui est un acide sialique.

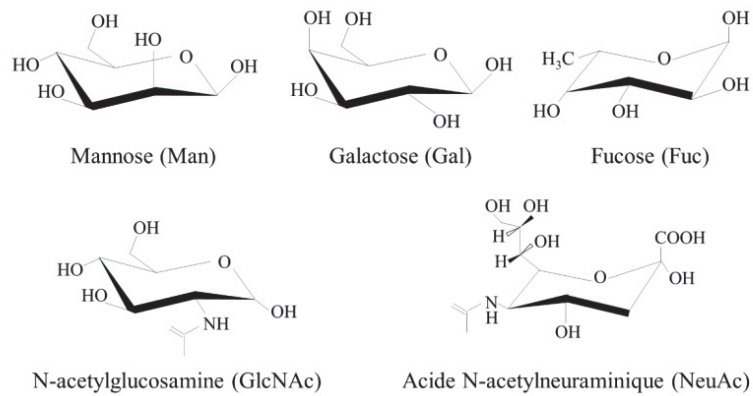


Figure 9 : Principaux saccharides composant les chaines glucidiques.

On décrit plusieurs sites de glycosylation conservés, répartis sur les chaînes lourdes, majoritairement sur la portion Fc. Les chaînes légères ne comportent pas de sites de glycosylation conservé. Les IgG ne possèdent qu'un seul site de glycosylation conservé, le N-297 (N-glycosylation sur l'asparagine 297) situé sur le CH2 (Arnold et al. 2007).

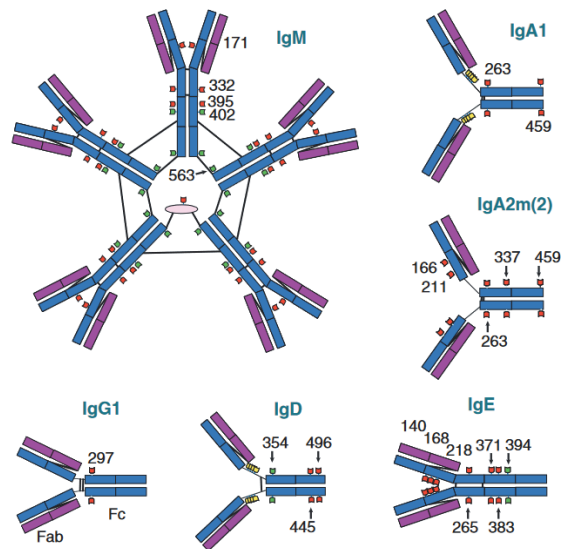


Figure 10 : Sites de glycosylation des différents isotypes des immunoglobulines. Les sites de O-glycosylation sont signalés en jaune. Les sites de N-glycosylation sont signalés en vert (structure simple, oligomannosique) et en rouge (structure complexe). Issu de (Arnold et al. 2007).

a) La N-glycosylation

(1) Etapes et mécanismes

La N-glycosylation signifie que la liaison entre la chaîne glucidique et la protéine se fait entre une GlcNAc et une Asparagine (au niveau de l'azote du groupement amide) au sein d'une séquence consensus Asn-X-Ser/Thr (X étant n'importe quel acide aminé sauf la proline). Le processus de N-glycosylation des protéines débute au niveau du réticulum endoplasmique et se termine dans le Golgi.

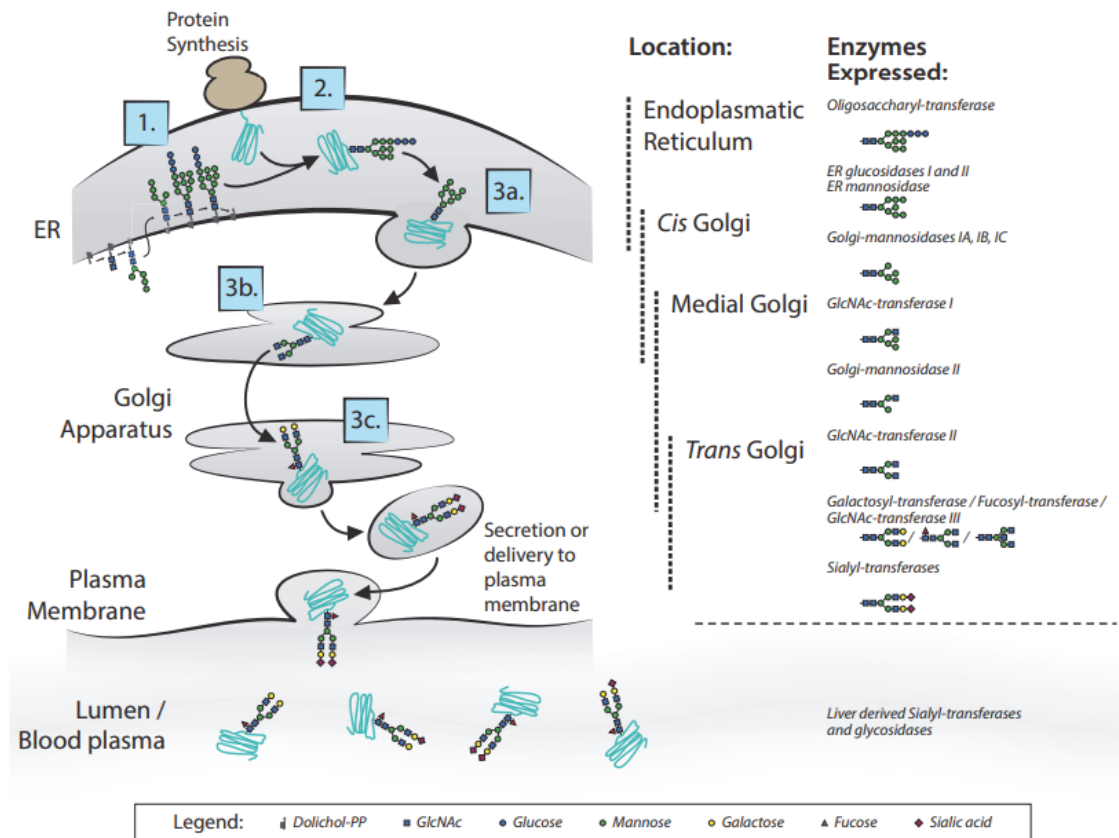


Figure 11 : Vue d'ensemble de la biosynthèse des N-glycanes. A gauche : sont représentés les compartiments cellulaires associés aux différentes étapes de la synthèse. [1] Synthèse de l'oligosaccharide précurseur relié au dolichol [2] Transfert en bloc sur la protéine [3] Etapes de maturation. A droite : sont listés les enzymes contenues dans les compartiments correspondants. Issu de (Dekkers, Rispens, et Vidarsson 2018).

La première étape consiste en la synthèse d'un oligosaccharide précurseur de 14 oses, composée de 2 N-acétylglucosamines, 9 mannoses et 3 glucoses. Elle est reliée à la membrane du RE grâce à une ancre lipidique, le dolichol. Sa synthèse est initiée sur le versant cytosolique, où le premier ose est lié au dolichol via une liaison pyrophosphate. Des glycosyl-transférases lient successivement les résidus à partir de nucléotides-sucres activés, des UDP-GlcNAc et des GDP-Man. Une fois les 7 premiers sucres assemblés, l'ensemble bascule dans la lumière du RE grâce à une oligosaccharyl-transférase. La synthèse se poursuit du côté luminal par l'ajout des 7 prochains oses, réalisé par des glycosyltransférases à partir de Man-P-dolichol et de Glc-P-dolichol, pour former la molécule finale de 14 oses. Elle est alors transférée sur la protéine en cours d'élongation par le ribosome.

Avant le passage dans le Golgi, s'opère un processus s'apparentant à un contrôle qualité : les résidus glucose se lient à des protéines chaperonnes aidant au repliement de la glycoprotéine, avant d'être clivées par des glucosidases. Les glycoprotéines mal conformées sont transférées dans le cytoplasme pour être dégradées par le protéasome et celles correctement repliées subissent le clivage d'un résidu mannose signant le passage dans le Golgi. On obtient à ce stade, une structure pentasaccharidique commune aux protéines glycosylées.

Le Golgi est le lieu de la maturation de la chaîne glucidique : des modifications de type galactosylation, fucosylation, sialylation ou bisection permettent la formation de structures complexes et multiples. On dénombre 36 glycoformes possibles. Ces étapes se déroulent dans des citernes distinctes du Golgi, cis, médian et trans, contenant chacune les différents enzymes nécessaires à ces modifications.

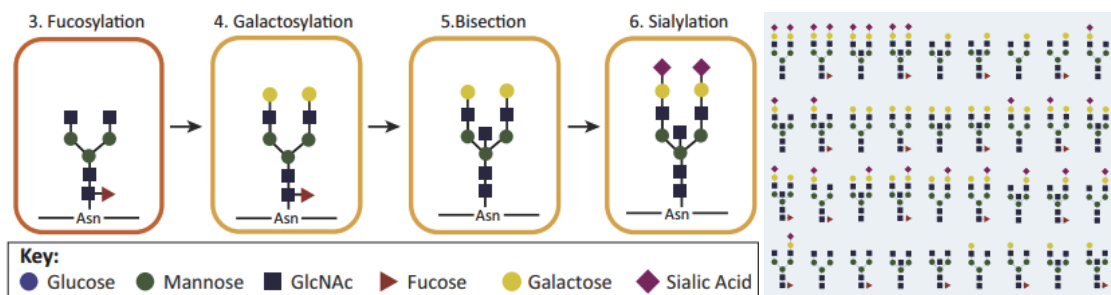


Figure 12 : Patterns de glycosylation. A gauche : Les différentes modifications possibles sur les glycans. A droite : les 36 glycoformes possibles qui en découlent. Issu de (Jennewein et Alter 2017)

La fucosylation est le transfert d'un fucose provenant du GDP-fucose à un substrat. La réaction est catalysée par la fucosyl-transférase. La galactosylation est l'action de fixer un résidu galactose sur un substrat, catalysée par la galactosyl-transférase. La sialylation est l'action de fixer un acide sialique sur un substrat, catalysée par une sialyl-transférase. Le terme acide sialique désigne une famille de molécules dérivés de l'acide neuraminique (ose acide à squelette de neuf atomes de carbone). Le membre le plus commun de ce groupe, l'acide N-acétylneuraminique, peut aussi être désigné par le terme acide sialique.

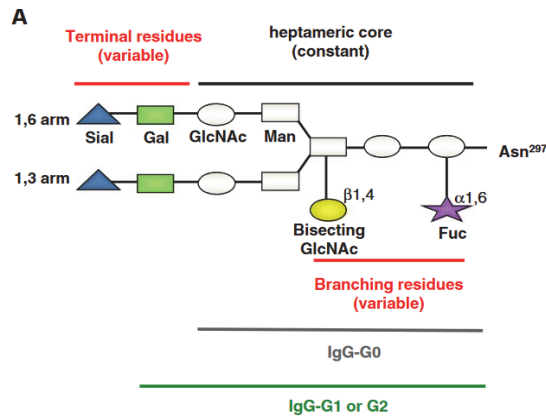


Figure 13 : Résidus sucrés pouvant être retrouvés dans les différents glycoformes d'IgG du sérum. Les ramifications variables et les résidus terminaux attachés à la structure centrale sont colorés. Selon la présence ou l'absence de résidus galactose terminaux sur le bras 1,3 ou 1,6, les glycoformes IgG-G1/2 ou IgG-G0 peuvent être distinguées. Issue de (Böhm et al. 2012).

Après maturation dans le Golgi, les possibilités de glycoformes sont nombreuses, cependant on retrouve dans le sérum, 4 principales structures glucidiques d'IgG, formées à partir d'un cœur heptamérique commun.

La forme nommée G1F est la plus représentée, composée d'un résidu galactose et d'un fucose. La G0F est une forme fucosylée mais sans résidu galactose rajoutée, tandis que la forme G2F en possède 2. Une petite partie des IgG sont sialylés (10 à 20 %), généralement la forme G2F (Anumula 2012).

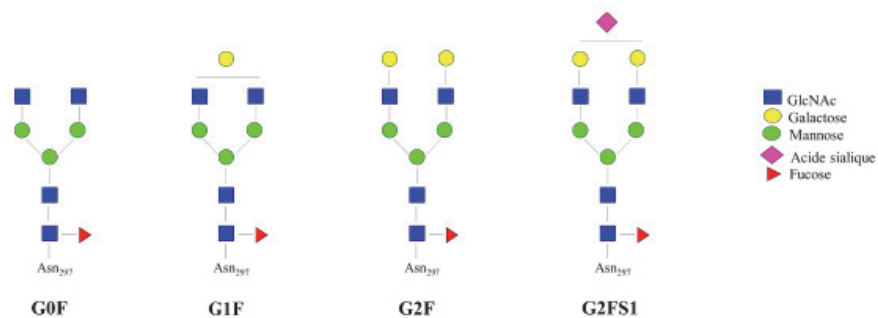


Figure 14 : Principales structures des oligosaccharides attachés à l'immunoglobuline G.

b) La O-glycosylation

La O-glycosylation signifie que la liaison entre le glycane et la protéine se fait entre un N-acétyl-galactosamine et l'oxygène d'une sérine ou d'une thréonine.

La synthèse des O-glycanes a lieu dans l'appareil de Golgi. Elle est moins complexe que celles de N-glycanes, les monosaccharides sont ajoutés successivement par des glycoprotéines-glycosyltransférases. Les glycanes sont généralement composés de 3 types de monosaccharides, le galactose (Gal), le N-acétylglucosamine (GlcNAc) et le N-acétylgalactosamine (GalNAc), et peuvent former des chaînes de 1 à 20 résidus.

B. Fonctions des immunoglobulines

Les anticorps sont des molécules bi fonctionnelles. Le fragment Fab possède une fonction de reconnaissance de l'antigène, soluble ou membranaire, et peut de ce fait interférer avec ses effets biologiques. D'autre part, le fragment Fc interagit avec les effecteurs de l'immunité, en liant le C1q et les récepteurs de la partie Fc des immunoglobulines (FcR). Ainsi, ils initient le système du complément et activent les cellules exprimant le FcR.

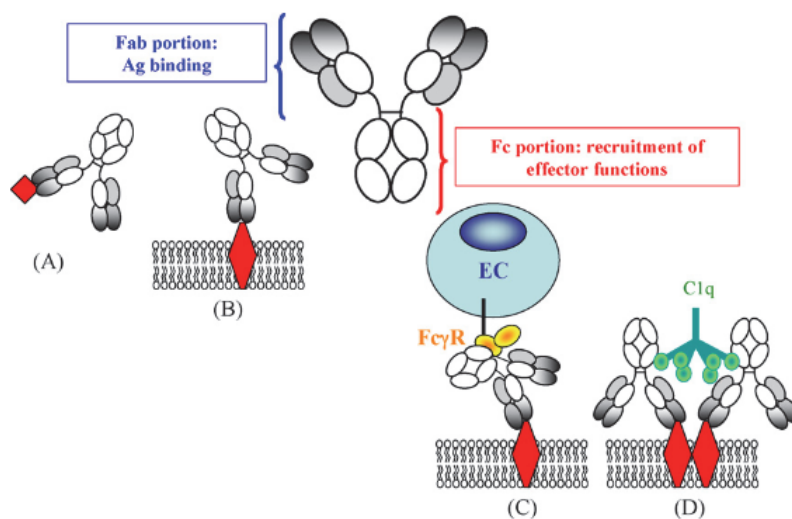


Figure 15 : Dualité fonctionnelle des immunoglobulines. Le fragment Fab lie les antigènes solubles (A) ou membranaires (B). Le fragment Fc recrute les cellules effectrices via les FcγR (C) et le C1q (D). EC : cellule effectrice. FcγR : récepteur de la partie Fc des immunoglobulines. Issu de (Congy-Jolivet et al. 2007).

1. Fonctions portées par le fragment Fab

a) *Neutralisation*

La neutralisation est le fait de bloquer les fonctions de l'antigène, soluble ou membranaire, par la simple liaison du fragment Fab. C'est le cas des anticorps antitoxines qui, en se liant aux toxines bactériennes, empêchent ces derniers de causer les lésions tissulaires à l'origine des symptômes. Des anticorps dirigés contre les adhésines des bactéries permettent de limiter les infections, en empêchant l'adhérence bactérienne. Dans la même logique, les virus utilisent des molécules membranaires pour pénétrer dans la cellule, ainsi un anticorps bloquant le site de fixation du virus prévient l'infection virale.

Cette propriété est mise à profit dans le mécanisme de certains anticorps monoclonaux thérapeutiques. Par exemple, le bévacizumab en se liant au VEGF (*Vascular endothelial growth factor*) empêche sa fixation sur ses récepteurs et donc la signalisation intracellulaire à l'origine de ses effets biologiques. Inversement, le ramucirumab se lie au récepteur du VEGF, empêchant la fixation du VEGF à son récepteur. Dans les deux cas, il en résulte un blocage des effets angiogènes du VEGF, en inhibant la prolifération, la migration et la différenciation des cellules endothéliales.

En auto-immunité, on peut citer l'exemple de la maladie de Biermer, qui se caractérise par une carence en vitamine B12 (cobalamine). Le facteur intrinsèque (FI) est une glycoprotéine qui se lie à la vitamine B12 permettant ainsi son absorption par les entérocytes. La présence d'auto-anticorps anti-FI entraîne un déficit en FI et une malabsorption de la cobalamine. De même, la présence d'auto-anticorps anti-cellules pariétales de la muqueuse de l'estomac détruisent ces cellules qui produisent le FI.

b) *Mimétisme*

Plus rarement la liaison de l'anticorps à son antigène peut avoir un effet activateur. C'est le cas dans les thyroïdites auto-immunes où des autoanticorps anti-récepteur à la TSH ont une action agoniste. Il en résulte une activation du thyrocyte et une hyperthyroïdie.

c) *Endocytose*

En auto-immunité, le syndrome myasthéniforme de Lambert-Eaton est un exemple de ce mécanisme d'endocytose. Des autoanticorps se lient aux canaux calciques voltage-dépendants au niveau pré-synaptique et le pontage de deux récepteurs adjacents induit leur endocytose, accélérant sa dégradation. Il en résulte une diminution de l'entrée du calcium dans la cellule, nécessaire au relargage d'acétylcholine dans la fente synaptique.

Dans la myasthénie, il est proposé que des mécanismes d'endocytose et de blocage du récepteur à l'acétylcholine au niveau post-synaptique participent également à la physiopathologie

mais l'action des anticorps s'exercerait majoritairement par la destruction de la plaque motrice liée aux fonctions effectrices des autoanticorps.³

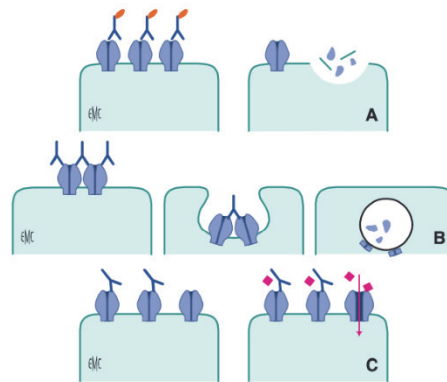


Figure 16 : Mécanismes d'action des anticorps antirécepteurs de l'acétylcholine. A. Destruction de la membrane postsynaptique sous l'action du complément. B. Dégradation des récepteurs membranaires par endocytose. C. Action bloquante des anticorps.

2. Fonctions portées par le fragment Fc et influence des modifications de la glycosylation

L'opsonisation est le recouvrement d'un organisme pathogène par des anticorps, afin de faciliter son élimination. Dans le cas où les antigènes reconnus sont des particules, leur opsonisation entraîne la formation de complexes immuns dont le fragment Fc induit l'activation de la voie classique du complément (CDC). Les cellules considérées comme anormales (présentant des particules virales à la surface etc.) sont opsonisées par les anticorps et éliminées par les cellules immunitaires grâce à des mécanismes tels que l'ADCC et l'ADCP. L'activation des cellules présentatrices d'antigènes participent à la réaction en orientant la réponse immunitaire.

a) Activation de la cascade du complément

Le système du complément est un système composé d'un ensemble de protéines qui interagissent entre elles et s'activent en cascade afin de déclencher les différentes voies effectrices de défense contre les infections et de contrôle de l'homéostasie tissulaire.

³ Figure 16 issue de F. Chenevier, H. Gervais-Bernard, F. Bouhour, C. Vial. Myasthénies et syndromes myasthéniques. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Neurologie, 17-172-B-10, 2011.

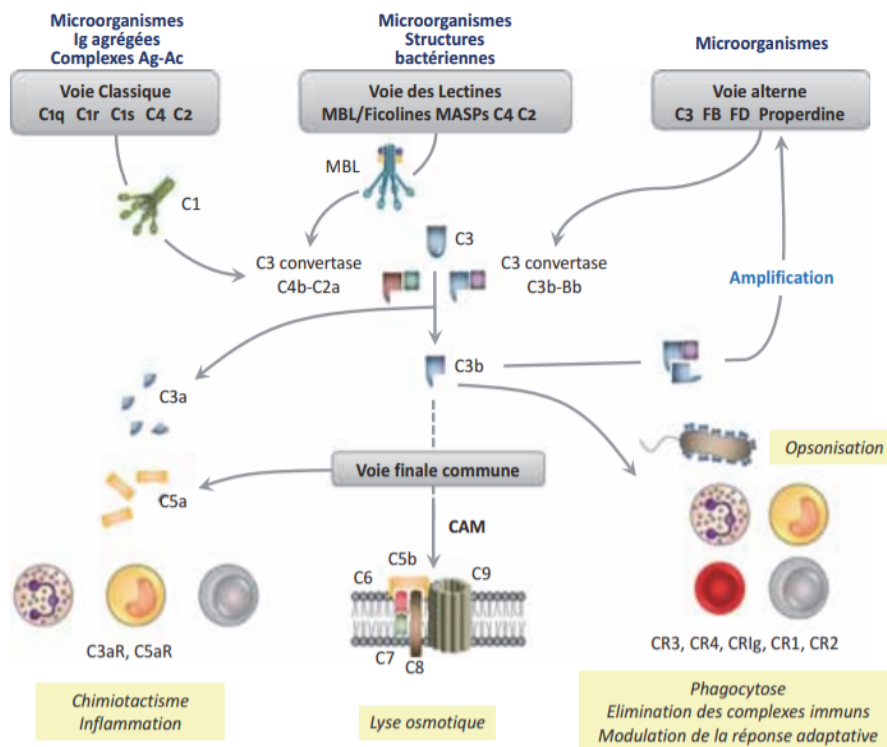


Figure 17 : Les voies d'activation du complément et leurs principaux composants, ainsi que les principales fonctions et ses acteurs. ⁴

Il existe trois voies d'activation du complément : la voie classique, la voie alterne et la voie des lectines. Les trois voies convergent vers la formation d'un complexe d'enzymes appelée C3/C5 convertase (la C3/C5 classique pour la voie classique et des lectines, la C3/C5 alterne pour la voie alterne). Ces C3/C5 convertases ont pour rôle de cliver la C3 et C5 en fragments qui vont déclencher chacune différentes voies effectrices (Nesargikar, Spiller, et Chavez 2012).

Les immunoglobulines activent le complément via la voie classique. A noter qu'elle peut aussi être activée par certains micro-organismes. Seules les IgG1, les IgG3 et les IgM et dans une moindre mesure les IgG2, sont capables d'activer le complément.

L'activation est initiée par la reconnaissance d'une séquence protéique contenue dans le CH2 (pour les IgG1, les IgG2 et les IgG3) et le CH4 (pour les IgM) par le complexe C1. C'est un ensemble composé d'une protéine C1q associée à deux C1s et deux C1r, qui sont des sérines estérases (Almitairi et al. 2018). Une fois le C1q lié, la fixation de l'ensemble induit une modification conformationnelle du complexe 2C1r/2C1s entraînant le clivage du C1s par le C1r. Le C1s ainsi activé clive alors le C4 en deux fragments, le C4a et le C4b. Le C4b se fixe sur la surface activatrice et se lie au C2 qui sera à son tour clivé en C2a et C2b par le C1s. le tout permet la formation du complexe C4b2a qui n'est autre que la C3 convertase.

⁴ La figure 17 est issue de (Immunologie fondamentale et immunopathologie. Enseignements thématiques et intégrés. ASSIM s. d.)

Les motifs glucidiques du N-297 influence la liaison du fragment Fc avec la protéine C1q. Ainsi, un niveau élevé de galactose augmente l'activité CDC (Raju 2008). A l'inverse, la sialylation des IgG diminue sa capacité à activer le complément (Quast et al. 2015). L'interaction avec le C1q n'est pas affectée par l'absence de fucose, ni par la présence de bisecting GlcNAc (Shields et al. 2002).

Enfin, les IgG4 sont connues pour ne pas activer la cascade du complément par la voie classique. Il a cependant été montré récemment que les IgG4 dé-galactosylées et exposant ainsi des résidus mannose activent la cascade du complément par la voie des lectines et la fixation de la MBL (Mannose Binding Lectine)(Haddad et al. 2021).

b) Activation des cellules immunitaires via les récepteurs au fragment Fc

Les immunoglobulines ont la capacité d'activer les cellules de l'immunité. Cela est possible grâce à l'activation de récepteurs situés à la surface des cellules immunitaires, par la liaison au fragment Fc des immunoglobulines. Ces récepteurs sont appelés récepteurs membranaires de la partie Fc des immunoglobulines (FcR). Ce sont des glycoprotéines transmembranaires, ayant des fonctions activatrices ou inhibitrices, et des affinités différentes aux fragments Fc des classes et sous-classes d'immunoglobuline. Ils sont exprimés diversement sur les populations cellulaires immunes, et selon les propriétés de la cellule portant le récepteur, la liaison immunoglobuline au FcR déclenche les fonctions effectrices telles que l'ADCC, l'ADCP et l'orientation de la réponse immune.

(1) Les récepteurs au fragment Fc

On différencie les récepteurs au fragment Fc selon la classe et la sous-classe d'immunoglobuline qu'ils reconnaissent, ainsi on retrouve les FcγR, les FcαR, les FcμR et les FcεR se couplant respectivement aux IgG, IgA, IgM et IgE. Concernant les FcγR, il en existe 3 types : les FcγRI (CD64), les FcγRII (CD32) et les FcγRIII (CD16). La classe des FcγRII comporte 3 formes différentes (FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc) et la classe des FcγRIII, 2 formes différentes (FcγRIIIa et FcγRIIIb).

Les FcγR, à l'exception du FcγRIIIb, sont des glycoprotéines constituées d'une chaîne polypeptidique α divisée en trois portions : une partie extracellulaire contenant deux à trois domaines immunoglobulines, une partie transmembranaire et une partie intracellulaire pouvant être associée à une chaîne γ.

Les FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIc et FcγRIIIa sont des récepteurs activateurs du fait de la présence au niveau intra-cellulaire d'un motif d'activation appelé ITAM (immunoreceptor tyrosine activating motif) composé d'une tyrosine suivie de deux acides aminés puis d'une leucine ou une isoleucine. La phosphorylation du résidu tyrosine est responsable de la transduction du signal via une cascade de kinases.

Le FcγRIIb est lui, en revanche, un récepteur inhibiteur. Il porte en effet un motif inhibiteur ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif), composé de 6 acides aminés avec un enchaînement (I/L/V)xYxx(L/V). Après phosphorylation de leur résidu tyrosine, ces ITIM vont s'associer à des protéines phosphatases, induisant la transduction du signal.

Le FcγRIIb a la particularité d'être une glycoprotéine ancrée GPI, sans domaine transmembranaire et intracellulaire. Il ne possède aucun des motifs ITAM ou ITIM, son mode d'action est de type synergique par association aux récepteurs activateurs.

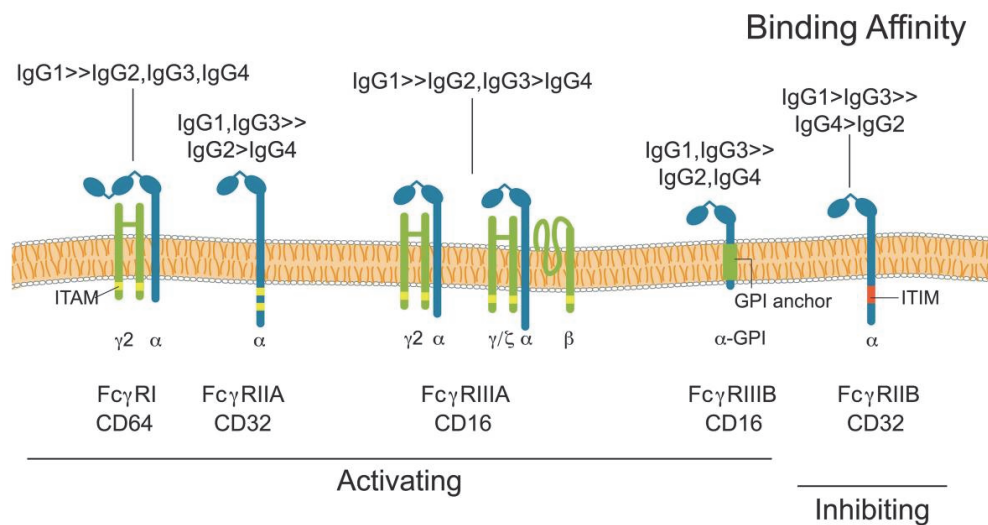


Figure 18 : Représentation schématique des récepteurs FcγR, activateurs et inhibiteurs, et leur affinité avec les différents isotypes d'IgG. Issu de (Maverakis et al. 2015).

L'activation des FcγR se fait grâce à l'interaction entre le fragment Fc et le domaine extracellulaire du récepteur. La liaison avec son ligand entraîne l'agrégation des récepteurs, formant des clusters à la surface de la membrane. La phosphorylation des domaines ITAM entraîne l'activation des kinases de type SRC et SYK déclenchant une cascade de signalisation intracellulaire.

Les fonctions des FcγR dépendent des propriétés effectrices de la cellule immunitaire sur laquelle ils sont exprimés. Les lymphocytes B et les lymphocytes NK ont la particularité de n'exprimer qu'un seul type de récepteur à leur surface, respectivement le FcγRIIb et le FcγRIIIa. Les autres cellules immunitaires expriment plusieurs types de FcR, à la fois activateurs et inhibiteurs, permettant une régulation fine des fonctions cellulaires.

En effet, l'expression des récepteurs est modulée par l'environnement, ainsi la présence des cytokines pro-inflammatoires augmente généralement l'expression des FcγR activateurs. L'IFN-γ par exemple, induit l'expression du FcγRI et diminue celui du FcγRIIb. A l'inverse, les cytokines anti-inflammatoires tels que l'IL-4, augmentent l'expression du FcR inhibiteur (Bournazos et al. 2017).

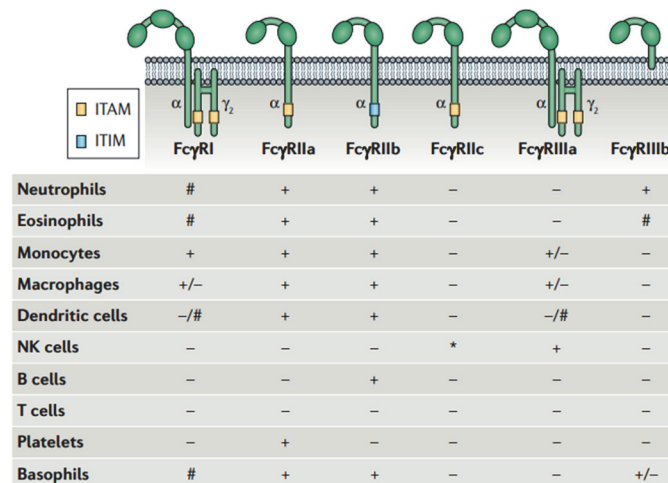


Figure 19 : Représentation de l'expression des FcγR sur les différentes lignées cellulaires. Issu de (Bournazos, Gupta, et Ravetch 2020).

Les FcγRII et FcγRIII reconnaissent majoritairement l'immunoglobuline sous forme de multimères tels que les complexes immuns ou les cellules opsonisées. A l'inverse, le FcγRI a une meilleure affinité avec la forme monomérique.

De plus, les affinités variables des FcγR pour les différentes sous-classes d'IgG participe à la modulation de la réponse immunitaire. Cela explique que les sous-classes d'IgG activent avec plus ou moins d'efficacité les fonctions de la cellule (Vidarsson, Dekkers, et Rispens 2014). Ainsi, des phénomènes de compétition entre les sous-classes peuvent entrer en jeu.

La mise en jeu des FcγR peut induire soit des effets bénéfiques : anti-viraux ou anti-tumoraux, contrôle de la réponse inflammatoire soit des effets délétères en amplifiant la réponse inflammatoire, ou participer aux mécanismes d'échappement viral ou tumoral.

(2) Activité cytotoxique dépendante des anticorps (ADCC)

Les lymphocytes NK et les macrophages expriment à leur surface les FcγRIIIa (CD16a), l'activation de ces derniers par les anticorps recouvrant les cellules infectées induit le relargage des granules cytotoxiques : les perforines et les granzymes qui induisent la mort cellulaire grâce à la formation de pores sur leur membrane. Ce processus s'appelle ADCC (antibody-dependent cellular cytotoxicity). Les anticorps IgG1 et IgG3 sont les isotypes les plus efficaces.

Ce processus permet l'élimination de cellules infectées par les virus. Elles présentent à leur surface des particules virales, qui seront reconnues par des anticorps. Le fragment Fc de cet anticorps lie le FcR3a situés sur la membrane des NK, monocytes macrophages, plaquettes sanguines et l'activation de ces cellules déclenche l'ADCC et l'élimination de la cellule infectée. Dans une moindre mesure, l'opsonisation des bactéries extracellulaires facilite son élimination par l'ADCC.

Lorsqu'elle est dirigée contre de antigènes du soi, l'ADCC est l'un des mécanismes lésionnels des maladies auto-immunes. La libération de granules lysosomiaux entraîne la destruction de la cellule cible et des tissus, à l'origine des symptômes de la maladie.

Le rôle de l'ADCC dans la surveillance anti-tumorale naturelle n'a pas été clairement démontré. Elle est cependant largement exploitée dans la thérapeutique : l'efficacité des anticorps monoclonaux est en partie expliquée par leur capacité à recruter les cellules immunitaires douées d'ADCC au contact des cellules tumorales. C'est d'ailleurs le développement de cette thérapeutique dans le but d'en optimiser l'efficacité qui a permis de mieux comprendre les effets des glycosylations sur les anticorps.

En effet, les formes afucosylés des anticorps monoclonaux thérapeutiques ont une meilleure affinité aux FcR3a et induisent une réponse ADCC augmentée comparé à des anticorps fucosylés (Yamane-Ohnuki et Satoh 2009). Cette propriété a été confirmée sur des immunoglobulines humaines, notamment les IgG1 (Shields et al. 2002) mais aussi les IgG4 (Q. Gong et al. 2016). Cette différence d'affinité est expliquée en cristallographie par une modification des caractéristiques physico-chimiques et donc une modification de l'interaction entre les acides aminés du fragment Fc et les résidus osidiques (Matsumiya et al. 2007). Des ajouts de bisecting GlcNAc sur des anticorps monoclonaux ont induit une augmentation de l'activité ADCC (Hodoniczky, Zheng, et James 2005), cela est expliqué notamment par le fait que les formes bisecting sont la plupart du temps afucosylés. Des immunoglobulines faiblement sialylées augmente l'ADCC (Kaneko, Nimmerjahn, et Ravetch 2006), ceci est expliqué par l'encombrement stérique occasionnée par la présence de résidus sialylés, empêchant la liaison au FcR (Scallon et al. 2007). Il n'a pas été mis en évidence de modulation de l'ADCC par les modifications de galactosylation (Hodoniczky, Zheng, et James 2005).

(3) Phagocytose dépendante des anticorps (ADCP)

Les cellules phagocytes tels que les neutrophiles, les cellules dendritiques, les monocytes et les macrophages possèdent à leur surface des FcγRs, notamment le FcγRIIIa activateur. La reconnaissance du fragment Fc par ce récepteur déclenche la phagocytose des particules opsonisées. L'acidification du milieu associé à la présence d'enzymes lysosomaux entraînent la dégradation du contenu des phagosomes, c'est ce que l'on appelle ADCP (Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis).

De cette façon elle participe à l'élimination des particules virales et des cellules infectées. (Bournazos, DiLillo, et Ravetch 2015).

Il existe peu d'études sur le sujet, il semblerait qu'une diminution de la galactosylation réduise l'activité ADCP (Chung et al. 2014). Une étude sur un anticorps monoclonal thérapeutique anti-CD20 a montré que les formes afucosylées liaient mieux le FcγRIIIa (Kuhns et al. 2020).

(4) Orientation de la réponse immune adaptative

Les cellules dendritiques expriment les récepteurs FcγRIIIa et FcγRIIb. La liaison des récepteurs par des complexes immuns active sa fonction de cellule présentatrice d'antigène. Ainsi, le complexe immun est internalisé, dégradé et présenté aux lymphocytes T via le CMH (Pincetic et al. 2014, 2). Ceci induit la libération de chimiokines par des cellules effectrices.

L'activation des FcγR activateurs sur les granulocytes, les monocytes et les macrophages déclenche la dégradation des antigènes internalisés ainsi que la production de chimiokines et de cytokines pro-inflammatoires.

Figure 20 : Tableau issu d'une revue de Cymer et al « Therapeutic Monoclonal Antibody N-Glycosylation – Structure, Function and Therapeutic Potential », résumant les effets des primo glycoformes sur l'interaction entre le Fc et ses différents récepteurs. Ces résultats concernant des anticorps monoclonaux. Les zones orange indiquent une diminution de l'interaction, les zones vertes une augmentation de l'interaction et les zones grises une interaction non modifiée. Le texte en rouge indique que les références sur le sujet sont contradictoires.

Les références sont listées à la suite.

	C1q	FcγR Ia	FcγR IIa (unspecified)	FcγR IIa R131	FcγR IIa H131	FcγR IIb	FcγR IIIa (unspecified)	FcγR IIIa V158	FcγR IIIa F158	FcγR IIIb	FCRn
De- or aglycosylated	no binding (99, 100)	(101,103)	no binding (101)	no binding (103)		no binding (118,103)	no binding (64,101)	no binding (103)			(91, 119)
Afucosylated	(106;107;121)	(111;121)	(111), (67)	(120; 121)	(120;121)	(67,111,120; 121)	(67,111, 116)	(106,66, 109,120;121)	(106,120,109; 121)	(67;121)	
G0F	(100; 112)	(42,103)	(42)	(103)		(112,103)	(112); (64,42)	(103)			
G1F	(113;121)	(103)		(103)		(103)		(103)			
G2F	(100,113)	(103;121)		(67,42,103;121)		(67,114,103; 121)	(64,67,115,116)	(103); (42)		(67)	
hM3F		(103)		(103)		(103)	(64)	(103)			
G1FS		(103)		(103)		(103)		(103)			
G2FS		(103)		(42,103)		(103)		(103); (42)			
G2FS2	(117)	(103)		(42,103)		(103)		(103); (42)			

Références du review de Cymer et al. «Therapeutic Monoclonal Antibody N-Glycosylation – Structure, Function and Therapeutic Potential ».

- 42** : Thomann M, Schlothauer T, Dashivets T, Malik S, Avenal C, Bulau P, et al. In vitro glycoengineering of IgG1 and its effect on Fc receptor binding and ADCC activity. *PLoS One* 2015;10:e0134949.
- 64** : Yamaguchi Y, Nishimura M, Nagano M, Yagi H, Sasakawa H, Uchida K, et al. Glycoform-dependent conformational alteration of the Fc region of human immunoglobulin G1 as revealed by NMR spectroscopy. *Biochim Biophys Acta* 2006;1760:693–700.
- 66** : Ferrara C, Grau S, Jager C, Sondermann P, Brunker P, Waldhauer I, et al. Unique carbohydrate-carbohydrate interactions are required for high affinity binding between Fcγ₃R and antibodies lacking core fucose. *Proc Natl Acad Sci U. S. A* 2011;108:12669–74.
- 67** : Subedi GP, Barb AW. The immunoglobulin G1 N-glycan composition affects binding to each low affinity Fc gamma receptor. *MAbs* 2016:1–13.
- 92** : Leabman MK, Meng YG, Kelley RF, DeForge LE, Cowan KJ, Iyer S. Effects of altered Fcγ₃R binding on antibody pharmacokinetics in cynomolgus monkeys. *MAbs* 2013;5:896–903.
- 100** : Lund J, Takahashi N, Pound JD, Goodall M, Jefferis R. Multiple interactions of IgG with its core oligosaccharide can modulate recognition by complement and human Fc gamma receptor I and influence the synthesis of its oligosaccharide chains. *J Immunol* 1996;157:4963–9.
- 101** : Boyd PN, Lines AC, Patel AK. The effect of the removal of sialic acid, galactose and total carbohydrate on the functional activity of Campath-1H. *Mol Immunol* 1995;32:1311–8.
- 102** : Vafa O, Gilliland GL, Brezski RJ, Strake B, Wilkinson T, Lacy ER, et al. An engineered Fc variant of an IgG eliminates all immune effector functions via structural perturbations. *Methods* 2014;65:114–26.
- 104** : Karagiannis SN, Dashivets T, Thomann M, Rueger P, Knaupp A, Buchner J, et al. Multi-angle effector function analysis of human monoclonal IgG glycovariants. *PLoS One* 2015;10:e0143520.
- 106** : Jensen PF, Larraillet V, Schlothauer T, Kettenberger H, Hilger M, Rand KD. Investigating the interaction between the neonatal Fc receptor and monoclonal antibody variants by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics* 2015;14:148–61.
- 107** : Niwa R, Natsume A, Uehara A, Wakitani M, Iida S, Uchida K, et al. IgG subclassindependent improvement of antibody-dependent cellular cytotoxicity by fucose removal from Asn297-linked oligosaccharides. *J Immunol Methods* 2005;306:151–60.
- 108** : Kanda Y, Yamada T, Mori K, Okazaki A, Inoue M, Kitajima-Miyama K, et al. Comparison of biological activity among nonfucosylated therapeutic IgG1 antibodies with three different N-linked Fc oligosaccharides: the high-mannose, hybrid, and complex types. *Glycobiology* 2007;17:104–18.
- 110** : Zhou Q, Shankara S, Roy A, Qiu H, Estes S, McVie-Wylie A, et al. Development of a simple and rapid method for producing non-fucosylated oligomannose containing antibodies with increased effector function. *Biotechnol Bioeng* 2008;99:652–65.
- 112** : Mimoto F, Kadono S, Katada H, Igawa T, Kamikawa T, Hattori K. Crystal structure of a novel asymmetrically engineered Fc variant with improved affinity for Fcγ₃R. *Mol Immunol* 2014;58:132–8.
- 113** : Nimmerjahn F, Anthony RM, Ravetch JV. Agalactosylated IgG antibodies depend on cellular Fc receptors for in vivo activity. *Proc Natl Acad Sci U. S. A* 2007;104:8433–7.
- 114** : Hodoniczky J, Zheng YZ, James DC. Control of recombinant monoclonal antibody effector functions by Fc N-glycan remodeling in vitro. *Biotechnol Prog* 2005;21:1644–52.
- 115** : Karsten CM, Pandey MK, Figge J, Kilchenstein R, Taylor PR, Rosas M, et al. Antiinflammatory activity of IgG1 mediated by Fc galactosylation and association of Fcγ₃R and dectin-1. *Nat Med* 2012;18:1401–6.
- 116** : Houde D, Peng Y, Berkowitz SA, Engen JR. Post-translational modifications differentially affect IgG1 conformation and receptor binding. *Mol Cell Proteomics* 2010;9:1716–28.
- 117** : Thomann M, Reckermann K, Reusch D, Prasser J, Tejada ML. Fc-galactosylation modulates antibody-dependent cellular cytotoxicity of therapeutic antibodies. *Mol Immunol* 2016;73:69–75.
- 118** : Quast I, Keller CW, Maurer MA, Giddens JP, Tackenberg B, Wang LX, et al. Sialylation of IgG Fc domain impairs complement-dependent cytotoxicity. *J Clin Invest* 2015;125:4160–70.
- 119** : Mimura Y, Sondermann P, Ghirlando R, Lund J, Young SP, Goodall M, et al. Role of oligosaccharide residues of IgG1-Fc in Fc gamma RIIb binding. *J Biol Chem* 2001;276:45539–47.
- 120** : Mimoto F, Igawa T, Kuramochi T, Katada H, Kadono S, Kamikawa T, et al. Novel asymmetrically engineered antibody Fc variant with superior Fcγ₃R binding affinity and specificity compared with afucosylated Fc variant. *MAbs* 2013;5:229–36.
- 121** : Dekkers G, Treffers L, Plomp R, Bentlage AEH, de Boer M, Koeleman CAM, et al. Decoding the human immunoglobulin g-glycan repertoire reveals a spectrum of fcreceptor- and complement-mediated-effector activities. *Front Immunol* 2017;8:877.

II. Les maladies auto-immunes

1. Mécanismes de tolérance immunitaire

L'immunité est l'ensemble des mécanismes de défense d'un organisme contre les éléments qui lui sont étrangers. La reconnaissance d'un antigène étranger par le système immunitaire active une réaction immunitaire ayant pour finalité son élimination. A l'inverse, face à un antigène du soi, le système immunitaire est programmé de façon à ne pas déclencher de réaction immunitaire. Cet état de non-activation face à ses propres antigènes est appelée tolérance immunitaire et est le garant du bon fonctionnement du système immunitaire.

La tolérance aux antigènes du soi s'acquière lors de la mise en place du système immunitaire au cours du développement *in utero*. Il existe deux mécanismes de tolérance : centrale et périphérique. La tolérance centrale a lieu lors de la différenciation lymphocytaire T et B, respectivement dans le thymus et dans la moelle osseuse : elle consiste en la suppression de clones lymphocytaires reconnaissant des antigènes du soi, des processus d'anergie et l'émergence de lymphocytes T régulateurs centraux dans le thymus. Il existe cependant de manière physiologique, un petit contingent de lymphocytes auto-réactifs. La présence de ces lymphocytes auto-réactifs ne sont pas suffisants pour déclencher une maladie auto-immune. En effet, les mécanismes de tolérance périphérique sous l'influence de différentes cellules régulatrices permet d'inactiver les lymphocytes B et T auto-réactifs qui n'auraient pas été éliminés par la tolérance centrale.

2. Déclenchement de l'auto-immunité

L'auto-immunité survient lorsque qu'il y a rupture de tolérance aux antigènes du soi. Le système immunitaire considère un élément du soi comme étant étranger, et sa reconnaissance déclenche une réaction immunitaire. On parle de maladie auto-immune lorsque les lésions cellulaires et tissulaires induites par la réponse immunitaire sont responsables de symptômes.

Les mécanismes du déclenchement de l'auto-immunité sont encore aujourd'hui peu connus. Il est admis que son origine est multifactorielle, elle dépendrait de facteurs génétiques et de facteurs environnementaux (Rispen et al. 2011). Il existe de rares cas de maladies auto-immunes monogéniques, mais la majorité sont polygéniques. Le terrain génétique est conféré par le polymorphisme de plusieurs gènes de susceptibilité. Cependant la présence de cette susceptibilité génétique ne suffit pas à l'initiation d'une maladie auto-immune, s'ajoute à cela des facteurs environnementaux. Les infections ont été évoqués comme participant à l'activation des lymphocytes auto réactifs. L'hypothèse serait que certains polymorphismes génétiques induisent une régulation défectueuse des lymphocytes auto-réactifs et que des circonstances environnementales initieraient l'activation de ces lymphocytes auto-réactifs.

3. Mécanismes lésionnels : les effecteurs de l'auto-immunité

a) L'inflammation

La plupart des maladies auto-immunes sont accompagnées d'une composante inflammatoire, notamment médiée par les cytokines (TNF alpha, interleukines...). Elle consiste en la formation de granulomes inflammatoires, à l'origine de la destruction des tissus. En réponse, des mécanismes de réparation se mettent en place qui néanmoins, aboutissent la plupart du temps à une fibrose des tissus.

b) Les effecteurs cellulaires

Certaines maladies auto-immunes sont dites à médiation cellulaire. L'activité des lymphocytes T auto-réactifs sont à l'origine des lésions des tissus, par des mécanismes directs de cytotoxicité ou indirectement par la production de cytokines, induisant une inflammation locale. C'est le cas de la sclérose en plaques, pathologie dans laquelle la myéline est la cible de lymphocytes auto-réactifs.

c) Les autoanticorps

Les auto-anticorps produits par les lymphocytes B auto-réactifs peuvent être soit des biomarqueurs de la maladie sans être responsable des lésions, soit être à l'origine de lésions cellulaires ou tissulaires. Ils sont dans ce cas dits pathogènes.

Le caractère pathogène est attesté par la capacité de l'auto-anticorps à induire la pathologie lorsqu'ils sont introduits dans un organisme. Il existe plusieurs mécanismes qui expliquent l'effet pathogène des autoanticorps.

(1) Cytolyse de la cellule cible

La fixation de l'autoanticorps sur la cellule cible déclenche les différentes fonctions médiées par fragment Fc, décrits précédemment. La formation du complexe d'attaque membranaire *via* le système du complément (CDC), la toxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) particulièrement des lymphocytes NK et phagocytose par les cellules monocytaires/macrophages (ACDP) sont à l'origine de la destruction de la cellule cible et des tissus.

(2) Modification de la fonctionnalité de l'antigène cible

La liaison de l'autoanticorps sur son antigène peut modifier la fonction ou l'expression de la molécule cible. Dans le cas où l'antigène se trouve être un récepteur, la reconnaissance par l'anticorps peut avoir une fonction inhibitrice, soit en induisant son internalisation et sa dégradation, soit par compétition avec son ligand naturel. Au contraire, la liaison de l'autoanticorps sur un récepteur peut avoir une fonction activatrice et ce, de manière incontrôlée. Dans le cas où l'antigène est une molécule soluble, la liaison de l'anticorps peut avoir un effet neutralisant et empêcher la molécule d'effectuer ses fonctions.

(3) Formation de complexes immuns

L'interaction antigènes-autoanticorps forment des complexes immuns qui se déposent dans les tissus. Ces complexes entraînent l'activation du complément, à l'origine de la libération d'anaphylatoxines (C3a et C5a) ayant la propriété de recruter les polynucléaires neutrophiles. Par la libération d'enzymes, ces granulocytes participent au contingent inflammatoire des maladies auto-immunes.

III. Les principaux autoanticorps pathogènes associés aux pathologies neurologiques

A. Les maladies auto-immunes du système nerveux central

1. Les encéphalites auto-immunes

L'encéphalite est une inflammation du parenchyme cérébral. La première hypothèse étiologique proposée est l'infection virale associant fièvre, céphalées, confusion et souvent accompagnées de convulsions ou de déficits neurologiques focaux. On découvre que beaucoup d'entre elles sont finalement d'origine immunologique; soit paranéoplasique, soit post-infectieuse, soit de cause inconnue (Abboud et al. 2021).

Dans sa forme complète, le tableau est une encéphalite limbique avec une amnésie antérograde, une épilepsie temporale interne et des troubles psychiatriques/troubles comportementaux. Les encéphalites auto-immunes sont séparées en deux groupes en fonction de localisation intra- ou extra-cellulaire de l'antigène reconnu par les anticorps anti-neuronaux.

En cas de cible intra-cellulaire, les anticorps sont des marqueurs et les symptômes sont liés à la destruction des neurones par des lymphocytes cytotoxiques rarement sensible aux traitements immunologiques. Ces autoanticorps sont appelés anti-onconeuronaux car ils sont le plus souvent d'origine para-néoplasique. La découverte de la tumeur est très souvent secondaire à la mise en évidence des auto-anticorps.

Le deuxième groupe concerne les encéphalites associées à des autoanticorps dirigés contre des antigènes de surface. L'association avec un cancer est plus rare et les symptômes découlent de l'action pathogène des autoanticorps. En effet, les antigènes ciblés sont souvent des constituants de la synapse, dont la liaison de l'autoanticorps, réversible, vient perturber la transmission synaptique mais n'induit pas de mort cellulaire. La détection de ces autoanticorps est cruciale car elle permet de confirmer le diagnostic d'encéphalite auto-immune et de renseigner sur le pronostic. Les deux cibles les plus fréquentes sont le récepteur NMDAR et les sous-unités du canal potassium voltage-dépendant (VGKC).

Le chef de file des encéphalites auto-immunes avec anticorps dirigé contre des antigènes extracellulaires est l'encéphalite à anticorps anti-NMDAR (N-Methyl-D-aspartate Receptor). Les NMDAR sont des récepteurs ionotropes post-synaptiques activés physiologiquement par le glutamate et la glycine, jouant un rôle dans la phase lente des potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE). La synthèse des autoanticorps se fait au sein du SNC avec des anticorps détectés parfois uniquement au

niveau du LCR en corrélation avec la présence d'une synthèse intrathécale d'immunoglobuline. Les autoanticorps agissent essentiellement en inhibant le recyclage des récepteurs. Cette encéphalite est probablement d'origine post-infectieuse chez l'enfant et d'origine paranéoplasique chez la femme jeune en association avec un cancer de l'ovaire. Les traitements immunologiques associés à la résection tumorale permettent une amélioration rapide des symptômes et la guérison.

Le deuxième groupe est représenté par la présence d'anticorps contre les molécules CASPR2 et LGI1 associés aux VGKC. Un cancer est détecté dans près de 2/3 des cas. Les anticorps sont présents à des taux très élevés dans le sérum et agissent après leur passage dans le SNC. La présence d'une synthèse intrathécale d'immunoglobuline est inconstante. La pathologie neurologique est le plus souvent sensible au traitement corticoïde associé au traitement de la tumeur.

2. Les myélites auto-immunes

La myélite est une inflammation de la moelle épinière responsable de signes cliniques moteurs, sensitifs et sphinctériens, dont les tableaux cliniques sont très variés. Dans les maladies démyélinisantes inflammatoires, elle peut se présenter entre autres, sous forme de myélite transverse aiguë (MTA), de neuromyérite optique (NMO), d'encéphalomyélite aiguë disséminée (EMAD). Certaines formes cliniques ont longtemps été considérées comme des formes particulières de sclérose en plaques (SEP). La découverte d'autoanticorps spécifiques a permis de définir des maladies auto-immunes à part entière du fait de mécanismes différents, avec une prise en charge différente de la SEP.

a) *Les auto-anticorps anti-Aquaporine 4*

La neuromyérite optique (NMO) ou maladie de Devic est une maladie auto-immune démyélinisante rare du SNC. Elle a longtemps été considérée comme une variante de la SEP, cependant la découverte des anticorps anti-AQP-4 a permis de la définir comme une entité nosologique à part entière (Lennon et al. 2004) (Lucchinetti et al. 2002) (Lennon et al. 2005). Cliniquement, elle se présente sous forme de poussées de névrites optiques sévères, uni- ou bilatérale, pouvant être associée à une myélite et parfois à une atteinte du tronc cérébral. Il n'existe pas de forme progressive.

Le diagnostic se fait sur l'association d'une clinique compatible et de la présence d'auto-anticorps anti-AQP4 détectés en CMF sur cellules transfectées pour l'expression de la forme M23 (polymérisée) de l'antigène. Il existe des formes dites séro-négatives (sans anticorps anti-AQP4) dont le diagnostic requiert des critères diagnostics plus stricts : 2 poussées associées à des lésions sur l'IRM cérébral ou de la moelle épinière, éventuellement complétée par une ponction lombaire.

b) Les auto-anticorps anti-MOG

La présence d'auto-anticorps anti-MOG (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein) définit une forme particulière de myélite dont le pronostic est moins sévère. Il existe des formes d'encéphalomyélite chez l'enfant dénommée ADEM associée aux anticorps anti-MOG.

La découverte en cytométrie en flux sur cellules transfectées exprimant la MOG, d'auto-anticorps a permis de définir les maladies du spectre anti-MOG. Elle appartient au spectre de la NMO mais est considérée comme une entité à part entière du fait d'une présentation clinique, d'un mode évolutif et d'une réponse au traitement différents de la NMO associée aux anti-AQP4 et de la SEP.

B. Du système nerveux périphérique

1. Les auto-anticorps anti-MAG

La MAG (myeline associated glycoprotein) est une glycoprotéine membranaire de la cellule de Schwann. Parmi les neuropathies démyélinisantes associées à une IgM monoclonale, elle est la plus représentée. Les neuropathies périphériques à anticorps anti-MAG sont des neuropathies chroniques à prédominance sensitive, longueur-dépendantes, se traduisant généralement par une ataxie et des paresthésies des membres inférieurs, souvent associées à un tremblement. Il existe des formes chroniques à prédominance sensibles peu évolutives où l'abstention thérapeutique peut être proposée et des formes plus sévères avec des atteintes motrices pouvant justifier un traitement soit du clone producteur, soit immunomodulateur comme le Rituximab (Gazzola et al. 2017).

L'électrophorèse des protéines sériques et l'immunotypage capillaire ou l'immunofixation met en évidence une IgM monoclonale le plus souvent de type kappa et de faible intensité. La spécificité anti-MAG peut être révélée en immunofluorescence indirecte sur nerf sciatique de singe ou en ELISA avec de la MAG humaine purifiée (test ELISA commercial Buhlmann). L'épitope reconnu est un trisaccharide sulfoné et glucuroné, le HNK-1 (Human Natural Killer 1) exprimé sur la molécule CD57 et plusieurs glycoprotéines et glycolipides du système nerveux central et périphérique. Des nouveaux tests aussi sensibles proposent de tester la présence d'anticorps en utilisant l'épitope HNK-1 synthétique (Delmont et al. 2019). Il n'existe pas de corrélation entre le titre des autoanticorps et la sévérité clinique. Il est donc utile de rechercher des biomarqueurs prédictifs de la sévérité aidant les cliniciens dans la prise en charge thérapeutique.

2. Les anti-gangliosides

Les gangliosides sont des glycolipides fortement exprimés par les cellules neurales au sein de radeaux lipidiques. Ils jouent un rôle dans plusieurs fonctions comme la croissance, la différenciation, l'adhésion cellulaire, l'apoptose cellulaire... (Schengrund 2015).

Ils sont composés d'une partie intra-membranaire (groupement céramide) et d'une partie extra-cellulaire oligosaccharidique, contenant 1 à 4 acides sialiques (N-acétyl-neuraminique chez l'homme).

Leur nomenclature utilise la lettre initiale G pour ganglioside, suivi d'un M, D, T ou Q selon le nombre de résidus d'acide sialique (respectivement 1, 2, 3 ou 4). Le chiffre correspondant au nombre (5-n) d'oses en plus des résidus sialiques. Elle peut être suivie d'une lettre indiquant la position des acides sialiques ou l'ordre de migration en chromatographie en couche mince. Il existe une vingtaine de gangliosides caractérisés dont les plus étudiés sont GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GD1b, GD2, GD3, GT1a, GT1b et GQ1b.

Ces gangliosides sont reconnus par des autoanticorps induisant des syndromes variés, moteurs ou sensitifs, aigus ou chroniques. Ils peuvent être d'isotype IgM, plutôt associés à des neuropathies chroniques ou d'isotype IgG le plus souvent associés à des formes aiguës (syndrome de Guillain et Barré). Ces anticorps sont le plus souvent polyclonaux (isotype IgG ou IgM) et parfois monoclonaux (isotype IgM uniquement, dans le cadre d'une maladie de Waldenström ou d'une gammopathie monoclonale de signification indéterminée).

Les différents gangliosides ont un taux d'expression variable selon la localisation de la fibre nerveuse expliquant ainsi des tableaux cliniques particuliers selon la cible des auto-anticorps (Y. Gong et al. 2002). Les gangliosides GM1 et GD1a sont fortement exprimés sur les nerfs moteurs expliquant la prédominance d'une atteinte motrice en présence d'anticorps anti-GM1 et GD1a. Le GQ1b est exprimé au niveau des nerfs oculomoteurs et les anticorps sont associés à des tableaux d'ophtalmoplégie : le syndrome de Miller-Fischer et le syndrome de Bickerstaff. Le GD1b est préférentiellement exprimé par les ganglions dorso-rachidiens expliquant ainsi la présence d'atteinte sensitive avec ataxie.

Dans les syndromes de Guillain et Barré associés aux anti-GM1 ou GD1a, les mécanismes d'atteinte impliqueraient notamment l'activation des macrophages et/ou de la cascade du complément au niveau des nœuds de Ranvier, secondaires à la fixation des autoanticorps d'isotypes IgG, notamment IgG1 et IgG3.

Dans les neuropathies motrices associées aux anti-GM1 d'isotype IgM, il est observé que la sévérité de la pathologie était corrélée à la capacité des IgM à activer *in vitro* la cascade du complément (Vlam et al. 2015).

Les autres hypothèses physiopathologiques proposent que les anticorps anti-gangliosides pourraient interférer avec des canaux ioniques, notamment sodiques, co-localisés avec les gangliosides.

3. Les anti-glycoprotéines du nœud de Ranvier (Neurofascines 155, 186, Contactine 1, Caspr1)

Les polyradiculonévrites démyélinisantes chroniques (PIDC) sont les plus fréquentes des neuropathies auto-immunes inflammatoires. Leur prise en charge thérapeutique en première intention implique les perfusions d'IgIV et les corticoïdes. En cas de résistance à ces traitements, des traitements immunosuppresseurs et le Rituximab peuvent être efficaces.

Certains cas de PIDC sont associés à des anticorps dirigés contre les constituants des nœuds de Ranvier dont les neurofascines (NF) 155 et 186, contactine 1 (CNTN1) et Caspr2 (Delmont et al. 2020). Les principales caractéristiques sont le mode d'installation subaiguë, la sévérité de l'atteinte et la résistance au traitement par IgIV. En cas de présence d'anticorps anti-CNTN1, une atteinte rénale de glomérulonéphrite extra-membraneuse de mauvais pronostic est souvent associée (Le Quintrec et al. 2021). La caractéristique principale est la prédominance d'auto-anticorps d'isotype IgG4. Dans certains cas, les anticorps d'isotype IgG4 sont associés à la présence d'anticorps IgG1, 2, ou 3.

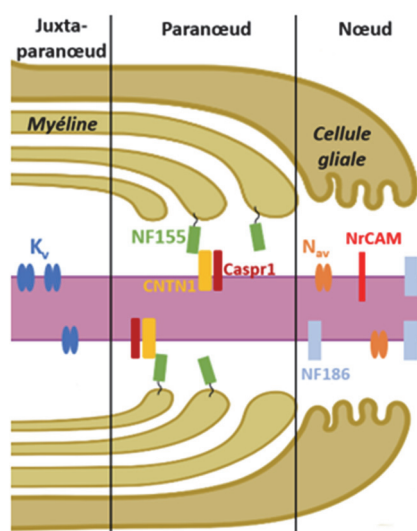


Figure 21 : Représentation schématique des principales cibles impliquées dans les PIDC.

Les neurofascines sont des glycoprotéines transmembranaires de type I de la famille L1 des molécules d'adhésion cellulaire (CAM). Il en existe plusieurs isoformes obtenus par épissage alternatif et qui diffèrent par le nombre de domaines fibronectine (FN). Il en existe 2 majoritaires dans le système nerveux : les isoformes 155 (NF155) et 186 (NF186). Elles participent notamment à l'adhésion entre l'axone et la gaine de myéline. Elles sont composées d'un domaine extracellulaire qui contient 6 domaines immunoglobulines et plusieurs domaines FN. L'isoforme 155 se retrouve notamment sur le versant glial dans les régions paranodales où il se lie au complexe Caspr1/Contactine1 situé sur l'axone adjacent pour former et stabiliser les jonctions axogliales du nœud de Ranvier.

La formation du paranode permet la conduction saltatoire de l'influx nerveux en séparant les canaux sodiques et potassiques (Kira, 2021). L'isoforme 186 est située notamment au niveau du segment initial et de la région nodale.

Les anticorps anti-NF155 reconnaissent le domaine Fn3 (absent sur l'isoforme 186). Le mécanisme d'action des auto-anticorps est mal connu. Le site thrombine sur le domaine Fn3 de la NF155 suggère que les anticorps induiraient un clivage de la molécule. Les anticorps anti-CNTN1 agirait par dissociation des interactions NF155/CNTN1 (Manso et al. 2016).

4. Maladies auto-immunes de la jonction neuro-musculaire

Le dernier domaine où des auto-anticorps participent à la physiopathologie sont les atteintes de la jonction neuromusculaire : la myasthénie et le syndrome myasthéniforme de Lambert-Eaton.

Dans la myasthénie les autoanticorps ciblent le récepteur à l'acétylcholine post-synaptique ou les molécules associées et agissent comme précédemment rapporté par différents mécanismes de blocage des récepteurs, d'altération de la plaque motrice et d'endocytose.

Dans le syndrome de Lambert-Eaton, les anticorps ciblent les canaux calciques pré-synaptiques, induisent leur endocytose et inhibent la recapture de calcium et la libération d'acétylcholine.

IV. Altération des patterns de glycosylations des autoanticorps

Les modifications des patterns de N-glycosylation sont décrites dans différentes situations pathologiques. Ces modifications sont liées à des variations cellulaires de l'expression des différentes glycosyl-transférases et sialyl-transférases sous l'influence de facteurs génétiques, environnementaux et inflammatoires.

La première situation décrite est le vieillissement et est présenté sous le terme « d'inflammaging » (Franceschi et al. 2018).

Il faut noter que ces modifications sont présentes sur d'autres protéines (Catera et al. 2016). Il existe également des modifications possibles sous l'influence de glycosyl-transférase ou sialyl-transférases présentes dans les liquides biologiques (Jones et al. 2012). Les plaquettes, altérées en situation inflammatoire, sont notamment une source d'enzymes pouvant modifier les N-glycosylations (Lee-Sundlov et al. 2017).

Il est décrit des modifications de N-glycosylations des autoanticorps corrélées avec des scores de gravité dans la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé, les deux pathologies le plus étudiées, mais également dans les MICI, les vascularites à ANCA, le PTI, la sclérose en plaques et les thyroïdites (Zhou et al. 2021) (Ząbczyńska, Link-Lenczowski, et Pocheć 2021).

a) Les ACPA et la polyarthrite rhumatoïde

Les modifications post traductionnelles des auto-anticorps anti-peptides citrullinés a été l'objet de nombreuses recherches ces dernières années. Il a été décrit initialement une réduction des formes sialylés et galactosylés des IgG totaux dans le sérum et dans le liquide synovial de patients avec polyarthrite rhumatoïde comparé à des patients indemnes (Parekh et al. 1985). Plus spécifiquement, il a été étudié les glycoformes des ACPA comparé aux IgG totaux dans le sérum et dans le liquide synovial du patient. Dans le sérum, a été mis en évidence une réduction significative de la sialylation des IgG1-ACPA comparé au IgG1 totaux (Scherer et al. 2010). La diminution de la galactosylation ne s'est pas avérée significative. Ces résultats vont dans le sens des études montrant que les résidus sialiques étaient à l'origine de l'activité anti-inflammatoire des immunoglobulines (Böhm et al. 2012), plus que la présence de résidus galactose. Concernant le liquide synovial, il comporte des IgG ACPA désialylés mais aussi très agalactosylés, comparés au IgG ACPA du sérum. Il y a donc une différence qualitative des glycoformes des IgG ACPA au site inflammatoire, il semblerait que les variations soient plus importantes au niveau du site de l'inflammation. Ce résultat suggère la glycosylation jouerait un rôle essentiel dans le recrutement des cellules inflammatoires effectrices.

b) Les anti-dsDNA et le lupus érythémateux systémique

Les travaux de Vučković et al. (Vučković et al. 2015) a mis en évidence une modification significative de la composition du glycome des IgG totales chez des patients SLE comparés au glycome de patients contrôles. Notamment, il a été remarqué une diminution significative de la galactosylation et de la sialylation des IgG dans le sérum des patients SLE. De même, il a été décrit une diminution de la fucosylation et une augmentation du bisecting N-acétylglucosamine, modifications qui jouent un rôle dans l'ADCC.

Pour mieux comprendre la physiopathologie, une étude s'est intéressée plus particulièrement aux anti-dsDNA. Le sérum de patients SLE a été analysé pour rechercher des différences de glycosylations entre les anti-dsDNA IgG et les IgG totales. Les résultats ont été classés par sous-classes d'IgG et selon l'activité de la maladie (score SLEDAI). Il a été observé que la glycosylation des anti-dsDNA IgG était différente de celles des IgG totales. Cela est particulièrement notable lorsque l'on compare la sous-classe IgG1. En effet, les niveaux de fucosylation, galactosylation et sialylation des anti-dsDNA IgG1 augmentent parallèlement au score SLEDAI (Han et al. 2022). La plus forte corrélation est retrouvée pour la fucosylation des anti-dsDNA IgG1 comparativement aux IgG1 totales. Cette dernière étude est limitée par son petit nombre de cas inclus, mais elle suggère un lien entre glycosylation, notamment la fucosylation des anti-dsDNA et activité de la maladie.

c) Les anti-thyroglobulines et les thyroïdites

Une diminution de la fucosylation de l'ensemble des N-glycanes des IgG est un glycomarqueur sérique dans les maladies thyroïdiennes auto-immunes (MTAI) englobant la thyroïdite de Hashimoto (HT) et la maladie de Grave. Cependant, la fucosylation des IgG anti-thyroglobuline qui est un marqueur immunologique de l'HT est élevé dans le sérum de l'HT (Ząbczyńska et al. 2020) (Yuan et al. 2015). Ces dernières observations illustrent un élément de complexité du sujet. Il peut en effet exister des compétitions entre les modifications des glycosylations des immunoglobulines polyclonales et celles des autoanticorps pour l'activation de la cascade du complément ou l'interaction avec les récepteurs pour la partie Fc des immunoglobulines. Il est ainsi proposé que l'action thérapeutique anti-inflammatoire des IgIV implique le profil de N-glycosylation des immunoglobulines injectées (Anthony et al. 2008).

d) N-glycosylations et pathologies du système nerveux périphérique

Aucune étude n'a encore évalué l'impact des glycosylations sur leurs fonctions et donc indirectement sur la pathogénicité des autoanticorps associés aux neuropathies périphériques.

L'impact des N-glycosylations a été montré sur l'action des IgIV dans le traitement des neuropathies associées aux anti-GM1 (Sudo et al. 2014). Par ailleurs, l'activation *in vitro* de la

cascade du complément corrèle avec la sévérité de la maladie sans avoir exploré l'impact potentiel des N-glycosylations (Vlam et al. 2015).

Le laboratoire d'immunologie de l'AP-HM a observé que les modifications de glycosylation des IgM anti-MAG modifiaient l'interaction avec la MAG (Neil et al. 2020).

Aucune donnée sur les entités récentes des PIDC associées aux anticorps anti-glycoprotéines des nœuds de Ranvier n'est disponible.

Dans la myasthénie et le syndrome de Lambert-Eaton des modifications de N-glycosylation ont été illustrés dans une publication, mais ce travail porte sur les IgG totales mais pas spécifiquement sur les autoanticorps (Selman et al. 2011).

V. Les techniques d'analyse des glycosylations

A. Stratégies d'analyse en glycoprotéomique

L'étude des glycoprotéines permet de connaître la composition et la séquence en monosaccharides des chaînes glucidiques, ainsi que la localisation et le type de liaison des points de branchement. Elle peut s'appréhender de 3 manières, chacune ayant ses avantages et inconvénients, elles sont considérées comme complémentaires pour l'étude des glycoprotéines.

La première approche dite « top-down » consiste à étudier la molécule entière. Elle permet d'obtenir des informations sur les différents glycoformes et la combinatoire des chaînes glucidiques (modifications exclusives, inclusives). Cependant la complexité d'une molécule entière induit un nombre de données important rendant difficile la caractérisation structurale des glycanes.

La deuxième approche « bottom-up » s'intéresse aux glycopeptides obtenus après dégradation chimique ou enzymatique de la protéine (Mann et Jensen 2003). L'intérêt de fragmenter les glycoprotéines en structure de taille plus réduite est de diminuer la complexité de la molécule et ainsi d'augmenter les performances analytiques des outils utilisés. Elle permet de renseigner sur la localisation et la composition des glycanes. Cela entraîne cependant une perte d'information, notamment sur la combinatoire des modifications, possible seulement grâce à l'approche « top-down ».

Enfin, la glycomique est l'analyse exclusive de la chaîne saccharidique, après lyse de la liaison glucidique. Elle permet d'acquérir des informations sur la structure et l'hétérogénéité des sites de glycosylations (Adamczyk et al. 2014). Dans le cas d'une protéine purifiée, la glycomique permet d'évaluer l'ensemble des structures N-glycosidiques, et d'obtenir la population moyenne des glycoprotéofformes (Castilho et al. 2015).

B. Analyse du glycome

En glycomique, différents outils permettent d'analyser la composition des chaînes glucidiques.

1. Les lectines

Les lectines sont des protéines ayant la propriété de lier spécifiquement certains motifs glucidiques. Physiologiquement, elles sont impliquées dans des processus biologiques tels que l'adhésion, la reconnaissance et la communication cellulaires. Ces propriétés sont largement exploitées dans les laboratoires, elles sont utilisées par exemple, pour la purification de glycoprotéines (chromatographie d'affinité) ou encore, une fois conjugués à des méthodes de révélation (fluorescence, enzymatique, immunologique...) pour la détection et la caractérisation des glucides en glycoprotéomique (Wu et Liu 2019). En effet, il existe un grand nombre de lectines liant spécifiquement les résidus d'acides sialiques, de fucose, de GlcNAc bisecting. Il est ainsi possible d'analyser la majorité des glycanes. Cependant, cet outil peut être limité par l'absence de lectines spécifique pour certains motifs ou par une affinité insuffisante (Haab et Klamer 2020).

2. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

La résonance magnétique nucléaire représente la propriété qu'ont certains noyaux atomiques à émettre un rayonnement après avoir été placés dans un champ magnétique. L'énergie relâchée lors de ce phénomène, appelée résonance, correspond à une fréquence spécifique à un atome. Ce phénomène est utilisé en biologie structurale pour étudier la composition des molécules. Elle a l'avantage d'être utilisable sur des glycoprotéines intactes (Schubert et al. 2015). Elle nécessite cependant des échantillons peu hétérogènes et en glycomique, elle est limitée par sa faible sensibilité en ce qui concerne les quantités nanomolaires en glucides des échantillons.

3. La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (MS) est une technique analytique permettant l'identification et la quantification des composés d'un échantillon. Elle est considérée comme la méthode la plus puissante en glycomique avec une résolution et une sensibilité supérieure aux autres (Harvey 2005), (Mechref et Novotny 2002). Le principe repose sur la mesure du rapport masse/charge des éléments préalablement ionisés en phase gazeuse ; un spectre de masse est obtenu et sa comparaison avec les bases de données permet l'identification des composés. Pour ce faire, l'échantillon passe au travers de 3 composants du spectromètre : une source d'ionisation permet l'ionisation et la vaporisation de l'analyte, un ou plusieurs analyseurs sépare les ions en fonction de leur rapport masse/charge, enfin, un système de détection mesure l'intensité du signal correspondant à une valeur m/z et le transpose sous forme de graphique, le spectre de masse.

Le spectromètre de masse peut être utilisé seul dans le cas de mélanges peu complexes ou pour des molécules déjà purifiées. Concernant les échantillons plus complexes tels que le sérum ou le plasma, il est généralement couplé en amont à des méthodes de séparation tels que la chromatographie liquide, chromatographie en phase gazeuse ou électrophorèse capillaire afin de séparer les molécules (Geyer et Geyer 2006).

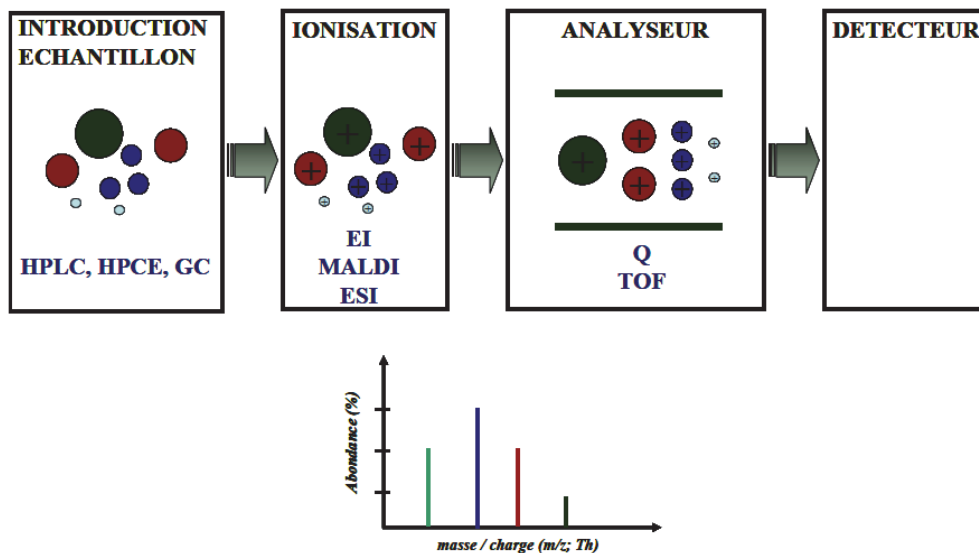


Figure 22 : Schéma simplifié de la structure et du fonctionnement d'un spectromètre de masse.

5

A. Etapes pré-analytiques pour l'analyse des anticorps

a) Séparation des isotypes

L'étude de la glycosylation dans les maladies auto-immunes, impose de disposer des auto-anticorps spécifiques d'intérêt. L'isolement des IgG se fait classiquement par chromatographie d'affinité avec de la protéine A ou G (Pučić et al. 2011). Ce sont des constituants de la paroi cellulaire des *Staphylococcus aureus* et des *Streptocoques* des groupes C et G, elles présentent une spécificité élevée pour la région Fc des molécules d'immunoglobuline G. La protéine A se lie fortement aux IgG1, 2 et 4.

b) Isolement des auto-anticorps spécifiques

Une fois les IgG isolées, il s'agit de récupérer uniquement les IgG spécifiques. La technique généralement utilisée est la chromatographie d'affinité, avec fixés sur le support, l'antigène reconnu par les immunoglobulines d'intérêt.

⁵ Figure issue d'un travail de thèse. Faïd « Approches de glycomique appliquées à l'étude des pathologies métaboliques des glycoprotéines ».

VI. Principes et intérêts de la détection et de la caractérisation, en cytométrie en flux avec des billes magnétiques, des autoanticorps associés aux pathologies du système nerveux périphérique

A. Objectifs

L'objectif à terme est de rechercher une corrélation entre les glycoformes des autoanticorps anti-GM1, anti-HNK-1 et anti-Neurofascine 155, leur capacité à fixer le C1q, la MBL et le CD16a et les critères cliniques et électrophysiologiques de sévérité, de réponse thérapeutique dans le but d'aider le clinicien pour le diagnostic, le pronostic ou la prise en charge thérapeutique de ces pathologies.

Ce travail est basé sur l'hypothèse que ces autoanticorps sont responsables de l'atteinte neurologique notamment par l'activation des cellules de l'immunité innée ou par l'activation de la cascade du complément.

L'approche proposée est basée sur la technologie de cytométrie en flux sur des billes magnétiques activées avec les antigènes (ou épitopes) reconnus et l'incubation avec des ligands fluorescents testés en cascade. La première étape a été celle d'évaluer l'intérêt des tests sur billes en cytométrie en flux comme une technologie alternative aux techniques ELISA ou en cytométrie en flux sur cellules, actuellement utilisées en routine au laboratoire. Cette même approche technique permettra ensuite de : (1) caractériser le pattern de glycosylations des autoanticorps immobilisés sur les billes par incubation avec des lectines fluorescentes, (2) mesurer la capacité des autoanticorps à fixer le C1q, la MBL ou le CD16 recombinant, (3) déterminer s'il existe un lien entre les glycoformes des autoanticorps et la capacité à fixer le C1q, la MBL ou le CD16a.

B. Intérêts des approches en cytométrie en flux pour le diagnostic des autoanticorps

La cytométrie en flux est une technique d'analyse permettant de dénombrer et de caractériser des cellules de 7 à 20 μm ou des particules (allant jusqu'à moins de 100 nm pour les automates les plus performants) en suspension dans un flux de liquide.

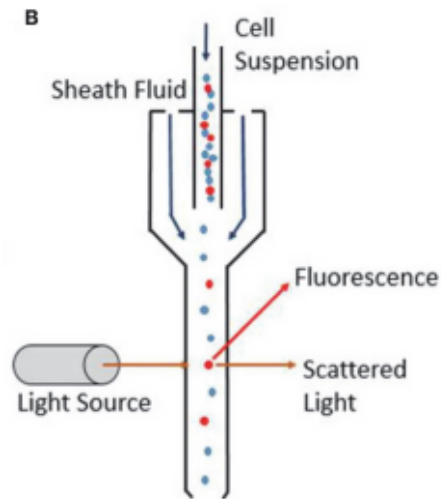


Figure 23 : Représentation schématique du fonctionnement d'un cytomètre en flux. ⁶

Grâce à un système de gaine liquidienne, les éléments d'intérêt passent un à un devant un faisceau laser, permettant leur décompte. L'analyse de la diffraction et de l'adsorption de la lumière renseignent sur la taille et la granularité des particules (Vembadi, Menachery, et Qasaimeh 2019). La lumière émise est transformée en signal électrique amplifié par des photomultiplicateurs.

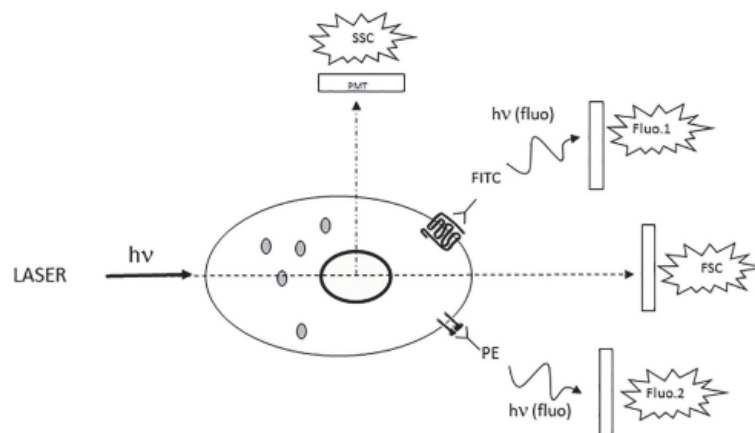


Figure 24 : Informations générées par le cytomètre en flux.

La diffusion dans l'axe de la source lumineuse (forward scatter, FSC) renseigne sur la taille de l'élément. La diffusion à 90° (side scatter, SSC) renseigne sur la granularité (contenu en granules d'une cellule, degré de segmentation du noyau). La lumière du laser va exciter les fluorochromes préalablement couplés à des anticorps monoclonaux. $h\nu$: énergie du photon en Joules où h est la constante et ν la fréquence de l'onde magnétique. FITC : fluorochrome émettant à 520 nm. PE : fluorochrome émettant à 580 nm. PMT : photomultiplicateur.

⁶ Figure issue de Vembadi, Menachery, et Qasaimeh, "Review and Perspective on Biotechnological Advances."

D'autres informations sont acquises par l'utilisation d'anticorps ou de ligands couplés à des composés fluorescents. La lumière du laser vient exciter les fluorochromes qui libèrent l'énergie, permettant de quantifier la molécule reconnue par les ligands. Chaque molécule fluorescente est caractérisée par un spectre d'activation et un spectre d'émission. Un même laser est capable d'activer plusieurs fluorochromes qui ont des spectres d'émission différents. Il est ainsi possible avec un seul laser d'enregistrer plusieurs informations à la fois. Un système de filtre optique et de photomultiplicateur permet de collecter la lumière propre à chaque fluorochrome et de la quantifier.

Les cytomètres sont généralement dotés de plusieurs lasers, multipliant alors le nombre d'informations générés. Cet aspect multiparamétrique, associé à une capacité d'analyse très performante (jusqu'à plus de 10 000 événements par seconde) et l'ajout, lors de l'analyse, de billes calibrées en taille et en fluorescence, font de l'approche en cytométrie en flux une méthodologie quantitative très performante.

C. Avantages et limites des analyses sur billes magnétiques

Premièrement, l'utilisation de billes activées avec des antigènes rend possible l'analyse des autoanticorps sur un cytomètre en flux et leur quantification, soit en fonction du nombre de sites occupés, soit en titration.

Le caractère multiparamétrique de la cytométrie en flux permet dans un même temps d'analyse de détecter plusieurs isotypes avec des anticorps marqués avec différents fluorochromes comme illustré sur la figure ci-dessous. On ne peut cependant pas écarter des phénomènes de compétition entre les différents isotypes pour la fixation sur la cible antigénique.

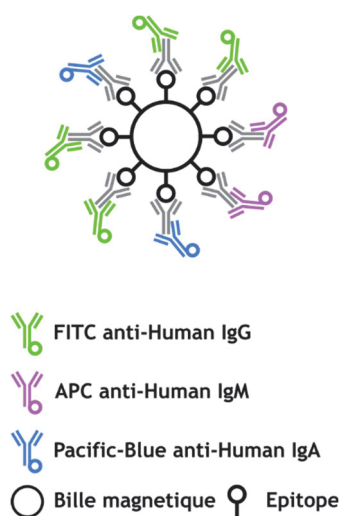


Figure 25 : Détermination des isotypes des autoanticorps grâce à l'utilisation de différents fluorochromes.

L'utilisation de billes magnétiques et de plaques à 96 ou 384 puits permet de réaliser dans le même temps d'analyse, de très nombreux tests dans les mêmes conditions d'incubation et de lavage. Il y a la possibilité d'utiliser pour certains cytomètres de passeurs d'échantillons en plaque. Le temps technique est ainsi réduit et il est possible de réaliser de grandes séries de tests en même temps.

Une fois un lot de billes préparé et validé, la technique est plus reproductible que les techniques en cytométrie en flux sur cellules vivantes, soit incubées avec le GM1, soit transfectées pour l'expression des protéines cibles des autoanticorps car le taux d'insertion du GM1 et le niveau d'expression de la protéine après transfection varie d'une expérimentation à une autre.

L'inconvénient principal de l'utilisation de billes est que les protocoles de fixation de l'antigène ou de l'épitope sur les billes pourraient modifier la conformation de l'antigène ou de l'épitope modifiant ainsi la fixation et la détection des autoanticorps. Ceci est notamment à prendre en compte quand la conformation d'un antigène est influencée par son environnement membranaire et modifiant sa reconnaissance par les autoanticorps.

D. Evaluation des anticorps anti-GM1, HNK1 et NF 155 sur billes par rapport aux techniques de référence

1. Evaluation de la technique anti-GM1

a) Techniques de routine et de référence

Les techniques commercialisées pour la détection des anticorps anti-GM1 sont soit des ELISA, soit des dot-blots (J. J. Roggenbuck et al. 2018) (D. Roggenbuck et al. 2020).

La sensibilité et la spécificité des techniques commerciales sont cependant moindre que les techniques « maison » pour le diagnostic des neuropathies motrices aiguës ou chroniques. Des conditions de test ELISA ont été proposées pour homogénéiser les pratiques entre les laboratoires de référence (test INCAT) (Kuijff et al. 2005). Le laboratoire d'Immunologie de l'AP-HM avait mis au point une autre technique « maison » différente de l'ELISA-INCAT et continue à proposer cette technique en routine car elle a été validée par plusieurs études cliniques, dont la première étude prouvant, dans une étude en double aveugle, l'intérêt du traitement par IgIV des MMN (Azulay et al. 1994).

Le GM1 est présent dans les radeaux lipidiques et interagit avec différents partenaires à ce niveau. Il est ainsi impossible de reproduire, en ELISA ou en Dot-blot, la configuration du GM1 dans une membrane cellulaire. Le laboratoire a mis au point et validé une technique en cytométrie en flux sur cellules vivantes basée sur l'intégration dans les radeaux lipidiques de GM1 monomérique. Cette

technique est plus sensible et spécifique que notre technique ELISA maison. Cependant, cette méthode n'est pas compatible avec une utilisation en routine, notamment du fait des variations de niveau d'incorporation du GM1 dans la membrane et de la longueur de la technique qui se réalise sur une période de 3 jours (Escande-Beillard et al. 2002).

Les principes des tests ELISA et du test en cytométrie en flux sont illustrés dans la figure ci-dessous.

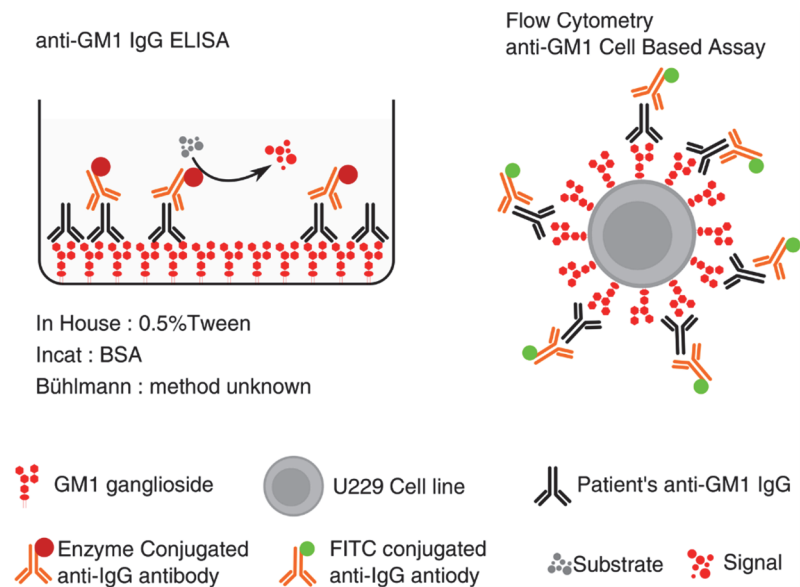


Figure 26 : Principes des tests ELISA et du test en cytométrie en flux.

b) Mise au point du test sur billes en cytométrie en flux

En collaboration avec des biochimistes suisses (Polyneuron Pharmaceutical SA), nous avons pu obtenir et tester des glycomimétopes de l'épitope Gal-GalNac du GM1 reconnu par les autoanticorps.

Nous avons testé, soit le mimétope biotinylé (LP5016) fixé sur des billes de polystyrène magnétiques activées à la streptavidine (Spherotec 1,5-1,9µm - SVP 15-5), soit le mimétope fixé sur plusieurs sites d'un polymère de Poly-L-Lysine (PN-1018) lui-même fixé de manière covalente avec des ponts carboxyl dans un tampon MES Ph 5,5 sur les billes de polystyrène magnétiques (Spherotec Carboxyl ferromagnetic 1% w/v 2,2-2,9 µm CMF20-10). Les billes contrôles sont des billes recouvertes du polymère de Poly-L-Lysine sans l'épitope synthétique. Les billes sont saturées dans un tampon PBS, BSA grade V à 2%. Elles sont incubées avec le sérum et lavées en tampon PBS 0,1% BSA

BiotinGM1 : Pour obtenir des billes recouvertes de GM1, des billes de streptavidine magnétiques ont été incubés dans du PBS contenant différentes concentrations de GM1 biotinylés,

allant de 1,8µg/ml à 90µg/ml. Le signal le plus fort est obtenu avec des billes ayant incubés durant une nuit à une concentration de 18µg/ml.

PN-1018 : Pour obtenir des billes recouvertes de polymères de GM1, des billes magnétiques ont été incubés dans du Binding Buffer et le polymère. Le meilleur signal a été obtenu avec une concentration à 26 µg/mL après une nuit d’incubation dans du MES Buffer 0.1M pH5.5.

Blocking buffer : Ce tampon permet de réduire la liaison non spécifique (bruit de fond). Les meilleurs résultats ont été obtenus après une nuit d’incubation avec du PBS 2% BSA.

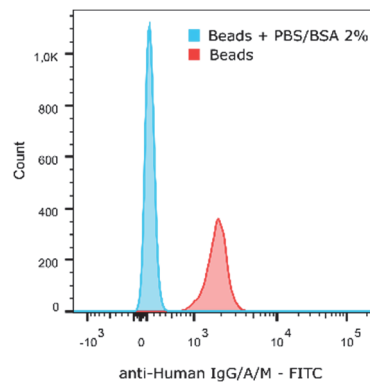


Figure 27 : Optimisation du bruit de fond. Effet d’une nuit d’incubation dans du PBS 2% BSA sur le bruit de fond. Les billes activées ont été incubées durant une nuit avec et sans PBS 2% BSA. Après lavage, les billes ont été incubés avec des anticorps anti-IgG/A/M couplés au FITC et révélés par cytométrie en flux.

Concentration des sérums et de des anti-sérums. Avec quelques sérums positifs et sérums contrôles d’individus sains, on a déterminé que la concentration optimale (meilleur delta entre signal positif et signal contrôle) du sérum était au 1/100 et que celle de l’antisérum anti-G, A, M marqué FITC était au 1/100.

L’illustration des résultats est présentée dans la figure de gauche ci-dessous pour respectivement, un sérum de patient AMAN avec des anticorps d’isotype IgG et un sérum de patient présentant une neuropathie motrice multifocale (MMN) avec des anti-GM1 d’isotype IgM. Sur la figure de droite sont illustrés les tests avec 4 sérums de MMN et 4 sérums de sujets sains.

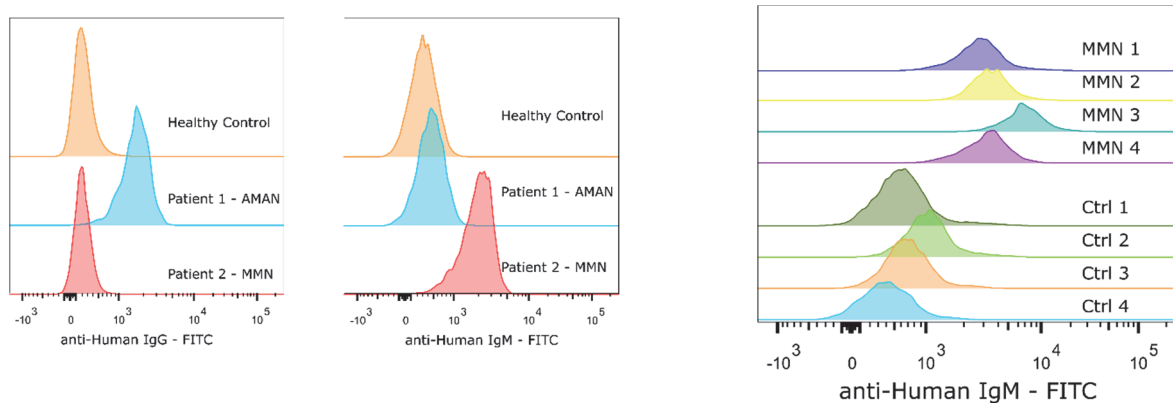


Figure 28 : Illustration des marquages en cytométrie en flux pour les anticorps anti-GM1.

c) *Evaluation de la méthode*

L'évaluation du test sur billes activées soit avec l'épitope biotinylé, soit le polymère PN1018 a été réalisée avec 3 groupes de sérum : 12 sérums de patients AMAN, 20 sérums de patients MAG et 12 sérums de sujets sains (HC (healthy controls) donneurs de sang). Les résultats sont illustrés dans les figures ci-dessous montrant la présence d'une réaction positive chez la plupart des patients AMAN pour les IgG et les IgM par rapport aux contrôles et sérums de patients anti-MAG où un signal positif n'est pas attendu. Cependant, le signal moyen de fluorescence obtenu avec les billes activées avec l'épitope est bien plus faible que celui obtenu avec les billes activées avec le polymère. On observe une bonne corrélation pour les IgM entre l'intensité de fluorescence obtenue avec les billes recouvertes de polymère et celle recouverte de l'épitope. Cependant, pour l'analyse des IgG, la corrélation entre les tests sur les 2 types de billes est mauvaise, probablement du fait de la très faible intensité du signal sur les billes recouvertes de l'épitope.

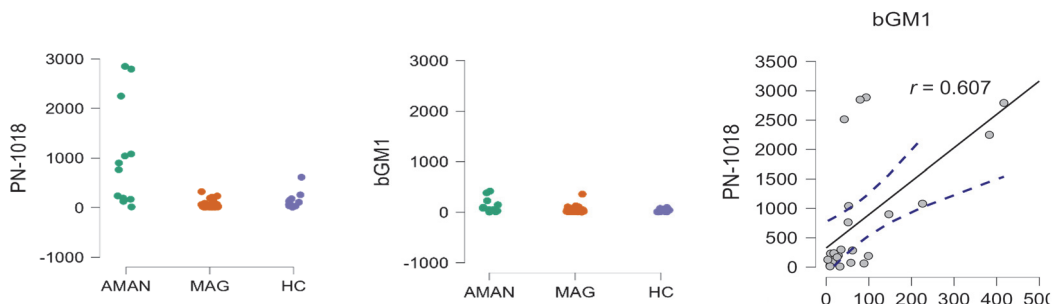


Figure 29 : Analyse des réactions IgM.

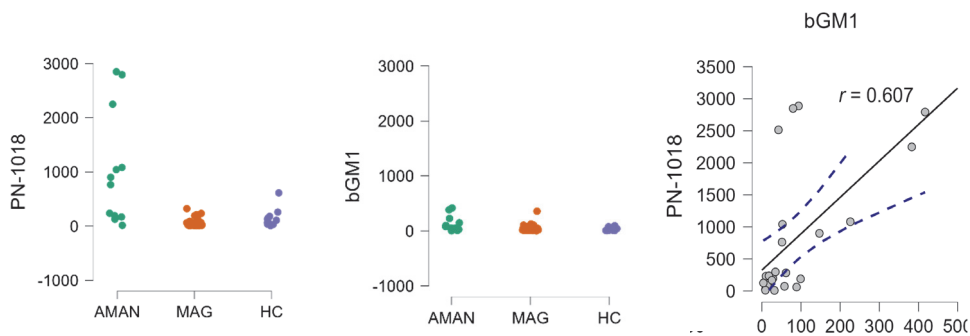


Figure 30 : Analyse des réactions IgG.

Le laboratoire avait auparavant montré en utilisant le polymère comme un compétiteur dans les techniques de cytométrie en flux, de l'ELISA INCAT, de l'ELISA « maison » et de l'ELISA Buhlman (commercial) que la technique en cytométrie en flux était plus sensible et spécifique que toutes les techniques ELISA pour la détection des anticorps anti-GM1 associés aux AMAN ou MMN. De nombreux sérums de patients, positifs en ELISA, et ne présentant pas de neuropathie motrice, étaient négatifs en cytométrie en flux. La réaction avec les sérums positifs pour l'un ou l'autre test ELISA n'était pas inhibé en présence de compétiteur indiquant que les autoanticorps reconnaissent une partie du GM1 différente de l'épitope Gal-GalNAc et non exposé quand le GM1 était intégré dans une membrane. Il y avait de plus, une mauvaise corrélation entre les intensités de réaction obtenues avec les différentes méthodes, illustrant les variations entre les différentes techniques pour la détection des anti-GM1.

Les sérums testés positifs en cytométrie en flux sur cellules vivantes sont pour la plupart également positifs sur les billes activées avec le polymère. Cependant, la corrélation entre les intensités de fluorescence entre les deux techniques pour les IgM est faible comme illustré sur la figure ci-dessous.

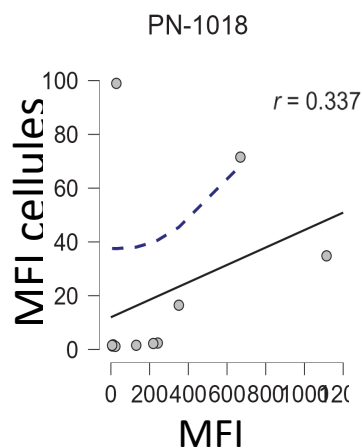


Figure 31 : Corrélation entre les intensités de fluorescence entre les deux techniques pour les IgM.

En conclusion, la technique de cytométrie en flux sur billes pourrait représenter une alternative sensible et spécifique pour la détection des anti-GM1 sans reproduire totalement la présentation membranaire du GM1. Il faut poursuivre les analyses et réaliser des expériences de reproductibilité et de répétabilité sur un plus grand nombre de sérum positifs et contrôles.

2. Evaluation de la technique pour les anticorps anti-HNK1

La technique de référence pour la détection des anticorps anti-MAG est l'ELISA commercial Buhlmann réalisé avec la MAG humaine. En utilisant les mêmes protocoles précédemment décrit et le glycopolymère HNK-1 (PN1007) pour activer les billes magnétiques, nous avons testé les mêmes cohortes de patients testées sur les billes PN1018. Nous avons observé une très bonne sensibilité sur les essais préliminaires avec une bonne corrélation avec le test ELISA de référence.

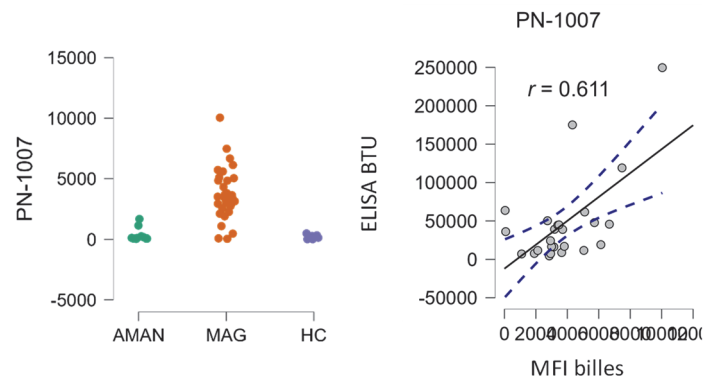


Figure 32 : Tests de sensibilité et de spécificité.

Le test sur billes HNK1 est une alternative pertinente au test ELISA pour la détection et la caractérisation des anti-MAG. Il faut désormais réaliser des expériences de reproductibilité et répétabilité pour valider ce test pour la routine diagnostic. Il faut de plus noter que le laboratoire a détecté chez les patients anti-MAG la présence d'IgG anti-MAG et anti-HNK-1 et que la présence de ces anticorps d'isotype IgG était associé aux formes les plus sévères de neuropathies (S Sahli, soumis).

3. Mise au point de la détection des anticorps anti-NF155

Pour ce test, la neurofascine 155 recombinante a été utilisée et fixée sur les billes avec le même protocole d'activation et de fixation par des groupements carboxyl. La figure ci-dessous illustre la réaction positive avec 5 sérums connus pour la présence d'anti-NF155 en cytométrie en flux sur cellules transfectées et 5 sérums de sujets sains.

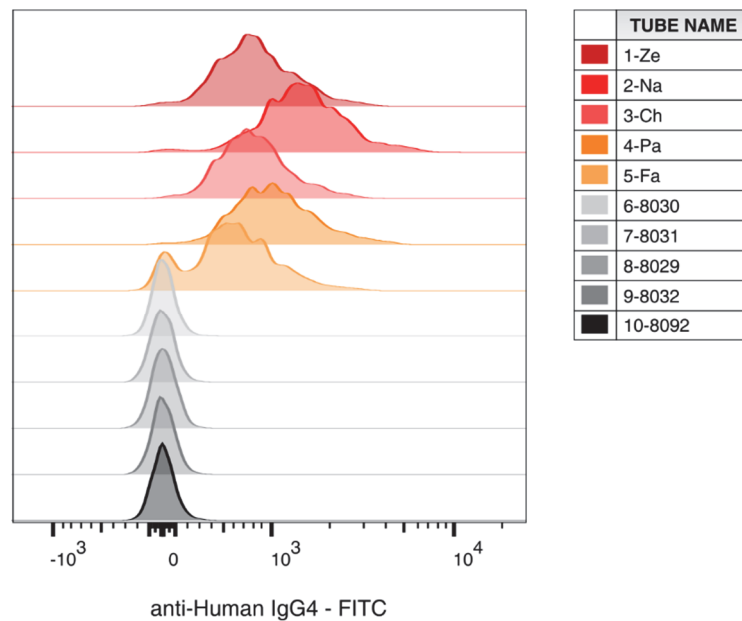


Figure 33 : Tests pour la NF155 chez des patients connus positifs en cytométrie en flux sur cellules transfectées et chez patients sains.

La technique de détection sur billes des anticorps anti-NF155 semble être sensible et spécifique sur cette expérience préliminaire. Des expériences sur de plus large cohortes et la comparaison avec différentes techniques de cytométrie en flux sur cellules vivantes et en ELISA avec la protéine recombinante sont en cours pour évaluer la sensibilité et la spécificité de cette méthode.

E. Approches de caractérisation des autoanticorps immobilisés sur billes.

1. Caractérisation des principales modifications de glycosylation

A l'aide de lectines, il est possible de reconnaître et de détecter les principales glycoformes. Le principe du test est illustré ci-dessous.

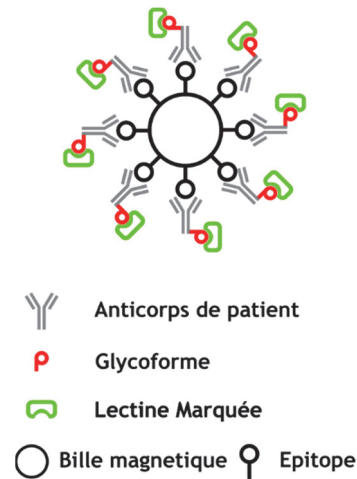


Figure 34 : Détermination du glycoforme grâce à l'utilisation de lectine marquée.

La lectine *Aleuria aurantia lectin* (AAL) reconnaît les résidus fucose, la *Erythrina cristagalli lectin* (ECL) le galactose terminal, le *Sambucus nigra lectin* (SNA) l'acide sialique (lié à l' α 2-6) et le *Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin* (PHA-E) le bisected N-acetylglucosamine. (Lu et Holland 2019).

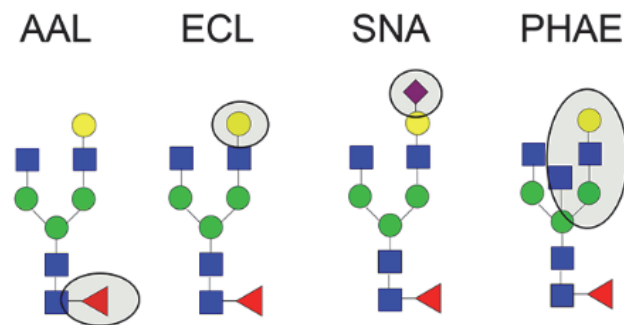


Figure 35 : Pattern de glycosylation reconnu par les lectines AAL, ECL, SNA et PHAE.

2. Capacité d'interaction des autoanticorps avec le C1q, la MBL ou le FcγRIII (CD16) recombinant

La capacité d'interaction des autoanticorps avec le C1q, la MBL ou le FcγRIII peut être évaluée grâce à l'utilisation de C1q marqué ou de FcγRIII recombinant marqué comme illustré ci-dessous ou de MBL marqué.

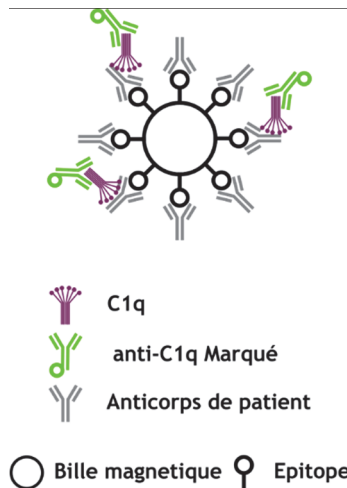


Figure 36 : Détermination de la liaison du C1q au fragment Fc.

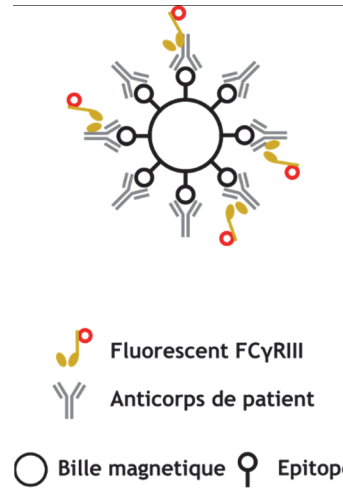


Figure 37 : Détermination de la liaison du FcγRIII au fragment Fc.

Le nombre de molécule C1q, MBL ou CD16a qui se fixera sur les billes dépend dans un premier temps du nombre de site occupé par les autoanticorps.

L'objectif est de déterminer l'affinité de chaque ligand pour les autoanticorps. Pour ceci, il est prévu de tester différentes concentrations de ligand en dilution sériée (ce qui facilité par la réalisation des techniques sur billes en plaque de microtitration).

J'illustre ci-dessous 3 situations différentes avec 3 courbes montrant les variations d'intensité de fluorescence en fonction de la concentration du ligand. Pour la courbe n°1, le signal obtenu est plus fort que pour les courbes 2 et 3 obtenus avec 2 autres sérums. Dans le premier sérum, le nombre de site occupé est plus important que pour les 2 autres sérums. Par contre, l'affinité du ligand (C1q, MBL ou CD16a) pourrait être plus importante pour le sérum n° 3 que les sérums n°1 et 2.

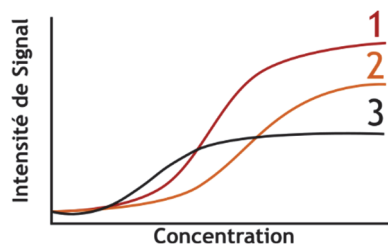


Figure 38 : Illustrations de 3 courbes théoriques obtenues avec trois sérums différents.

3. Corrélation entre les profils de glycosylation et les fonctions effectrices des autoanticorps

Pour déterminer l'impact des profils de glycosylation sur la fixation respective du C1q, de la MBL ou du CD16a, on pourrait ajouter une étape d'incubation avec une endo-glycosidase ou une sialidase avant l'ajout des ligands fluorescents. Une diminution, partielle ou totale du signal démontrerait l'impact de la chaîne glucidique sur la liaison et donc dans la fonction et la pathogénicité potentielle des autoanticorps. Les résultats attendus d'un impact partiel (courbe n°2) ou total (courbe n°3) sont illustrés dans la figure ci-dessous.

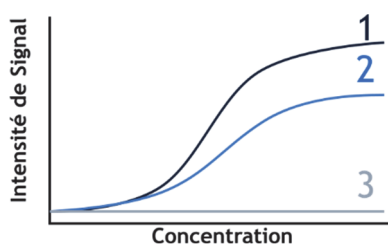


Figure 39 : Illustration des courbes théoriques obtenues en cas d'un impact partiel (2) ou total (3) de la modification de la chaîne glucidique sur sa liaison avec ses ligands.

Toutes les expériences proposées devraient générer de nombreuses données concernant les glycoformes des autoanticorps et le potentiel *in vitro* de pathogénicité des autoanticorps.

L'intérêt de ces données devra être évaluée en les corrélant avec les données de sévérité clinique, d'évolutivité, de réponse thérapeutique en utilisant des sérothèques issues de cohortes cliniques (déjà disponibles) très bien caractérisées.

VII. Conclusion

Nous illustrons dans ce mémoire, pour 3 autoanticorps associés à des neuropathies, la possibilité d'utiliser des tests de détection sur billes magnétiques qui pourraient représenter une alternative aux tests de routine actuels. Les expériences se poursuivent pour proposer à terme une technologie probablement plus performante en termes de reproductibilité et plus économe en termes notamment de temps technique.

Ces techniques représentent une approche pour évaluer le profil de glycosylation des autoanticorps et leur pouvoir potentiellement pathogène *in vitro*. Très peu de données sont disponibles dans le domaine des neuropathies périphériques, domaine dans lequel l'AP-HM est leader dans le domaine clinique, d'imagerie et biologique. Dans le domaine biologique, le laboratoire d'Immunologie de l'AP-HM, contrairement aux autres laboratoires hospitaliers réalise et évalue des techniques non commerciales. Il reçoit ainsi des demandes d'exams de nombreux neurologues. La filière de soins dans ce domaine est coordonnée par le service des maladies neuro-musculaires de l'AP-HM (Service du Pr S Attarian). Il est ainsi possible d'organiser si nécessaire des études multicentriques.

Le domaine abordé est novateur, mais si l'influence des glycosylations a été bien démontrée dans le cadre de l'amélioration de l'efficacité des anticorps thérapeutiques, les données concernant l'intérêt de leur analyse pour l'amélioration du diagnostic et de la prise en charge des patients reste encore du domaine de la recherche. Il est nécessaire de pouvoir disposer de techniques simples et reproductibles et de cohortes très bien caractérisées pour déterminer si elles doivent être utilisées dans l'avenir. Le domaine étudié concerne celui des neuropathies périphériques, l'expertise acquise pourrait être à terme être appliquée à d'autres domaines pathologiques.

La principale limite de ce domaine de recherche est liée au fait (1) qu'il peut exister plusieurs glycoformes pour un même autoanticorps, (2) que des modifications de glycoformes pourraient se faire au niveau tissulaire, (3) que, comme discuté dans le mémoire, les glycoformes des auto-anticorps peuvent être différents des glycoformes des autres immunoglobulines. Dans ce cas, il existe une compétition entre les auto-anticorps et les immunoglobulines pour l'activation de la cascade du complément ou des cellules exprimant les récepteurs pour la partie Fc des immunoglobulines.

- Abboud, Hesham, John C. Probasco, Sarosh Irani, Beau Ances, David R. Benavides, Michael Bradshaw, Paulo Pereira Christo, et al. 2021. « Autoimmune Encephalitis: Proposed Best Practice Recommendations for Diagnosis and Acute Management ». *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 92 (7): 757-68. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2020-325300>.
- Adamczyk, Barbara, Tharmala Tharmalingam-Jaikaran, Michael Schomberg, Ákos Szekrényes, Ronan M. Kelly, Niclas G. Karlsson, Andràs Guttman, et Pauline M. Rudd. 2014. « Comparison of Separation Techniques for the Elucidation of IgG N-Glycans Pooled from Healthy Mammalian Species ». *Carbohydrate Research* 389 (mai): 174-85. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.01.018>.
- Almitairi, Jamal O. M., Umakhanth Venkatraman Girija, Christopher M. Furze, Xanthe Simpson-Gray, Farah Badakshi, Jamie E. Marshall, Wilhelm J. Schwaeble, Daniel A. Mitchell, Peter C. E. Moody, et Russell Wallis. 2018. « Structure of the C1r–C1s interaction of the C1 complex of complement activation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115 (4): 768-73. <https://doi.org/10.1073/pnas.1718709115>.
- Anthony, Robert M., Falk Nimmerjahn, David J. Ashline, Vernon N. Reinhold, James C. Paulson, et Jeffrey V. Ravetch. 2008. « Recapitulation of IVIG Anti-Inflammatory Activity with a Recombinant IgG Fc ». *Science (New York, N.Y.)* 320 (5874): 373-76. <https://doi.org/10.1126/science.1154315>.
- Anumula, Kalyan Rao. 2012. « Quantitative Glycan Profiling of Normal Human Plasma Derived Immunoglobulin and Its Fragments Fab and Fc ». *Journal of Immunological Methods* 382 (1): 167-76. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2012.05.022>.
- Apweiler, Rolf, Henning Hermjakob, et Nathan Sharon. 1999. « On the Frequency of Protein Glycosylation, as Deduced from Analysis of the SWISS-PROT Database. » *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1473 (1): 4-8. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(99\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(99)00165-8).
- Arnold, James, Mark Wormald, Robert Sim, Pauline Rudd, et Raymond Dwek. 2007. « The Impact of Glycosylation on the Biological Function and Structure of Human Immunoglobulins ». *Annual review of immunology* 25 (février): 21-50. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141702>.
- Azulay, J. P., O. Blin, J. Pouget, J. Boucraut, F. Billé-Turc, G. Carles, et G. Serratrice. 1994. « Intravenous Immunoglobulin Treatment in Patients with Motor Neuron Syndromes Associated with Anti-GM1 Antibodies: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study ». *Neurology* 44 (3 Pt 1): 429-32. https://doi.org/10.1212/wnl.44.3_part_1.429.
- Böhm, Sybille, Inessa Schwab, Anja Lux, et Falk Nimmerjahn. 2012. « The Role of Sialic Acid as a Modulator of the Anti-Inflammatory Activity of IgG ». *Semin Immunopathol*, 11.
- Bournazos, Stylianos, David J. DiLillo, et Jeffrey V. Ravetch. 2015. « The role of Fc–FcγR interactions in IgG-mediated microbial neutralization ». *The Journal of Experimental Medicine* 212 (9): 1361-69. <https://doi.org/10.1084/jem.20151267>.
- Bournazos, Stylianos, Taia T. Wang, Rony Dahan, Jad Maamary, et Jeffrey V. Ravetch. 2017. « Signaling by Antibodies: Recent Progress ». *Annual Review of Immunology* 35 (avril): 285-311. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052433>.
- Castilho, Alexandra, Clemens Gruber, Andreas Thader, Chris Oostenbrink, Maria Pechlaner, Herta Steinkellner, et Friedrich Altmann. 2015. « Processing of Complex N-Glycans in IgG Fc-Region Is Affected by Core Fucosylation ». *MAbs* 7 (5): 863-70. <https://doi.org/10.1080/19420862.2015.1053683>.
- Catera, Mariangela, Vincenzo Borelli, Nadia Malagolini, Mariella Chiricolo, Giulia Venturi, Celso A. Reis, Hugo Osorio, et al. 2016. « Identification of Novel Plasma Glycosylation-Associated Markers of Aging ». *Oncotarget* 7 (7): 7455-68. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7059>.
- Chi, Xiyang, Yue Li, et Xiaoyan Qiu. 2020. « V(D)J Recombination, Somatic Hypermutation and Class Switch Recombination of Immunoglobulins: Mechanism and Regulation ». *Immunology* 160 (3): 233-47. <https://doi.org/10.1111/imm.13176>.

- Chung, Amy W., Max Crispin, Laura Pritchard, Hannah Robinson, Mirosław K. Gorny, Xiaojie Yu, Chris Bailey-Kellogg, et al. 2014. « Identification of antibody glycosylation structures that predict monoclonal antibody Fc-effector function ». *AIDS (London, England)* 28 (17): 2523-30. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000444>.
- Delmont, Emilien, Shahram Attarian, Jean-Christophe Antoine, Stephane Paul, Jean Philippe Camdessanché, Aude-Marie Grapperon, Alexandre Brodovich, et Jose Boucraut. 2019. « Relevance of Anti-HNK1 Antibodies in the Management of Anti-MAG Neuropathies ». *Journal of Neurology* 266 (8): 1973-79. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09367-0>.
- Delmont, Emilien, Alexandre Brodovitch, Ludivine Kouton, Thibaut Allou, Stéphane Beltran, Marion Brisset, Jean Philippe Camdessanché, et al. 2020. « Antibodies against the Node of Ranvier: A Real-Life Evaluation of Incidence, Clinical Features and Response to Treatment Based on a Prospective Analysis of 1500 Sera ». *Journal of Neurology* 267 (12): 3664-72. <https://doi.org/10.1007/s00415-020-10041-z>.
- Di Noia, Javier M., et Michael S. Neuberger. 2007. « Molecular Mechanisms of Antibody Somatic Hypermutation ». *Annual Review of Biochemistry* 76: 1-22. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.76.061705.090740>.
- Escande-Beillard, Nathalie, Marie J. David, Jacques Portoukalian, Jean Pouget, Jean P. Azulay, Dominique Bernard, et José Boucraut. 2002. « A Sensitive Flow Cytometry Method for Anti-GM1 Antibodies Detection ». *Journal of Neuroimmunology* 125 (1-2): 163-69. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(02\)00028-0](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(02)00028-0).
- Franceschi, Claudio, Paolo Garagnani, Paolo Parini, Cristina Giuliani, et Aurelia Santoro. 2018. « Inflammaging: A New Immune-Metabolic Viewpoint for Age-Related Diseases ». *Nature Reviews. Endocrinology* 14 (10): 576-90. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0059-4>.
- Gazzola, Sébastien, Emilien Delmont, Jérôme Franques, José Boucraut, Emmanuelle Salort-Campana, Annie Verschuere, Emmanuel Sagui, Anne-Michèle Hubert, Jean Pouget, et Shahram Attarian. 2017. « Predictive Factors of Efficacy of Rituximab in Patients with Anti-MAG Neuropathy ». *Journal of the Neurological Sciences* 377 (juin): 144-48. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.04.015>.
- Geyer, Hildegard, et Rudolf Geyer. 2006. « Strategies for Analysis of Glycoprotein Glycosylation ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, Posttranslational Modifications in Proteomics, 1764 (12): 1853-69. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2006.10.007>.
- Gong, Qian, Meredith Hazen, Brett Marshall, Susan R. Crowell, Qinglin Ou, Athena W. Wong, Wilson Phung, et al. 2016. « Increased in vivo effector function of human IgG4 isotype antibodies through afucosylation ». *mAbs* 8 (6): 1098-1106. <https://doi.org/10.1080/19420862.2016.1189049>.
- Gong, Y., Y. Tagawa, M. P. T. Lunn, W. Laroy, M. Heffer-Lauc, C. Y. Li, J. W. Griffin, R. L. Schnaar, et K. A. Sheikh. 2002. « Localization of Major Gangliosides in the PNS: Implications for Immune Neuropathies ». *Brain: A Journal of Neurology* 125 (Pt 11): 2491-2506. <https://doi.org/10.1093/brain/awf258>.
- Haab, Brian B., et Zachary Klamer. 2020. « Advances in Tools to Determine the Glycan-Binding Specificities of Lectins and Antibodies ». *Molecular & Cellular Proteomics: MCP* 19 (2): 224-32. <https://doi.org/10.1074/mcp.R119.001836>.
- Haddad, George, Johan M. Lorenzen, Hong Ma, Noortje de Haan, Harald Seeger, Christelle Zaghrini, Simone Brandt, et al. 2021. « Altered Glycosylation of IgG4 Promotes Lectin Complement Pathway Activation in Anti-PLA2R1-Associated Membranous Nephropathy ». *The Journal of Clinical Investigation* 131 (5): 140453. <https://doi.org/10.1172/JCI140453>.
- Halaby, D M, et J P E Mornon. s. d. « The Immunoglobulin Superfamily: An Insight on Its Tissue, Species, and Functional Diversity », 12.
- Han, Jing, Zhuochao Zhou, Rongrong Zhang, Yijun You, Zizhen Guo, Jinyan Huang, Fan Wang, et al. 2022. « Fucosylation of anti-dsDNA IgG1 correlates with disease activity of treatment-naïve systemic lupus erythematosus patients ». *EBioMedicine* 77 (février): 103883. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103883>.

- Harvey, David J. 2005. « Structural Determination of N-Linked Glycans by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization and Electrospray Ionization Mass Spectrometry ». *PROTEOMICS* 5 (7): 1774-86. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401248>.
- Hodoniczky, Jason, Yuan Zhi Zheng, et David C. James. 2005. « Control of Recombinant Monoclonal Antibody Effector Functions by Fc N-Glycan Remodeling in Vitro ». *Biotechnology Progress* 21 (6): 1644-52. <https://doi.org/10.1021/bp050228w>.
- Jennewein, Madeleine F., et Galit Alter. 2017. « The Immunoregulatory Roles of Antibody Glycosylation ». *Trends in Immunology* 38 (5): 358-72. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.02.004>.
- Jones, Mark B., Mehrab Nasirikenari, Amit A. Lugade, Yasmin Thanavala, et Joseph T. Y. Lau. 2012. « Anti-Inflammatory IgG Production Requires Functional P1 Promoter in β -Galactoside A2,6-Sialyltransferase 1 (ST6Gal-1) Gene ». *The Journal of Biological Chemistry* 287 (19): 15365-70. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.345710>.
- Kaneko, Yoshikatsu, Falk Nimmerjahn, et Jeffrey Ravetch. 2006. « Anti-Inflammatory Activity of Immunoglobulin G Resulting from Fc Sialylation ». *Science (New York, N.Y.)* 313 (septembre): 670-73. <https://doi.org/10.1126/science.1129594>.
- Kuhns, Scott, Junyan Shu, Cathie Xiang, Ronandro De Guzman, Qingchun Zhang, Will Bretzlaff, Nahira Miscalichi, Kevin Kalenian, et Marisa Joubert. 2020. « Differential Influence on Antibody Dependent Cellular Phagocytosis by Different Glycoforms on Therapeutic Monoclonal Antibodies ». *Journal of Biotechnology* 317 (juin): 5-15. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.04.017>.
- Kuijf, Mark L., Pieter A. van Doorn, Anne P. Tio-Gillen, Karin Geleijns, C. Wim Ang, Herbert Hooijkaas, Wim C. J. Hop, et Bart C. Jacobs. 2005. « Diagnostic Value of Anti-GM1 Ganglioside Serology and Validation of the INCAT-ELISA ». *Journal of the Neurological Sciences* 239 (1): 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2005.07.009>.
- Le Quintrec, Moglie, Maxime Teisseyre, Nicole Bec, Emilien Delmont, Ilan Szwarc, Hélène Perrochia, Marie Christine Machet, et al. 2021. « Contactin-1 Is a Novel Target Antigen in Membranous Nephropathy Associated with Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy ». *Kidney International* 100 (6): 1240-49. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2021.08.014>.
- Lee-Sundlov, Melissa M., David J. Ashline, Andrew J. Hanneman, Renata Grozovsky, Vernon N. Reinhold, Karin M. Hoffmeister, et Joseph Ty Lau. 2017. « Circulating Blood and Platelets Supply Glycosyltransferases That Enable Extrinsic Extracellular Glycosylation ». *Glycobiology* 27 (2): 188-98. <https://doi.org/10.1093/glycob/cww108>.
- Lennon, Vanda A., Thomas J. Kryzer, Sean J. Pittock, A.S. Verkman, et Shannon R. Hinson. 2005. « IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel ». *Journal of Experimental Medicine* 202 (4): 473-77. <https://doi.org/10.1084/jem.20050304>.
- Lennon, Vanda A, Dean M Wingerchuk, Thomas J Kryzer, Sean J Pittock, Claudia F Lucchinetti, Kazuo Fujihara, Ichiro Nakashima, et Brian G Weinshenker. 2004. « A Serum Autoantibody Marker of Neuromyelitis Optica: Distinction from Multiple Sclerosis ». *The Lancet* 364 (9451): 2106-12. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17551-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17551-X).
- Lu, Grace, et Lisa A. Holland. 2019. « Profiling the N-Glycan Composition of IgG with Lectins and Capillary Nanogel Electrophoresis ». *Analytical Chemistry* 91 (2): 1375-83. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b03725>.
- Lucchinetti, Claudia F., Raul N. Mandler, Dorian McGavern, Wolfgang Bruck, Gerald Gleich, Richard M. Ransohoff, Corinna Trebst, et al. 2002. « A role for humoral mechanisms in the pathogenesis of Devic's neuromyelitis optica ». *Brain* 125 (7): 1450-61. <https://doi.org/10.1093/brain/awf151>.
- Mann, Matthias, et Ole N. Jensen. 2003. « Proteomic Analysis of Post-Translational Modifications ». *Nature Biotechnology* 21 (3): 255-61. <https://doi.org/10.1038/nbt0303-255>.
- Manso, Constance, Luis Querol, Mourad Mekaouche, Isabel Illa, et Jérôme J. Devaux. 2016. « Contactin-1 IgG4 Antibodies Cause Paranode Dismantling and Conduction Defects ». *Brain: A Journal of Neurology* 139 (Pt 6): 1700-1712. <https://doi.org/10.1093/brain/aww062>.

- Matsumiya, Shigeki, Yoshiki Yamaguchi, Jun-ichi Saito, Mayumi Nagano, Hiroaki Sasakawa, Shizuo Otaki, Mitsuo Satoh, Kenya Shitara, et Koichi Kato. 2007. « Structural Comparison of Fucosylated and Nonfucosylated Fc Fragments of Human Immunoglobulin G1 ». *Journal of Molecular Biology* 368 (3): 767-79. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.02.034>.
- Mechref, Yehia, et Milos V. Novotny. 2002. « Structural investigations of glycoconjugates at high sensitivity ». *Chemical reviews* 102 (2): 321-70.
- Neil, J., V. Choumet, K. Beadon, E. Delmont, P. Ghillani, J. Boucraut, L. Musset, et J. M. Léger. 2020. « Native versus Deglycosylated IgM in Anti-MAG Neuropathy: Correlation with Clinical Status - Study of 10 Cases ». *Journal of Neuroimmunology* 339 (février): 577094. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.577094>.
- Nesargikar, P. N., B. Spiller, et R. Chavez. 2012. « The complement system: history, pathways, cascade and inhibitors ». *European Journal of Microbiology & Immunology* 2 (2): 103-11. <https://doi.org/10.1556/EuJMI.2.2012.2.2>.
- Parekh, R. B., R. A. Dwek, B. J. Sutton, D. L. Fernandes, A. Leung, D. Stanworth, T. W. Rademacher, et al. 1985. « Association of Rheumatoid Arthritis and Primary Osteoarthritis with Changes in the Glycosylation Pattern of Total Serum IgG ». *Nature* 316 (6027): 452-57. <https://doi.org/10.1038/316452a0>.
- Pincetic, Andrew, Stylianos Bournazos, David J. DiLillo, Jad Maamary, Taia T. Wang, Rony Dahan, Benjamin-Maximillian Fiebiger, et Jeffrey V. Ravetch. 2014. « Type I and Type II Fc Receptors Regulate Innate and Adaptive Immunity ». *Nature Immunology* 15 (8): 707-16. <https://doi.org/10.1038/ni.2939>.
- Pučić, Maja, Ana Knežević, Jana Vidič, Barbara Adamczyk, Mislav Novokmet, Ozren Polašek, Olga Gornik, et al. 2011. « High Throughput Isolation and Glycosylation Analysis of IgG-Variability and Heritability of the IgG Glycome in Three Isolated Human Populations ». *Molecular & Cellular Proteomics : MCP* 10 (10): M111.010090. <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.010090>.
- Quast, Isaak, Christian W. Keller, Michael A. Maurer, John P. Giddens, Björn Tackenberg, Lai-Xi Wang, Christian Münz, Falk Nimmerjahn, Marinos C. Dalakas, et Jan D. Lünemann. 2015. « Sialylation of IgG Fc Domain Impairs Complement-Dependent Cytotoxicity ». *The Journal of Clinical Investigation* 125 (11): 4160-70. <https://doi.org/10.1172/JCI82695>.
- Raju, T Shantha. 2008. « Terminal Sugars of Fc Glycans Influence Antibody Effector Functions of IgGs ». *Current Opinion in Immunology, Host-Pathogen Interactions / Antibody Therapeutics*, 20 (4): 471-78. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2008.06.007>.
- Rispens, Theo, Pleuni Ooijevaar-de Heer, Onno Bende, et Rob C. Aalberse. 2011. « Mechanism of Immunoglobulin G4 Fab-arm Exchange ». *Journal of the American Chemical Society* 133 (26): 10302-11. <https://doi.org/10.1021/ja203638y>.
- Roggenbuck, Dirk, Emilien Delmont, Dirk Reinhold, Peter Schierack, Karsten Conrad, et Joseph Boucraut. 2020. « Autoimmune Peripheral Neuropathies and Contribution of Antiganglioside/Sulphatide Autoantibody Testing ». *Mediterranean Journal of Rheumatology* 31 (1): 10-18. <https://doi.org/10.31138/mjr.31.1.10>.
- Roggenbuck, Johannes J., Joseph Boucraut, Emilien Delmont, Karsten Conrad, et Dirk Roggenbuck. 2018. « Diagnostic insights into chronic-inflammatory demyelinating polyneuropathies ». *Annals of Translational Medicine* 6 (17): 337. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.07.34>.
- Sagaert, Xavier, et Christiane De Wolf-Peeters. 2003. « Classification of B-Cells According to Their Differentiation Status, Their Micro-Anatomical Localisation and Their Developmental Lineage ». *Immunology Letters* 90 (2-3): 179-86. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2003.09.007>.
- Scallon, Bernard J., Susan H. Tam, Stephen G. McCarthy, Ann N. Cai, et T. Shantha Raju. 2007. « Higher Levels of Sialylated Fc Glycans in Immunoglobulin G Molecules Can Adversely Impact Functionality ». *Molecular Immunology* 44 (7): 1524-34. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2006.09.005>.
- Schengrund, Cara-Lynne. 2015. « Gangliosides: Glycosphingolipids Essential for Normal Neural Development and Function ». *Trends in Biochemical Sciences, Special Issue: The Magic of the Sugar Code*, 40 (7): 397-406. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.03.007>.

- Scherer, Hans U., Diane van der Woude, Andreea Ioan-Facsinay, Hanane el Bannoudi, Leendert A. Trouw, Jun Wang, Thomas Häupl, et al. 2010. « Glycan Profiling of Anti-Citrullinated Protein Antibodies Isolated from Human Serum and Synovial Fluid ». *Arthritis & Rheumatism* 62 (6): 1620-29. <https://doi.org/10.1002/art.27414>.
- Schubert, Mario, Michal J. Walczak, Markus Aebi, et Gerhard Wider. 2015. « Posttranslational Modifications of Intact Proteins Detected by NMR Spectroscopy: Application to Glycosylation ». *Angewandte Chemie (International Ed. in English)* 54 (24): 7096-7100. <https://doi.org/10.1002/anie.201502093>.
- Selman, Maurice H. J., Erik H. Niks, Maarten J. Titulaer, Jan J. G. M. Verschuuren, Manfred Wuhrer, et André M. Deelder. 2011. « IgG Fc N-Glycosylation Changes in Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome and Myasthenia Gravis ». *Journal of Proteome Research* 10 (1): 143-52. <https://doi.org/10.1021/pr1004373>.
- Shields, Robert L., Jadine Lai, Rodney Keck, Lori Y. O'Connell, Kyu Hong, Y. Gloria Meng, Stefanie H. A. Weikert, et Leonard G. Presta. 2002. « Lack of Fucose on Human IgG1 N-Linked Oligosaccharide Improves Binding to Human FcγRIII and Antibody-Dependent Cellular Toxicity* ». *Journal of Biological Chemistry* 277 (30): 26733-40. <https://doi.org/10.1074/jbc.M202069200>.
- Sudo, Makoto, Yoshiki Yamaguchi, Peter J. Späth, Kana Matsumoto-Morita, Benjamin K. Ong, Nortina Shahrizaila, et Nobuhiro Yuki. 2014. « Different IVIG Glycoforms Affect in Vitro Inhibition of Anti-Ganglioside Antibody-Mediated Complement Deposition ». *PLoS One* 9 (9): e107772. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107772>.
- Tonegawa, Susumu. 1983. « Somatic generation of antibody diversity ». *Nature* 302 (5909): 575-81.
- Vembadi, Abhishek, Anoop Menachery, et Mohammad A. Qasaimeh. 2019. « Cell Cytometry: Review and Perspective on Biotechnological Advances ». *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 7. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2019.00147>.
- Vidarsson, Gestur, Gillian Dekkers, et Theo Rispens. 2014. « IgG Subclasses and Allotypes: From Structure to Effector Functions ». *Frontiers in Immunology* 5: 520. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00520>.
- Vlam, Lotte, Elisabeth A. Cats, Oliver Harschnitz, Marc D. Jansen, Sanne Piepers, Jan Herman Veldink, Hessel Franssen, et al. 2015. « Complement Activity Is Associated with Disease Severity in Multifocal Motor Neuropathy ». *Neurology(R) Neuroimmunology & Neuroinflammation* 2 (4): e119. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000119>.
- Vučković, Frano, Jasminka Krištić, Ivan Gudelj, Maria Teruel, Toma Keser, Marija Pezer, Maja Pučić-Baković, et al. 2015. « Association of Systemic Lupus Erythematosus With Decreased Immunosuppressive Potential of the IgG Glycome ». *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)* 67 (11): 2978-89. <https://doi.org/10.1002/art.39273>.
- Wu, Albert M., et Jia Hau Liu. 2019. « Lectins and ELSA as Powerful Tools for Glycoconjugate Recognition Analyses ». *Glycoconjugate Journal* 36 (2): 175-83. <https://doi.org/10.1007/s10719-019-09865-3>.
- Xu, Zhenming, Hong Zan, Egest J. Pone, Thach Mai, et Paolo Casali. 2012. « Immunoglobulin Class-Switch DNA Recombination: Induction, Targeting and Beyond ». *Nature Reviews Immunology* 12 (7): 517-31. <https://doi.org/10.1038/nri3216>.
- Yamane-Ohnuki, Naoko, et Mitsuo Satoh. 2009. « Production of therapeutic antibodies with controlled fucosylation ». *mAbs* 1 (3): 230-36. <https://doi.org/10.4161/mabs.1.3.8328>.
- Yuan, Shanshan, Qianqian Li, Yang Zhang, Chuncui Huang, Hongmei Wu, Yan Li, Yalei Liu, et al. 2015. « Changes in Anti-Thyroglobulin IgG Glycosylation Patterns in Hashimoto's Thyroiditis Patients ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 100 (2): 717-24. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-2921>.
- Ząbczyńska, Marta, Paweł Link-Lenczowski, Mislav Novokmet, Tiphaine Martin, Renata Turek-Jabrocka, Małgorzata Trofimiuk-Müldner, et Ewa Pocheć. 2020. « Altered N-Glycan Profile of IgG-Depleted Serum Proteins in Hashimoto's Thyroiditis ». *Biochimica Et Biophysica Acta. General Subjects* 1864 (3): 129464. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2019.129464>.

- Ząbczyńska, Marta, Paweł Link-Lenczowski, et Ewa Pocheć. 2021. « Glycosylation in Autoimmune Diseases ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1325: 205-18. https://doi.org/10.1007/978-3-030-70115-4_10.
- Zhou, Xing, Francesca Motta, Carlo Selmi, William M. Ridgway, M. Eric Gershwin, et Weici Zhang. 2021. « Antibody Glycosylation in Autoimmune Diseases ». *Autoimmunity Reviews* 20 (5): 102804. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102804>.

Liste des figures

Figure 1 : Structure générale d'une immunoglobuline de type IgG1 avec représentation schématique d'un domaine immunoglobuline.	4
Figure 2 : Tableau résumant les caractéristiques générales des sous-classes d'immunoglobulines G.	5
Figure 3 : Structure d'une IgA1.	6
Figure 4 : Structure d'une IgM.	6
Figure 5 : Structure d'une IgD.	7
Figure 6 : Structure d'une IgE.	7
Figure 7 : Organisation des familles de gènes codant pour les chaînes lourdes.	8
Figure 8 : Organisation des familles de gènes codant pour les chaînes légères.	9
Figure 9 : Principaux saccharides composant les chaînes glucidiques.	12
Figure 10 : Sites de glycosylation des différents isotypes des immunoglobulines.	12
Figure 11 : Vue d'ensemble de la biosynthèse des N-glycanes.	13
Figure 12 : Patterns de glycosylation.	14
Figure 13 : Résidus sucrés pouvant être retrouvés dans les différentes glycoformes d'IgG du sérum.	15
Figure 14 : Principales structures des oligosaccharides attachés à l'immunoglobuline G.	15
Figure 15 : Dualité fonctionnelle des immunoglobulines.	16
Figure 16 : Mécanismes d'action des anticorps antirécepteurs de l'acétylcholine.	18
Figure 17 : Les voies d'activation du complément et leurs principaux composants, ainsi que les principales fonctions et ses acteurs.	19
Figure 18 : Représentation schématique des récepteurs FcγR, activateurs et inhibiteurs, et leur affinité avec les différents isotypes d'IgG.	21
Figure 19 : Représentation de l'expression des FcγR sur les différentes lignées cellulaires.	22
Figure 20 : Tableau issu d'une revue de <i>Cymer et al « Therapeutic Monoclonal Antibody N-Glycosylation – Structure, Function and Therapeutic Potential »</i> .	25
Figure 21 : Représentation schématique des principales cibles impliquées dans les PIDC.	33
Figure 22 : Schéma simplifié de la structure et du fonctionnement d'un spectromètre de masse.	39
Figure 23 : Représentation schématique du fonctionnement d'un cytomètre en flux.	41
Figure 24 : Informations générées par le cytomètre en flux.	41
Figure 25 : Détermination des isotypes des autoanticorps grâce à l'utilisation de différents fluorochromes.	42
Figure 26 : Principes des tests ELISA et du test en cytométrie en flux.	44
Figure 27 : Optimisation du bruit de fond.	45
Figure 28 : Illustration des marquages en cytométrie en flux pour les anticorps anti-GM1.	45
Figure 29 : Analyse des réactions IgM.	46
Figure 30 : Analyse des réactions IgG.	46
Figure 31 : Corrélation entre les intensités de fluorescence entre les deux techniques pour les IgM.	47
Figure 32 : Tests de sensibilité et de spécificité.	48
Figure 33 : Tests pour la NF155.	49
Figure 34 : Détermination du glycoforme grâce à l'utilisation de lectine marquée.	50
Figure 35 : Pattern de glycosylation reconnu par les lectines AAL, ECCL, SNA et PHAE.	50
Figure 36 : Détermination de la liaison du C1q au fragment Fc.	51
Figure 37 : Détermination de la liaison du FCγRIII au fragment Fc.	51
Figure 38 : Illustrations de 3 courbes théoriques obtenues avec trois sérums différents.	51
Figure 39 : Illustration des courbes théoriques obtenues en cas d'un impact partiel (2) ou total (3) de la modification de la chaîne glucidique sur sa liaison avec ses ligands.	52

Liste des abréviations

ADCP: Antibody-dependant cellular phagocytosis
AID : Activation Induced cytidine Deaminase
AMAN: Neuropathie axonale motrice aigue
ANCA: Anticorps anti-cytoplasme de polynucléaires neutrophiles
BALT: Bronchus-associated lymphoid tissue
BCR: B-Cell receptor
CDC: Complement-dependent cytotoxicity
CDR: Complementary Determining Regions
CMF: Cytométrie en flux
ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay
EMAD: Encéphalomyélite aigue disséminée
FcR : Récepteur au fragment Fc des immunoglobulines
FI: Facteur intrinsèque
FN: Fibronectine
Fuc : Fucose
Gal: Galactose
GalNAc : N-acétylgalactosamine
GALT: Gut-associated lymphoid tissue
GlcNAc : N-acétylglucosamine
Ig : Immunoglobuline
IgIV: Immunoglobulines polyvalentes intra-veineuse
ITAM: Immunoreceptor Tyrosin-based Activation Motif
ITIM: Immunoreceptor Tyrosin-based Inhibition Motif
Man : Mannose
MBL: Mannose Binding Lectin
MICI: Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
MMN: Neuropathie multifocale motrice
MS: Spectrométrie de masse
MTA: Myélite transverse aigue
NeuAc: N-acétylneuraminique
NMDAR: N-methyl-D-aspartate Receptor
NMO: Neuromyéélite optique
PIDC: Polyradiculonévrite inflammatoires démyélinisantes chroniques
PTI: Purpura thrombopénique immunologique
SEP: Sclérose en plaques
SNC: Système nerveux central
SNP: Système nerveux périphérique
TCR : T-cell receptor
VEGF: Vascular endothelial growth factor
VGKC: Voltage-gated potassium channel

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

Résumé :

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines. De multiples facteurs, génétiques, pathologiques ou physiologiques tel que l'âge, influencent leur profil de glycosylation qui affecte leurs fonctions et le déclenchement d'une réponse anti-inflammatoire ou pro-inflammatoire. Il est proposé que l'analyse des N-glycanes des immunoglobulines G soit utile comme indicateur de la présence d'une pathologie, de son évolution ou de la réponse aux traitements et pourrait être utilisé comme biomarqueur dynamique dans la perspective de la médecine prédictive, préventive et personnalisée.

Les variations, sous l'influence de différents enzymes, des N-glycanes peuvent modifier significativement leur capacité à activer le complément et leur interaction avec les récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines, exprimés par les cellules immunes et participer à la régulation de la réponse immunitaire comme CD16a exprimé par les NK ou les macrophages et impliqué dans la cytotoxicité dépendante des anticorps.

Ce document bibliographique passe en revue la structure des différents anticorps, leurs fonctions effectrices et l'impact des différents phénotypes de glycosylation sur ces fonctions.

Dans le cadre des pathologies auto-immunes, la recherche d'autoanticorps présente un intérêt diagnostique. Dans certains cas, les auto-anticorps ne sont que des marqueurs de la pathologie. Dans d'autres cas, les autoanticorps sont impliqués dans les processus lésionnels. Notre hypothèse de travail est que des variations de N-glycosylation influencent la pathogénicité et puissent ainsi être des biomarqueurs prédictifs de la sévérité de la pathologie.

Le projet porte sur des autoanticorps anti-GM1, anti-HNK-1 et anti-neurofascine 155 impliqués dans la physiopathologie respectivement de neuropathies motrices aiguës ou chroniques, de neuropathies sensitives et de polyradiculonévrites chronique sévères. Pour tester le profil de N-glycosylation et leur fonctions effectrices, nous proposons des approches en cytométrie en flux sur des billes magnétiques recouvertes d'antigènes et incubées avec des autoanticorps, des lectines, du C1q, de la mannose binding lectine (MBL) ou du CD16a.

Mots-clés :

Immunoglobulines, Auto-anticorps, Complément, Récepteurs Fc, Modifications post-traductionnelles, Electrophorèse capillaire, Spectroscopie de masse, Cytométrie en flux, Technique sur billes, Pathogénicité (mécanismes pathogéniques)