

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Blida 1

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de

MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE

Option : **BIOSIGNALISATION CELLULAIRE ET MOLECULAIRE, IMMUNOLOGIE**

Thème :

Contribution à la caractérisation de l'infiltrat inflammatoire observé au niveau des glandes salivaires accessoires chez des patients algériens atteints du syndrome de Gougerot Sjögren

Réalisé par :

M^{elle} GHOMARI FAYZA & M^{elle} OUALI SOUMIA

Date de soutenance : Octobre 2017

Devant le jury:

Mme Saadi L	Maitre de Conférences «A»	université de Blida 1	Présidente
Mme Zerouti k.	Maitre Assistante «A»	université de Blida 1	Examinatrice
Mme Benchabane S.	Maitre de conférences «B»	université de Blida 1	Promotrice
Mme Ouezzani M.	Maitre Assistante	CHU de Douera	Co-promotrice

Année universitaire : 2016/ 2017

Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant, qui nous a donné la force, la volonté, et la santé d'entamer et de terminer ce modeste travail.

Au terme de ce travail nous tenons à remercier infiniment :

Notre chef d'option Mme Saadi L.

Notre promotrice Mme Benchabane S, qui nous a fait l'honneur en acceptant de nous confier ce travail, ainsi que pour sa disponibilité, son aide, ses conseils précieux et ses encouragements.

Notre co-promotrice Mme Ouezzani M, pour son aide, ses conseils, ses encouragements et sa disponibilité.

Mme Saadi L de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce travail.

Mlle Zérouti d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Prof Belarbi pour son aimable accueil et qui nous a permis de réaliser notre travail au niveau de son service.

Tout le personnel du service d'anatomopathologie du CHU de Douera pour leur collaboration et leur gentillesse.

Aux patients contactés lors des recherches effectuées à qui nous souhaitons un bon rétablissement Inchallah.



Dédicaces

*J'ai le grand plaisir de dédie ce mémoire à Tous les membres de ma famille
pour le support qu'ils m'ont apporté :*

A Ma très chère mère qui ma toujours encouragée et soutenue dans mes études.

A mon très cher père pour son aide et son réconfort.

A mes très chers frères Hichem, Walid et Djamel Eddine pour leur soutient.

A la mémoire de mes grands parents maternels.

A mes grands parents paternels.

A ma cousine Ibtissem.

A mon binôme et sa famille.

A notre promotrice Mme Benchabane S.

A notre co-promotrice Mme Ouezzani M.

A tous mes enseignants.

A tous mes camarades du département de biologie et physiologie.

*A toute personne ayant contribué de près ou de loin a la réalisation de ce
travail.*

Fayza



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents, pour leur amour, leur soutien, et tous leurs sacrifices.

Ma chère sœur hafsa

Mes chers frères

Ma grand-mère, mes chères tantes et oncles et toute ma famille

Mon binôme et sa famille

Mes meilleurs amies : amira, zola, marwa

Mes chers amis du département de biologie et physiologie et tous mes amis

Tous les étudiants de notre promotion d'immunologie et de génétique de cancer

notre promotrice Mme Benchabane S.

notre co-promotrice Mme Ouezzani M

A tous mes enseignants

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Soumia

Résumé

Le syndrome de Gougerot Sjogren est une maladie autoimmune caractérisée essentiellement par un infiltrat lympho-plasmocytaire des glandes salivaires et lacrymales. Cette présente étude a été réalisé sur 10 cas, elle a pour objectif d'une part, de rapporter les modifications architecturales observées au niveau des glandes salivaires accessoires chez des patients algériens atteints du syndrome de Gougerot Sjogren par une étude histologique et d'autre part la caractérisation des cellules de l'infiltrat inflammatoire (Lymphocyte B, Lymphocyte T CD3, Lymphocyte Thelper, Lymphocyte T cytotoxique, macrophage, Natural Killer) par une étude immunohistochimique. Les résultats obtenus ont montré une très forte prédominance féminine au sein de notre population et une désorganisation architecturale au niveau des glandes salivaires accessoires causée par un infiltrat lymphocytaire caractérisé essentiellement par la présence des lymphocytes T (essentiellement Thelper, et T cytotoxique) ; ainsi que des lymphocytes B exprimant le CD20. Nous avons également rapporté au cours de notre étude une très faible présence de macrophages et une absence des cellules Natural killer.

Mots clés : Syndrome de Gougerot-Sjögren, Glandes salivaires accessoires, Foyer inflammatoire, Immunomarquage.

ملخص

متلازمة كوجرو شوغرن هي أحد أمراض المناعة الذاتية التي تتسم أساسا بظاهرة انسداد الخلايا الليمفاوية وخلايا البلازما إلى الغدد اللعابية والغدد الدمعية. تم إجراء هذه الدراسة على 10 حالات، وتكمن أهمية هذا البحث في تقديم تقرير عن التغيرات البنوية التي لوحظت في الغدد اللعابية الملحقة لدى مرضى جزائريين يعانون من متلازمة كوجرو شوغرن عن طريق دراسة تشريحية، هذا من جهة، ومن جهة أخرى لتحديد خلايا الانسداد عن طريق الوسم المناعي (خلايا لمفاوية بائية، خلايا لمفاوية تائية، خلايا تائية مساعدة، خلايا تائية قاتلة، خلايا بالعة، خلايا قاتلة طبيعية). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها هيمنة جد عالية للإناث ضمن عيناتنا واختلال التنظيم البنوي في الغدد اللعابية الملحقة الناجمة عن تسلل لمفاوي يتميز أساسا بوجود الخلايا للمفاوية تائية (أساسا تائية مساعدة، وتائية قاتلة). كذلك الخلايا للمفاوية البائية. كما ذكرنا أيضا خلال دراستنا وجود قليل جدا من الخلايا البالعة وغياب الخلايا القاتلة الطبيعية.

الكلمات المفتاحية: متلازمة كوجيرو شوغرن، الغدد اللعابية الملحقة، التركيز الالتهابي، وسم مناعي.

Abstract

Sjogren syndrome is an autoimmune disease characterized mainly by a lympho-plasmocytic infiltrate of the salivary and lacrimal glands. This study was accomplished with 10 cases, it has for objective in the first part, to report the architectural modifications observed in the minor salivary glands at Algerian patients affected by Sjogren-syndrome by a histological study, and in the second part the characterization of the inflammatory cells infiltration by an immunohistochemical study (Lymphocyte B, Lymphocyte T CD3, Lymphocyte T helper, Lymphocyte Tcytotoxic, macrophage, Natural Killer). The obtained results showed a very high female predominance in our population and an architectural disorganization at the level of the minor salivary glands caused by a lymphocytic infiltrate characterized essentially by the presence of lymphocytes T (essentially T helper, and T cytotoxic); as well as its lymphocytes B expressing the CD20. We also reported during our study a very weak presence of macrophages, and an absence of natural killer cells.

Key words: Sjogren-syndrome, Minor salivary glands, Inflammatory focus, Immunomarquage.

Liste des abréviations

Antigène SSA : Synonyme de anti-Ro.

Antigène SSB : Synonyme de anti-La.

ARN db : ARN double brin.

ARN sb : ARN simple brin.

BAFF : B cell Activating Factor belonging to the TNF Family.

bcl2 : B-cell lymphoma 2.

BGSA : Biopsies des glandes salivaires accessoires.

CD40/CD40L : CD40/CD40 ligand.

CDm : cellule dendritique myéloïde.

CDp : Cellules dendritiques plasmacytoïdes.

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité.

CMV : Cytomégalovirus.

DAB : Di-Amino-Benzidine .

DHEA : Déhydroépiandrostérone.

DHEA-S : Déhydroépiandrostérone-sulfate.

EBV : Epstein-Barr virus.

FR : facteur rhumatoïde.

GC : Centres germinatifs.

HE : Hématoxyline-Eosine

HLA-DR : Complexe majeur d'histocompatibilité humain-DR.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

HRP : Peroxydase de Raifort.

IFN : interferon .

IFN γ : l'interféron γ .

IFN-1 : interferon 1.

IHC : Immunohistochimie.

Liste des abréviations

IRF-5 : interferon regulatory factor.

LSAB : Labelled Streptavidin- Biotine.

NK : Natural killer.

PR : Polyarthrite rhumatoïde .

SGS : Syndrome de Gougerot Sjögren.

STAT4 : Signal transducer and activator of transcription 4.

TGF : transforming growth factor.

TLR : Toll-like récepteur.

TNF- α : Tumor necrosis factor- α .

VHC : virus de l'hépatite C.

Liste des figures

Figure 1 :Xérophtalmie.....	3
Figure 2 : Xérostomie.....	4
Figure 3 : Vue latérale schématique des glandes salivaires et des canaux du côté gauche.....	5
Figure 4 : Histologie des différents types d'acini et canaux glandulaires.....	6
Figure 5 : Représentation schématique de la physiopathologie du SGS.....	8
Figure 6 : principe de l'immunomarquage (méthode d'amplification du signal LSAB).....	15
Figure 7 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.....	17
Figure 8 : Répartition des patientes selon le type du SGS.....	18
Figure 9 :Répartition du SGS selon le grade.....	19
Figure 10 :Histologie d'un parenchyme d'une glande salivaire accessoire de grade 0 (coloration HE, GX400).....	20
Figure 11 :Représentation histologique d'un SGS de grade 3 (coloration HE, GX400)	20
Figure 12 :Représentation histologique d'un SGS de grade 4 (coloration HE, GX400).....	21
Figure 13 : Représentation immunohistochimique d'un témoin de grade 2 :GX200(B) GX400 (A-C-D).....	22
Figure 14 : Répartition des lymphocytes T-CD3 et lymphocytes B.....	23
Figure 15 : Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des lymphocytes T CD3 (GX400).....	23
Figure 16 : Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des lymphocytes B CD 20 (GX400); (A) :GX200, (B) : (GX400).....	24
Figure 17 : Expression des lymphocytes T-CD4 et T-CD8.....	25
Figure 18 : Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des lymphocytes T CD4 (GX 200).....	25
Figure 19 : Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des lymphocytes T CD8 (GX400).....	26
Figure 20 :Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des cellules NK CD56+ (GX 200).....	27
Figure 21 : Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des cellules NK CD68+ (GX400).....	28

Liste des tableaux

Tableau I : Définition de la classification du score de Chisholm et Mason.....	7
Tableau II : Réactifs utilisé en histopathologie.....	Annexe 2
Tableau III : Appareillage.....	Annexe 2
Tableau IV : Réactifs utilisés en immunohistochimie.....	Annexe 3
Tableau V : Anticorps utilisé en immunohistochimie.....	Annexe 3
Tableau VI : Résultat de l'étude immunohistochimique chez les 10 patients atteints du SGS	Annexe 4
Tableau VII : Résultat de cas contrôle.....	Annexe4

Glossaire

Exocrinopathie: maladie des glandes à sécrétion externe.

Fibrose pulmonaire : Cette pathologie se caractérise par une production et une accumulation disproportionnée de la matrice extra-cellulaire, principalement de collagène dans le parenchyme pulmonaire détruisant la structure alvéolaire des poumons, pouvant conduire à une forte altération des fonctions respiratoires (Camus et *al.*, 2001)

Kératite filamentaire : est une inflammation de l'œil, localisée au niveau de la cornée, C'est une affection bénigne qui peut se compliquer.

Kératoconjonctivite sèche : est un dessèchement chronique bilatéral de la conjonctive et de la cornée due à une altération qualitative ou quantitative du film lacrymal

Lymphome non hodgkinien : Il représente un groupe hétérogène d'hémopathies caractérisées par une prolifération monoclonale maligne du système lymphoïde (les cellules B ou T) qui tendent à envahir tout l'organisme (Fattorusso et *al.*, 2004)

Lupus systémique : est une maladie inflammatoire auto-immune, d'étiologie inconnue, caractérisée sur le plan biologique par la production de multiples auto-anticorps dont les plus caractéristiques sont dirigés contre certains composants du noyau (Meyer et *al.*, 2005)

Polyarthrite rhumatoïde : est un rhumatisme articulaire chronique caractérisé par une inflammation de la synoviale articulaire qui peut provoquer des dommages structuraux et induire un handicap fonctionnel (Klareskog et *al.*, 2009).

Polymyosite : est une maladie inflammatoire des muscles striés, Le déficit musculaire, qui se résume généralement à une fatigabilité, évolue de façon bilatérale, symétrique et non sélective avec prédominance sur les muscles proximaux (Blanco et *al.*, 1992).

Sclérodermie : est une connectivite multi-systémique caractérisée par des anomalies de la matrice extra-cellulaire conduisant à une production excessive de collagène, à des altérations micro-vasculaires et à une activation anormale du système immunitaire (Marie et *al.*, 2002)

Xérophtalmie : est une affection des yeux, se traduisant par un assèchement de la conjonctive et de la cornée, et évoluant vers la cécité en l'absence de traitement.

Xérostomie : est un trouble se traduisant par une sécheresse excessive de la bouche due à une fabrication insuffisante de salive (hyposialie), parfois même à une absence de salive (asialie).

Sommaire

Introduction.....	1
CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	2
I. Généralités.....	2
I.1.Historique.....	2
I.2.Définition.....	2
I.3.Epidémiologie.....	2
I.4.Classification.....	2
I.4.1. Syndrome de Gougerot-Sjögren primitif	2
I.4.2 Syndrome de Gougerot-Sjögren secondaire.....	3
I.5.Manifestations du syndrome de Gougerot-Sjögren	3
I.5.1.Manifestations oculaires.....	3
I.5.2.Manifestations buccaux.....	4
I.6. Les glandes salivaires :.....	4
I.6. 1.Les glandes salivaires accessoires	5
II. Diagnostique.....	6
II.1. L'examen histologique :.....	7
III. Physiopathologie.....	7
III.1. Facteurs déclenchants.....	8
III.1.1. Rôle du terrain génétique	8
III.1.2. Etiologie virale.....	9
III.1.3.Auto-anticorps.....	9
III.1.4.Anomalies de l'apoptose.....	9
III.1.5. Facteurs hormonaux.....	9
III.1.6.Cytokines secrétées.....	10
III.2.Lymphocytes infiltrant les glandes salivaires.....	10
IV. Thérapie.....	11

Sommaire

V. Biothérapie	11
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	12
I.1 Matériel	12
I.1.1 Matériel non biologique.....	12
I.1.2. Matériel biologique	12
II. Méthodes.....	12
II.1 Etude histologique.....	12
II.2 Technique d'immunohistochimie (IHC).....	14
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	17
I. Répartition des patients atteints du syndrome de GougerotSjögren selon le sexe	17
II. Répartition des patients atteints du syndrome de GougerotSjögren selon l'âge.....	17
III. Répartition des patients selon le type du syndrome de Gougerot-Sjögren.....	18
IV. Répartition des patients atteints du syndrome de GougerotSjögren selon le grade.....	19
V. Etude des modifications architecturales observées au niveau des glandes salivaires accessoire chez des patients atteints du syndrome de GougerotSjögren.....	19
VI. Identification des cellules participant à la composition de l'infiltrat inflammatoire dans le SGS à l'étude immunohistochimique (IHC).....	21
VI.1. Expression des lymphocytes T-CD3 et lymphocytes B.....	22
VI.2 Expression des lymphocytes T-CD4 et lymphocytes T-CD8.....	25
IV.3 Expression des Natural killer (NK) CD56.....	27
VI.4 Expression des macrophages CD68.....	27
CONCLUSION ET PERCPECTIVES.....	29
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

Introduction

Les maladies auto-immunes sont des maladies chroniques déclenchées par la perte de la tolérance immunologique aux auto-antigènes en raison de l'interaction de facteurs héréditaires et environnementaux (Anaya *et al.*, 2013).

Le syndrome de Gougerot-Sjögren est une maladie auto-immune systémique, inflammatoire, chronique caractérisée par une infiltration cellulaire des glandes salivaires et lacrymales responsable d'une sécheresse buccale (xérostomie), oculaire (xérophtalmie) et par la production de différents auto-anticorps (Fox *et al.*, 2005). Elle affecte principalement les femmes dont sa prévalence varie entre 0,1 et 3% (Binard *et al.*, 2007). Classiquement, il peut être primitif ou secondaire associé à d'autres maladies auto-immunes (Youinou *et al.*, 2010).

La physiopathologie de cette affection reste imparfaitement élucidée, une connectivité multifactorielle faisant intervenir des facteurs génétiques, environnementaux et immunologiques (Mariette., 2010).

Dans ce syndrome, la perte de fonction glandulaire est liée à l'accumulation de cellules immunitaires au sein de l'épithélium et à la destruction de celui-ci. Ainsi, des infiltrats constitués de lymphocytes T, des lymphocytes B ou des cellules dendritiques peuvent être retrouvés dans les glandes (Stott *et al.*, 1998, Xanthou *et al.*, 1999).

Dans cette présente étude, nous avons eu pour objectifs de mettre en évidence les modifications architecturales observées au niveau des glandes salivaires accessoires chez des patients algériens atteints du syndrome de Gougerot Sjögren et ce à la suite d'une étude histologique en fonction du score focal, ainsi qu'à la caractérisation des cellules de l'infiltrat inflammatoire et ceci par un marquage membranaire immunohistochimique de quelques cellules immunitaires tels que les lymphocytes T, les lymphocytes B, les lymphocytes T CD4, les lymphocytes T CD8, les macrophages exprimant le CD68 et enfin les cellules Natural killer exprimant le CD56.

I. Généralités

I.1. Historique :

Le syndrome de Gougerot Sjögren doit son nom aux observations de Gougerot, un dermatologue français, qui en 1925 avait décrit des cas de sécheresse buccale s'intégrant dans un syndrome sec étendu, touchant les conjonctives, la bouche, le larynx, la muqueuse nasale et vaginale (**Delcambre et al., 1989; Kaplan et al., 2000**). Puis en 1933 Henrik Sjögren, un ophtalmologiste suédois a établi les bases définitives du syndrome qui portera son nom. Il avait montré que le syndrome sec oculaire n'est que l'expression ophtalmique d'une maladie qui touche toutes les glandes exocrines et qu'elle s'associe le plus souvent à la polyarthrite rhumatoïde (PR) (**Kaplan et al., 1986**).

I.2. Définition :

Le syndrome de Gougerot Sjögren (SGS) est une exocrinopathie auto-immune chronique lentement progressive caractérisée par une infiltration cellulaire des glandes exocrines. Cette infiltration touche particulièrement les glandes salivaires et lacrymales, responsable alors d'une sécheresse buccale (xérostomie) et d'une sécheresse oculaire (xérophtalmie). L'association xérostomie et xérophtalmie constitue le syndrome sec, élément caractéristique du syndrome de Gougerot Sjögren. L'infiltration cellulaire peut intéresser d'autres organes et entraîne des manifestations extra-glandulaires systémiques (**Godeau et al., 2004**).

I.3. Epidémiologie :

Ce syndrome prédomine largement chez les femmes, avec 9 femmes atteintes pour un homme (**Helmick., 2008**). L'âge moyen de survenue des premiers symptômes se situerait aux alentours de la quatrième décennie. Classé comme étant la deuxième plus fréquente pathologie auto-immune après la polyarthrite rhumatoïde, sa prévalence est estimée aux alentours de 0.1 et 0.5% de la population adulte (**Binard et al., 2007**). Cependant, aucune étude épidémiologique n'a été publiée quant à notre population.

I.4. Classification :

Le SGS peut être primitif ou secondaire à une autre pathologie auto-immune :

I.4-1. Syndrome de Gougerot Sjögren primitif : dans ce cas il est isolé, la xérostomie et/ou la xérophtalmie ne sont pas associées à une maladie systémique clairement définie mais à des manifestations générales dont certaines sont particulièrement fréquentes et évocatrices (polyarthrites, fibrose pulmonaire, atteinte neurologique).

I.4-2. Syndrome de Gougerot Sjögren secondaire : dans ce cas, il fait suite à une autre connectivite auto-immune (polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux disséminé, sclérodermie,...etc) (Godeau et *al.*, 2004).

I.5. Manifestations du syndrome de Gougerot Sjögren :

Les principaux symptômes classiquement retrouvés dans le SGS sont la triade :

- Sécheresse (principalement, oculaire et buccale).
- Fatigue.
- Douleur (surtout articulaire et/ou musculaire) (Mathews et *al.*, 2008 ; Vailantl et *al.*, 2007).

Aussi d'autres organes peuvent être atteints (Tzioufas et *al.*, 2007).

I.5.1. Manifestations oculaires :

La xérophtalmie est l'une des manifestations majeure du SGS (figure 1). Elle se manifeste par l'absence de larme, d'une gêne oculaire persistante avec sensation de corps étrangers (graviers, grains de sable), l'apparition de sécrétions collantes et épaisses le matin au réveil (Ramos et *al.*, 2012), la sensation de brûlures (Pfugfelder et *al.*, 1996), prurit, photophobie (Girmens et *al.*, 2001), trouble de la vision des couleurs (Rapoport et *al.*, 1997).



Figure 1: Xérophtalmie (Hakkou et *al.*, 2011)

I.5.2. Manifestations buccaux :

La xérostomie qui est souvent la plus invalidante des manifestations du syndrome sec (figure 2). Elle se manifeste par une sensation de bouche sèche (**Ramos et al., 2012**) pâteuse, gênant l'élocution ou la déglutition, la prise d'aliments secs n'est possible qu'en ingérant simultanément de l'eau (**Harton et al., 2001**), des brûlures chroniques de la muqueuse buccale, d'intolérance aux aliments épicés ou acides (**Daniels et al., 1975**).

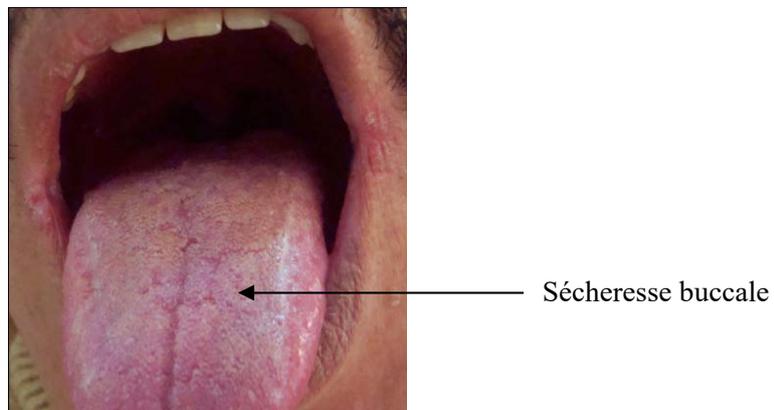


Figure 2: Xérostomie (**Hakkou et al., 2011**)

I.6. Les glandes salivaires :

Quotidiennement les glandes salivaires produisent 1000 à 1500 ml de salive. La salive est sécrétée par trois paires des glandes salivaires dites majeures ou principales : Les glandes parotides, les glandes sous-maxillaires, et les glandes sublinguales ainsi que par des glandes salivaires mineures ou accessoires qui sont dispersées à la surface des muqueuses buccales et pharyngiennes (figure 3). (**Lullmann-Rauch., 2008; Szpirglas et al., 2001**).

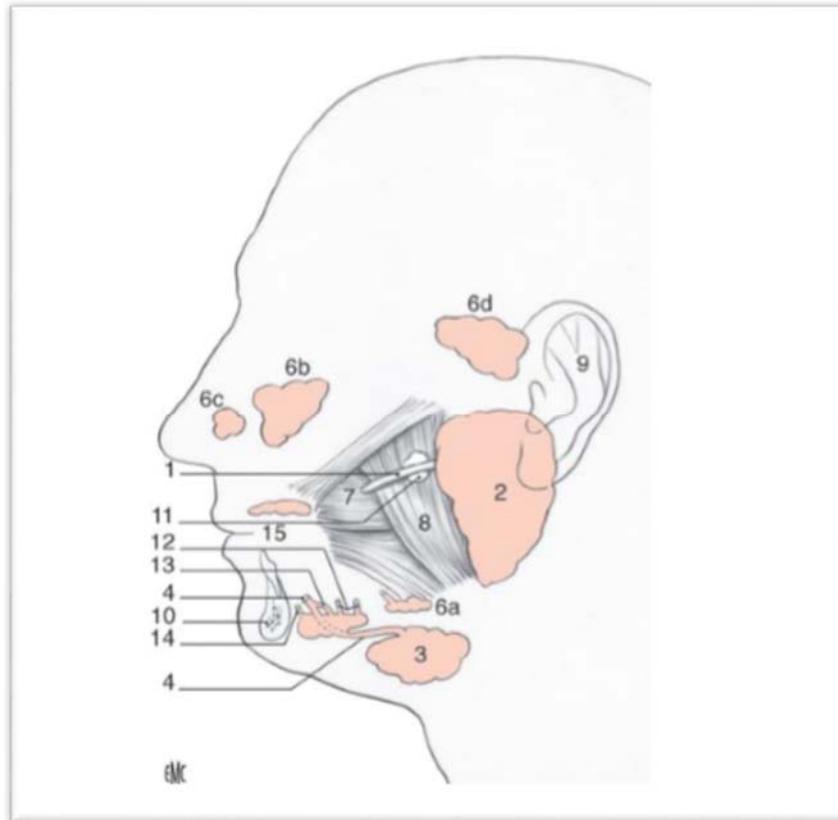


Figure 3 : Vue latérale schématique des glandes salivaires et des canaux du côté gauche (Katz., 2006).

1. Canal parotidien, 2. Glande parotidienne, 3. Glande sub-mandibulaire, 4. Canal de Wharton, 5. Glande sublinguale, 6. Glandes salivaires accessoires : buccales (a), palatines (b), nasales (c), nasopharyngées (d), 7. Muscle buccinateur, 8. Muscle masséter, 9. Auricule de l'oreille, 10. Mandibule, 11. Glande salivaire accessoire et canal se jetant dans le canal parotidien, 12. Canal sub-lingual postérieur, 13. Canal sub-lingual, 14. Canal sublingual antérieur, 15. Cavité buccale.

I.6. 1. Les glandes salivaires accessoires :

Elles sont très nombreuses et disséminées dans toute la cavité buccale (lèvres, joues, langue, palais) à l'exception des gencives et la partie antérieure du palais osseux. Elles ne possèdent pas de canal excréteur propre et s'ouvrent directement dans la muqueuse de la cavité buccale (Mambrini., 2006). Il s'agit de petites formations glandulaires muqueuses et plus rarement séreuses de 1 à 2 mm de diamètre (figure 4). Ces glandes par leur sécrétion assurent l'humidification permanente de la cavité buccale (Devoize et al., 2010).

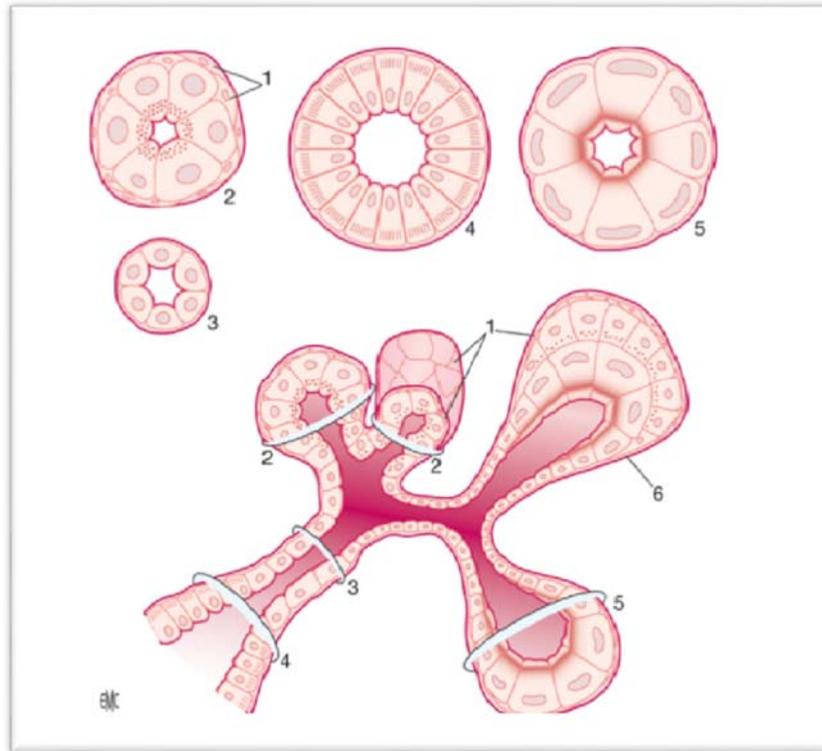


Figure 4 : Histologie des différents types d'acini et canaux glandulaires (Devoize et *al.*, 2010).

1. Cellules myoépithéliales, 2. Acinus séreux, 3. Canal intercalaire, 4. Canal strié, 5. Acinus muqueux, 6. Acinus mixte séromuqueux.

II. Diagnostic

Le SGS a souvent un début insidieux et un large spectre de manifestations, ce qui rend le diagnostic de la maladie difficile et souvent tardif, on peut avoir un délai de 10 ans entre le début des premiers symptômes et l'établissement du diagnostic final (Kassan *et al.*, 2004 ; Cruzska *et al.*, 2009) (Annexe 1).

- ❖ **Le diagnostic du SGS primitif** : nécessite l'existence d'une sécheresse buccale et oculaire ou la présence d'un infiltrat lymphocytaire sur une biopsie des glandes salivaires accessoires ou la présence d'auto-anticorps anti-SSA ou anti-SSB (Vitali *et al.*, 2002).
- ❖ **Le diagnostic du SGS secondaire** : est défini par la présence d'une autre connectivite, l'existence d'une sécheresse oculaire ou buccale et un élément objectif de l'atteinte oculaire ou salivaire. La présence d'anticorps anti-SSA ou anti-SSB n'est pas nécessaire au diagnostic de SGS secondaire (Vitali *et al.*, 2002).

II.1. L'examen histologique :

L'examen de référence repose en une biopsie des glandes salivaires accessoires, particulièrement celles de la lèvre inférieure, car elle est sans risque et de réalisation facile. (Chisholm *et al.*, 1968). Cependant, Seuls les grades 3 et 4 sont spécifiques du SGS (tableau I) (Chisholm *et al.*, 1968).

Tableau I : Définition de la classification du score de Chisholm et Mason (Ziza., 2004).

Grade	Cotation histologique de Chisholm et Mason
0	Glandes normales, Pas d'infiltrat inflammatoire.
1	Infiltrat inflammatoire diffus discret (moins d'un foyer ou focus par 4 mm ²).
2	Infiltrat inflammatoire diffus modéré ayant moins de 50 cellules par 4 mm ² .
3	Infiltrat inflammatoire nodulaire (un seul foyer ou focus) ayant plus de 50 cellules par 4mm ² .
4	Plusieurs foyers inflammatoires par 4 mm ² .

III. Physiopathologie

Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) constitue un excellent modèle d'étude des maladies auto-immunes car les organes intéressés par le processus (les glandes salivaires accessoires) et les cellules impliquées sont aisément accessibles et se prêtent assez facilement à l'analyse. (Mariette., 2010).

L'origine de cette affection, comme la plupart des maladies auto-immunes, est inconnue. Cependant, une interaction entre facteurs génétiques et facteurs environnementaux est établie (figure 5) (Mariette., 2010).

III.1.2. Etiologie virale :

Les virus sont les facteurs environnementaux qui ont été les plus impliqués dans la genèse du SGS, les glandes salivaires étant un site d'infection latente pour de nombreux virus et notamment pour l'Epstein-Barr virus (EBV) et le Cytomégalo virus (CMV) (Vitali., 2011), certains autres virus du groupe herpès, les rétrovirus, le virus de l'hépatite C (VHC) (Mariette et al., 1991), mais aucune étude n'a pu démontrer de manière certaine l'implication de ces virus dans le développement de la maladie (Triantafyllopoulou et al., 2004).

III.1.3. Auto-anticorps :

Certains auto-anticorps ont été mis en évidence dans le SGS. Parmi eux, citons les anticorps (Ac) antinucléaires dirigés contre les particules Ro/SSA et La/SSB (Scofield et al., 1999), les anticorps anti appareil de Golgi (Blaschek et al., 1988), le facteur rhumatoïde (FR) (Bartfeld., 1969), les anticorps anti mitochondrie (Skopoli et al., 1994), les anticorps anti thyroïde peroxydase et les anticorps anti thyroglobuline (D'Arbonne et al., 2003).

Les auto-Ac les plus souvent retrouvés dans ce syndrome sont le facteur rhumatoïde, les Ac anti-Ro/SSA et anti-LA/SSB, car ils sont produits au niveau de la glande exocrine, aussi ils sont exprimés à la surface des cellules épithéliales (Yannopoulos et al., 1992).

III.1.4. Anomalies de l'apoptose :

Par analogie aux modèles animaux, un défaut d'apoptose des lymphocytes auto-réactifs a été suggéré pour expliquer leur accumulation dans les glandes salivaires. Parallèlement, une augmentation de l'apoptose par la voie Fas-Fas ligand a été observée dans les cellules épithéliales salivaires et pourrait être responsable de la destruction de ces cellules. (Kong et al., 1997).

Au contraire, l'apoptose est diminuée au sein des nodules lymphoïdes infiltrant les glandes salivaires car les lymphocytes des nodules expriment fortement l'antigène bcl2 (B-cell lymphoma 2), ce qui les protégerait de l'apoptose. Ces anomalies de l'apoptose seraient des anomalies intrinsèques des cellules épithéliales et non induites par l'infiltrat lymphocytaire. (Masago et al., 2001).

Enfin, certaines cellules salivaires, et en particulier les canaux salivaires qui ne sont pas détruits contrairement aux acini, se protègent de l'apoptose en sur-exprimant la protéine p53 fonctionnelle. (Mariette et al., 2002).

III.1.5. Facteurs hormonaux :

Le rôle des facteurs hormonaux dans le SGS, est suggéré par la constante prédominance féminine. Cette prédilection féminine serait sous-tendue d'une part par une production plus grande d'hormones stimulatrices du système immunitaire telles que l'œstrogène et la prolactine, d'autre part par une baisse de la production d'hormones inhibitrices du système immunitaire (le cortisol, les androgènes) (Diallo et al., 1999).

III.1.6. Cytokines secrétées :

L'interleukine 2(IL-2), l'interféron γ (IFN γ) sont sécrétés par les lymphocytes T salivaires, ce qui est en faveur d'un pattern de sécrétion de cytokines de type TH1. (**Fox et al., 1992**).

Cependant, comme souvent en immunopathologie, la situation est complexe car les cytokines de type TH2 : IL-6 et IL-10 sont également sécrétées par les lymphocytes T(LT) salivaires favorisant probablement l'activité des lymphocytes B (LB) glandulaires sécréteurs d'autoanticorps. Dans la plupart des études, l'interleukine 4 (IL-4), autre interleukine de type TH2, n'est pas ou peu retrouvée. Enfin, il existe une augmentation du taux de production des cytokines pro-inflammatoires telles que: l'interleukine 1 (IL-1), et le TNF- α (**Fox et al., 1992**).

En outre, de nombreux travaux confirment le lien entre une production excessive de BAFF (B cell Activating Factor belonging to the TNF Family) et le développement de plusieurs maladies auto-immunes, en particulier le SGS (**Mackay et al., 2002**). Ainsi, des niveaux élevés de BAFF sont retrouvés dans le sérum des malades atteints d'un SGS et corrélés aux titres des auto-Ac (**Pers et al., 2005**). Les types cellulaires responsables de la production de BAFF dans le SGS ont récemment été identifiés. Ainsi, bien que l'expression de BAFF sur les LT infiltrés avait été évoquée (**Lavie et al., 2004**), la synthèse et la production de BAFF par les LT, les cellules épithéliales et les LB infiltrés viennent d'être démontrées in situ (**Daridon et al., 2007**). De plus, les cytokines dont la concentration est augmentée dans le SGS (IL-10, IFN γ) peuvent favoriser la production de BAFF (**Nardelli et al., 2001**).

Enfin, BAFF jouerait un rôle dans les réponses humorales en favorisant la commutation isotypique des classes d'immunoglobulines indépendamment du système CD40/CD40 Ligand (CD40/CD40L) en présence d'IL-10 ou de TGF (transforming growth factor) (**Litinskiy et al., 2002**) et la sécrétion d'anticorps par les plasmoblastes. (**Balázs et al., 2002**).

III.2. Lymphocytes infiltrant les glandes salivaires :

Ce sont pour la grande part des lymphocytes T CD4 (helper) (70-80%), les autres sous-groupes : cellules T CD8 (cytotoxique) (10%), lymphocytes B (10-20%) (**Le Pottier et al., 2009**). L'activité des cellules infiltrant les glandes est attestée par la présence de marqueurs de surface, notamment HLA-DR (Complexe majeur d'histocompatibilité humain-DR) et récepteurs de l'IL-2 (CD25) (**Kuwana et al., 2001**).

L'étude du répertoire des lymphocytes T CD4 infiltrant les glandes salivaires a retrouvé dans la plupart des cas une restriction de la région de jonction laissant supposer que ces lymphocytes pourraient reconnaître un antigène commun. En faveur de cette hypothèse, chez un même patient, il est observé que le répertoire T était identique dans les glandes salivaires et les glandes lacrymales.

Les lymphocytes T CD8, moins abondants, contiennent du granzyme et peuvent donc avoir une action cytotoxique (**Mariette., 2010**).

IV. Thérapie :

Les effets des traitements symptomatiques du syndrome sec qui peuvent être utilisés en fonction de la gêne telle que : les larmes artificielles (Unilarm, Larmabak) les sprays oraux, les substituts salivaires (Artisial spray), la sécheresse cutanée par des savons surgras, des lotions ou crèmes hydratantes (Dexéryl 250 g), la sécheresse vaginale par des gels locaux (Replens) peuvent améliorer certains symptômes mais leur effets sont limités (**Saint-Marcoux et al., 2007**).

V. Biothérapie :

Deux études majeures décrivent l'immunothérapie anti-LB (rituximab, anti-CD20) dans le traitement du SGS (**Pijpe et al., 2005**). Ces études montrent la bonne tolérance au traitement et des améliorations cliniques. Ainsi, la fatigue, la sécheresse, la qualité de vie étaient améliorées après traitement essentiellement chez les patients ayant une maladie récente (**Devauchelle-Pensec et al., 2007**).

D'autres approches sont à l'étude comme l'inhibition de BAFF par des anticorps monoclonaux ou des récepteurs solubles (**Gottenberg et al., 2007**).

Plusieurs autres stratégies thérapeutiques sont étudiées, ciblant d'autres protéines de surface de cellules B (epratuzumab anti-CD22) ou des cytokines majeures de l'homéostasie des cellules B (par exemple, BAFF, IL-6) (**Bowman et al., 2014**).

La présente étude a été réalisée au niveau du service d'anatomie-pathologique à l'hôpital Djillali Bounaâma de Douera et ceci du mois de Mars au mois de septembre, elle a pour but d'une part de mettre en évidence les modifications architecturales observées au niveau des glandes salivaires accessoires chez des patients algériens atteints du SGS et d'autre part à la caractérisation des cellules de l'infiltrat inflammatoire (LB, LT CD4, LT CD8, macrophage, NK) et ceci sur des biopsies de 10 patients atteints du syndrome de Gougerôt-Sjogren.

I. Matériel:

I.1. Matériel non biologique (Annexe2)

I.2. Matériel biologique:

Les cas collectés pour notre étude proviennent de l'hôpital Djillali Bounaâma de Douera adressé par différentes structures de ce même CHU (médecine interne, maxillo-faciale et rhumatologie) et de l'hôpital Lamine Debaghine de Bab El oued.

Cette étude a porté sur 10 cas de SGS diagnostiqués entre l'année 2014-2017, dont l'âge varie entre 29 ans et 72ans. Nous avons également utilisé 2 cas âgés de 32 ans et de 49 ans qui consistent en des blocs de glande salivaire accessoire d'une personne non atteinte de SGS de grade 0 et de grade 2. Les biopsies en question sont accompagnées d'une fiche de renseignement comprenant le nom, l'âge et le sexe du patient pour être ensuite archivées sous forme de blocs inclus en paraffine.

II. Méthodes

II.1 Etude histologique

II.1.1 Conservation des biopsies dans des blocs de paraffine:

- **Fixation:**

La fixation a été réalisée grâce à un agent fixateur, le formol à 10% pendant 24h dans le but de conserver les structures le plus possible à l'état physiologique et de prévenir l'autolyse cellulaire. Après fixation, les biopsies des glandes salivaires ont été placées dans des cassettes histologiques.

- **Circulation:**

Pour la confection des coupes il faut que ces échantillons soient imprégnés dans de la paraffine.

Cette dernière en état liquide n'est pas miscible à l'eau, dont les tissus sont imprégnés et ne pourra donc pas les pénétrer. Ce qui nécessite le passage des tissus dans des liquides

intermédiaires miscibles entre eux (à l'eau et à la paraffine). Ce passage dans ces liquides constitue une étape appelée « circulation » qui dure 24h. La circulation est réalisée en 03 phases:

- La déshydratation: 03 bains successifs d'éthanol de concentration croissante (70°. 90°. 100°) 2h chacun.
- L'éclaircissement: 03 bains de xylène 2h chacun.
- L'imprégnation: 03 bains de paraffine en fusion à 60°C 2h chacun

Toutes ces étapes ont été réalisées grâce à un circulateur automatique (Dako) qui comporte des bains disposés en cercle, permettant un transfert automatique d'un bain à un autre avec agitation constante du panier contenant les cassettes de prélèvements.

• **Enrobage:**

Consiste à former des blocs de paraffine. Pour se faire, les cassettes sont ouvertes, les couvercles jetés, le fragment est ensuite récupéré et placé dans un moule adapté à sa taille, celui-ci est recouvert d'une petite quantité de paraffine. Il est important de bien orienter le fragment et de veiller à son adhérence.

Les moules sont placés sur une plaque refroidissante pour figer la paraffine, une fois que cette dernière durcit, les blocs sont démoulés.

Les étapes de l'enrobage ont été réalisées grâce à un appareil (Dako).

• **La microtomie:**

Les blocs ayant refroidi sur la plaque réfrigérante de la station d'enrobage, la découpe peut être réalisée à l'aide d'un microtome et se fait en différentes étapes:

- Faire des coupes allant de 1 à 3 μm d'épaisseur sous forme de ruban, cette épaisseur permet aux rayons lumineux du microscope de traverser la préparation et d'éviter la superposition tissulaire.
- Les rubans sont placés dans un bain marie à 37° pour détendre la paraffine.
- Une lame est ensuite plongée perpendiculairement au fragment pour faciliter son adhésion.
- Déposer la lame sur une plaque chauffante pour faire fondre la paraffine et éliminer les résidus de l'eau.

II.1.2 Technique d'Hématoxyline-Eosine (HE):

II.1.2.1 Coloration à l'Hématoxyline-Eosine:

Il s'agit d'une coloration topographique, de routine permettant l'identification des noyaux et du cytoplasme. Cette technique associe une coloration nucléaire en bleu grâce à l'Hématoxyline (colorant basique) et une coloration rose du cytoplasme grâce à l'Eosine (colorant acide).

La coloration des coupes a été effectuée selon les étapes suivantes:

- Déparaffinage dans 03 bains de xylène pendant 3 minutes chacun.
- Réhydratation dans 03 bains d'éthanol (alcool) à 100%, 80%, 70% pendant 2 min chacun.
- Rinçage à l'eau courante.
- Coloration dans un bain d'Hématoxyline pendant 2 minutes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Une deuxième coloration dans un bain d'Eosine pendant 2 minutes.
- Rinçage à l'eau courante.

- **Montage des lames:**

Après Déshydratation dans 03 bains d'éthanol de concentration croissante (70°. 90°. 100°) pendant 1 minute chacun et réalisation de 03 bains de xylène pour l'éclaircissement, les lames sont recouvertes par une lamelle après y avoir déposé une goutte d'Eukitt (résine synthétique).

II.1.2.2 Observation au microscope:

La lecture se fait à l'aide d'un microscope photonique multi-têtes (Leica) à différents grossissements, elle se fait d'abord au faible grossissement pour que l'analyse des noyaux et des composants cellulaires soit optimale.

L'analyse histologique a repris les critères du score de Chisholm et Mason.

II.2 Technique d'immunohistochimie (IHC):

II.2.1 Principe:

La technique utilise un anticorps (Ac) primaire dirigé contre l'antigène cible permettant d'identifier les antigènes recherchés dans la cellule, on utilise par la suite un Ac secondaire biotinylé dirigé spécifiquement contre l'Ac primaire.

Un complexe avidine-biotine couplé à la peroxydase permet l'amplification du signal lors de la révélation par le Di-Amino-Benzidine (DAB).

Dans notre étude, les substances antigéniques recherchées sont le CD20, CD3, CD4, CD8, CD56 et CD68.

Le système En Vision + HRP est une technique de révélation de marquage, extrêmement sensible et qui s'effectue en deux étapes:

- Adjonction d'un polymère (Dextran), marqué à la peroxydase de Raifort (HRP) conjugué à l'Ac secondaire qui se lie à l'Ac primaire.
- Adjonction d'un substrat chromogène DAB

La peroxydase qui a pour substrat le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), oxyde le DAB et donne un précipité brun dans le milieu de réaction (figure 6).

Une contre coloration avec l'hématoxyline recoloré les noyaux en bleu et rend possible la détermination topographique du marquage.

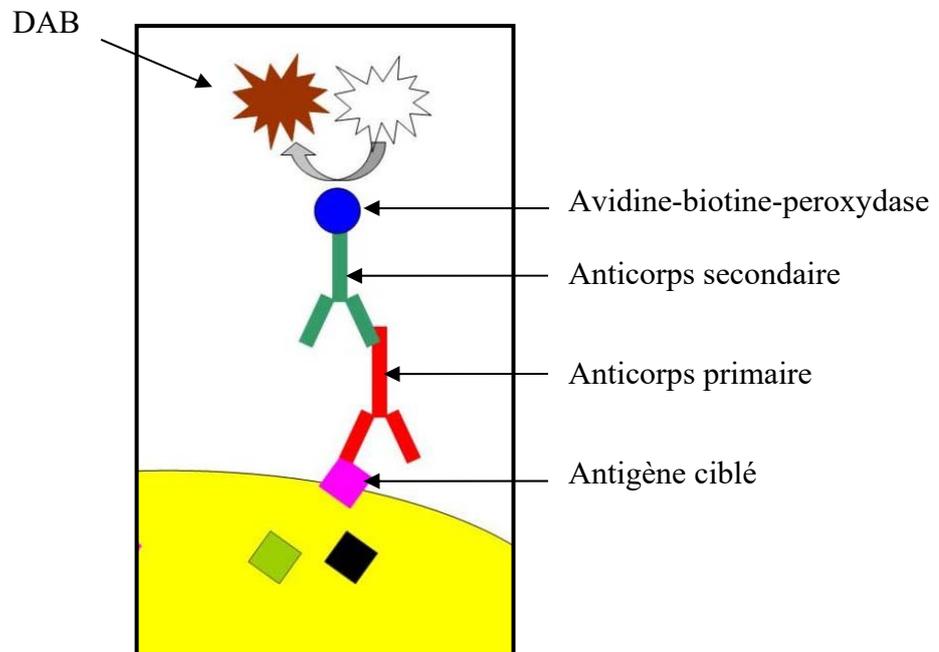


Figure 6 : Principe de l'immunomarquage (méthode d'amplification du signal LSAB) (Couture., 2011)

II.2.2 Mode opératoire:

- **Préparation des lames:**

- Réaliser des coupes de 1 à 3 μm d'épaisseur sous forme de ruban.
- Étaler les rubans placés dans le bain marie sur des lames silanisées et les déposer sur une plaque chauffante pour éviter le décollement des tissus lors de la manipulation.
- Graver les lames en mentionnant le numéro du bloc et l'Ac utilisé.
- Incubation des lames dans une étuve à 60°C pendant 24h pour une meilleure adhésion des tissus sur lames.

- **Prétraitement:**

Cette étape a été réalisée à l'aide d'un appareil PT Link (Dako) qui assure le déparaffinage, la réhydratation ainsi que le démasquage antigénique afin d'inhiber les effets secondaires de la fixation.

Le démasquage antigénique pour CD20, CD3, CD8, CD4, CD68 et CD56 a été réalisé grâce au chauffage par une solution à pH-9 suivi d'un rinçage dans une solution de lavage pendant 5 min. Les lames sont mises dans une chambre humide à l'abri de la lumière.

- **Blocage de peroxydase endogène:**

Afin de bloquer les peroxydases endogènes, on dépose 100 µl de peroxydase (PBR) à base d' H₂O₂ pendant 15 min, puis nous avons procédé à 3 lavages de 5 min chacun dans un tampon approprié

- **Technique immunohistochimique par la méthode LSAB (Labelled Streptavidin-Biotine):**

- **Ajout de l'anticorps primaire:**

20 µl d'anticorps primaire monoclonal (Annexe3) ont été déposés sur les coupes de biopsies. Après une incubation d'une heure, les lames ont subi 3 lavages pendant 5 min chacun pour éliminer les Ac libres à l'origine du bruit de fond.

- **Ajout de l'anticorps secondaire:**

Une incubation avec l'anticorps secondaire type HRP d'une durée de 20 min suivie de 03 lavages pendant 05 min chacun.

- **Révélation:**

Le chromogène substrat DAB est déposé sur l'échantillon, suivi d'un temps d'incubation de 5 à 10 min. L'enzyme dégrade le substrat, et le produit qui en résulte en présence du chromogène donne une coloration marron, suivi d'un lavage avec l'eau distillée.

- **Contre coloration:**

Nous avons effectué une contre coloration à l'hématoxyline pendant 01 min, suivi d'un rinçage. Cette étape a pour but de colorer le noyau en bleu.

- **La batterie finale:**

Une étape de déshydratation par 03 bains d'alcool à concentration croissante a été réalisée pendant 05 min chacun, suivie de 03 bains de xylène pour l'éclaircissement pendant 05 min chacun.

- **Montage:**

La lame est recouverte par une lamelle après y avoir déposé une goutte d'Eukitt.

II.2.3 Interprétation au microscope :

Cela s'est fait grâce à la lecture sous microscope optique aux grossissements x200 et x400.

I. Répartition des patients atteints du syndrome de Gougerot Sjögren selon le sexe :

Les 10 patients atteints du syndrome de Gougerot Sjögren sont 100% de sexe féminin (Annexe4).

La forte prévalence de femmes retrouvée dans cette étude est en accord avec la majorité des études rapportant d'une façon unanime une prédominance féminine, qui varient de 89% à 95%, soit environ 9 femmes pour un homme (Mark., 2002). Dans une étude prospective sur 130 patients atteints de SGS en milieu hospitalier il a été retrouvé 120 femmes atteintes du SGS pour 10 hommes (Diallo *et al.*, 1999). Cette prévalence est également en accord avec celle retrouvée dans la plupart des maladies auto-immunes (Currey., 1988).

Il est bien établi que le SGS est plus fréquent chez la femme, faisant ainsi évoquer le rôle des facteurs hormonaux. Les œstrogènes ont été impliqués dans la forte prépondérance féminine des maladies auto-immunes (Hayashi., 2004).

II. Répartition des patients atteints du syndrome de Gougerot Sjögren selon l'âge:

Nos patients atteints de SGS ont une étendue d'âge variant se situant entre 29 et 74 ans avec une moyenne d'âge (52 ± 16.33) ans. La tranche d'âge la plus atteinte dans notre série est celle de la sixième décennie avec 4 cas, soit 40% de la population (figure 7).

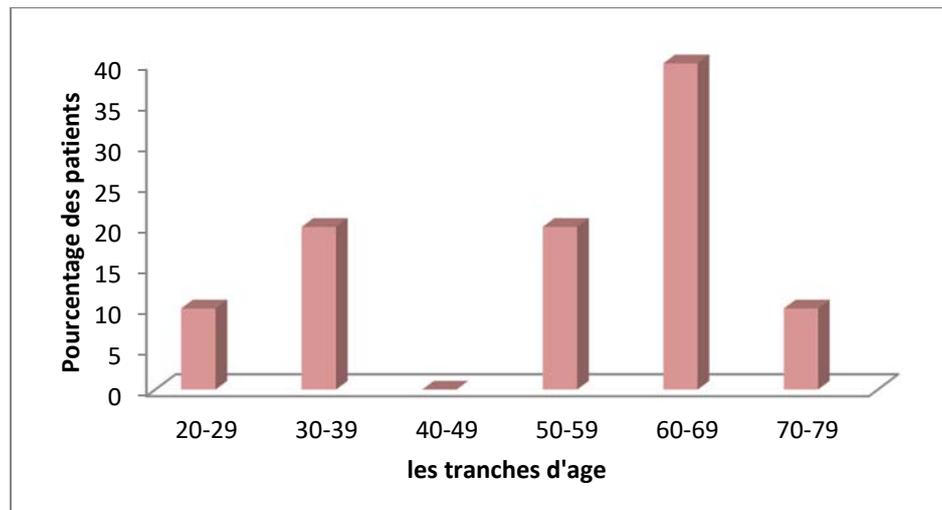


Figure 7: Répartition des patients selon les tranches d'âge.

Cette tranche d'âge correspond chez la femme à la ménopause, cette constatation concorde avec des données rapportés dans une étude ultérieure (Arakaki *et al.*, 2010). Il a également été rapporté dans ce contexte que le pic de survenue du SGS survient après la ménopause, cette suspicion a été appuyée par des modèles expérimentaux murins dans lesquelles une carence en œstrogène a été observée. Dans ce même sens il a aussi été démontré dans une autre étude que les patientes avec un SGS présentent une diminution du taux circulant de la déhydroépiandrostérone-sulfate (DHEA-S) (un précurseur des œstrogènes et des androgènes, secrétés par les glandes surrénales) (Valtysdottir *et al.*, 2001).

Une étude portant sur des femmes post-ménopausées avec un SGS primaire montre qu'une diminution du taux de stéroïdes sexuels est associée avec des symptômes de la maladie, comme la présence d'anticorps anti-SSA et/ou anti-SSB, la kératoconjonctivite sèche, le syndrome sec buccal et oculaire et le taux de sédimentation des érythrocytes (Forsblad-d'Elia., 2009). En outre, la diminution de production des œstrogènes par les ovaires, ainsi que la diminution des hormones observée dans le SGS pourraient expliquer la prédominance des femmes dans l'atteinte de la maladie et l'âge d'apparition ou de développement des symptômes (Valtysdottir., 2001).

Par ailleurs, le traitement par la déhydroépiandrostérone (DHEA) restaure le taux hormonal à la normale chez les patientes et induit une amélioration du syndrome sec. Cependant, une autre étude n'a pas réussi à démontrer l'efficacité du traitement par DHEA sur l'augmentation du taux d'androgènes localement (Porola., 2011).

III. Répartition des patients selon le type du syndrome de Gougerot-Sjögren:

Parmi les 10 patients de notre étude atteints de SGS on a constaté une proportion de 57% soit un nombre de 4 patients présentant un SGS de type secondaire dont trois secondaires à une polyarthrite rhumatoïde et un à un lupus et une proportion de 43% soit un nombre de 3 patients présentent un SGS de type primitif (figure 8). Il est à signaler que les 3 derniers patients restants représentant de notre série demeurent de type indéterminé et ce en raison d'une insuffisance de renseignements cliniques.

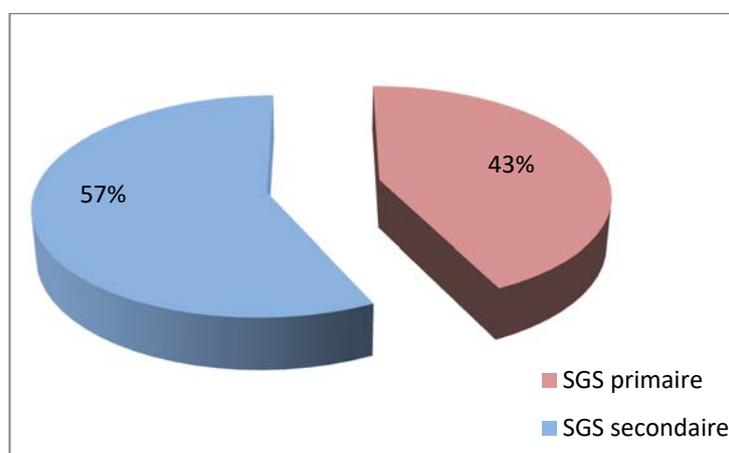


Figure 8: Répartition des patientes selon le type du SGS.

Nos résultats corroborent avec ceux de l'étude établis par (Diallo et al., 1999) où la prévalence du SGS secondaire était de 86,1%. Elle corrobore également avec les données de la littérature, le SGS est associé dans plus de la moitié des cas à un rhumatisme inflammatoire, les plus fréquemment retrouvés sont la polyarthrite rhumatoïde (PR) (25 à 50% des cas), le lupus systémique (5 à 15% des cas), la sclérodermie (5 à 15% des cas) et la polymyosite (6% des cas) (Weill et al., 2003). En règle générale, la PR précède l'installation du SGS de plusieurs années (Sany., 2003).

Parmi les 4 patientes atteintes de SGS secondaire, 3 sont âgées de plus de 50 ans, ce qui rejoint aux données de la littérature, le SGS secondaire chez la femme apparait surtout quand la patiente franchit le cap de la ménopause (Andonopoulos., 1990).

IV. Répartition des patients atteints du syndrome de Gougerot Sjögren selon le grade:

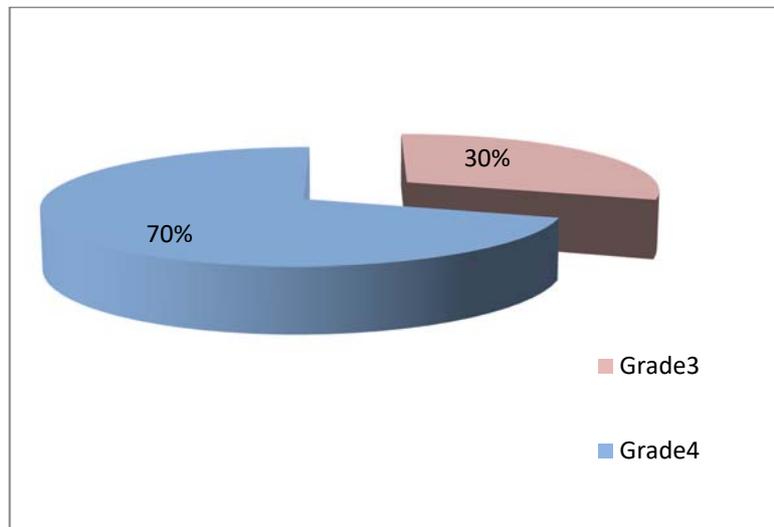
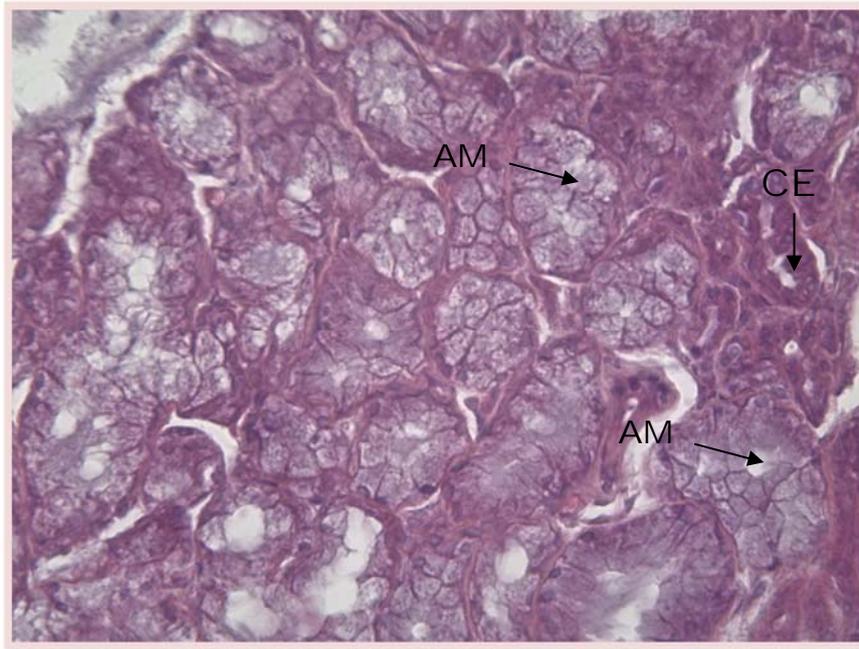


Figure 9: Répartition du SGS selon le grade.

Notre étude révèle que sur un total de 10 cas, 07 sont de grade 4 soit un pourcentage de 70% et 03 cas sont de grade 3 soit un pourcentage de 30%, d'après la classification Chisholm et Mason (figure 12).

V. Etude des modifications architecturales observées au niveau des glandes salivaires accessoires chez des patients atteints du syndrome de Gougerot Sjögren

L'examen histopathologique des biopsies des glandes salivaires accessoires (BGSA) de nos patients (figure 10 et 11) montre un infiltrat inflammatoire essentiellement lymphocytaire autour des acini et de canaux excréteurs entraînant une atrophie, parfois une altération de ces derniers et donc une désorganisation architecturale, contrairement aux BGSA d'un sujet non atteint du SGS (cas témoin) (figure 9).



AM: Acini muqueux, CE : Canal excréteur

Figure10 : Histologie d'un parenchyme d'une glande salivaire accessoire de grade 0 (coloration HE, GX400).

Chez les patients atteints du SGS, l'étendue de l'infiltrat inflammatoire est déterminée par la classification de Chisholm et Mason ; où l'on note une infiltration du parenchyme salivaire par des cellules inflammatoires organisés en un seul focus/4mm², ce qui correspond au grade 3 (figure 10) ou plus d'un focus, correspondant ainsi au grade 4 (figure 11).

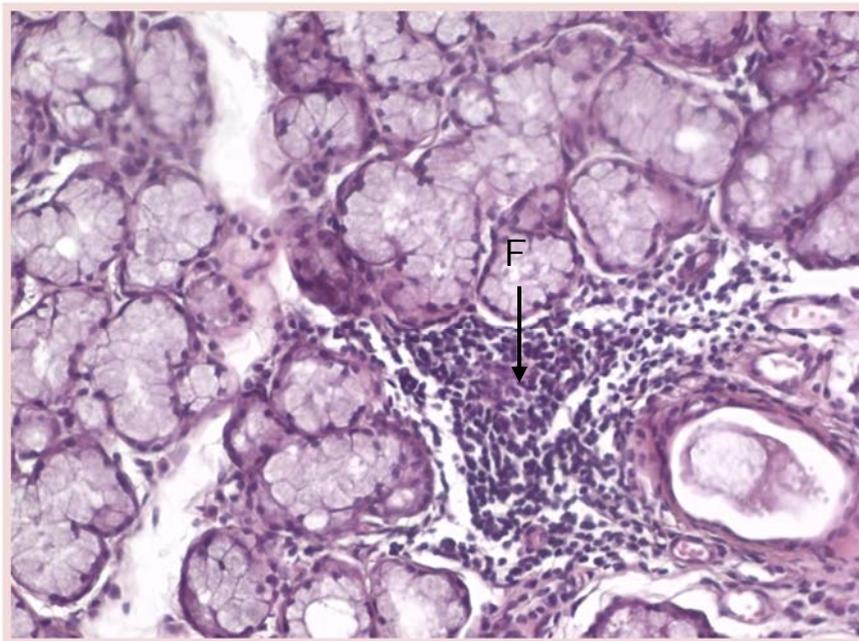


Figure11 :

Représentation histologique d'un SGS de grade 3 (coloration HE, GX400).

F : Focus (+ de 50 lymphocytes)

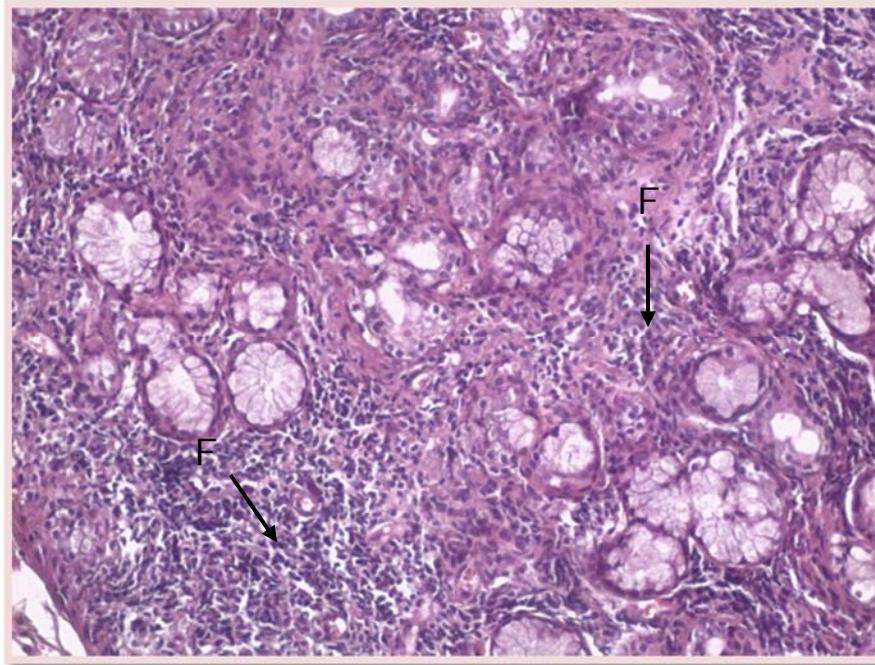


Figure 12: Représentation histologique d'un SGS de grade 4 (coloration HE, GX400).

F : Focus (+ de 50 lymphocytes)

Une étude rapporte que histologiquement, les glandes salivaires sont caractérisées par un infiltrat lymphocytaire, une prolifération parenchymateuse et une altération des structures glandulaires (acini et canaux excréteurs) (Pijpe et *al.*, 2009). L'infiltration lymphocytaire focale représente la découverte histopathologique caractéristique de la maladie. Des corrélations ont été faites entre l'étendue de l'infiltration lymphocytaire (score focal) et la fonction de la glande salivaire (Bookman et *al.*, 2014).

VI. Identification des cellules participant à la composition de l'infiltrat inflammatoire dans le SGS à l'étude immunohistochimique (IHC):

Au cours de notre étude d'IHC ayant été réalisée sur les BGSA de nos patients ainsi que du cas témoin en utilisant le panel d'Ac: CD20, CD3, CD4, CD8, CD56, et CD68 à la recherche respective des cellules B, T, T helper, T cytotoxique, cellules natural killer (NK) et macrophages (Annexe 4):

- Chez un témoin, nous notons une expression faible et éparse des cellules T par le CD3 (figure 13-A) et le CD8 (figure 13-C), les autres Ac (CD20, CD4, CD68, CD56) sont revenus tous négatifs (figure 13-B et 13-D).

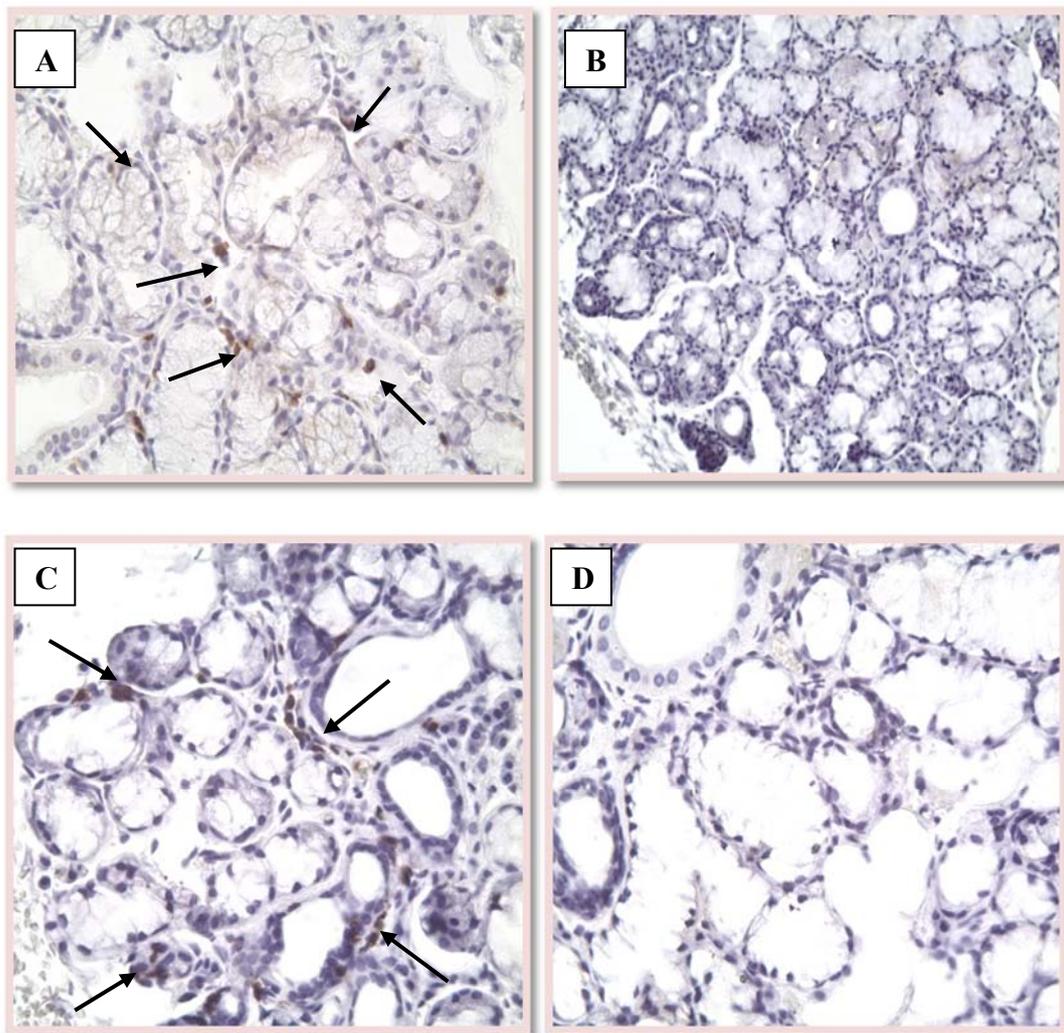


Figure 13 : Représentation immunohistochimique d'un témoin de grade 2 :GX200(B) ; GX400 (A-C-D)

Flèches : marquage membranaire

- Chez les patients atteints de SGS, les lymphocytes T (LT) et les lymphocytes B (LB) a constitué la grande majorité des cellules inflammatoire infiltrant (plus de 90% des cellules mononucléaires).

VI.1. Expression des lymphocytes T-CD3 et lymphocytes B :

Parmi ces LT, les LT-CD3 a prédominé les LB avec 7 cas, soit 70% et 3 cas, soit 30% pour les cellules T et B, respectivement (figure 14).

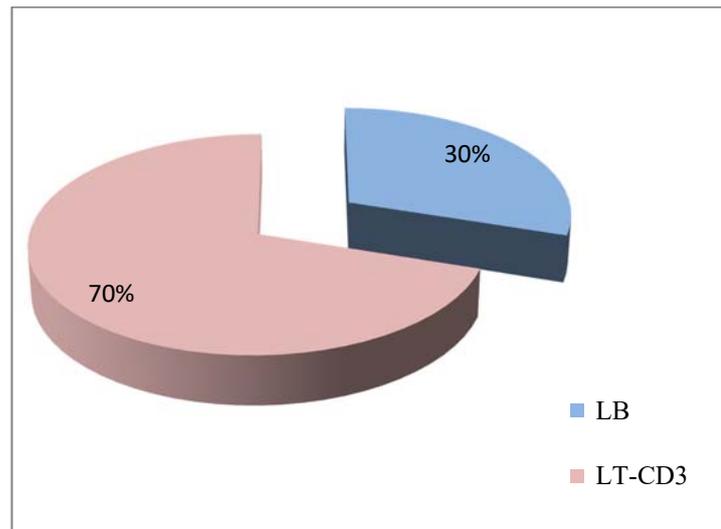


Figure 14 : Répartition des lymphocytes T-CD3 et lymphocytes B.

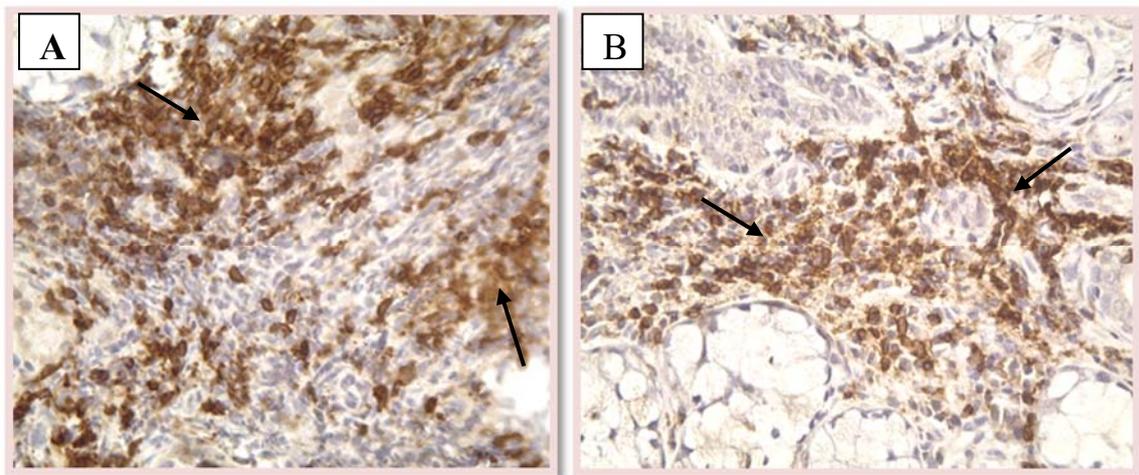


Figure 15 : Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des lymphocytes T CD3 (GX400).

Les LT-CD3 étaient principalement localisés au niveau de la périphérie des infiltrats (flèches) pour le grade 3 (figure 15-A) ainsi que pour le grade 4 (figure 15-B), Alors que les LB-CD20 étaient principalement situés au centre (flèches), plus évidents dans le grade 4 (figure 16-B). Ce qui corrobore avec l'étude établie par (Christodoulou *et al.*, 2010), qui ont remarqué que les cellules T CD3+ étaient principalement situées à la périphérie des infiltrats, alors que LB CD20 dans le centre. Cette distribution était plus évidente dans les lésions sévères ainsi qu'au niveau des centres germinatifs (GC).

L'organisation des LB en centres germinatifs (CG) est un facteur tissulaire prédictif du lymphome. **(Theander et al., 2011)**. Le développement d'un lymphome, plus particulièrement le lymphome non hodgkinien est considéré comme un mauvais pronostic dans la progression du SGS. En effet, il est décrit comme la principale cause de mort prématurée au cours du SGS, **(Theander et al., 2004)**, les patients atteints d'un SGS ont 18 fois plus de risque de développer un lymphome par rapport à la population générale **(Zintzaras et al., 2005)**.

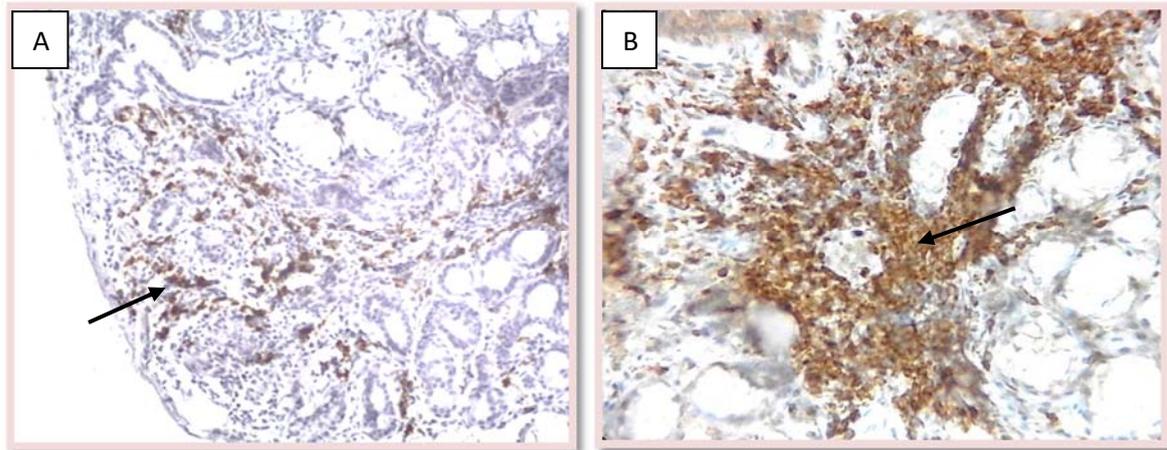


Figure 16 : Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des lymphocytes B CD 20 (GX400); (A) :GX200 ; (B) : GX400

Une analyse des biopsies de glandes salivaires dans le SGS a révélé que les LB et les LT représentent la majorité des cellules infiltrantes **(Banchereau et al., 1998)** ce qui corrèle avec nos résultats. **(Christodoulou et al., 2010)** a révélé que l'incidence des cellules LT CD3+ et de leurs sous-populations T CD4+ et Tregs, LB-CD20, macrophage CD68 varie selon le grade d'infiltration, ils ont constaté que les lymphocytes T diminuent, tandis que les cellules B augmentent avec le grade d'infiltration et semblent avoir une distribution inverse. En effet, il a été révélé une forte corrélation négative entre l'incidence des cellules LT CD3+ et LB-CD20. D'après **(Adamson., 1983)** et **(Pepose., 1990)** les lymphocytes T sont les cellules effectrices primaires de l'inflammation des organes cibles et du dysfonctionnement glandulaire.

Les lymphocytes T activés produisent des cytokines inflammatoires qui favorisent la différenciation des cellules B et la commutation de classe **(Hansen et al., 2007)**. Dans un rapport récent, **(Varin et al., 2012)** ont montré que dans le syndrome de Sjögren, les lymphocytes B étaient associés directement aux lésions tissulaires en induisant l'apoptose des cellules épithéliales des glandes salivaires par activation de la protéine kinase C delta.

VI.2 Expression des lymphocytes T-CD4 et lymphocytes T-CD8 :

Les résultats d'IHC ont montré une prédominance des LT CD4 dans 9 cas, soit 90% par rapport au LT CD8 qui étaient prédominantes dans un seul cas, soit 10% (figure 17).

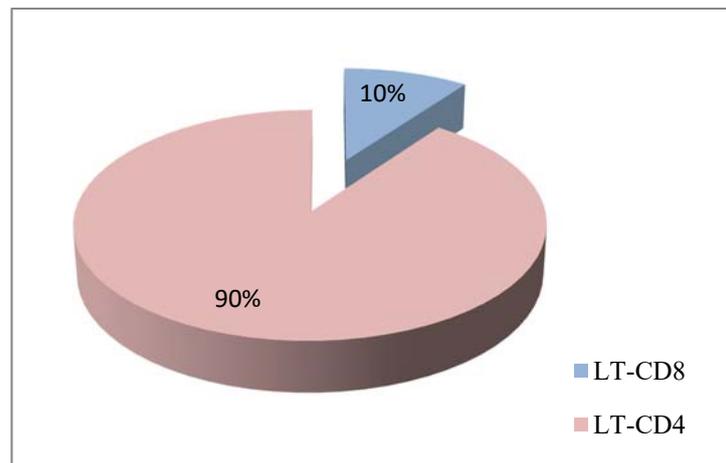


Figure 17: Expression des lymphocytes T-CD4 et T-CD8.

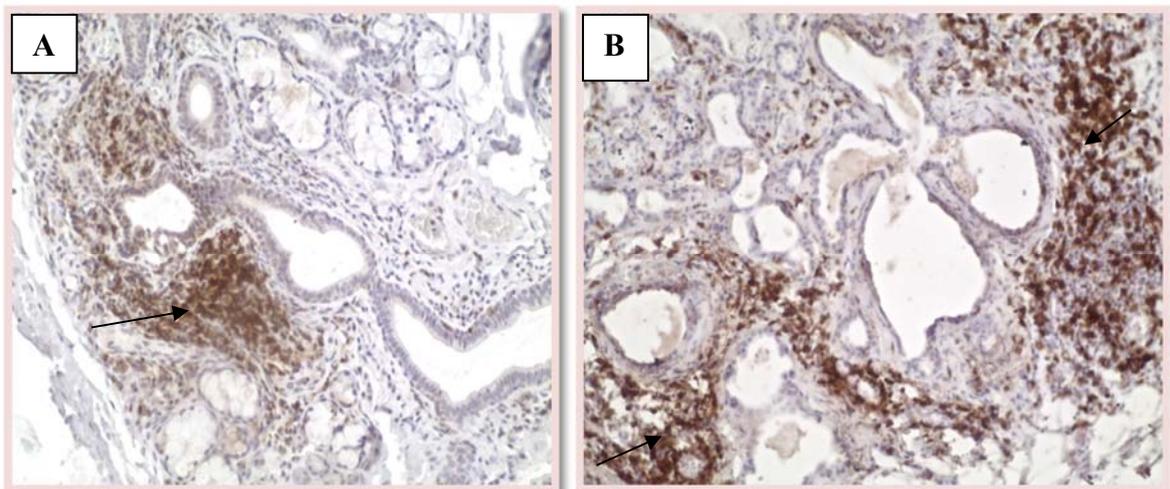


Figure 18: Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des lymphocytes T CD4 (GX 200).

Flèches : marquage membranaire

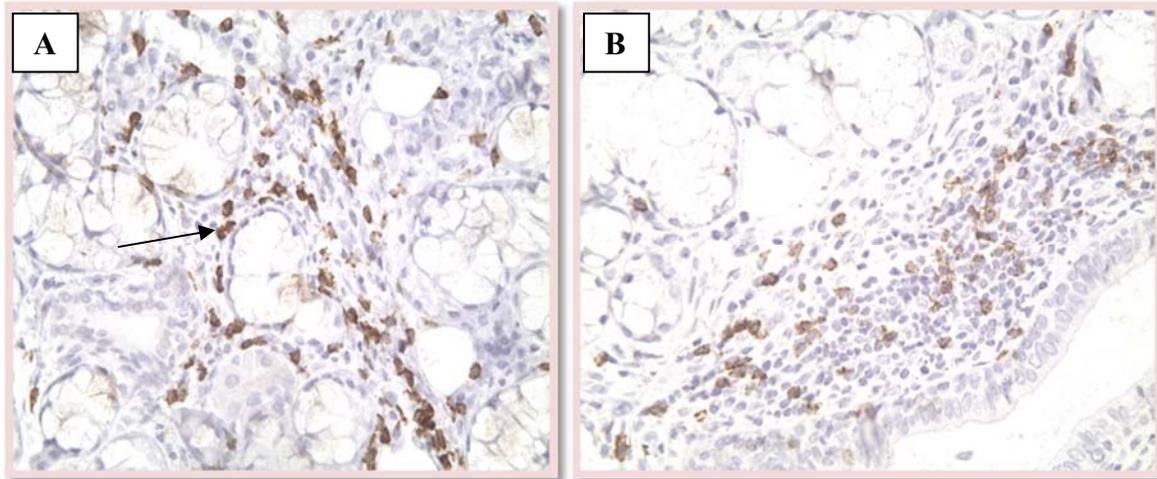


Figure 19 : Représentation d'une BGSA effectuée chez un SGS démontrant la présence des lymphocytes T CD8 (GX400)

Flèches : marquage membranaire

Nos résultats corroborent avec ceux de l'étude établie par (Young et al., 2014), l'étude immunohistochimique a rapporté que les infiltrats des glandes salivaires et lacrymales étaient principalement LT CD4 (helper), avec des niveaux minimaux de lymphocytes T CD8 (ratio CD4/CD8 : 3-5/1) (Mitsias et al., 2002)

Les lymphocytes T CD8, contiennent du granzyme et peuvent donc avoir une action cytotoxique alors que les lymphocytes TCD4 favorisent la réaction immunitaire après avoir reconnu différents antigènes glandulaires plus ou moins spécifiques, dont les antigènes SS-A/Ro, SS-B/La et la fodrine (Mariette., 2010).

D'autre part, une étude a expliqué la présence des lymphocytes T CD4 par le pouvoir de différenciation de ces derniers en LT Th1 qui permettent l'élimination des pathogènes intracellulaires et en LT Th2 qui permettent l'activation des LB. L'interferon gamma (IFN γ) sécrété par les LT Th1 a un effet suppresseur sur les LT Th2. Toutefois, les LT Th2 produisent l'IL4 et l'IL10, activant ainsi les LB producteurs d'anticorps et inhibant la réponse Th1. Cependant, la balance Th1/Th2 penche du côté Th1 dans le tissu exocrine, surtout dans les glandes hautement infiltrées (Mitsias et al., 2002).

VI.3 Expression des Natural killer (NK) CD56 :

L'expression du CD56+NK était négative dans la totalité des cas (figure 20).

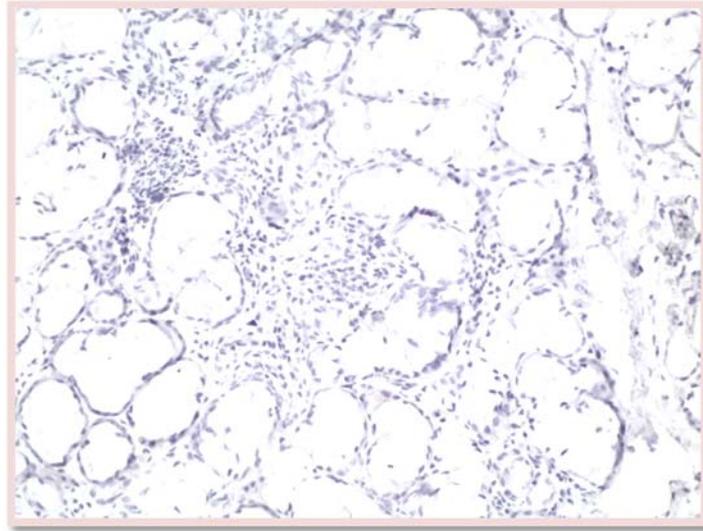


Figure 20: Représentation d'une BGS effectuée chez un SGS démontrant la présence des cellules NK CD56+ (GX 200)

Le rôle des cellules NK au cours du SGS reste incertain. Les cellules CD56 + NK ont été retrouvées en très petits nombres parmi les cellules infiltrantes totales des glandes salivaires accessoires des patients atteints de SGS sans variation en fonction du grade de l'inflammation (**Christodoulou et al., 2010**). Cependant, dans une autre étude, les cellules NKp44+ NK ont été retrouvées en dehors de la lésion inflammatoire suivant la même répartition avec les cellules dendritiques plasmacytoïdes (CDp) et leur nombre a été corrélé avec l'augmentation du score focale et la sévérité de la maladie (**Ciccia et al., 2012**).

Alors que (**Rusakiewicz et al., 2013**), ont noté que les cellules NK résidentes dans le tissu exprimant le récepteur NKp30, peuvent interagir avec les cellules épithéliales, cette interaction pourrait accentuer l'envahissement de l'état inflammatoire sur le site de la lésion par la sécrétion d'IFN- γ .

VI.4 Expression des macrophages CD68 :

L'expression des macrophages CD68 était très faible (figure 21). Corrélatant ainsi avec une autre étude rapportant que les macrophages représentent moins de 10% de la population cellulaire totale (**Theander et al., 2011**).

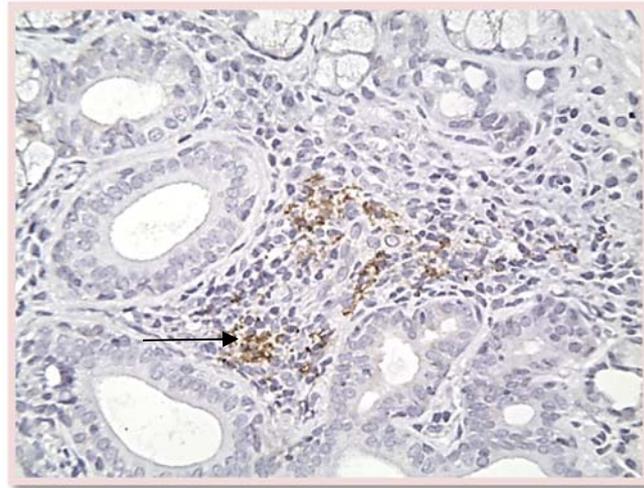


Figure 21: Représentation d'une BGS effectuée chez un SGS démontrant la présence des cellules NK CD68+ (GX 400)

Flèches : marquage membranaire

Les macrophages font partie des cellules retrouvées dans les lésions des glandes salivaires au cours du SGS et que leur présence a été associée à la sécrétion d'interleukine 2 (IL-12) et interleukine 23 (IL-23) dans le SGS (**Manoussakis et al., 2007**). Une étude dans ce contexte a démontré que la présence des macrophages et des monocytes ainsi que leur augmentation est associée à la sévérité des lésions (progression de la maladie) chez les patients atteints du SGS. Leur présence a été associée à la sécrétion d'IL-12 et IL-23 dans le SGS (**Christodoulou et al., 2010 ;Kastifis et al., 2009**).

Autres études ont suggéré un rôle important pour les macrophages dans la pathologie des glandes salivaires, d'après (**Roescher et al., 2012**), dans le modèle NOD de SS, les macrophages sont recrutés sur le tissu des glandes salivaires avant les lymphocytes, ce qui suggère que l'infiltration des macrophages est un événement précoce qui favorise le chimiotactisme des cellules immunitaires.

Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus à l'issue de ce présent travail, qui a porté sur l'étude histologique et immunohistochimique des glandes salivaires accessoires chez des patients algériens atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren ont montré :

- ❖ Une forte prédominance féminine autour de la ménopause.
- ❖ L'existence de deux types d'SGS:
 - ✓ Primaire, soit 43%.
 - ✓ Secondaire, soit 57% dont la majorité sont associés à la polyarthrite rhumatoïde.
- ❖ Une désorganisation architecturale au niveau des glandes salivaires accessoires ; se caractérisant chez nos patients par la présence d'un infiltrat cellulaire, où prédomine des lymphocytes T et B qui ont constitué la grande majorité des cellules inflammatoires infiltrant (plus de 90% des cellules mononucléaires).
- ❖ Une prédominance des lymphocytes T par rapport aux lymphocytes B chez 70% des cas.
- ❖ une prédominance des T CD4 chez 90% des cas.
- ❖ Une très faible présence de macrophages.
- ❖ Une absence des Natural killer.

En perspective, il serait intéressant d'augmenter notre échantillonnage et d'explorer d'autres sous population cellulaire faisant partie de ce foyer inflammatoire.

Références bibliographiques

- ❖ **ADAMSON T.C. III, FOX R.I, FRISMAN D.M, HOWELL F.V.,1983.** Immunohistologic analysis of lymphoid infiltrates in primary Sjogren's syndrome using monoclonal antibodies, *J. Immunol.* 130 203–208.
- ❖ **ANAYA J-M, ROJAS-VILLARRAGA A, SCHOENFELD Y., 2013.** From de mosaic of autoimmunity to the autoimmune tautology. In: Anaya J-M, Schoenfeld Y, Rojas-Villarraga A, et al, editors. *Autoimmunity from bench to bedside*. First. Bogota' (Colombia): El Rosario University Press; p. 237–45.
- ❖ **ANDONOPOULOS AP, DROSOS AA, SKOUPOLI FN, DIMOU GS, MOUTSOPOULOS HM., 1990.** Sjögren's syndrome in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* ; 17 : 201-4
- ❖ **ARAKAKI R, ISHIMARU N, HAYASHI Y., 2010.** Immunotherapeutic targets in estrogen deficiency-dependent Sjögren's syndrome-related manifestations. *Immunotherapy*; 2:339–46.
- ❖ **BALÁZS M, MARTIN F, ZHOU T, KEARNEY J., 2002.** Blood dendritic cells interact with splenic marginal zone B cells to initiate T-independent immune responses. *Immunity*; 17:341–52.
- ❖ **BANCHEREAU J, STEINMAN RM., 1998.** Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392(6673): 245-252.
- ❖ **BARTFELD H., 1969.** Distribution of rheumatoid factor activity in nonrheumatoid states. *Ann N Y AcadSci*; 168:30–40.
- ❖ **BLANCO S, AYENSA C, AGUD J, ZUBIZARRETA J., 1992.** Paralysis of the respiratory muscles in polymyositis; Treatment with cyclophosphamide pulses. *Rev Clin Esp*;191(2):111–2.
- ❖ **BLASCHEK MA, PENNEC YL, SIMITZIS AM, LE GOFF P, LAMOUR A, KERDRAON G, et al.,1988.** Anti-Golgi complex autoantibodies in patients with primary Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatol*; 17:291–6.
- ❖ **BINARD A, DEVAUCHELLE-PENSEC V, FAUTREL B, JOUSSE S, YOUINO P, SARAUX A., 2007.** Epidemiology of Sjögren's syndrome: where are we now? *ClinExpRheumatol*, 25(1): 1-4, revue.
- ❖ **BOOKMAN AA, SHEN H, COOK RJ, et al., 2014.** Whole stimulated salivary flow: correlation with the pathology of inflammation and damage in minor salivary gland biopsy specimens from patients with primary Sjogren's syndrome but not patients with sicca. *Arthritis Rheum* 2011; 63(7):20.

- ❖ **BOWMAN SJ, RAO V., 2014.** Sjogren syndrome. *Medecine*; 42(3):162-166.
- ❖ **CAMUS PH, FOUCHER P, BONNIAUD PH, ASK K., 2001.** Drug-induced infiltrative lung disease. *EurRespir J Suppl* 32:93s-100s.
- ❖ **CHISHOLM DM, MASON DK., 1968.** Labial salivary gland biopsy in Sjogren's disease. *J ClinPathol*; 21(5):656–60.
- ❖ **CHRISTODOULOU MI, KAPSOGEOURGOU EK, MOUTSOPOULOS HM.,2010.** Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjögren's syndrome, *J Autoimmun*, 34; 400-407.
- ❖ **CICCIA F, GUGGINO G, RIZZO A, FERRANTE A, RAIMONDO S, GIARDINA A, DIELI F, CAMPISI G, ALESSANDRO R, TRIOLO G., 2012.** Potential involvement of IL-22 and IL-22-producing cells in the inflamed salivary glands of patients with Sjogren's syndrome, *Ann Rheum Dis*, 71; 295-301.
- ❖ **COUTURE C., 2011.** Marqueurs moléculaires. Mise à jour en oncologie thoracique. IUCPQ. University Laval.
- ❖ **CURREY HL., 1988.** Essentials of Rheumatology. Churchill Livingstone, New York: 49p.
- ❖ **DANIELS TE, SILVERMAN S JR, MICHALSKI JP, GREENSPAN JS, SYLVESTER RA, TALAL N., 1975.** The oral component of Sjogren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 39: 875 - 85.
- ❖ **D'ARBONNEAU F, ANSART S, LE BERRE R, DUEYMES M, YOUINOUE P, PENNEC YL., 2003.** Thyroid dysfunction in primary Sjögren's syndrome : A long term followup study. *Arthritis Rheum*; 49: 804 - 9.
- ❖ **DARIDON C, DEVAUCHELLE V, HUTIN P, LE BERRE R, MARTINS-CARVALHO C, BENDAOU B, et al.,2007.** Aberrant expression of BAFF by B-lymphocytes infiltrating the salivary glands of patients with primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum*;56:1134–44.
- ❖ **DELCAMBRE B, TONNEL F., 1989.** Syndrome de GougerotSjögren. *Encycl. Med, chir, Appareil locomoteur*, 14 - 223 - A - 4,5p.
- ❖ **DEVAUCHELLE-PENSEC V, PENNEC Y, MORVAN J, PERS JO, DARIDON C, JOUSSE- JOULIN S, et al.,2007.** Improvement of Sjögren's syndrome after two infusions of rituximab (anti-CD20). *Arthritis Rheum*;57:310–7.
- ❖ **DEVOIZE L, DALLEL R., 2010.** Salivation. In : EMC (Elsevier Masson SAS) Médecine buccale; 28-150-M-10. Disponible sur <http://www.em-premium.com.bases-doc.univ-lorraine.fr/article/189353/> (consulté le 14.06.2011).

- ❖ **DIALLO S., POUYE A., DANGOU J.M., TOURE S. et al.,1999.** Syndrome de Gougerot-Sjögren chez le noir africain. Etude prospective de 130 observations. *Rev.rhumatol.* 68: 1009.
- ❖ **FATTORUSSO V, RITTER O., 2004.**Lymphomes malins non hodgkiniens. *Vademecum clinique du diagnostic au traitement* p.565-568. Masson.
- ❖ **FORSBLAD-D'ELIA H, CARLSTEN H, LABRIE F, KONTTINEN YT, OHLSSON C., 2009.** Low serum levels of sex steroids are associated with disease characteristics in primary Sjögren's syndrome; supplementation with dehydroepiandrosterone restores the concentrations. *J ClinEndocrinolMetab* 94(6): 2044-2051.
- ❖ **FOX RI., 2005.** Sjögren's syndrome. *Lancet*;366:321–31.
- ❖ **FOX RI, KANG H.I., 1992.** Pathogenesis of sjogren's syndrome. *Rheum Dis Clin North Amer*18 : 517-38.
- ❖ **GIRMENS J.F., FAJNKUCHEN F., GODMER P., et al., 2001.** Caractéristiques cliniques d'une série de patients atteints d'un syndrome sec associé au syndrome de Gougerot-Sjögren. 107e congrès de la Société française d'ophtalmologie. Paris, 5-9.
- ❖ **GODEAU P, HERSON S, PIETTE JC., 2004.** *Traité de médecine.* Paris, Medecine science. Flammarion, 4e edition; 160-70.
- ❖ **GOTTENBERG J.E, MARIETTE X., 2007.** Actualités sur la physiopathologie du syndrome de GougerotSjögren. *Revue du Rhumatisme* 74: 732-36.
- ❖ **HAKKOU F, CHBICHEB S, EL WADY W., 2011.** Syndrome de Gougerot-Sjögren: manifestations buccales et prise en charge.*Med Buccale Chir Buccale*;17:323-330.
- ❖ **HANSEN A, LIPSKY P.E, DÖRNER T., 2007.** B cells in Sjögren's syndrome: indications for disturbed selection and differentiation in ectopic lymphoid tissue, *Arthritis Res Ther*, 9 218.
- ❖ **HARTON PY, FAUCHAIS AL., 2001.** Le syndrome de GougerotSjögren primitif. *Rev Prat*; 51 : 159-64.
- ❖ **HAYASHI Y, ARAKAKI R, ISHIMARU N., 2004.** Apoptosis and estrogen deficiency in primary Sjogren syndrome. *CurrOpinRheumatol*; 16: 522-6.
- ❖ **HELMICK CG, FELSON DT, LAWRENCE RC, GABRIEL S, HIRSCH R, KWOH CK, et al., 2008.** Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. *Arthritis Rheum.* janv;58(1):15- 25.
- ❖ **HULKKONEN J, PERTOVAARA M, ANTONEN J, PASTERNAK A, HURME M., 2001.** Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the

promoter region polymorphism of the IL6 gene in primary Sjogren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease. *Rheumatology (Oxford)*; 40: 656 - 61.

- ❖ **KAPLAN G, MARIETTE X., 2000.** Syndrome de Gougerotsjogren. In : MF Kahn, Peltier AP, Meyer O, Piette. *Maladies et syndromes systémiques*. Paris, Flammarion Medecine - Science: 533 - 573.
- ❖ **KAPLAN G., MARIETTE X., 1986.** Syndrome de Gougerot-Sjögren. In : *Les maladies et syndromes systémiques*. /KAHN M.F. et PELTIER A.P.: *Les Maladies systémiques*. Flammarion, Paris: 329.
- ❖ **KASSAN SS ET MOUTSOPOULOS HM., 2004.** Clinical manifestations and early diagnosis of sjogren syndrome. *Arch Intern Med*; 164(12): 1275-1284.
- ❖ **KATSIFIS GE, REKKA S, MOUTSOPOULOS NM, PILLEMER S, WAHL SM., 2009.** Systemic and local interleukin-17 and linked cytokines associated with Sjögren's syndrome immunopathogenesis. *Am J Pathol* 175(3): 1167-1177.
- ❖ **KATZ P.,2011.** Imagerie normale des glandes salivaires [en ligne]. In: EMC (Elsevier Masson SAS) *RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE: Cardiovasculaire - Thoracique - Cervicale* 2006; 32-800-A-20. Disponible sur <http://www.em-premium.com.bases-doc.univ-lorraine.fr/article /52119>.
- ❖ **KLARESKOG L, CATRINA AI, PAGET S., 2009.** Rheumatoid arthritis. *Lancet*;373:659–72.
- ❖ **KONG L, OGAWA N, NAKABAYASHI T, LIU GT, D'SOUZA E, MCGUFF HS, et al.,1997.** FasandFas ligand expression in the salivary glands of patients with primary Sjögren'ssyndrome. *Arthritis Rheum*; 40:87–97.
- ❖ **KRUSZKA P et O'BRIAN RJ.,2009.** Diagnosis and management of Sjogrensyndrom. *Am Fam Physician*; 79(6):465-470.
- ❖ **KUWANA M., OKANO T., OGAWA Y., KABURAKI J., KAWAKAMI Y., 2001.** Autoantibodies to the amino-terminal fragment of beta-fodrin expressed in glandular epithelial cells in patients with Sjögren's syndrome. *J Immunol*167 : 5449-5456.
- ❖ **LAVIE F, MICELI-RICHARD C, QUILLARD J, ROUX S, LECLERC P, MARIETTE X., 2004.**Expression of BAFF (BLyS) in T-cells infiltrating labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. *J Pathol*;202:496–502.
- ❖ **LE POTTIER L, DEVAUCHELLE V, FAUTREL A, DARIDON C, SARAUX A, YOUINOU P, PERS JO., 2009.** Ectopic germinal centers are rare in Sjögren's syndrome salivary glands and do not exclude autoreactive B cells. *J Immunol* 182(6): 3540-3547.

- ❖ **LITINSKIY MB, NARDELLI B, HILBERT DM, HE B, SCHAFFER A, CASALI P, CERUTTI A., 2002.** DCs induce CD40-independent immunoglobulin class switching through BLyS and APRIL. *Nat Immunol* 3(9): 822-829.
- ❖ **LULLMANN-RAUCH R., 2008.** Histologie. Edition De Boeck Université:363-67.
- ❖ **MACKAY F, BROWNING JL., 2002.** BAFF: a fundamental survival factor for B cells. *Nat Rev Immunol* 2(7): 465-475, revue.
- ❖ **MAMBRINI A., 2006.** Nouveaux Dossiers d'Anatomie. Editions Heure de France:165-78.
- ❖ **MANOUSSAKIS MN, BOIU S, KORKOLOPOULOU P, KAPSOGEOURGOU EK, KAVANTZAS N, ZIAKAS P, PATSOURIS E, MOUTSOPOULOS HM., 2007.** Rates of infiltration by macrophages and dendritic cells and expression of interleukin-18 and interleukin-12 in the chronic inflammatory lesions of Sjögren's syndrome. Correlation with certain features of immune hyperactivity and factors associated with high risk of lymphoma development. *Arthritis Rheum* 56(12): 3977-3988.
- ❖ **MARIE I, CABANE J., 2002.** Ethiopathogénie des sclérodermies. *Rev Prat*;52:1873-81.
- ❖ **MARIETTE X., 2010.** Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjogren. *Rev Med Interne.*;31(S1):2-6.
- ❖ **MARIETTE X, GOZLAN J, CLERC D, BISSON M, MORINET F., 1991.** Detection of Epstein-Barr virus DNA by in situ hybridization and polymerase chain reaction in salivary gland biopsy specimens from patients with Sjögren's syndrome. *Am J Med*; 90:286-94.
- ❖ **MARIETTE X., 2002.** Traitements actuels et potentiels du syndrome de GougerotSjögren. *Rev. Rhumatol.*, 69 (7): 697-701.
- ❖ **MARK L.F., 2002.**Sjögren syndrome. *J. Med. E.*, 3 (4): 1-17.
- ❖ **MASAGO R, AIBA-MASAGO S, TALAL N, et al., 2001.** Elevated proapoptotic bax and caspase 3 activation in the NOD scid model of Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*; 44:693-702.
- ❖ **MATHEWS SA, KURIEN BT et SCOFIELD RHOrl., 2008.** Manifestations of Sjogrensyndrome.*J Dent Res*; 87(4): 308-318.
- ❖ **MEYER O., 2005.**Lupus érythémateux systémique. *EMC Rhumatologie orthopédique*; 2 : 1-32.
- ❖ **MICELI-RICHARD C, GESTERMANN N, ITTAH M, COMETS E, LOISEAU P, PUECHAL X, et al., 2009.**The CGGGG insertion/deletion polymorphism of the

IRF5 promoter is a strong risk factor for primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*;60:1991–7.

- ❖ **MITSIAS DI, TZIOUFAS AG, VEIOPOULOU C, ZINTZARAS E, TASSIOS IK, KOGOPOULOU O, MOUTSOPOULOS HM, THYPHRONITIS G., 2002.** The Th1/Th2 cytokine balance changes with the progress of the immunopathological lesion of Sjögren's syndrome. *ClinExpImmunol* 128(3): 562-568.
- ❖ **NARDELLI B, BELVEDERE O, ROSCHKE V, MOORE PA, OLSEN HS, MIGONE TS, et al., 2001.** Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood*;97:198–204.
- ❖ **NORDMARK G, KRISTJANSDOTTIR G, THEANDER E, ERIKSSON P, BRUN JG, WANG C, et al., 2009.** Additive effects of the major risk alleles of IRF5 and STAT4 in primary Sjögren's syndrome. *Genes Immun*;10:68–76.
- ❖ **PEPOSE J.S, AKATA R.F, PFLUGFELDER S.C, VOIGT W., 1990.** Mononuclear cell phenotypes and immunoglobulin gene rearrangements in lacrimal gland biopsies from patients with Sjogren's syndrome, *Ophthalmology* 97; 1599–1605.
- ❖ **PERS JO, DARIDON C, DEVAUCHELLE V, JOUSSE S, SARAUX A, JAMIN C, et al., 2005.** BAFF overexpression is associated with autoantibody production in autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci*;1050:34–9.
- ❖ **PFLUGFELDER S.C., WITCHER J.P., DANIELS T.E., 1996.** Sjögren's syndrome. In :Pepose J.S., Holland G.R., Wilkhemus K.R. *Ocular infection and immunity.* Mosby Ed. : 313-333.
- ❖ **PIJPE J, VAN IMHOFF GW, SPIJKERVET FK, ROODENBURG JL, WOLBINK GJ, MANSOUR K, et al., 2005.** Rituximab treatment in patients with primary Sjogren's syndrome: an open-label phase II study. *Arthritis Rheum*; 52:2740–50.
- ❖ **PIJPE J, MEIJER JM, BOOTSMA H, et al., 2009.** Clinical and histologic evidence of salivary gland restoration supports the efficacy of rituximab treatment in Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum*;60(11):3251–6.
- ❖ **POROLA P, STRAUB RH, VIRKKI LM, KONTTINEN YT, NORDSTROM DC., 2011.** Failure of oral DHEA treatment to increase local salivary androgen outputs of female patients with Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatol* 40(5): 387-390.
- ❖ **RAMOS-CASALS M, STONE JH, MOUTSOPOULOS HM., 2012.** Sjögren's Syndrome: Diagnosis and Therapeutics. éd. Springer; 2012.
- ❖ **RAMOS-CASALS M, BRITO-ZERÓN P, SISÓ-ALMIRALL A, BOSCH X., 2012.** Primary Sjogren syndrome. *BMJ.*; 344:e3821.

- ❖ **RAPOPORT P., MERLE H., SMADJA D., GERARD M., ALLIOT E., 1997.** Une neuropathie optique bilatérale révélatrice d'un syndrome de Gougerot-Sjögren primitif. *J Fr Ophthalmol* 20 : 767-770.
- ❖ **ROESCHER N, LODDE B.M, VOSTERS J.L, TAK P.P.CATALAN, M.A, ILLEI G.G, CHIORINI J.A., 2012.** Temporal changes in salivary glands of non-obese diabetic mice as a model for Sjogren's syndrome, *Oral Dis*, 18; 96-106.
- ❖ **RUSAKIEWICZ S, NOCTURNE G, LAZURE T, SEMERARO M, FLAMENT C, CAILLAT-ZUCMAN S, SENE D, DELAHAYE N, VIVIER E, CHABA K, POIRIER-COLAME V, NORDMARK G, ELORANTA M.L, ERIKSSON P, THEANDER E, FORSBLAD-D'ELIA H, OMDAL R, WAHREN-HERLENIUS M, JONSSON R, RONNBLOM L, NITITHAM J, TAYLOR K.E, LESSARD C.J, SIVILS K.L, GOTTENBERG J.E, CRISWELL L.A, MICELI-RICHARD C, ZITVOGEL L, MARIETTE X., 2013.** NCR3/NKp30 contributes to pathogenesis in primary Sjogren's syndrome, *SciTransl Med*, 5; 195ra196.
- ❖ **SAINT-MARCOUX B, DE BANDT M., 2007.** Syndrome de Gougerot-Sjögren : critères de classification, lymphomes, traitements. *Revue du Rhumatisme* 74; 737–744.
- ❖ **SANY J., 2003.** Polyarthrite rhumatoïde de l'adulte: conception actuelle. Ed : John Libbey Eurotext.125p.
- ❖ **SCOFIELD RH, FARRIS AD, HORSFALL AC, HARLEY JB., 1999.** Fine specificity of the autoimmune response to the Ro/SSA and La/SSB ribonucleoproteins. *Arthritis Rheum*; 42: 199–209.
- ❖ **SKOPOULI FN, BARBATHIS C, MOUTSOPOULOS HM., 1994.** Liver involvement in primary Sjögren's syndrome. *Br J Rheumatol*; 33:745–8.
- ❖ **STOTT DI, HIEPE F, HUMMEL M, STEINHAUSER G, BEREK C., 1998.** Antigen-driven clonal proliferation of B cells within target tissue of an autoimmune disease. *J Clin Invest* 102(5): 938-946.
- ❖ **SZPIRGLAS H, GUEDJ A, AURIOL M et COLL., 2001.** Pathologie des glandes salivaires. *Encycl Med Chir (Paris), Stomatologie*, 22-057-A-10, 13.
- ❖ **THEANDER E, MANTHORPE R, JACOBSSON LTH., 2004.** Mortality and causes of death in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*; 50: 1262 - 9.
- ❖ **THEANDER E, VASAITIS L, BAECKLUND E, et al., 2011.** Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis*; 70(8):1363–8.

- ❖ **TRIANAFYLLOPOULOU A, TAPINOS N, MOUTSOPOULOS HM., 2004.** Evidence for coxsackievirusinfection in primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum*; 50:2897–902.
- ❖ **TZIOUFAS AG, VOULGARELIS M., 2007.** Update on Sjögren's syndrome autoimmune epithelitis: from classification to increased neoplasias. *Best practice & research clinical rheumatology* 21(6): 989-1010.
- ❖ **VAILLANT L et LE DU., 2007.** Syndrome de gougerotsjogren.In : BESSIS D ? ed *Dermatologie et médecine*. Volume 1 Paris : Springer:8-1 – 8-9.
- ❖ **VALTYSOTTIR ST, WIDE L, HALLGREN R., 2001.** Low serum dehydroepandrosteronesulfate in women with primary sjögren's syndrome as an isolated sign of impaired HPA axis function. *J Rheumatol* 28(6): 1259-1265.
- ❖ **VARIN M.M, GUERRIER T, DEVAUCHELLE-PENSEC V, JAMIN C, YOUINOU P, PERS J.O., 2012.** In Sjogren's syndrome, B lymphocytes induce epithelial cells of salivary glands into apoptosis through protein kinase C delta activation, *Autoimmun Rev*, 11; 252-258.
- ❖ **VITALI C, BOMBARDIERI S, JONSSON R, et al., 2002.**Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American- European Consensus Group. *Ann Rheum Dis*;61(6):554–8.
- ❖ **VITALI C., 2011.**Immunopathologic differences of Sjögren's syndrome versus sicca syn-drome in HCV and HIV infection. *Arthritis Res Ther*;13:233.
- ❖ **WEILL B, BATTEUX F., 2003.** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Ed :De Boeck Supérieur, 71p.
- ❖ **XANTHOU G, TAPINOS NI, POLIHRONIS M, NEZIS IP, MARGARITIS LH, MOUTSOPOULOS HM., 1999.**CD4 cytotoxic and dendritic cells in the immunopathologic lesion of Sjögren's syndrome. *ClinExpImmunol* 118(1): 154-163.
- ❖ **YANNOPOULOS DI, RONCIN S, LAMOUR A, PENNEC YL, MOUTSOPOULOS HM, YOUINOU P., 1992.**Conjunctival epithelial cells from patients with Sjögren's syndrome inappropriately express major histocompatibility complex molecules, La(SSB) antigen, and heat-shock proteins. *J Clin Immunol*;12:259–65.
- ❖ **YOUINOU P, PERS JO., 2010.** The international symposium on Sjögren's syndrome in Brest: the "top of the tops" at the "tip of the tips". *AutoimmunRev*;9:589–90.
- ❖ **YOUNG N. A, WU L.C, BRUSS M, KAFFENBERGER B. H, HAMPTON J, BOLONC B, JARJOUR W. N., 2014.**A chimeric human–mouse model ofSjögren's syndrome.*Clinical Immunology*;156, 1–8.

- ❖ **ZINTZARAS E, VOULGARELIS M, MOUTSOPOULOS HM., 2005.**The risk of lymphoma development in autoimmune diseases: a meta-analysis. Arch Intern Med; 165(20): 2337-44.
- ❖ **ZIZA JM., 2004.** Syndrome de Gougerot-Sjögren. **Godeau P, Herson S, Piette JC.**Traité de médecine, 4è édition. Médecine-Sciences Flammarion Paris, tome 1, chapitre 16 : 160-170.

Annexe1:

Critères internationaux du diagnostic de SGS

a) signes subjectifs :

1) Signes oculaires. Une réponse positive à au moins une des questions.

- Avez-vous une sensation d'œil sec de façon gênante, persistante et quotidienne depuis trois mois ?
- Avez-vous fréquemment la sensation d'avoir du sable ou du gravier dans les yeux ?
- Utilisez-vous des larmes artificielles plus de trois fois par jour ?

2) Signes buccaux. Une réponse positive à au moins une des questions.

- Avez-vous quotidiennement et depuis plus de trois mois la sensation d'avoir la bouche sèche?
- Avez-vous eu de façon récidivante ou permanente un gonflement des parotides à l'âge adulte?
- Buvez-vous souvent pour aider à avaler les aliments ?

b) signe objectifs :

3) Signes oculaires objectifs. L'un des tests au moins doit être positif.

- Test de Shirmer ≤ 5 mm en 5 minutes.
- Test au rose Bengale ≥ 4 selon le score de Van Bijsterveld.

4) Signes histologiques

- Focus score ≥ 1 sur la biopsie de glandes salivaires accessoires (focus score = nombre de foyers par surface glandulaire examinée de 4 mm²). On définit un foyer comme une accumulation focale de plus de 50 cellules mononucléées.

5) Signe d'atteinte salivaire. Positivité de l'un des trois tests suivants.

- Scintigraphie salivaire.
- Sialographie parotidienne.
- Flux salivaire non stimulé ($< 1,5$ ml en 15 min).

6) Auto-anticorps

- Présence dans le sérum de l'un ou l'autre ou les deux parmi : anticorps anti- SSA (Ro) et anti-SSB (La).

Annexe 2 :

Matériel utilisé en histopathologie :

- Cassettes
- Bacs avec portes cassettes utilisées dans l'automate de déshydratation (Leica)
- Moules pour l'enrobage
- Lames rasoirs jetables pour microtome
- Lames en verre : porte objet
- Panier porte lames en plastique ou en fer
- Lamelles en verre : couvre objet
- Les gants en latex
- Micropipettes
- Embouts à usage unique
- Minuterie
- Bacs de coloration, de déshydratation et d'éclaircissement (figure 1)



Figure 1 : batterie de coloration



Figure 2 : chambre humide

Tableau II : Appareillage

Appareillage	Marque	Référence	Photographie
Automate de circulation	Leica	TP 1020	
Station d'enrobage	Leica	EG 1150H	
Microtome	Leica	RM 2235	
Etuve	Nüve	FN 500	
Bain marie	Mettler	L412.1448	

<p>Plaque chauffante</p>	<p>Leica</p>	<p>HI1220</p>	
<p>Microscope optique multi tête</p>	<p>Leica</p>	<p>DM 1000</p>	
<p>PT LINK</p>	<p>Dako</p>	<p>PT 10027</p>	

Annexe 3 :

Tableau III : Réactifs utilisés en histopathologie.

Réactif	Marque	Référence
Formol (formaldéhyde) à 10%	Panreac	141328.1211
Ethanol	SIGMA-ALDAICH	UN1170
Xylène	Panreac	141769
Paraffine	Leica	39601006
Hématoxyline de HARRIS	SIGMA ALROLIC	HHS32-1L
Eosine	Panreac	131299.1611
Eukitt : Résine synthétique de montage	Quick-nardeming	03989
Eau distillée	Super Pro	

Tableau IV : Réactifs utilisés en immunohistochimie

Réactifs	Marque	Référence
Triology (tompon EDTA, pH9)	CELL MARQUE	920P-06
Declere (tompon EDTA, pH6)	CELL MARQUE	921P-09
En Vision™ FLEX Wash buffer	Dako	K8024
En Vision™ FLEX Peroxydase- BlokingReagent	Daco	SM801
En Vision™ FLEX DAB +chromogène	Dako	K8000
En Vision™ FLEX Substrate buffer	Daco	SM803
En Vision™ FLEX Hématoxyline (de Mayer)	Daco	K8008

Tableau V: Anticorps

Anticorps	Clone	Marque	Dilution	Référence
CD20 ANTICORP	L26	CELL MARQUE	1/100	1511202B
CD3 ANTICORP	2GV6	VENTANA		F07033
CD8 ANTICORP	C8/144B	DAKO		20014505
CD56 ANTICORP	123C3.C5	CELL MARQUE	1/100	150.1401D
CD68 ANTICORP	PG-H1	DAKO		20027927
CD4 ANTICORP	4B/2	DAKO		20014471

Annexe 4 :

Tableau VI: Résultat de l'étude immunohistochimique chez les 10 patients atteints du SGS

N°	Sexe	Age	Type du SGS	Le grade	CD20 (%)	CD3 (%)	CD8 (%)	CD4 (%)	CD56 (%)	CD68 (%)
1	F	29	Secondaire	4	20	80	10	90	0	3
2	F	30	Primitif	3	40	60	49	51	0	0
3	F	31	Primitif	3	30	70	10	90	0	0
4	F	51	-	4	20	80	35	65	0	0
5	F	55	Secondaire	4	60	40	20	80	0	0
6	F	60	-	4	75	25	30	70	0	0
7	F	62	Primitif	4	49	51	95	0	0	0
8	F	63	Secondaire	4	10	90	5	95	0	0
9	F	65	-	4	10	90	20	80	0	0
10	F	74	Secondaire	3	30	70	5	90	0	0

Tableau VII : Résultat des cas contrôle

N°	Sexe	Age	Grade	CD20 (%)	CD3 (%)	CD8 (%)	CD4 (%)	CD56 (%)	CD68 (%)
1	H	32	0	-	-	-	-	-	-
2	F	49	2	0	faible	faible	0	0	0

F : Femme

H : homme