



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche
Scientifique



Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire (BPC)

Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé

MEMOIRE

De : fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master.

Option : Biochimie.

Chef d'option : Pr SAIDI F.

Sous l'intitulé :

Evaluation des paramètres biochimiques, histologiques et
Immunohistochimiques au cours du syndrome de Gougerot Sjögren

Présenté par :

Melle **Khemici Meriem** , Melle **Boukirat Samira** et Melle **Laari Nour El Houda**

Soutenu le 8 juillet 2019 devant le jury composé de :

Mme LOUERRAD Y. Maitre assistante B université de Blida -1- Présidente
Mme SOUR S. Maitre de conférences B université de Blida -1- Examinatrice
Mme BENCHABANE S. Maitre de conférences B université de Blida -1- Promotrice
Mme BACHIR A. Maitre assistante Faculté de médecine d'Alger Co-Promotrice

Année universitaire : 2018 – 2019

Remerciements

Au terme de ce modeste travail nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre chère promotrice Mme Benchabane Sarah pour son suivi, ses conseils et son énorme soutien tout au long de la période de ce projet.

Nous tenons à remercier notre Co-promotrice Mme Bachir Achouak maitre assistante au niveau du service d'anatomie et pathologie à l'hôpital Zemirli el Harrach pour le temps qu'elle a consacré pour nous et pour sa compréhension.

Nous tenons à remercier également Mme Louerrad de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider notre jury ; ainsi qu'à Mme SOUR S. pour avoir pris le temps d'examiner ce mémoire.

Nos vifs remerciements sont pour Professeur HOUICHAT chef de service de rhumatologie à l'hôpital de Douera de nous avoir accueilli et accepte au niveau de son service, Ainsi que Professeur ACHELI Maitre assistante à l'hôpital de Douera et au niveau de l'établissement de santé publique de Baba Hssen pour sa gentillesse et son aide pour le recrutement des patients.

A professeur Chaher chef de service d'anatomie et pathologie à l'hôpital de Zemirli El Harrach

A monsieur Belhadji Ahmed maitre-assistant au niveau de laboratoire de biochimie à l'hôpital de Issad ahssen de beni messouss

Nos remerciements vont à tous le personnel du laboratoire d'anatomie et pathologie à l'hôpital de Zemirli Salim particulièrement à Latifa , Zoulikha et Hayat auprès desquelles nous avons trouvé un accueil chaleureux , gentillesse, l'aide et l'assistance dont nous avons besoin tout au long de notre période de stage .

Enfin nos sincères remerciements à tous nos enseignants pour la richesse et la rigueur de leurs enseignements tout au long de notre étude au sein du département de biologie

Dédicaces

On dédit ce mémoire aux meilleurs de tous les parents, qui nous ont soutenu et encouragé durant ces années d'étude, un grand merci pour tous les sacrifices qu'ils ont fait et continuent d'en faire pour nous voir réussir, qui ont veillé à notre instruction. Ce travail est le fruit de la rigueur, de leur éducation, qu'ils trouvent ici le témoignage de notre reconnaissance en leur souhaitant santé, bonheur et longue vie qu'on puisse combler à nos tours.

A nos frères et sœurs nos grand parents cousins et cousines et qui nous ont toujours encouragé

A tous nos amies et collègues de la spécialité Master Biochimie.

Liste des figures

Figure 1: langue dépaillée au cours du syndrome de Sjögren-Gougerot	3
Figure 2: la xérophtalmie au cours du syndrome sec	4
Figure 3 : Anatomie des glandes salivaires	6
Figure 4: mécanisme physiopathologique du syndrome sec	10
Figure 5 : Automate SYSMEX xs-500i	14
Figure 6: Automate SELECTRA Pro M	18
Figure 7 : Répartition des patients selon le sexe.	24
Figure 8 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.	25
Figure 9 : Répartition des patients selon les manifestations oculo-buccales.	26
Figure 10: Répartition des patients selon les manifestations extra glandulaires.	28
Figure 11 : Répartition des patients selon la sensation de fatigue.	29
Figure 12 : Répartition des patients selon le traitement prescrit	30
Figure 13 : Evaluation du taux sérique de la CRP chez les patients atteints du SGS et des témoins	32
Figure 14: Evaluation du taux sérique de NO chez les patients atteints du SGS et des témoins	32
Figure 15 : Evaluation du taux sérique de l'urée chez les patients atteints de SGS et des témoins.	33
Figure 16 : Evaluation du taux sérique de créatinine chez les patients atteints de SGS et des témoins.	34
Figure 17 : Evaluation du taux sérique d'ASAT chez les patients atteints de SGS et des témoins	35
Figure 18 : Evaluation du taux sérique d'ALAT chez des patients atteints de SGS et des témoins.	35
Figure 19 : Evaluation du taux de Gamma Gt chez des patients atteints de SGS et des témoins.	36
Figure 20 : Evaluation du taux sérique de la glycémie chez des patients atteints de SGS et des témoins	36
Figure 21: la cytopénie chez des patients atteints de SGS.	37
Figure 22: Répartition des patients de SGS selon les anomalies hématologiques.	37
Figure 23 : Coupe histologique d'un parenchyme de glandes salivaires accessoires d'un patient atteint de grade 4.	39

Figure 24 : Coupe histologique de la glande salivaire accessoire d'un témoin négatif de grade 1.....	40
Figure 25: Immunomarquage de la protéine P53 au niveau des glandes salivaires accessoire chez un patient atteint de SGS de grade 4. Grx100; Technique d'immunohistochimie, Micrographie originale.....	43
Figure 26 : Immunomarquage de la protéine P53 au niveau des foyers inflammatoires(A) et des acini (B) chez des patients atteints de SGS ; technique d'immunohistochimie ; Grx400 , Micrographie originale.....	43
Figure 27: Immunomarquage de la protéine P53 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un témoin négatif de grade 1 ;GRx100 (A) et x400(B) , technique d'immunohistochimie ,Micrographie originale.....	44
Figure 28 : Immunomarquage de la protéine P53 au niveau des cellules épithéliales chez un témoin positif atteint d'un carcinome épidermoïde buccal, technique d'immunohistochimie, Gr x 100.....	44
Figure 29 : Immunomarquage de la protéine p53 au niveau des cellules épithéliales chez un témoin positif atteint d'un carcinome épidermoïde buccal, technique d'immunohistochimie , Gr x400(B)	45
Figure 30: Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau du foyer inflammatoire(A) et au niveau des acini(B) chez des patients atteints de SGS; Technique d'immunohistochimie ;Grx400, Micrographie originale.....	47
Figure 31: Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau des glandes salivaires accessoires chez des patients atteints de SGS, Grx100; Technique d'immunohistochimie, Micrographie originale.....	47
Figure 32: Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un témoin négatif de grade 1,Gr x100(A) et x400(B) , technique d'immunohistochimie , Micrographie originale.....	48
Figure 33 : Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau des cellules nerveuses chez un témoin positif atteint d'une tumeur cérébrale , Technique d'immunohistochimie , Gr x 100 , Micrographie originale	48
Figure 34 : Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau des cellules nerveuses chez un témoin positif atteint d'une tumeur cérébrale , Technique d'immunohistochimie , Gr x 400..	49

Liste des tableaux :

Tableau I : Critères du diagnostic du syndrome de Gougerot Sjögren selon le groupe de consensus américano-européen.....Annexe I.

Tableau II : liste des automates utilisésAnnexe II.

Tableau III : liste des réactifs utilisés en immunohistochimieAnnexe II.

Tableau IV : les valeurs normales de la numérotation formule sanguineAnnexe IV.

Tableau V : les valeurs normales des paramètres biochimiquesAnnexe V.

Tableau VI : la classification du score de Chisholm et Masson.....Annexe VI.

Abréviations

AECG: American European Consensus Group.

APAF1: Apoptotic peptidase activating factor 1

BAX : protein Bcl-2-associated X

BER : Réparation par excision de nucleotide.

CD : Cellule dendritique.

CDP : Cellule dendritique plasmocytoïde.

CG : Centre germinatif.

CI : Complexe immun.

CMV : Cytomégalovirus.

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène.

EBV : Epstein-Barr virus.

HR : Recombinaison homologue.

IG : Immunoglobuline.

INF : Interféron.

KKO : Keratokyste odontogène.

LDGCB : Lymphome diffus à grandes cellules B

LIEP : Lésions intra-épithéliales.

MAI : Maladie auto-immune.

NER : Réparation par excision des nucléotides.

NHEJ : Jonction d'extrémités non homologues

PR: Polyarthrite Rhumatoïde.

PUMA : p53 upregulated modulator of apoptosis

ROS : Reactive oxygen species.

SGS : Syndrome de Gougerot Sjögren.

Glossaire

Anticorps anti nucléaires : Anticorps élaborés par l'organisme contre ses propres Ag qu'il considère comme étrangers, on trouve les Ro/SSA à localisation cytoplasmique et les La/SSB à localisation nucléaire qui sont présents dans plusieurs maladies auto-immunes notamment le SGS. (Peri et al.,2002).

Acidose tubulaire rénale : C'est une maladie rare du tubule rénal caractérisée par l'incapacité d'excréter l'urine d'acidité normale (Marx et Stern,2012).

Acidose hyperchlémérique : C'est une maladie héréditaire qui se traduit entre autres par une insuffisance rénale sévère (Marx et Stern,2012).

Adénopathie : C'est un gonflement des ganglions lymphatiques, survient en cas d'agression de l'organisme (Ramos-Casals et al.,2012).

Arthralgie : Douleur articulaire (Carteron et al.,2019).

Alvéolite : Inflammation des alvéoles pulmonaires ou dentaires (Shanabe,2005).

BAFF : C'est une cytokine de la famille du facteur de nécrose tumorale, elle est sécrétée au cours des maladies auto-immunes et intervient dans le développement des LB (Martel et al.,2014).

Carcinome épidermoïde : C'est un cancer rare de la peau, il s'agit d'une lésion infiltrée, sous la forme d'un nodule, le plus souvent, qui peut s'ulcérer (Ramos-Casals et al.,2005).

Centre germinatif ectopique : zone d'un follicule dans un organe lymphoïde secondaire dans laquelle les lymphocytes B sont activées (Bordon et al.,2018).

Cellule myoépithéliale : C'est une cellule musculaire lisse à propriété contractile. Elle est située entre les cellules épithéliales sécrétrices et la lame basale, généralement dans les acini glandulaires. Elle favorise l'excrétion de la substance sécrétée par une glande exocrine (Bordon et al.,2018).

CD20 : Une phosphoprotéine transmembranaire de 35/37 KDa exprimée à la surface des prés LB et des LB matures, codée par le gène MS4A1 situé sur le chromosome 11 humains (Ramos-Casals et al.,2018).

CD22 : Une protéine de type cluster de différenciation exprimée essentiellement à la surface des LB, codée par le gène CD22 situé sur le chromosome 19 humain (Steinfeld et al.,2006).

Cyclosporine A : Un polypeptide cyclique immunomodulateur possédant des propriétés immunosuppressives (**Demarchi et al.,2017**).

Dyspnée : Difficulté de la respiration.

Fibrose pulmonaire : Une lésion des poumons caractérisée par la présence d'un excès de tissu conjonctif fibreux (fibrose) (**Baturone et al.,2009**).

Grade de Chisholm : il est défini par l'agrégat des cellules lymphocytaires dans les glandes salivaires accessoires. C'est le focus (50 cellules lymphocytaires dans 4 mm²) pour établir la classification de Chisholm et Masson (**Chisholm et Masson,1968**).

Infiltrat lymphoplasmocytaire : C'est l'invasion et l'accumulation des cellules du système immunitaire principalement les lymphocytes dans un organe, au cours du syndrome de Gougerot Sjögren c'est les glandes salivaires et lacrymales qui sont affectées (**Castel,2016**).

Kératoconjunctivite : Une infection qui se traduit par une inflammation conjointe de conjunctivite et de la cornée de l'œil (**Fox,2005**).

Lymphome de MALT : Une forme rare de lymphome malin non Hodgkinien qui affecte les cellules B et se développe aux dépens du tissu lymphoïde associé aux muqueuses, et plus rare au niveau des ganglions (**Piji et al.,2005**).

Myalgie : Douleur musculaire.

Myosite : C'est une inflammation des muscles, caractérisée par une faiblesse musculaire, généralement progressive et peut entraîner une invalidité grave (**Carton et al.,2019**).

Néphrocalcinose : Elle est définie par la présence de dépôt de calcium au sein du parenchyme rénal, préférentiellement au niveau de la médullaire (**Marx et Stern,2012**).

Phénomène de Raynaud : Un trouble de la circulation sanguine au niveau des doigts et des orteils, parfois le nez et les oreilles, aggravé par le froid

Pleurite : Une inflammation de la plèvre, légère et localisée, sans épanchement (**Shanabel,2005**).

Sialométrie : méthode de mesure de débit salivaire (**Castel,2016**).

Syndrome de Behçet : Une maladie liée à l'inflammation des vaisseaux sanguins. Elle se manifeste par des aphtes, des atteintes des yeux, des articulations et des artères (**Guenane et al.,2016**)

Synovite : Inflammation d'une membrane ou d'une gaine synoviale (**Carteron et al.,2019**).

Test de Schirmer : Un examen ophtalmologique simple et rapide qui permet d'évaluer la quantité des larmes dans l'œil (**Castel,2016**).

Xérostomie : une sécheresse buccale du fait d'un manque ou de l'absence de salive, ceci peut causer une altération de l'état buccodentaire et du système digestif (Castel,2016) .

Xérophtalmie : une sécheresse de l'œil accompagnée d'une atrophie de la conjonctive et la diminution de la vision (**Chebbi et al.,2015**) .

Vascularite : maladie qui implique une inflammation des parois des vaisseaux sanguins (**Marx et Stern,2012**).

Résumé :

Le syndrome de Gougerot Sjögren est une épithélite auto-immune, caractérisée par une xérostomie (sècheresse buccale), et une xérophtalmie (sècheresse oculaire), et sur un plan histologique, la présence d'un infiltrat inflammatoire de cellules mononuclées.

Notre étude a pour objectif d'étudier le profil biologique de la maladie par un dosage de quelques paramètres biochimiques (bilan hépatique, rénale) et inflammatoire ainsi qu'une étude des modifications structurales au niveau des glandes salivaires accessoires, et une évaluation de l'expression de la protéine proliférative Ki67 et apoptotique P53 au niveau des glandes salivaires accessoires.

Nos résultats montrent une nette prédominance féminine dans ce syndrome, les résultats des bilans biologiques (hépatiques et rénales) ont révélé une absence totale de toute anomalie, cependant un taux sérique significativement élevé de monoxyde d'azote.

L'examen histologique a montré la présence d'une modification architecturale des cellules épithéliales des glandes salivaires accessoires et la présence de plusieurs foyers inflammatoires. D'une autre part l'examen histochimique a révélé une expression de la protéine P53 et Ki67 au niveau des foyers inflammatoires ce qui reflète une destruction des cellules épithéliales des glandes salivaires et d'une autre part une prolifération des cellules immunitaires formant le foyer inflammatoire.

Les mots clés : le syndrome de Gougerot-Sjögren, épithélite, auto-immune, Ki67, P53.

Abstract :

Gougerot Sjögren's syndrome is an auto-immune epithelitis , characterized by xerostomia (dry mouth) and xérophtalmia (dry eyes) , and histologically by the presence of an inflammatory infiltration of mononuclear cells.

Our study aims to study the biological profile and the involvement of some biochemicals and inflammatory parameters during this disease. Moreover, we were interested to study the structural changes in the accessory salivary glands, as well as the evaluation of the expression of the proliferative protein Ki67 and apoptotic protein P53 , in the accessory salivary glands.

Our results showed a femal predominance in this syndrome. Blood measures did not show any statistically differences between patients and healthy controls for renal, hepatic and inflammatory parameters. However a significantly elevated serum levels of nitric oxide was found (NO) .

Histological examination showed the presence of an architectural modification of epithelial cells that form the accessory salivary glands with presence of inflammatory foci.

On the other hand, the histochemical examination revealed an expression of the protein Ki67 and P53 in the inflammatory sites .

Keywords : Gougerot sjogren's syndrome , epithelitis , Auto-immune, Ki67 , P53.

الملخص:

متلازمة غوجرون شوغرن هي التهاب مناعي ذاتي، يتميز بجفاف الشفتان (جفاف الفم) وجفاف العين (جفاف الملتحمة) ; وتشريحيا يتميز بوجود ارتشاح لمفاوي للخلايا المناعية وحيدة النواة.

الهدف من الموضوع المطروح في هذه المذكرة دراسة الجانب البيولوجي للمرض من خلال دراسة بعض المعايير البيوكيميائية (الكبدية والكلى) والالتهابية ودراسة التغيرات الهيكلية في الغدد اللعابية الملحقة; وكذلك تقييم للتعبير عن البروتين التكاثري 67ki و 53p المبرمج على مستوى الغدد اللعابية الملحقة.

نتائجنا تظهر هيمنة الاناث في هذه المتلازمة حيث كشفت نتائج التقييم البيولوجي عن الغياب التام لأي حالة مرضية لكن مستوى اكسيد النتريك في المصل كان مرتفع بشكل ملحوظ وكشف الفحص النسيجي وجود تعديل بنائي للخلايا الظهارية الخاصة بالغدد اللعابية الملحقة ووجود بؤر التهابية من ناحية اخرى كشف الفحص الكيميائي النسيجي تعبيراً عن.

البروتين 53p و 67ki

الكلمات المفتاحية: متلازمة غوجرون شوغرن; مناعة ذاتية; 67ki; 53p

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviations	
Glossaire	
Résumé	
Introduction	1

Chapitre I : Rappel bibliographique

I. Généralité :.....	2
I.1 Définition :	2
I.2 Historique :	2
I.3 Epidémiologie :	2
I.4 Classification :	3
I.5 Clinique :	3
I.5.1 Des atteintes glandulaires :	3
I.5.2 Des atteintes extra glandulaires :	4
I.6 Diagnostic :	5
I.7 Les glandes salivaires :	6
I.7.1 Anatomie des glandes salivaires :	6
I.7.2 Histologie des glandes salivaires :	7
I.7.3 La physiologie des glandes salivaires :	7
I.8 Etiologie :	7
I.8.1 Facteurs environnementaux :	8
I.8.2 Les facteurs génétiques :	8
I.8.3 Les facteurs hormonaux :	8

I.8.4	La population cellulaire :	9
I.8.5	Les cytokines :	9
I.8.6	Les auto-anticorps :	9
I.9	Le traitement :	10
I.9.1	Le traitement symptomatique :	10
I.9.2	Traitements de fond :	10

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.	Matériel et méthodes :	12
II.1	Matériel :	12
II.1.1	Population étudiée :	12
II.1.2	Matériel non biologique : (voir annexe II)	12
II.2	Méthodes :	12
II.2.1	Démarche de l'étude.....	12
II.2.2	Méthodes de dosage des paramètres biologiques :	13
II.3	Analyse biostatistiques	19
II.4	Etude histologique :	20
II.5	Etude immunohistochimique :	21

Chapitre III : Résultats et discussion

III.	Résultats et discussion :	24
III.1	Caractéristiques de la population étudiée :	24
III.1.1	Répartition des patients selon le sexe :	24
III.2	Répartition des patients selon l'âge :	25
III.3	Répartition des patients selon les caractéristiques cliniques :	26
III.3.1	Manifestations oculo-buccaux :	26
III.3.2	Les manifestations extra glandulaires :	27
III.3.3	L'asthénie :	28
III.4	Répartition des patients selon le traitement prescrit :	29
III.5	Description des données biologiques :	31

III.5.1	Interprétation du bilan inflammatoire :.....	31
III.5.2	Interprétation du bilan rénal :	33
III.5.3	Interprétation des résultats du bilan hépatique	34
III.5.4	Interprétation des résultats de la glycémie	36
III.5.5	Interprétation du bilan hématologique :.....	37
III.6	Etude architecturale et structurale des glandes salivaires accessoires chez les patients atteints de syndrome de Gougerot Sjögren :	38
III.7	L'expression immunohistochimique de la protéine P53 au cours de syndrome de Gougerot Sjörgen :	40
III.8	L'expression immunohistochimique de la protéine Ki67 au cours de syndrome de Gougerot Sjörgen :	45
	Conclusion.....	48
	Références bibliographiques	
	Listes des annexes	

Introduction :

Le syndrome de Gougerot Sjörger (SGS) est une maladie inflammatoire chronique rhumatologique auto-immune, cliniquement caractérisée par une xérophtalmie et une xérostomie dues à l'inflammation des glandes salivaires et lacrymales (**Fox,2005**).

Il existe deux formes de syndrome de Gougerot Sjörger, le primitif pour lequel on observe une perte de salivation, du flux lacrymal ainsi que les manifestations systémiques de la pathologie, et le secondaire qui est associé à d'autres maladies auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde (PR), le lupus érythémateux systémique (LED), la sclérodermie systémique, ou encore la cirrhose biliaire primitive. Ce syndrome peut être suspecté lors d'atteinte d'organe telle que la thyroïde le tube digestif, ou encore le foie (**Liapi et al.,2016**). C'est l'une des maladies systémiques les plus fréquentes (0.3-1% de la population adulte), touchant plus souvent la femme que l'homme (**Patel et Shahane,2014**).

Sa physiopathologie reste imparfaitement élucidée, faisant intervenir des facteurs génétiques, environnementaux, et immunologiques aboutissant à une infiltration cellulaire de LT CD4 essentiellement ou encore de cellules B, ainsi à une dégradation de l'épithélium sécrétoire (**Tzioufas et al.,2012 ; Mariette,2010; Leroy et al.,1992**).

Dans cette présente étude nous avons pour objectif en premier lieu de déterminer le profil biologique de la maladie par un dosage de quelques paramètres biochimiques et inflammatoires chez les patients atteints du syndrome de Gougerot Sjörger. En un second temps nous avons effectué un examen histologique dans le but d'étudier les principales modifications architecturales observées au niveau des glandes salivaires accessoires. Et enfin nous avons achevé notre travail par une étude immunohistochimique visant à évaluer l'expression de la protéine pro-apoptotique P53 et le facteur prolifératif ki67 sur des biopsies de glandes salivaires accessoires des patients atteints du syndrome de Gougerot Sjörger.

I. GENERALITE :

I.1 Définition :

Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une exocrinopathie, auto-immune, chronique, liée à une infiltration lymphoïde des glandes exocrines et une production des auto-anticorps contre les antigènes nucléaires (**Patel et Shahane, 2014 ; Varin,2012 ; Bolstad et al.,2001**). Les atteintes les plus fréquentes sont lacrymales et salivaires, se caractérisant par une xérophtalmie (sécheresse oculaire) et xérostomie (sécheresse buccale), pouvant cependant s'accompagner d'une atteinte systémique telle qu'une neuropathie périphérique (**Carvajal et al., 2015 ; Bostios, 2011;Kassan et Moutsopoulos, 2004**).

I.2 Historique :

Les premières descriptions du syndrome de Gougerot-Sjögren ont été rapportées par des cliniciens européens entre 1882 et 1925 (**Talal, 1998**). En 1888 Hadden a décrit une femme dont la sécheresse buccale sévère s'améliorait avec la teinture de jaborandi, une plante contenant la pilocarpine (**Hadden, 1888**).

En 1982 un chirurgien polonais Mikulicz-Radecki décrit un homme présentant une tuméfaction bilatérale des glandes parotides et des glandes lacrymales avec un infiltrat mononuclé. Gougerot individualisa le syndrome en 1925 qui réunit toutes les sécheresses muqueuses. Il l'attribua à une atrophie glandulaire. En 1933, l'ophtalmologue suédois Henrik Sjögren a décrit, en détail, les manifestations cliniques et les images histologiques retrouvées chez 19 femmes ayant une sécheresse buccale et oculaire. Sjögren a utilisé le terme de kératoconjonctivite sèche pour définir l'atteinte oculaire et la distinguer des yeux secs causés par une déficience en vitamine A (**Crestani et al., 2007 ; Sauvezie et al., 2000**).

I.3 Epidémiologie :

Le SGS est considéré comme l'une des maladies auto-immunes les plus répandues derrière la polyarthrite rhumatoïde, il touche préférentiellement les femmes après la ménopause avec un sexe-ratio de 9F :1H avec une prévalence de 0.3 à 1 % de la population. Cette variabilité est due aux différences entre l'âge des groupes étudiés, aux critères de classification utilisés et les méthodes employées, pour apprécier l'insuffisance des glandes salivaires et lacrymales (**Patel et Shahane,2014 ;Mavrangei**

et Moutsopoulos, 2010 ;Hartons et fauchais, 2001 ; Kaplan et Mariette, 2000). Cependant, aucune étude épidémiologique n'a été publiée concernant notre population.

I.4 Classification :

Peut-être de deux types

- ✓ SGS primitif : isolé, quand il n'est pas associé à une autre maladie systémique (D'arbonneau et al., 2006).
- ✓ SGS secondaire : lorsqu'il est associé à une autre maladie auto-immune telle que : la polyarthrite rhumatoïde, le lupus érythémateux disséminé...etc (Varoquier et al., 2013).

I.5 Clinique :

Le SGS est une maladie à développement lent, se caractérise par :

I.5.1 Des atteintes glandulaires :

I.5.1.1 Les manifestations buccales :

La xérostomie est l'une des manifestations glandulaires les plus fréquentes du SGS observées chez plus de 90% des patients atteints de ce syndrome. Elle se traduit par une difficulté à avaler, manque de stabilité de prothèses dentaires amovibles, apparition de caries et de brûlures chroniques de la muqueuse buccale, intolérance aux aliments épicés ou acides (Marx et Stern, 2012)(**Figure 1**).



Figure 1:langue dépaillée au cours du syndrome de Sjögren-Gougerot (Hakkou et al., 2011).

I.5.1.2 Les manifestations oculaires :

La xérophtalmie correspond à une kératoconjonctivite sèche. Les symptômes qui sont associés : sensation de brûlure, sensibilité à la lumière, irritation et infection de la muqueuse de l'œil (Fox, 2005 ;Gentric-Tilly, 2002 ;Pisella et al., 1999)(Figure 2).



Figure 2: la xérophtalmie au cours du syndrome sec (Hakkou et al., 2011).

I.5.2 Des atteintes extra glandulaires :

- Les atteintes générales : fièvre, fatigue, adénopathie (Ramos-casals et al., 2012).
- Les atteintes vasculocutanées : 10% des patients de syndrome de Gougerot Sjögren souffrent de lésions cutanées basées sur une vascularité, ainsi que le développement d'un phénomène de Raynaud et d'un purpura (Marx et Stern, 2012 ; Anonyme, 2012 ; Scofield et al., 2011).
- Les atteintes articulaires et musculosquelettiques : le spectre des manifestations musculosquelettiques chez les patients atteints du SGS s'étend de l'arthralgie légère et la myalgie à la synovite avec douleur chronique. Bien que courante, l'arthrite inflammatoire poly-articulaire est rarement débilante ou érosive. De plus, une myosite peut rarement survenir (Carteron et al., 2019).
- Les atteintes rénales : Une atteinte rénale peut être présente, le plus souvent sous la forme d'une tubulopathie chez 20% des patients ou plus

exceptionnellement d'une néphropathie glomérulaire avec ou sans cryoglobuline (**Marx et Stern, 2012**).

- Les atteintes pulmonaires : la sécheresse trachéobronchique peut entraîner une toux chronique et augmenter la susceptibilité aux pneumopathies, des dyspnées, ainsi qu'un kyste pulmonaire peuvent être observés (**Flament et al., 2016 ;Baturone et al.,2009**).
- Les atteintes neurologiques : l'atteinte du système nerveux périphérique touche environ 10 à 20% des patients atteints de syndrome, principalement sous forme de poly neuropathies sensorielles et sensomotrices et de neuropathies crâniennes (**Birnbaum, 2010 ; Font et al., 2003**).
- Les atteintes cardiovasculaires : les maladies auto-immunes inflammatoires systémiques sont associées à une augmentation des infarctus de myocarde (**Marciel et al., 2017 ;Bartoloni et al.,2015**).
- Les atteintes psychiatriques : les manifestations les plus courantes au cours de syndrome sont la dépression et l'anxiété (**Aikatarni et al., 2016**).
- Les atteintes hématologiques : elles sont fréquentes au cours de syndrome de Gougerot, les principales anomalies sont des anémies, des leucopénies, ainsi qu'une légère cytopénie auto-immune et une hyperglobulinémie (**Carteron et al.,2019 ; Bostios et al., 2011**).
- Les atteintes de nez, oreille et gorge : la sécheresse nasale, et de la gorge et les infections récurrentes des sinus peuvent être des caractéristiques de syndrome de Sjögren (**Mandl et al., 2007**).

I.6 Diagnostic :

Bien que souvent insaisissable, un diagnostic précis et précoce de syndrome peut aider à prévenir et assurer un traitement au moment opportun de la plupart des complications des maladies associées (**Castel, 2016**).

Les critères de classification de l'AECG permettent de définir l'affection et servent actuellement de base pour le diagnostic (**Tableau 1**) (**Annexe I**) (**Vitali et al., 2002**).

Le diagnostic se repose sur la combinaison d'éléments cliniques le plus souvent une sialométrie et le test de Schirmer, un examen histologique basé sur l'examen des biopsies des glandes salivaires accessoires et une imagerie des glandes salivaires (**Corneec et al., 2016 ; Savini et al. ,2015**).

I.7 Les glandes salivaires :

I.7.1 Anatomie des glandes salivaires :

Les glandes salivaires sont des glandes exocrines de petite taille, annexées à la cavité buccale, responsable de la sécrétion de la salive (Barnes et al., 2005 ; Grégoire et Oberlin,2004)(Figure3). Elles sont réparties en 2 classes :

- **Glandes salivaires principales :**

Ce sont des glandes volumineuses qui sont paires et systémiques Situées à l'extérieur de la cavité buccale, il s'agit des deux parotides, des deux glandes sous maxillaires et deux glandes sublinguales (Oedman, 2005 ;Fauchier et David, 1997).

- **Glandes salivaires accessoires :**

Selon Devaize et Dallel en 2010, elles sont dispersées dans les muqueuses buccales, regroupées en petits amas non encapsulées, elles sont reparties dans toutes les régions de la cavité orale, ce qui leur confèrent un rôle d'humidification.

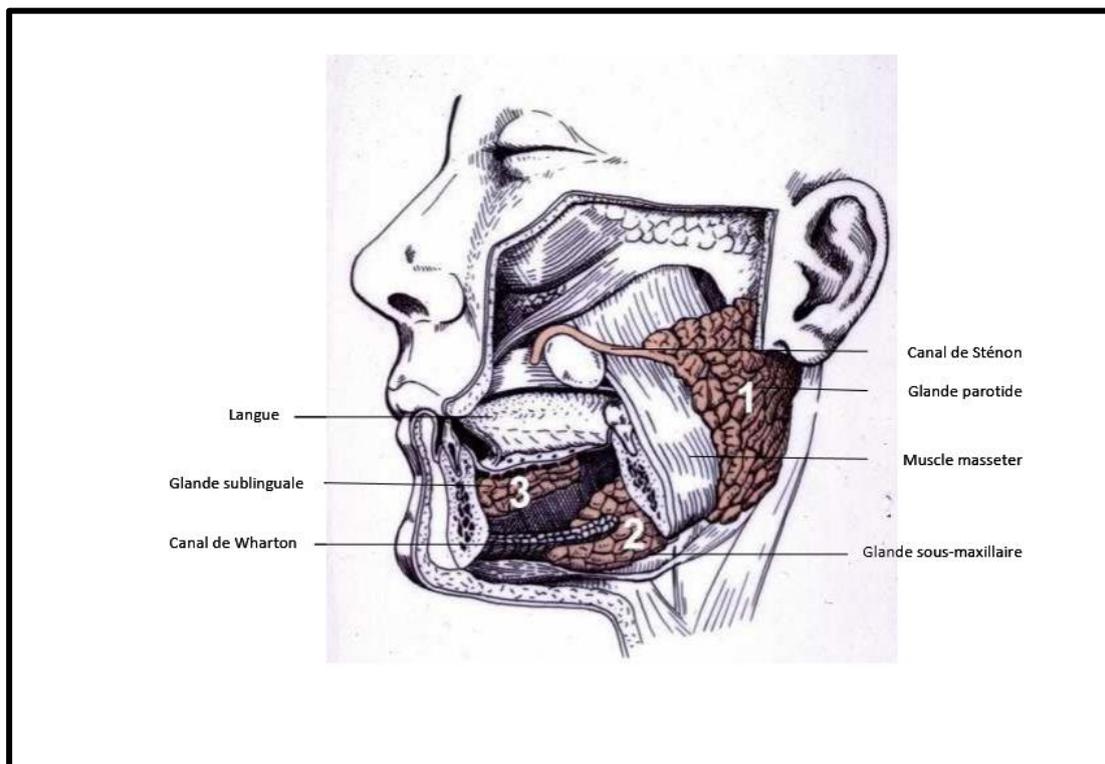


Figure 3 : Anatomie des glandes salivaires (Varin,2012).

I.7.2 Histologie des glandes salivaires :

Les glandes salivaires principales et accessoires présentent globalement le même aspect histologique (**Badoual et al., 2013**).

Les glandes salivaires sont composées de structures tubulaires ou acineuses. De manière générale, elles comportent une partie acineuse sécrétrice (qui peut être séreuse, muqueuse ou mixte selon la composition du liquide secrété) et d'une structure en canaux. De plus, autour des cellules acineuses, des cellules myoépithéliales se contractent et entraînent le produit de sécrétion vers la lumière de l'acinus (lumen) (**Mariette, 2010**).

I.7.3 La physiologie des glandes salivaires :

En temps normal, un neuromédiateur l'acétylcholine, vient se fixer sous stimulation neurologique, sur les récepteurs spécifiques dits muscariniques présents à la surface des acini. Cela provoque une augmentation de la concentration en calcium à l'intérieur de la cellule, ce qui ouvre des passages dans sa membrane. Les ions chlorure, suivis des ions sodium affluent alors dans les canaux des glandes, augmentant la concentration en chlorure de sodium dans les cellules. Cette modification attire l'eau : c'est l'osmose. La salive ainsi produite chemine vers la cavité buccale en s'enrichissant de sodium et de potassium et finit par se répandre dans la bouche (**Lewandowski, 2016**).

I.8 Etiologie :

La physiopathologie de SGS est encore mal définie mais elle peut être attribuée à l'interaction entre plusieurs facteurs (**Tincani et al., 2013**).

Ces derniers sont à l'origine de l'activation des cellules épithéliales et/ou des cellules dendritiques (DC). Les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC) sont activées par les complexes immuns (IC) conséquence de l'activation du système immunitaire adaptatif (LB, plasmocytes).

Les DC participent ainsi à l'activation des voies IFN de type I et II. Par ailleurs, l'IL-12 produite par les DC44 participe à l'activation des lymphocytes Th1 et des NK qui amplifient la sécrétion d'IFN- γ et sont acteurs de la destruction tissulaire. L'IFN- α et IFN- γ augmentent la production de BAFF et l'activation des LB et LT. Chez des individus génétiquement prédisposés, la signature IFN est majorée ainsi que la propension à l'activation de LB auto-réactifs au sein des centres germinatifs ectopiques

(GC-like structures). Les auto anticorps ainsi produits forment des IC avec les auto-antigènes relargués par les cellules épithéliales agressées participant ainsi à l'entretien d'un cercle vicieux d'activation chronique du système immunitaire (**Nocturne et Mariette, 2013**) (**Figure 4**).

I.8.1 Facteurs environnementaux :**• Les facteurs viraux :**

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) et les virus de famille de Herpes, virus HCV. (**Bordon et al., 2018 ; Vitali, 2011**).

I.8.2 Les facteurs génétiques :

L'existence de plusieurs patients atteints du SGS au sein d'une même famille est exceptionnelle (**Reveille et Arnett, 1992**).

Les gènes de complexe majeurs d'histocompatibilité CMH II, ont été impliqués ainsi que certains polymorphismes de gène de TNF $-\alpha$ ou de la région promotrice de gène IL10 et IL6. De plus, récemment il a été montré qu'il existe une liaison entre DR15 et la présence isolée des anti SSA. Des chercheurs ont retrouvé une association entre le SGS et l'antigène HLA DR15 ou la présence d'une hétérozygotie DR3 DR15 (**Martel et al., 2014 ; Gottenberg et al., 2003 ; Guggenbuhl et al., 1998**).

I.8.3 Les facteurs hormonaux :

L'importance des facteurs hormonaux dans le SGSp et particulièrement une carence en œstrogène est fortement suggérée par la très nette prépondérance féminine et le pic de survenue de la maladie après la ménopause.

L'œstrogène semble protéger les cellules glandulaires acineuses sécrétoires contre l'apoptose tandis que le manque d'œstrogène au cours de la ménopause mène à l'augmentation de l'apoptose spécifique des cellules exocrines.

De même, la prolactine, hormone pro-inflammatoire, est un stimulateur du système immunitaire. Elle stimule les cellules T, induit l'expression des récepteurs aux interleukines-2 et produit des anticorps (**Tincani et al., 2013 ; Arakaki, 2010 ; Yasser et al., 2004**).

I.8.4 La population cellulaire :**• Les cellules épithéliales :**

Les cellules épithéliales des glandes salivaires et lacrymales sont les cellules cibles des réactions immuno-inflammatoires. Ces cellules présentent une expression des HLA-DR, avec une altération morphologique et fonctionnelle des acini (**Castel, 2016 ; Fox et Kang, 1992**).

• Les lymphocytes :

Une lymphopénie est souvent associée au SGS mais la répartition lymphocytaire périphérique n'est pas perturbée. Certaines équipes ont montré l'existence d'une infiltration lymphoplasmocytaire focale avec prédominance des LT CD4 et LB CD5, ces dernières peuvent s'organiser en structures lymphoïdes appelées centre germinatif (CG) ectopique avec probablement une production locale d'Ac anti-Ro/SSA et anti-La/SSB ,Ces Ac sont présents dans 60-70% des cas du SGS et sont souvent requis pour établir le diagnostic et l'activité systémique du SGS (**Hernandez-Molina et al., 2011 ;LeGuern et Mouthonl, 2011**).

I.8.5 Les cytokines :

Les cytokines permettent la régulation de système immunitaire et elles sont impliquées dans le processus inflammatoire. La sécrétion des IL2, L'IFN- γ , IL6, IL10 par les LT salivaires favorise l'activité des LB glandulaires sécrétrices d'anticorps (**Guggenbenth , 2000 ;Fox et Kang, 1992**).

Un autre acteur jouant un rôle dans la lymphomagenèse du SGS est la cytokine BAFF (B cell activating factor belonging to the TNF family), cytokine appartenant aux membres de la famille des récepteurs du TNF, impliquée dans l'induction et la perpétuation de l'activation et de la prolifération lymphocytaire B (**Daridon et al., 2008**).

I.8.6 Les auto-anticorps :

Lors du syndrome de Gougerot-Sjögren, il y a une production importante d'anticorps dans les glandes salivaires, notamment des anticorps non spécifiques comprenant le facteur rhumatoïde, les anticorps antinucléaires et les anticorps anti Ro/SSA (anti-Ro) et anti La/SSB (anti-La) (**Péri et al.,2012**).

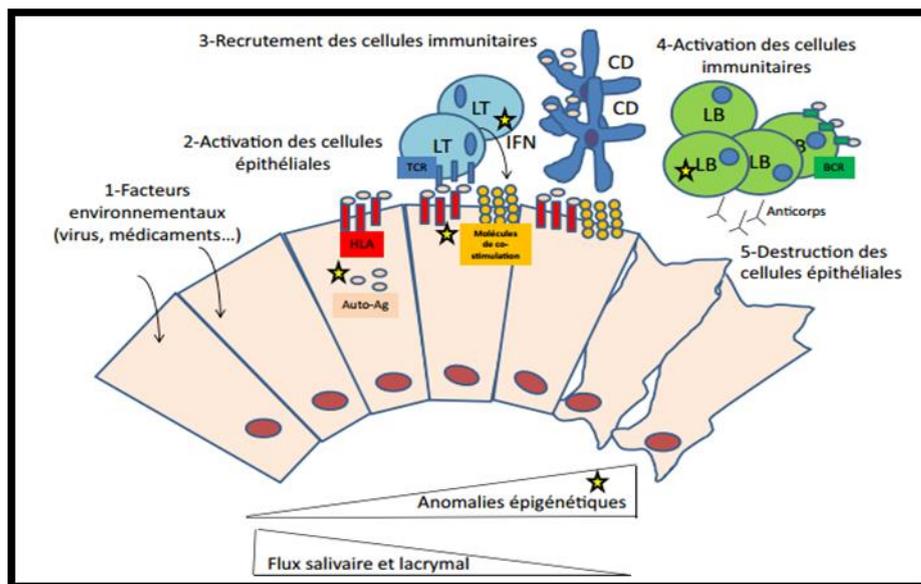


Figure 4: mécanisme physiopathologique du syndrome de Gougerot Sjögren (Bordon *et al.*, 2018).

I.9 Le traitement :

A l'heure actuelle, il n'existe pas encore un traitement systémique pour ce syndrome, le traitement disponible est généralement destiné à limiter la kératoconjonctivite et la xérostomie chronique (Ramos-Casals, 2012 ; Kassin et Moutsopoulos ,2004).

I.9.1 Le traitement symptomatique :

Face à une xérostomie, il faut avant tout motiver les patients. L'hygiène bucco-dentaire doit être rigoureuse et régulière : brossage des dents, bains de bouche non agressifs (eau bicarbonatée), nettoyage et brossage systématique des prothèses amovibles (Baudet-Pommel *et al.*, 2001).

Seuls les médicaments agonistes des récepteurs muscariniques à action cholinergique augmentent réellement la sécrétion salivaire, et dans une moindre mesure la sécrétion lacrymale. Comme le chlorhydrate de pilocarpine (Salagen®) et la cevimeline (Evoxac®).

Le traitement du syndrome sec oculaire comporte essentiellement des collyres substitutifs à type de larmes artificielles (Strietzel *et al.*,2007 ; Roncin,2001 ; Iwabuchi et Masuhara ,1994).

I.9.2 Traitements de fond :

- ✓ **Le Plaquenil**, notamment en cas d'arthralgie et de purpura avec hypergammaglobulinémie.

- ✓ **Le Méthotrexate et le Léflunomide** sont surtout utilisés en cas de polyarthrite.
- ✓ **Le Cyclophosphamide**, en cas d'atteinte neurologique centrale, multinévrite, glomérulonéphrite, vascularités que l'on est amené à l'utiliser.
- ✓ **Les corticoïdes** sont facilement utilisés en cas de complications viscérales de cytopénies auto-immunes en association au Danazol ou d'autres immunosuppresseurs éventuellement, dans les formes poly articulaires.
- ✓ **Les immunoglobulines intraveineuses** ont une place de choix en cas de poly neuropathie et dans certains cas de vascularités, plus rarement dans les atteintes neurologiques centrales en attendant l'efficacité d'immunosuppresseurs (**Saraux ,2010**).

II. MATERIEL ET METHODES :

Il s'agit d'une étude perspective établie sur 14 patients diagnostiqués du SGS, et 10 témoins sains qui ne présentent aucune maladie systémique et n'étaient sous aucun traitement ayant été recrutés au niveau du service de rhumatologie de l'EPH établissement de santé public de Douera et au niveau de l'établissement de proximité de santé publique (EPSP) Baba hssen dans la wilaya d'Alger. Les prélèvements sanguins ont été analysés au niveau du laboratoire de biochimie à l'hôpital Issad hassani Beni messous et les prélèvements tissulaires des biopsies ont été prélevés au niveau de service de médecine interne de l'hôpital de Douera et ont été analysés au niveau du laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique à l'hôpital Zmirli Salim el-harrach entre le mois de Janvier et Mai 2019.

II.1 Matériel :**II.1.1 Population étudiée :**

Dans cette étude, nous avons inclus tous les patients diagnostiqués SGS rencontrés au cours de la consultation médicale au niveau du service rhumatologie à l'hôpital de Douera et de Baba hssen sur la base des critères cliniques ou biologiques relatifs au diagnostic établi par un médecin rhumatologue et des témoins sains.

Le nombre de patients rencontrés au cours de la durée de l'étude est de quatorze (14) patients 2 hommes et 12 femmes.

II.1.2 Matériel non biologique : (voir annexe II)

- L'appareillage (**Tableau 2**)
- Les verreries
- Réactifs et solutions (**Tableau 3**)

II.2 Méthodes :**II.2.1 Démarche de l'étude**

L'étude a été menée en incluant trois étapes :

Etape 1 : Recrutement des patients déjà diagnostiqués pour SGS :

Au niveau des établissements de santé, il y'a une sélection de tous les patients déjà diagnostiqués pour SGS avec recueil des renseignements cliniques au moment de la consultation médicale selon un questionnaire établi pour les besoins de l'étude (**AnnexeIII**).

Etape 2 : Réalisation du bilan biologique des patients SGS :

Des prélèvements sanguins sont réalisés chez tous les patients SGS après remplissage d'un questionnaire pour la réalisation d'un bilan biologique.

On a prélevé pour chaque patient 02 tubes comme suit :

- ✓ 01 tube EDTA
- ✓ 01 tube héparinate de lithium.

Le bilan biologique comprend les paramètres suivants :

a) Bilan inflammatoire :

- Protéine C réactive (CRP)
- Monoxyde d'azote (NO)

b) Bilan biochimique :

- Bilan rénal : Urée sanguine, Créatinine sanguine
- Bilan glycémique : Glycémie à jeun
- Bilan hépatique : ASAT, ALAT, GGT

c) Bilan hématologique :

- Numération formule sanguine (NFS).

Le dosage de ces paramètres est réalisé au niveau du laboratoire de biochimie à l'hôpital Issad Hassani Beni Messouss wilaya d'Alger. Ils ont été réalisés le jour même du prélèvement.

II.2.2 Méthodes de dosage des paramètres biologiques :**II.2.2.1 Numération formule sanguine (NFS) :****➤ Le prélèvement :**

- Sang total sur tube EDTA.

➤ Le principe :

La NFS est réalisée sur un analyseur d'hématologie automatique le SYSMEX xs-500i qui donne des informations sur les éléments contenus dans le sang tels que les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes. Il permet de révéler un grand nombre de pathologies : anémie, problème de coagulation, infections virales, consommation des plaquettes...



Figure 5 : Automate SYSMEX xs-500i

➤ **Mode opératoire :**

- Allumer l'appareil.
- Réalisation d'un lavage à blanc avec de l'eau distillée.
- Introduction de l'identifiant du patient : nom, prénom, sexe et le code correspondant.
- Appuyer sur la touche d'analyse permettant de donner la main au chariot d'analyse des échantillons.
- Homogénéiser le tube de sang total par la réalisation de retournements du tube.
- Introduction du tube dans le chariot d'analyse et déclencher l'analyse par la touche analyse.
- Affichage du résultat de NFS sur l'écran de l'automate après 60 secondes.
- Impression des résultats.

Valeurs Normales : (Tableau 4) (Annexe IV)

II.2.2.2 Paramètres Biochimiques :

➤ **Prélèvement :**

- Sang total sur tube héparinate de lithium

➤ **Principe :**

Le dosage des paramètres biochimiques est réalisé par le SELECTRA Pro M. Il réalise des analyses de biochimie clinique, et propose des réactifs dédiés et prêts à l'emploi. Avec une cadence allant jusqu'à 180 tests/heure (266 tests/heure avec le module ISE), le SELECTRA Pro M offre un système performant et résolument économique, alliant faible coût au test et maintenance réduite.

➤ **Paramètres concernés :**

CRP, urée sanguin, créatinine sanguine, ASAT, ALAT, GGT.

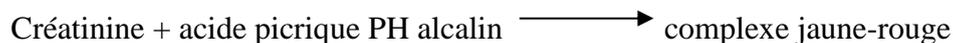
✓ Le Principe de dosage :

a. L'urée :

Selon **Allaire et al (2005)** il y a deux méthodes enzymatiques et colorimétriques basées sur l'action spécifique de l'uréase qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonate, les ions ammonium forment ensuite avec le chlore et le salicylate un complexe coloré bleu-vert. L'intensité de coloration proportionnelle à la concentration en urée dans le spécimen est mesurée à 600 nm.

b. La créatinine sanguine :

Selon **Ghermi et al (2009)** la méthode de Jaffé décrite pour la première fois en 1886, dans une solution alcaline, la créatinine réagit avec le picrate pour former un produit jaune-rouge, Figure 14 est présentée la réaction exploitée.

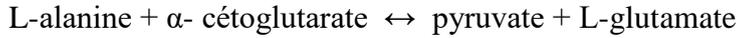


La vitesse de formation de colorant (intensité de la couleur) est directement proportionnelle à la concentration de créatinine de l'échantillon. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 512 nm. Cette méthode a été minutieusement décrite pour ses avantages : simplicité de détermination et faible coût des réactifs, le principal inconvénient de la méthode de Jaffé est son manque de spécificités (formation de chromogène non spécifique).

c. Les transaminases :

- ALAT :

La détermination de l'activité de l'ALAT par la méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes:



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de l'ALAT (MINUK, 1998).

- ASAT :

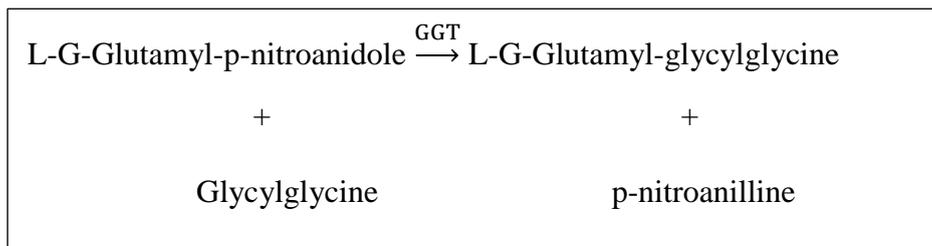
La détermination de l'activité de l'ASAT par la méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes:



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de l'ASAT (MINUK, 1998).

d. **Gamma- glutmytransférase (γ -GT ou GGT)**

Le dosage sanguin des gamma-GT permet d'évaluer l'activité hépatique. Il est parfois nécessaire de contrôler le dosage sanguin à quelques semaines d'intervalle. La méthode dosage basée sur les travaux de Szasz, Roslaci et Tarlow (BERREBI, 2009). Le schéma réactionnel est le suivant :



➤ **Mode opératoire :**

Le dosage des paramètres biochimiques est réalisé à partir d'un même échantillon sur tube hépariné comme suit :

- Etiquetage des tubes par des codes à barres spécifiques
- Centrifugation des tubes héparines à 3000 tr/min.

- Placement des tubes centrifugés dans les portoirs d'échantillons de l'automate le SELECTRA Pro M.

- Déposer les portoirs au niveau de l'automate de manière à orienter son étiquette code-barres vers l'avant de l'instrument.

- Attendre la fin de l'analyse.

- Retirer les portoirs d'échantillons à la fin de l'analyse.

- Impression des résultats.

Valeurs normales : (Tableau 5)(Annexe V)

➤ **Présentation de l'automate :**

Le SELECTRA Pro M est un analyseur de biochimie du Groupe franco-néerlandais ELITECH GROUP, le SELECTRA pro M offre une performance de 180 tests/h le premier résultat après 4 minutes, il est constitué de deux rotors :

- **Le premier rotor réfrigéré :** avec 32 positions pour les réactifs avec flacons de 10, 25 et 50 ml et une Aiguille préchauffée avec détection de niveau des réactifs
- **Le second rotor pour les échantillons :** avec 50 positions, chaque position peut contenir des :
 - ❖ Tubes primaires (tube sec ou HEPARINE selon les paramètres demandés).
 - ❖ Tubes secondaires (URINE) ou des cupules pédiatriques, aussi une aiguille échantillons avec détection de niveau des sérums, agitation intégrée.

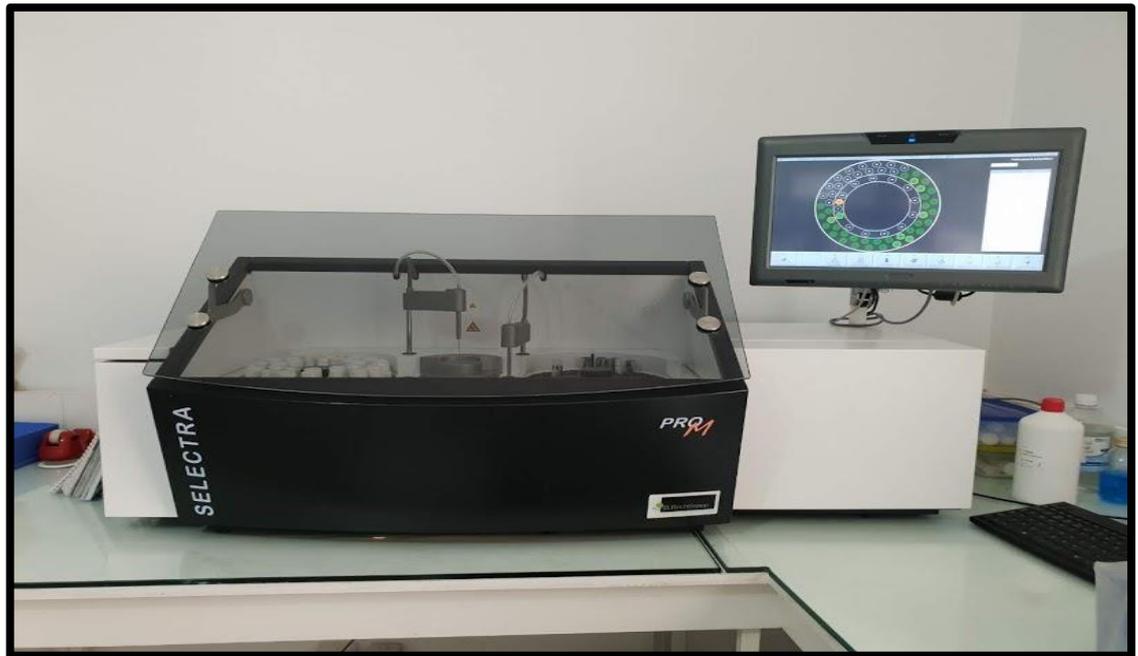


Figure 6: Automate SELECTRA Pro M

✓ **Les caractéristiques :**

Le SELECTRA pro M peut programmer des dilutions du 1 :5 au 1:200,sa gamme de longueurs d'ondes est 340, 405, 505, 546, 578, 620, 660et 700 nm avec des modes de mesures :

- ✓ Mesure en cinétique avec contrôle de linéarité
- ✓ Mesure en Point Final Bichromatique avec ou sans blanc réactif bichromatique et/ou correction de blanc échantillon
- ✓ Mesure en 2 points avec ou sans blanc
- ✓ Graphique de tous les points mesurés
- ✓ Pré dilution et dilution réflexe automatique si besoin
- ✓ Courbes de calibration non linéaires
- ✓ Analyse de seuils (Cut-off)
- ✓ Tests calculés

❖ **Principe de dosage des paramètres biochimiques :**

La spectrophotométrie est l'une des techniques analytiques les plus utilisées en biochimie. Elle permet d'identifier des molécules à l'aide de leur spectre d'absorption de la lumière dans le domaine du visible ou du proche ultraviolet. La concentration de composés connus peut être déterminée en mesurant l'absorption de leurs solutions à une ou plusieurs longueurs d'ondes. De nombreuses réactions enzymatiques peuvent être suivies par spectrophotométrie en observant l'apparition d'un produit ou la disparition d'un substrat.

▪ **Dosage de monoxyde d'azote (NO) :**

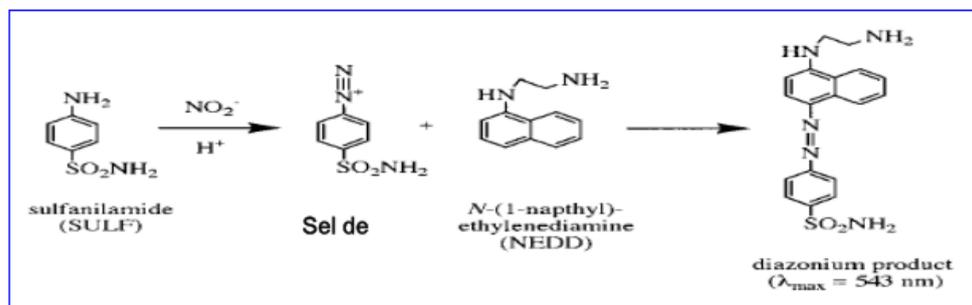
Le monoxyde d'azote (NO) est impliqué dans de nombreux processus physiologiques tels que vasodilatation, régulation de la tension artérielle, neurotransmission et réactions inflammatoires et immunitaires, ils sont libérées lors de la conversion de L-arginine en citrulline par les nitroxydases synthétases

➤ **Prélèvement :**

- Sang total sur tube héparinate de lithium

➤ **Principe :**

La mesure du monoxyde d'azote se fait par la réaction de Griess (**Green et al.,1982**). Cette dernière, permet uniquement la mesure des nitrites (métabolites stables). Les nitrates devront donc être préalablement réduits en nitrites (NO₂) pour être quantifiés. La concentration ainsi mesurée représente la somme des nitrites et des nitrates. Il s'agit d'une réaction de diazotation en deux étapes : les nitrites forment un sel de diazonium avec l'acide sulfanilique qui est ensuite couplé avec une amine pour donner un composé diazo de couleur rose vif dont l'absorbance est mesurée à 543nm.



II.3 Analyse biostatistiques

L'étude statistique est réalisée par le test « t » de Student pour les différents paramètres à l'aide du logiciel Prism 8.0. Les différences sont considérées significatives à p ≤ 0,05.

Etape 3 : Réalisation des biopsies des patients SGS.

Notre étude a été réalisée au niveau du service d'anatomopathologie à l'hôpital Salim Zemirli d'el Harrach wilaya d'Alger du mois de Janvier au mois de Mai, elle a pour but de dégager les caractéristiques anatomopathologiques des biopsies des glandes salivaires accessoires des patients atteints de syndrome de Gougerot, et d'étudier l'expression de p53 et ki67 dans cette maladie par une étude histologique et immunohistochimique.

II.4 Etude histologique :

Il s'agit d'une étude anatomo-pathologique réalisée sur une série de 4 biopsies de glandes salivaires accessoires, chez des patients atteints de syndrome de Gougerot de grade 3 et 4 selon la classification de Chilsholm et Masson.

La technique consiste à préparer un fragment pour un examen au microscope.

❖ Conservation des biopsies dans des blocs de paraffine :

✓ **La fixation** : la fixation a pour but d'immobiliser les structures, de les conserver en s'opposant à l'autolyse cadavérique et permettre la confection des coupes.

La fixation a été réalisée par un agent fixateur le formol 10% pendant 6h.

✓ **La circulation** : Le but de la technique est d'obtenir des coupes histologiques de 3 à 5µm, pour cela le tissu doit être imprégné dans un milieu rigide, le milieu d'inclusion est la paraffine qui n'est pas miscible avec l'eau, le tissu doit être passer dans des liquides intermédiaires miscibles à l'eau et au milieu d'inclusion : c'est l'étape de la circulation qui se fait dans un appareil appelé Auto technicon d'une façon automatique en 3 étapes :

- La déshydratation : son but est d'éliminer l'eau contenue dans les organes grâce à un agent déshydratant éthanol (de 70 à 100%) dans des bains de concentration croissante pendant 12h.
- L'éclaircissement : consiste à remplacer l'éthanol par un solvant de la paraffine, grâce à un agent éclaircissant : le xylène (4bains) pendant 8h.
- L'imprégnation : plusieurs bains de paraffine sont utilisés (60°) pendant 4h.

✓ **L'inclusion (enrobage)** : l'inclusion est l'étape ayant pour but de remplacer l'eau contenue dans les tissus par la paraffine fondue, cette dernière est versée dans un moule, le prélèvement est déposé, la cassette comportant le numéro est ajustée au dos

du moule, ce dernier est ensuite mis à refroidir sur une plaque métallique, les blocs sont démoulés après refroidissement de la paraffine.

✓ **La microtomie** : C'est la méthode qui consiste à préparer des coupes minces de 3 à 5 µm à l'aide d'un microtome.

- Installer le bloc sur le porte objet de microtome et enlever l'excès de la paraffine.
- Couper pour avoir un ruban d'épaisseur de 3 à 5µm pour permettre aux rayons lumineux de microscope de traverser la préparation et d'éviter la superposition tissulaire.
- Placer le ruban dans un bain marie à 37° pour ramollir la paraffine.
- Prolonger la lame perpendiculaire pour récupérer le fragment
- Séchage dans l'étuve à 60° pendant 10 min.

❖ **La coloration à l'hématoxyline-eosine(HE)** :

C'est une technique de coloration dichromatique d'usage courant en histologie, qui se compose d'un colorant nucléaire basique (hématoxyline) colore le noyau en violet, et d'un colorant cytoplasmique acide (éosine) colore le cytoplasme en rose.

Elle est précédée par le déparaffinage qui est assuré par le xylène (3bains pendant 3 à 5min), et l'hydratation par l'éthanol (3bains à concentration décroissante pour retirer le xylène des tissus et de le remplacer par l'eau.

Les étapes de la coloration sont les suivantes :

- Plonger la lame dans 3 bains d'alcool de concentration différente pendant 3min.
- Rincer à l'eau 2min.
- Colorer à l'hématine de Harris 15secondes.
- Rincer à l'eau 2min.
- Passage à l'eau ammoniacale 1min.
- Rincer à l'eau 1min.
- Colorer à l'éosine 15 secondes.
- Rincer à l'eau 5min.
- Déshydrater en rinçant dans l'éthanol absolu.

✓ **Montage** : après avoir subi une déshydratation les coupes colorées sont éclaircies dans un bain de xylène, puis montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique, et passer à l'observation microscopique.

II.5 Etude immunohistochimique :

- **Le principe :**

L'immunohistochimie est une méthode utilisée en histologie et cytopathologie qui permet de mettre en évidence certaines protéines cellulaires qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires, ou nucléaires spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire.

Elle est basée sur la formation d'un complexe antigène-anticorps suite à une complémentarité structurale, le complexe formé étant visible permet de détecter sur une coupe histologique la présence ou absence d'une protéine donnée (nucléaire, membranaire ou cytoplasmique) donc localisable par un marqueur coloré.

• **Le mode opératoire :**

1) **Coupe tissulaire :** les coupes sont réalisées à partir des biopsies des glandes salivaires accessoires conservées dans des blocs de paraffine, à l'aide d'un microtome et sont déposées (étalées sur des lames silanisées)

2) **Le séchage :** il est effectué dans une étuve pendant 24 h à 55°C

3) **Déparaffinage et réhydratation :**

- Les lames sont plongées dans 3 bains de xylène pendant 5 min pour chacun puis dans 3 bains d'alcool de concentrations décroissantes (100% -90%-70%) 5 min pour chaque bain.
- Rinçage à l'eau distillée.

4) **Le démasquage antigénique :**

- Incubation des lames dans le H₂O₂ pendant 10 min pour bloquer les peroxydases endogènes).
- Immerger les lames dans un tampon TRS dilué à 1/50 pour démasquer l'antigène puis les incuber dans un bain marie à 95°C pendant 40 min.
- Faire sortir les lames et les laisser refroidir dans un tampon Tris EDTA pendant 15 min.
- Rinçage à l'eau distillée.

5) **Immunomarquage :**

- Cerclage des fragments avec un gel hydrophobe pour éviter la diffusion des anticorps primaires sur toute la lame.
- Appliquer les anticorps primaires (P53 et Ki67) et incuber dans une chambre noire pendant 30min.
- Rinçage par tampon PBS deux bains 5 min pour chacun.
- Appliquer les anticorps secondaires.

- Rinçage par PBS.
 - Révélation par le chromogène et laisser agir pendant 10 min.
 - Rinçage à l'eau distillée.
 - Contre coloration par l'hématoxyline de Mayer pendant 5 min.
 - Lavage à l'eau de robinet pendant 10 min.
- 6) Déshydratation et éclaircissement :**
- La déshydratation se fait en utilisant 3 bains d'alcool de concentration croissante (70%-90%-100%) chaque bain pendant 5 min.
 - L'éclaircissement des lames à l'aide d'un bain de xylène pendant 5 min.
- 7) Le montage :**
- Le montage entre lame et lamelle se fait par l'utilisation d'une goutte de milieu de montage (EUKITT).

III. RESULTATS ET DISCUSSION :

III.1 Caractéristiques de la population étudiée :

III.1.1 Répartition des patients selon le sexe :

Notre étude a été effectuée sur un échantillon composé de 14 patients, comprenant 12 femmes et 2 hommes, les résultats obtenus démontrent que le SGS affecte plus les femmes (86%) que les hommes 14%, la forte prédominance féminine retrouvée dans cette étude est en accord avec la majorité des études rapportant les mêmes résultats avec un sexe ratio (:1)(**Figure 7**)(**Bordon et al., 2018 ; Patel et Shanane ,2014 ; Delande et al., 2010 ; Jacobsson et Manthorp, 1995**).

En effet les œstrogènes sont des stimulateurs du système immunitaire intervenants dans l'étiologie et / ou la progression de nombreux syndromes auto-immunes, elles stimulent la réponse des LB et LT, augmentent la sécrétion d'IG et assurent un rôle crucial dans le développement des lymphocytes et leurs prolifération et présentation d'AG (**Lahita, 1992 (a) ; Lahita,1992 (b) ; Homo Delarche et al., 1991 ; Ahmad et al.,1985**).

Le mécanisme responsable du développement des maladies auto-immunes , montre que les œstrogènes jouent un rôle dans la voie du signal liée à l'apoptose et il a été rapporté qu'ils inhibent en réduisant l'activité de la protéase analogue à la caspase , mais un déficit en œstrogène après la ménopause induit une augmentation de l'expression de Rbap48 , cette dernière active l'expression de E2F1 ce qui active la voie ARF/P53 menant à l'apoptose, donc l'œstrogène agit comme un régulateur négatif de l'activité de la caspase 1 dans les glandes salivaires (**Arakaki ,2010 ;Ishimaru ,2003**).

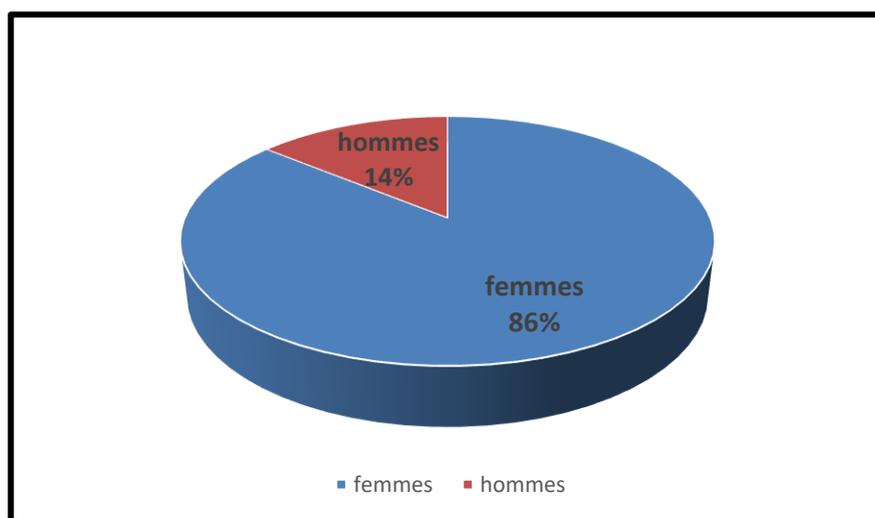


Figure 7 : Répartition des patients selon le sexe.

III.2 Répartition des patients selon l'âge :

Nos patients atteints de SGS ont un entendu d'âge variant, se situe entre 42 et 66 ans avec une moyenne d'âge de 52±8ans, la tranche d'âge située entre 48 et 54 ans est la plus touchée avec 36% (**Figure 8**).

Plusieurs études ont démontré que cette maladie peut survenir à tout âge, mais touche préférentiellement les femmes autour de la ménopause vers 40 et 50 ans (**Westhoff et Zink, 2010 ; Binard et al., 2007**). Ceci est en accord avec nos résultats.

Le SGS est rare chez l'enfant mais il n'est pas exceptionnel et généralement sous sa forme secondaire (**Ruchika et Anupama, 2014; De souza et al., 2012 ;Ziza, 1996**).

Au cours du vieillissement survient une atrophie thymique associée à une diminution de la prolifération des LT, avec l'âge les LT CD4 et CD45 naïfs sont remplacées par des cellules mémoires ce qui résulte une diminution des LT naïfs et augmentation des LT clonaux (**Kudlacek et al.,2000**).

Nos résultats sont contradictoires à ceux retrouvés dans les travaux de **Chebbi et ses collaborateurs en 2015** qui ont constaté que l'âge du début de la maladie est après 65 ans dans une étude portée sur 18 patients.

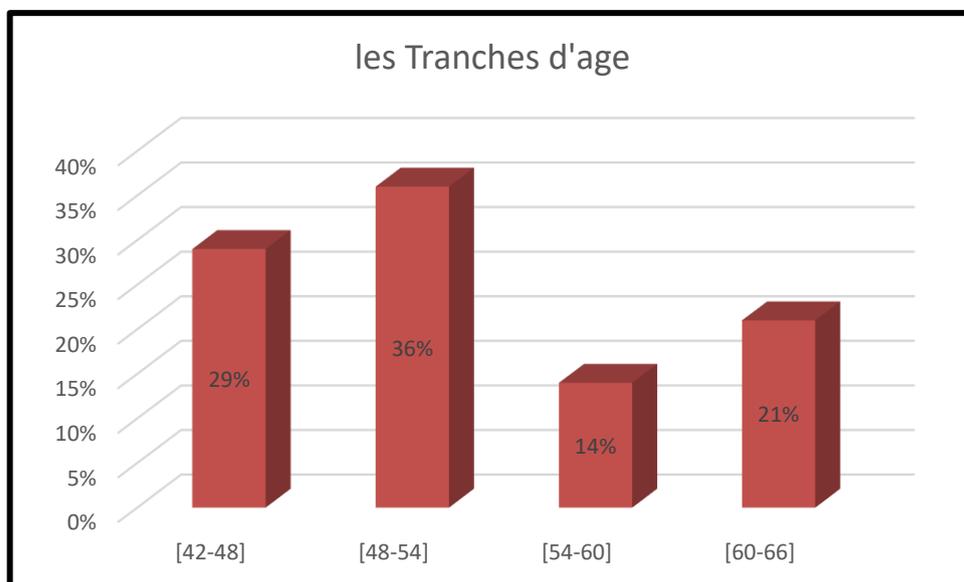


Figure 8 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.

III.3 Répartition des patients selon les caractéristiques cliniques :

III.3.1 Manifestations oculo-buccaux :

La symptomatologie la plus fréquente de cette maladie associe une sècheresse oculaire et buccale, une xérostomie est observée chez 100% des patients suivit d'une xérophtalmie avec 80%. Ceci est en accord avec d'autres résultats (**Figure 9**)(**Benasser et al., 2016 ; Chebbi et al., 2015**).

Une étude préliminaire de **Diallo et ses collaborateurs en 2016** montre que les manifestations oculo-buccales étaient présentes dans 84% des cas.

La sensation de bouche sèche est évocatrice d'une xérostomie si elle survient au cours de l'alimentation ou si elle est accompagnée par la prise de liquide pour aider à avaler des aliments secs ou s'il existe des difficultés à avaler toute la nourriture (**Vaillant et le Du, 2007**).

Au début de la maladie l'infiltrat lymphoplasmocytaire est focale et une partie des glandes est intacte, il y'a probablement une destruction des glandes restantes (**Dawson et al., 2006 ; Fox, 2005**). Il existe également un défaut d'expression membranaire de l'aquaporine, un canal qui contrôle la sécrétion aqueuse des glandes lacrymales et salivaires et dont son expression est modulée par les récepteurs M3 (**Steinfeld et al.,2011 ; li et al.,2004**).

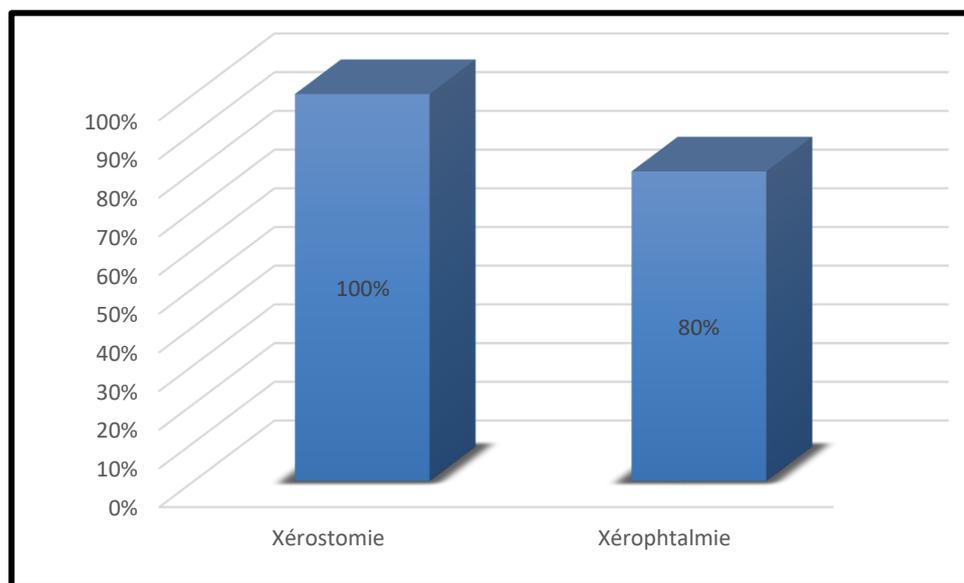


Figure 9 : Répartition des patients selon les manifestations oculo-buccales.

III.3.2 Les manifestations extra glandulaires :

Dans notre population les atteintes extra glandulaires sont présentes dans la totalité des cas, ce qui corrobore avec l'étude établie par **Ramos-Casals et ses collaborateurs en 2005** qui montre que les manifestations extra glandulaires touchent jusqu'à 70% des patients.

Nos résultats montrent que les atteintes articulaires sont présentes dans plus de 70% de la population étudiée, le plus souvent sous forme d'arthralgie, ceci est accord avec l'étude portée par **Haga et Peen en 2003** où les arthralgies touchent 73.5% des cas (**Figure 10**).

La deuxième manifestation la plus fréquente est le purpura 64%. Une étude a estimé que la prévalence de cette manifestation était 56% (**Markusse et al., 1992**). Par contre nos résultats sont contradictoires avec d'autres études qui ont prouvé que le purpura est très rare au cours du syndrome avec un % qui varie entre [3-15%] (**Demarchi et al., 2017 ; Damak et al., 2016 ; Bostios et al., 2011 ; Scofield et al., 2011 ; Feri et Masia, 2006**).

De plus 29% des patients présentent des atteintes neurologiques. Dans une étude de **Mouri et ses collaborateurs en 2003**, les troubles neurologiques étaient fréquentes 93%.

Nos résultats sont similaires à d'autres études (**Lafiette et al., 2002 ; Andonopoulous et al., 1998**). Ces manifestations varient en termes de leur fréquence entre 2-25% avec une prédominance de neuropathie périphérique principalement sensitive (**Aikaterni et al., 2016**).

Une gamme de maladies pulmonaires ont été signalées au cours du syndrome, leur incidence est de 9-20% (**Aikaterni et al., 2016**), ces résultats sont similaires à ceux retrouvés dans notre étude avec une fréquence de 29%, de plus ces atteintes se traduisent par une pleurite alvéolite, fibrose pulmonaire interstitielle (**Schanabel, 2005**) les imageries peuvent montrer des nodules, un motif interstitiel réticulaire et des kystes (**Carteron et al., 2019**).

En outre le phénomène de Raynaud a été retrouvé dans 50% de la population étudiée ce qui est approximativement en accord avec des résultats précédents, dans l'étude de **Salem et ses collaborateurs en 2017**, la prévalence du phénomène de Raynaud était de 44.60% sur un effectif de 120 personnes, tandis que d'autres études ont démontré que la présence de ce phénomène est rare (30%) (**Hajji et al., 2014 ; Yang et al., 2013**). Ainsi dans d'autres recherches les résultats montrent que seulement 20% de la population se plaignent du phénomène de Raynaud (**El Hilali, 2001**).

La présence du phénomène de Raynaud au cours du diagnostic constitue un facteur prédictif d'activité du SGS et de risque de diffusion plurisytémique de la maladie (**Lambert et al., 2000**).

L'atteinte rénale est absente dans notre série, ces résultats ne corroborent pas avec d'autres études où la manifestation rénale peut toucher jusqu'à 29,47% et elle se manifeste généralement par une néphrocalcinose, insuffisance rénale ainsi qu'une acidose tubulaire peut être observée (Benasser et al., 2016 ; Yaouino et al.,1990).

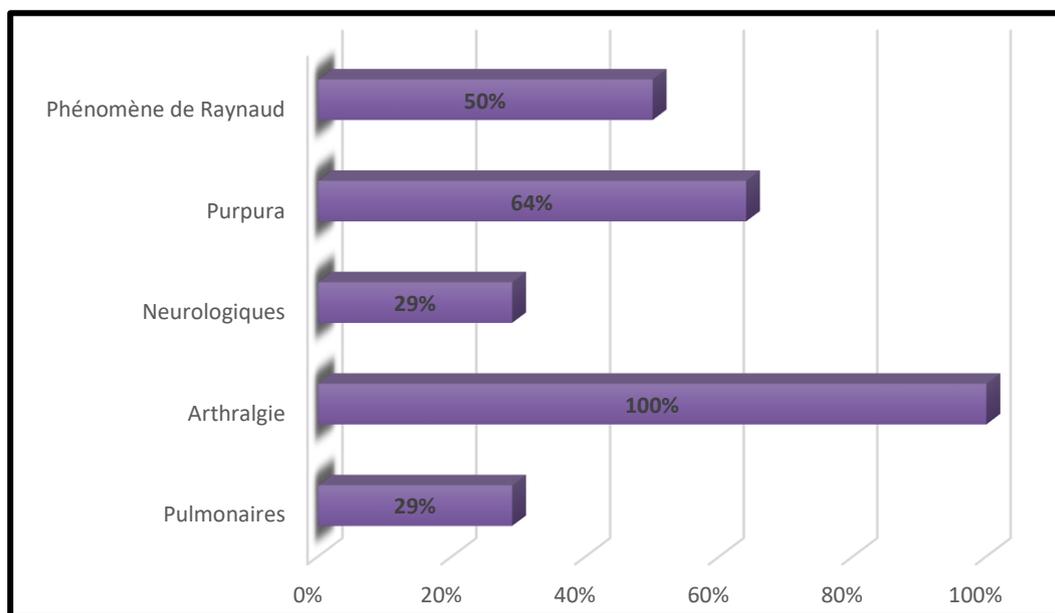


Figure 10: Répartition des patients selon les manifestations extra glandulaires.

III.3.3 L'asthénie :

Le symptôme commun de SGS est la fatigue, elle est présente dans la totalité de la population étudiée (100%), ceci est en accord avec d'autres études effectuées où la fatigue est le symptôme le plus courant entre 70-90% (Figure 11) (Yakoub et al., 2011 ; Giles et Isenberg,2000 ; Bowman et al., 2004).

Elle se caractérise par un affaiblissement musculaire et peut être associée à une perte de mémoire, manque de concentration, dépression, anxiété (Westhoff et al., 2011).

Les tentatives à expliquer la fatigue dans le SGS par une augmentation de taux sérique de cytokines pro-inflammatoires comme IL-6 ou TNF alpha ont échoués (Hartkamp et al., 2004).

Une étude récente démontre une corrélation entre la réduction de la qualité de vie liée à la santé et les taux sériques associés au SGS (Baturone et al., 2009).

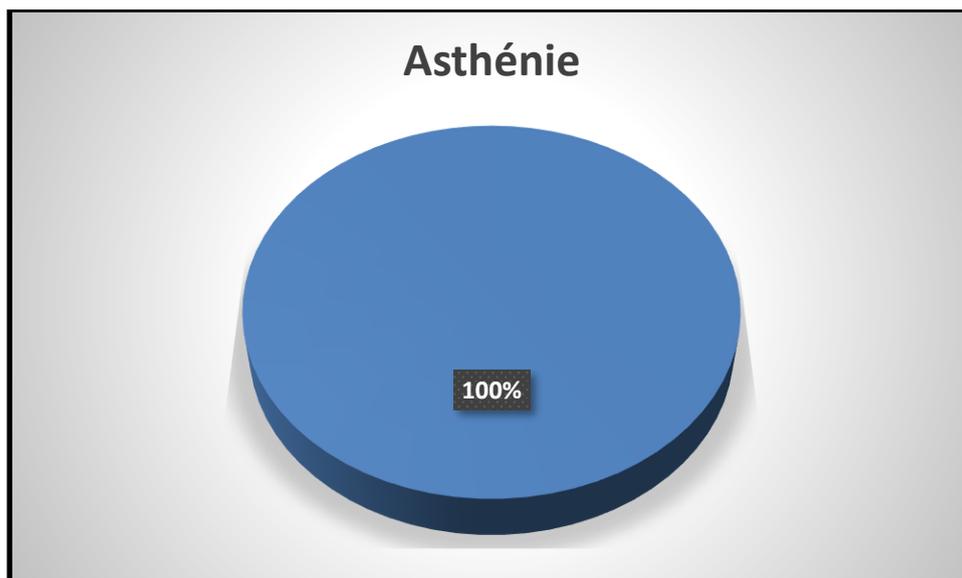


Figure 11 : Répartition des patients selon la sensation de fatigue.

III.4 Répartition des patients selon le traitement prescrit :

93% de nos patients étaient sous traitement. 43% étaient sous hydroxychloroquine (Plaquenil®) alors que 36% d'entre eux nécessitaient la mise en route des immunosuppresseurs les plus utilisés étaient Mabthéra ou Méthotrexate (**Figure 12**).

C'est le Plaquenil qui a montré son efficacité dans la réduction de l'inflammation lors de traitement de polyarthrite rhumatoïde et par la diminution des IgG au cours du syndrome ainsi qu'une diminution des marqueurs inflammatoires et les BAFF dans la salive et la sécrétion lacrymale, et stimuler les sécrétions salivaires et lacrymales (**Yoon et al.,2016**).

L'hydroxychloroquine pourrait être efficace par le biais d'une inhibition de l'activité cholinestérase qui est élevée dans les glandes salivaires des patients avec un SGS, ce qui pourrait contribuer à une diminution sécrétoire glandulaire (**Dawson et al., 2004**).

Le Méthotrexate est utilisé comme un agent immunosuppresseur au cours du syndrome, il a marqué une efficacité dans plusieurs études (**Ramos-Casals et al., 2012**). A ce jours, une seule étude pilote , ayant investigué sur l'efficacité et la sécurité du méthotrexate dans le SGS primaire , elle a été effectuée chez 17 patients et a donné des résultats encourageants ;les symptômes de xérostomie et de xérophtalmie , la toux sèche et le purpura étaient améliorés ; il pourrait été proposé devant une polyarthrite invalidante persistante après échec de l'hydrochloriquine (**Oppliger,2006 ;Skepouli et al., 1996**) Il peut être remplacé par la cyclosporine A, acide mucophenolique (**Demarchi et al.,2017**).

La biothérapie représente une nouvelle approche prometteuse dans le traitement, la déplétion des cellules B est une forme de traitement qui peut être utilisée chez les patients atteints du syndrome de Sjögren. Ceci est réalisé par un traitement anti CD-20 ou anti CD-22. Le rituximab (Anti CD-20) est un anticorps monoclonal qui cible le CD-20 de l'antigène trouvé à la surface des cellules B, le mécanisme du médicament, bien qu'on ne le comprenne pas complètement, on croit qu'il implique une cytotoxicité dépendante du complément, une inhibition de la croissance et l'apoptose des cellules B (Reff et al., 1994).

La réduction des lymphocytes B conduit à la diminution de la quantité des auto anticorps et des facteurs rhumatoïdes. Dans une étude, l'efficacité du rituximab et la tolérance de la déplétion des lymphocytes B dans le SGS sont associés à un lymphome de MALT, les résultats ont montré une diminution des effets de l'affection ainsi qu'une amélioration significative de la fonction salivaire et lacrymale (Meijer et al.,2010 ; Pijpe et al., 2005).

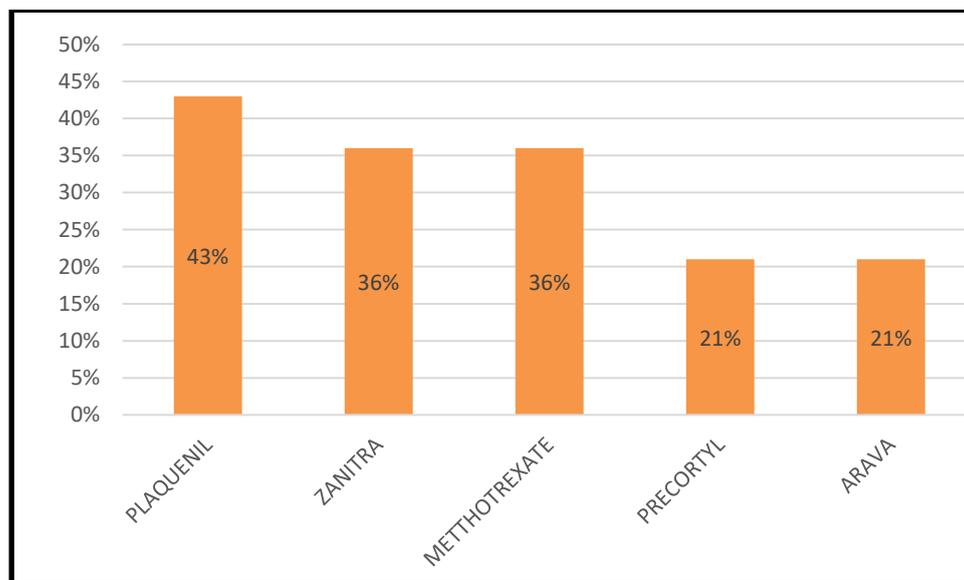


Figure 12 : Répartition des patients selon le traitement prescrit

III.5 Description des données biologiques :**III.5.1 Interprétation du bilan inflammatoire :**

La CRP est la 1^{ère} protéine à décrire dans la phase aigüe d'une inflammation et un marqueur systémique dans les maladies auto immunes (**Pepys et Baltz, 1983**).

De nombreuses études ont démontré que la CRP peut engendrer de multiples processus inflammatoires par la stimulation de la production des facteurs tissulaires par les monocytes du sang périphérique, et une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion et modulation de la synthèse du NO (**Pepys et Hirschfield, 2003**).

Dans notre étude, il n'y a pas de différence significative entre les patients et les témoins ceci est dû à la prise de médicaments de type anti inflammatoires. Cependant il existe un cas particulier, qui a une CRP très élevée qui est due à la longue durée de la maladie (20ans) et le patient n'est sous aucun traitement (**Figure 13**).

Dans la littérature, l'hydroxychloroquine a prouvé son efficacité sur les anomalies biologiques du syndrome de Gougerot-Sjögren. En effet, **Mariette et Kaplan** observent une amélioration des signes biologiques, une diminution de la vitesse de sédimentation, de la concentration en immunoglobulines (Ig G et Ig M) ainsi qu'une baisse du taux d'interleukine 6 et de protéine C réactive (**Mariette, 2004 ; Kaplan, 1999**).

Les protéines de l'inflammation et singulièrement la protéine C réactive sont parfois élevées dans certaines formes sévères de polyarthrite ou de vascularité (**Hatron et Fauchais, 2001**).

Le NO (monoxyde d'Azote) n'est pas important uniquement lors des phénomènes tels que l'apoptose, l'inflammation, la biogenèse des mitochondries et la régulation du tonus des vaisseaux sanguins, mais il est également impliqué dans des maladies inflammatoires telles que le SGS (**Cejková et al., 2007**).

Dans notre cohorte de patients, le dosage de NO a montré des résultats significatifs avec une augmentation chez les patients, cette augmentation est aussi retrouvée dans d'autres études sur des maladies auto immunes comme dans le syndrome de Behçet où le taux de NO est élevé ceci est dû à son rôle dans la modulation de la réponse immunitaire (**Figure 14**) (**Guenane et al., 2006**).

Cependant, il existe très peu d'éléments quant à l'implication des ROS dans le processus pathologique du SGS. Une étude montre une diminution de la concentration de NO₂⁻ (anion nitrite) et de NO₃⁻ (nitrate) dans la salive, mais en même temps une augmentation de NO₃⁻ dans les urines (Xia et al., 2003). Une autre étude montre une augmentation de NO₂⁻ dans la glande salivaire labiale (Kontinen et al., 1997). L'hypofonction de la glande salivaire a probablement un impact sur le métabolisme des nitrates mais le processus reste jusqu'à présent peu clair (Charras, 2018).

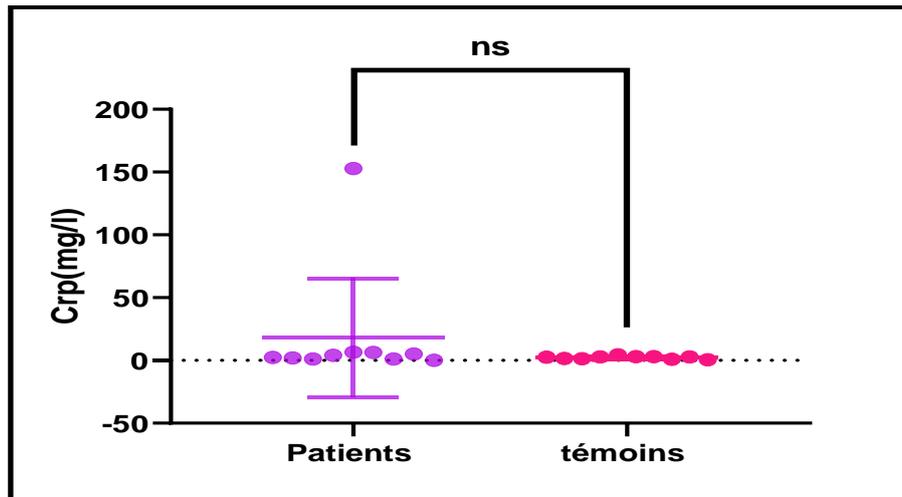


Figure 13 : Evaluation du taux sérique de la CRP chez les patients atteints du SGS et des témoins

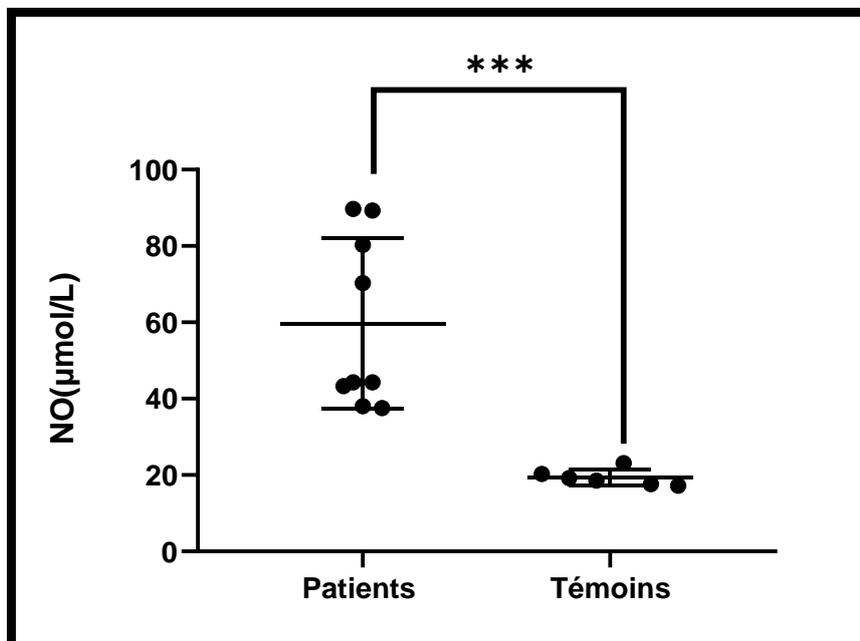


Figure 14: Evaluation du taux sérique de NO chez les patients atteints du SGS et des témoins

III.5.2 Interprétation du bilan rénal :

L'atteinte rénale est une manifestation extra glandulaire bien connue au cours du syndrome de SGS, elle survient dans 20-50% des cas (**Abdelghani et al.,2006**).

Nos résultats ne montrent pas une différence significative entre les patients et les témoins pour les deux paramètres dosés (Urée et Créatinine) ceci est en accord avec d'autres études où le taux de créatinine est normal (**Figure 15,16**)(**Palkar el al., 2011 ; Mapoure et al.,2011**). Par contre ils sont contradictoires avec les résultats trouvés dans l'étude de **Damak et ses collaborateurs en 2016** où le taux de créatinine est élevé dans 3 cas (37,5 %), ainsi les résultats rapportés dans l'étude de **Abdelghani et ses collaborateurs en 2006** ont montré une augmentation de créatinine jusqu'à 430umol/l cette augmentation explique une atteinte glomérulaire avec présence d'une insuffisance rénale associée à une protéinurie et une acidose hyperchlométrique.

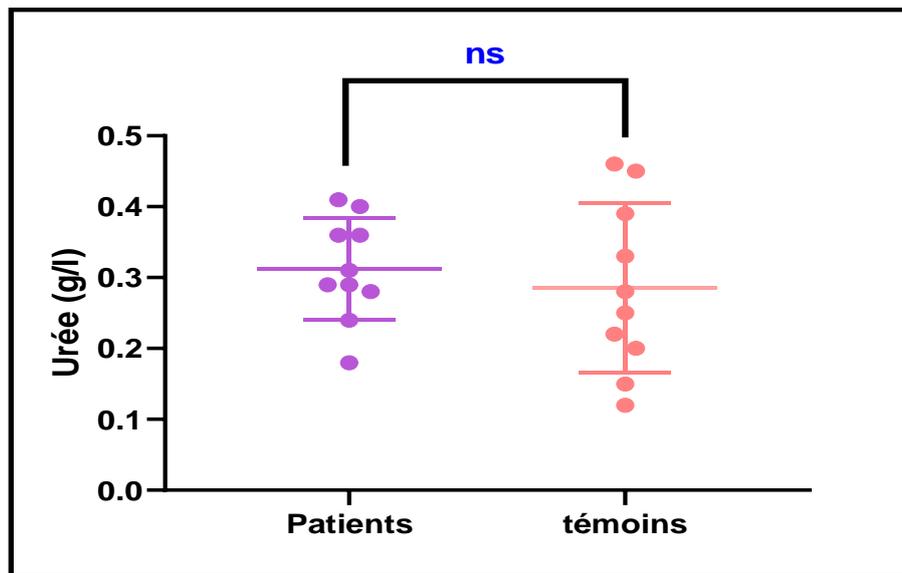


Figure 15 : Evaluation du taux sérique de l'urée chez les patients atteints de SGS et des témoins.

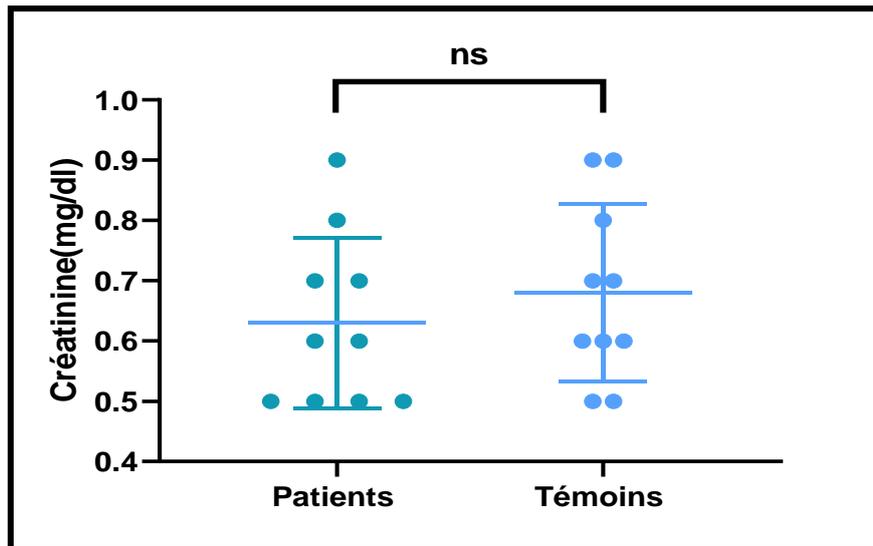


Figure 16 : Evaluation du taux sérique de créatinine chez les patients atteints de SGS et des témoins.

III.5.3 Interprétation des résultats du bilan hépatique

Le dosage des paramètres hépatiques fait partie de bilan biologique pratiqué systématiquement dans le but de diagnostic et de pronostic.

L'atteinte hépatique chez nos patients est absente, nos résultats montrent qu'il n'y a pas une différence significative entre les patients et les témoins pour les 3 paramètres : les transaminases et gamma gt, Cependant 3 cas de notre population ont un taux élevé d'ASAT sans manifestation clinique signalée.

Ces résultats sont en accord avec une étude où le taux des transaminases est augmenté à 40 UL/L chez 23 patients, tandis que la valeur de gamma GT est augmentée chez 11 patients (**Figure 17,18,19**) (**Ramos-Casals et al., 2012**).

D'après **Matsumolo et ses collaborateurs en 2005**, l'atteinte hépatique est fréquente sous forme d'hépatite auto immune chez 45% des cas, cirrhose biliaire primitive chez 35% et 6% présentent une hépatite aigue.

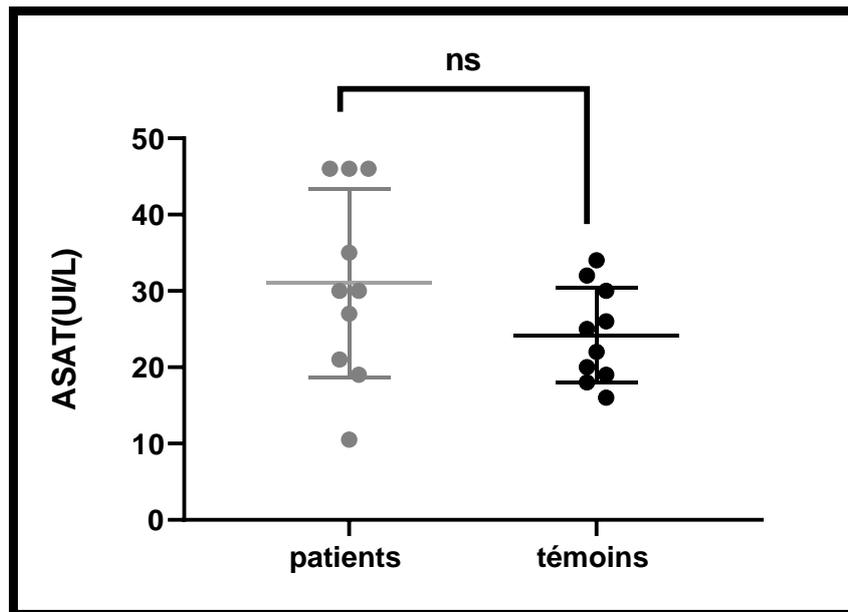


Figure 17 : Evaluation du taux sérique d'ASAT chez les patients atteints de SGS et des témoins

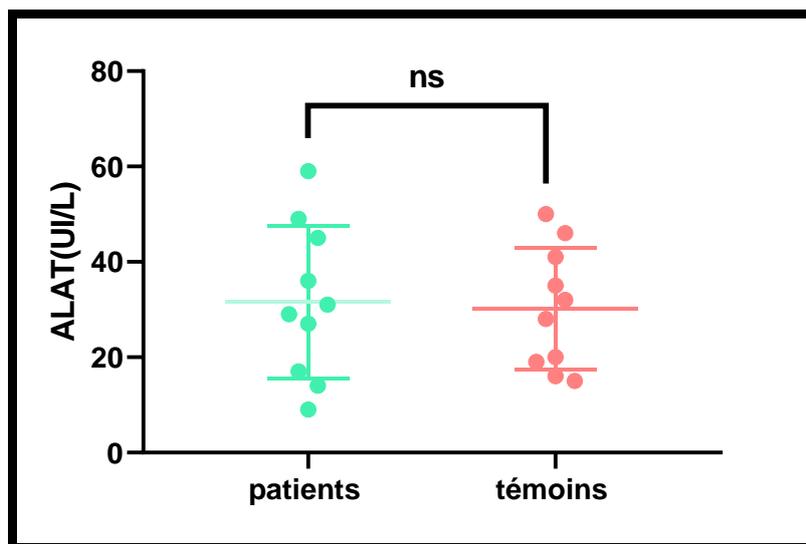


Figure 18 : Evaluation du taux sérique d'ALAT chez des patients atteints de SGS et des témoins.

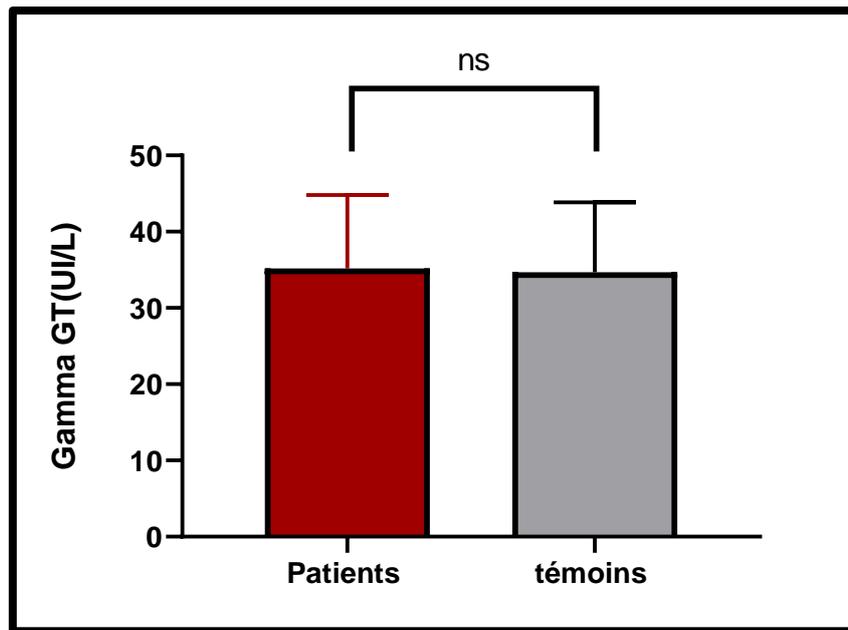


Figure 19 : Evaluation du taux de Gamma Gt chez des patients atteints de SGS et des témoins.

III.5.4 Interprétation des résultats de la glycémie

Les résultats de dosage de la glycémie étaient dans les normes sans différence significative, ceci est en accord avec les résultats de plusieurs études qui ont démontré un taux normal de glycémie et qui est égale à 89mg/dL (**Figure 20**) (**Mapoure et al., 2011 ; Palkar et al., 2011**).

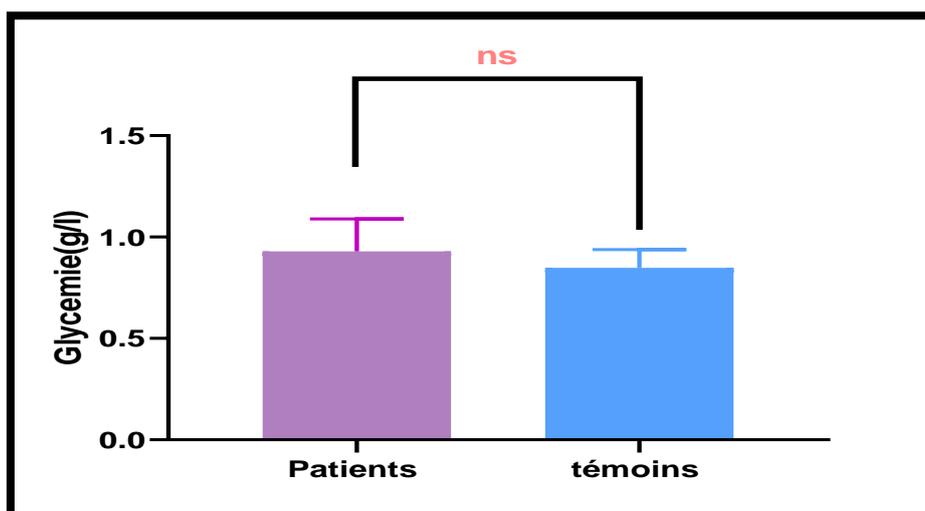


Figure 20 : Evaluation du taux sérique de la glycémie chez des patients atteints de SGS et des témoins.

III.5.5 Interprétation du bilan hématologique :

Une prévalence élevée des anomalies hématologiques a été marquée chez les patients atteints de SGS.

Nos résultats montrent que nos patients présentent un hémogramme perturbé avec une cytopénie qui est présente chez près de la moitié des patients (50%) ceci est en accord avec l'étude de **Lechtman et ses collaborateurs en 2016**, elle inclue : une anémie dans 30% des cas, lymphopénie et éosinophilie chez 10% des patients, ceci est en concordance avec plusieurs études (**Figure 21,22**) (**Jonson et al., 2012 ; Raffay et al.,2003**).

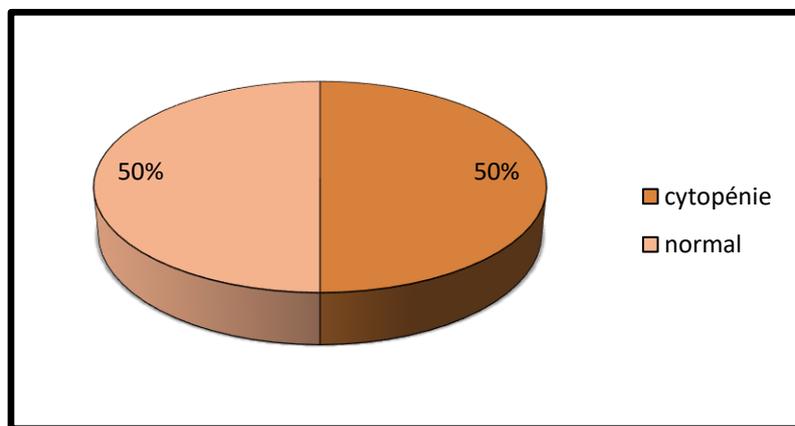


Figure 21: la cytopénie chez des patients atteints de SGS.

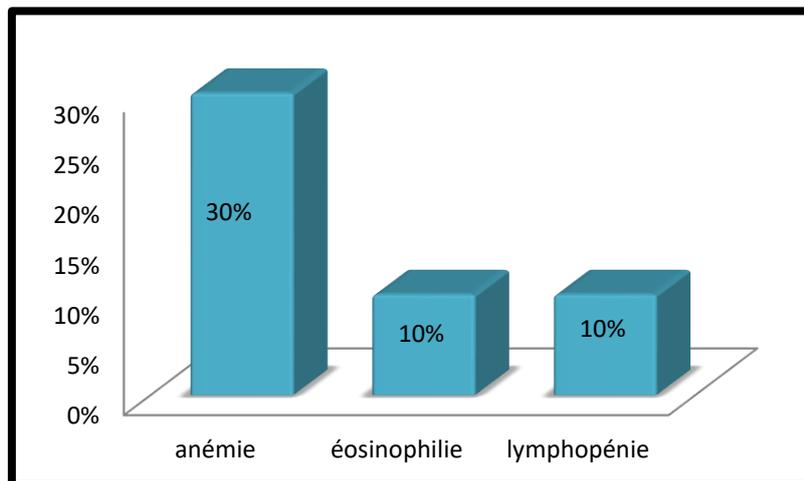


Figure 22: Répartition des patients de SGS selon les anomalies hématologiques.

III.6 Etude architecturale et structurale des glandes salivaires**accessoires chez les patients atteints de syndrome de Gougerot****Sjögren :**

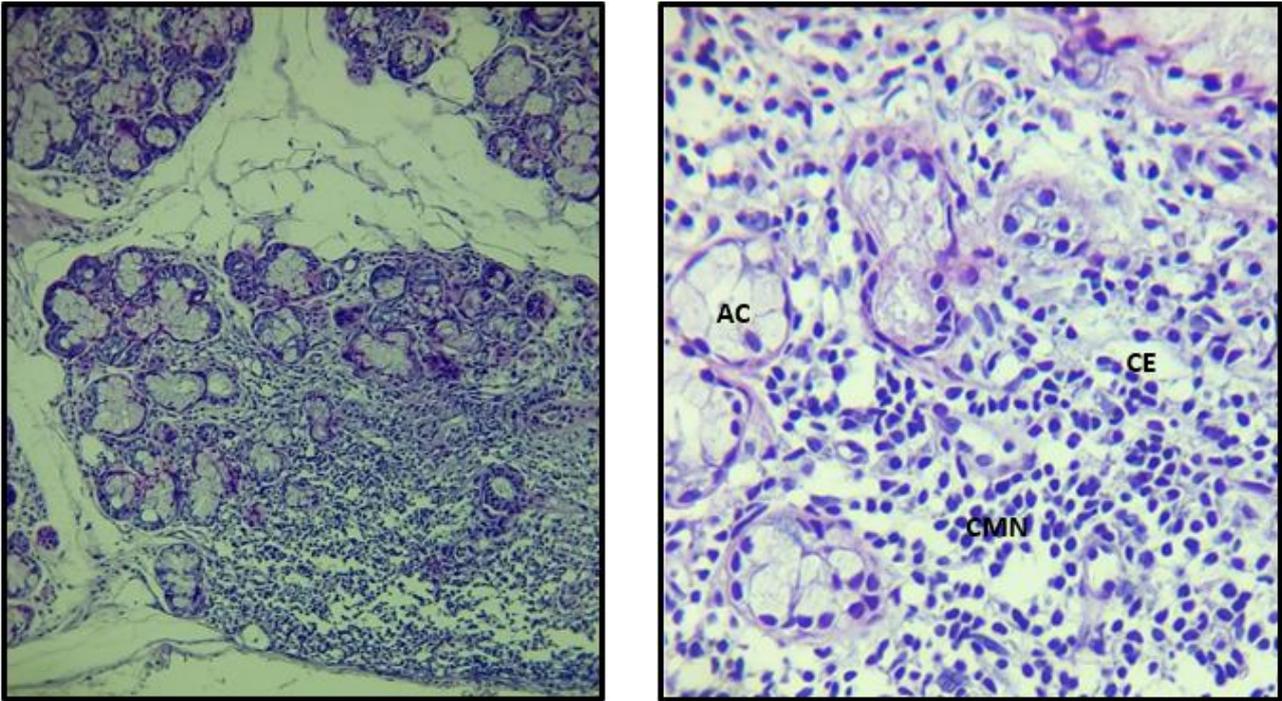
La biopsie des glandes salivaires accessoires permet de confirmer l'atteinte des glandes, cet examen renseigne sur l'importance de l'infiltrat lymphoplasmocytaire et de la fonction d'altération des structures glandulaires et celui de la prolifération fibroblastique (fibrose).

La classification de Chisholm et Masson permet de standardiser la zone examinée et connaître le degré de changement histologique de la biopsie (**Tableau 6**) (**Annexe VI**).

Dans le SGS on définit un foyer comme étant un groupement constitué d'au moins de 50 cellules lymphocytaires sur un champs de 4 mm² de tissu salivaire, l'infiltrat est classé de 0 à 4, les grades 1 et 2 ne constituent pas une inflammation pathologique, et les grades 3 et 4 sont les plus évocateurs, ces agrégats peuvent parfois comporter des centres germinatifs avec une organisation d'allure ganglionnaire, une étude récente a montré que la présence de lésion sur une BGSA constitue un facteur prédictif de survenue de complication lymphomateuse (**Voir annexe VI**).

L'examen histologique des glandes salivaires accessoires montre la présence d'un infiltrat lymphoplasmocytaire autour des acini et des canaux excréteurs, ce qui entraîne une atrophie avec désorganisation architecturale de ces derniers contrairement aux GSA des témoins chez lesquels l'infiltrat lymphoplasmocytaire est absent et leur épithélium est conservé (**Figure 23,24**).

En effet, le SGS affecte surtout les glandes exocrines. Où le tissu épithélial est détruit et remplacé par des cellules immunitaires, les études phénotypiques et fonctionnelles ont montré que les cellules prédominantes dans l'infiltrat des glandes exocrines affectées sont les cellules LT (75%), contre 25% de LB, l'épithélium glandulaire est progressivement détruit, conduisant à terme à la diminution de la fonction sécrétrice des glandes (**Theander et al., 2010;Pers et al.,2008 ;Chisholm et Masson,1968**).



A

B

Figure 23 : Coupe histologique d'un parenchyme de glandes salivaires accessoires d'un patient atteint de SGS grade 4.

Coloration hématoxyline-éosine ,Gr x100(A) ; x400(B); Micrographie originale
AC : Acini ; CMN : cellules mononuclées infiltrantes ; CE: canal excréteur .

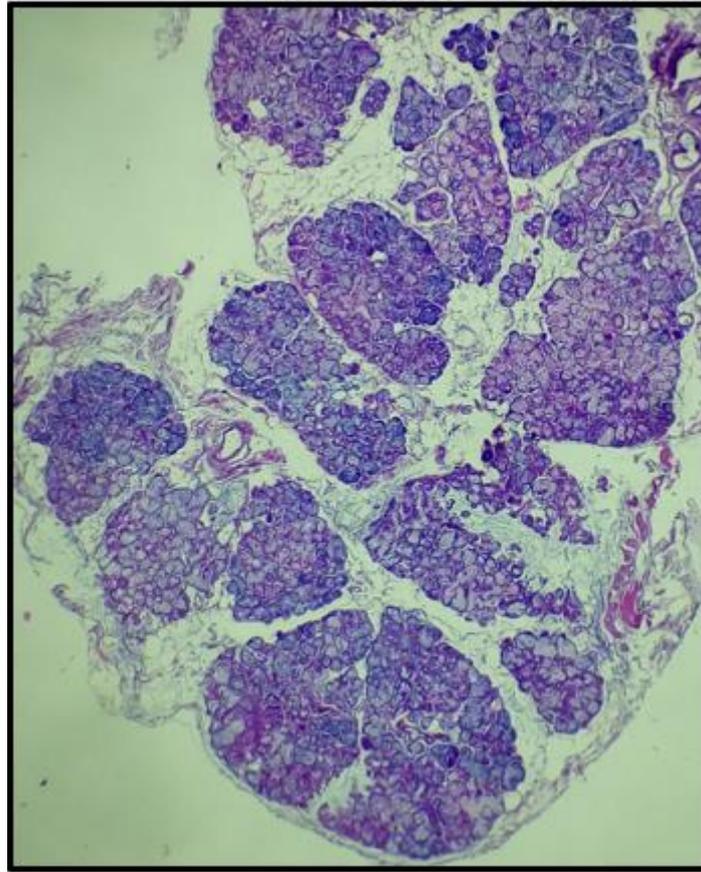


Figure 24 : Coupe histologique de la glande salivaire accessoire d'un témoin négatif de grade 1.

Coloration hématoxyline-Eosine , Gr x100; Micrographie originale.

III.7 L'expression immunohistochimique de la protéine P53 au cours de syndrome de Gougerot Sjörger :

L'examen immunohistochimique effectué sur 4 biopsies de glandes salivaires accessoires de patients atteints du syndrome de Gougerot Sjörger et un témoin sain, montre que l'expression nucléaire de la protéine P53 s'est révélée être positive chez 50% des cas, ce marquage est présent uniquement au niveau du foyer inflammatoire. Nos résultats révèlent également une absence totale de cette protéine chez les témoins (Figure 25,26,27).

Cette protéine a été étudiée d'une manière intensive dans d'autres pathologies (Vousden et Lane,2007). Dans une étude effectuée sur des biopsies orales de 35 patients présentant des lésions intra-épithéliales (LIEP) ainsi que des carcinomes épidermoïdes (SCC). L'expression de P53 était de 56.3% dans les lésions

intraépithéliales (LIEP) et de 63% dans les carcinomes épidermoïdes (SCC). Nos résultats se situent dans la fourchette des valeurs rapportées dans la littérature (**Santos-Gracia et al.,2005 ;Montebugnoli et al.,2008**).

Cependant la P53 a fait l'objet d'une autre étude sur le lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) où elle est exprimée chez 25% des patients et dans l'adénocarcinome son expression est positive dans 11/12 cas (**Patrascu et al.,2017 ;Tiwari et al.,2015**).

Dans une autre étude effectuée sur un modèle expérimental, l'expression de la protéine P53 et la caspase3 au cours d'une apoptose physiologique induite par des agents tératogènes montre que l'expression de la p53 est restreinte dans l'état normal, tandis qu'elle est augmentée après exposition aux agents tératogènes (**Gashegu et al.,2005**).

La protéine p53 est une protéine nucléaire de 53 kDA produite par le gène TP53 qui est considéré comme un gardien du génome, car il identifie et répare les lésions d'ADN, ce gène est parmi les gènes les plus fréquemment affecté dans le processus de prolifération tumorale, sa fonction est altérée dans plus de 50% des cancers humains (**Zilfo et Lowe,2009 ;Thierry,2000**).

L'apoptose est détectée dans les glandes salivaires mineures des patients atteints du SGS, **Kong et ses collaborateurs en 1997** ont rapporté que la majorité des cellules immunitaires infiltrantes sont des LT CD8. L'apoptose au niveau des cellules épithéliales des glandes salivaires peut être provoquée par 3 mécanismes différents :

Les cellules épithéliales peuvent être activées de manière intrinsèque et subir un phénomène d'apoptose par repliement de la membrane par le biais d'une interaction autocrine Fas/FasL, ou par interaction avec les cellules mononuclées infiltrantes et subir une apoptose induite par l'interaction Fas/FasL, et enfin le dernier mécanisme pourrait être déclenché par la libération de la perforine et les granzymes B par les LT4 et les LT8 avec activation ultérieure de la voie des caspases , et en particulier les caspases 3 et 9.

De plus, l'apoptose des cellules épithéliales chez les sujets sains reflètent leur renouvellement tandis que dans les acini et les canaux excréteurs chez les SGSp reflètent leur destruction et représente la voie principale de destruction cellulaire (**Atkinson et al.,1998 ;Polihnoris et al.,1998 ;Damond et al., 1996**).

L'implication de la protéine P53 au cours de ce processus a été étudiée par **Mariette et ses collaborateurs** sur un échantillon de 10 patients ou l'expression de cette protéine a été retrouvée chez 9/10 patients, le marquage est localisé au niveau des canaux entourant le foyer inflammatoire (**Mariette et al.,2002**).

L'activation de la P53 pourrait conduire à deux réponses différentes :

Soit l'arrêt du cycle cellulaire dans la phase G1 permettant la réparation de l'ADN et empêchant l'apoptose, ceci se fait soit par d'une excision de nucléotide (NER), une réparation par excision de base (BER), une recombinaison homologue (HR), ou encore une recombinaison non homologue des extrémités (NHEJ) (**Jacquin,2014**).

Cependant si les cellules sont très endommagées la P53 pourrait induire une apoptose en intégrant deux voies parallèles :

Une voie extrinsèque qui est activée au cours de la réponse immunitaire par le biais d'une transactivation des récepteurs de mort localisés sur la membrane plasmique : CD95/ Fas qui initie l'apoptose par activation de la voie des caspases (**Ihrie et al.,2003 ;Reczek et al.,2003**).

La P53 peut également activer la voie intrinsèque dépendante des mitochondries, en induisant l'expression des protéines pro-apoptotiques mitochondriales comme les BAX et PUMA, qui favorisent la chute du potentiel membranaire mitochondriale et la libération de cytochrome C conduisant à la formation d'un apoptosome avec l'APAF1 dont son expression est également induite par la P53 et avec la caspase 9 (**Mayo et al.,2002**).

Parallèlement la P53 peut se lier et inhiber l'activité des protéines anti-apoptotiques Bcl-2, Bcl-X et donc faciliter l'activité pro-apoptotique des BAX (**Mihara et al.,2003 ;Chipuk et al. ,2004**).

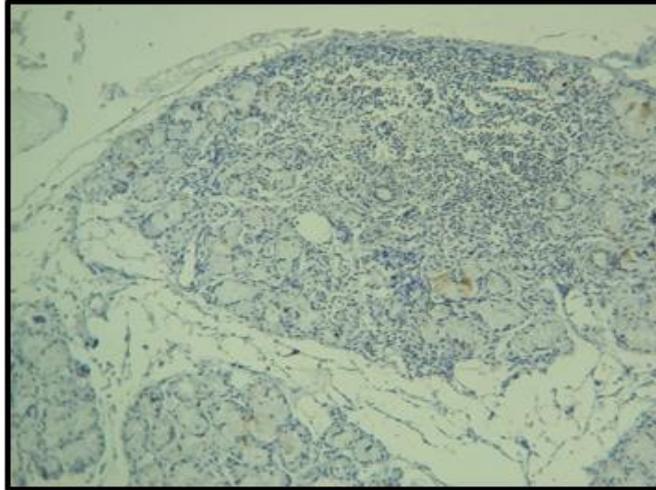
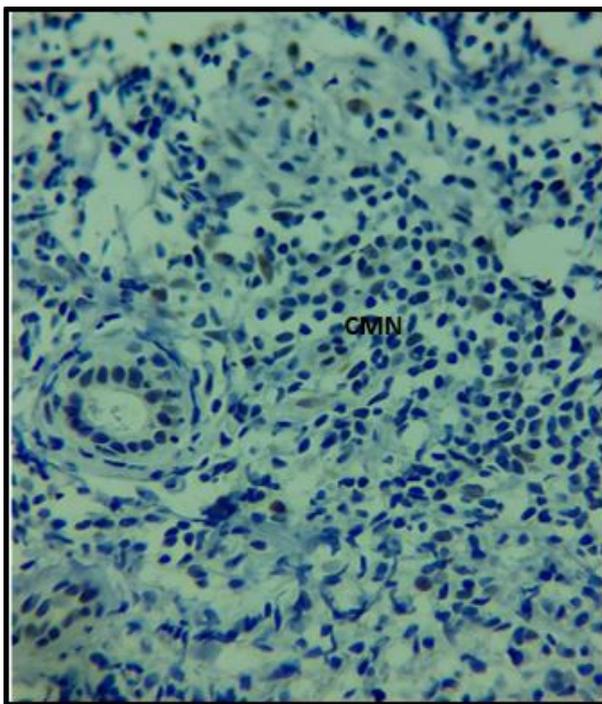
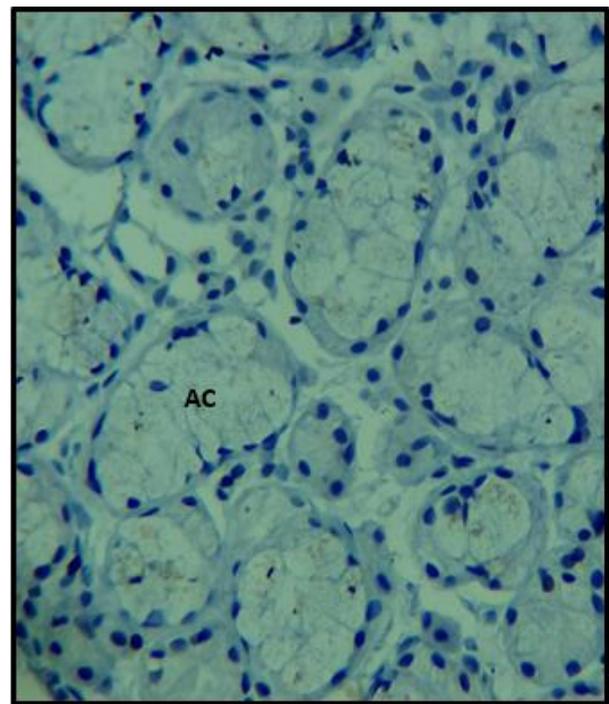


Figure 25: Immunomarquage de la protéine P53 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 4. Grx100; Technique d'immunohistochimie, Micrographie originale.

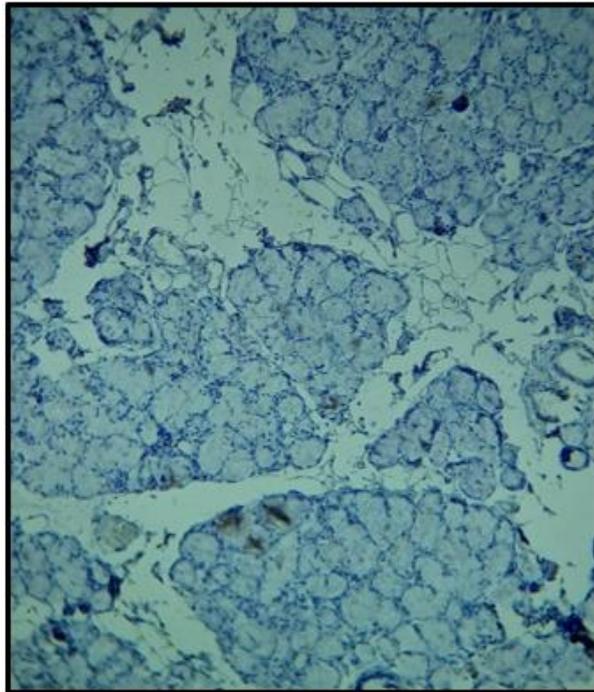


A

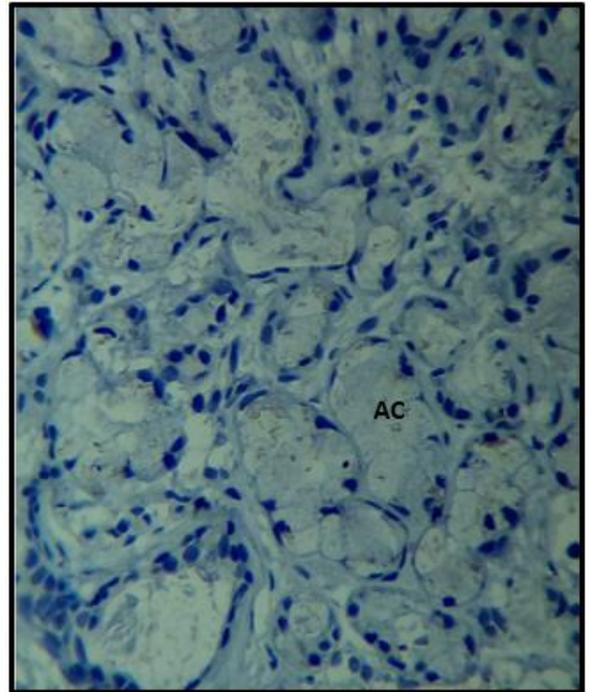


B

Figure 26 : Immunomarquage de la protéine P53 au niveau des foyers inflammatoires(A) et des acini (B) chez des patients atteints de SGSde grade 4 ; technique d'immunohistochimie ; Grx400 , Micrographie originale.



A



B

Figure 27: Immunomarquage de la protéine P53 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un témoin négatif de grade 1 ;GRx100 (A) et x400(B) , technique d'immunohistochimie ,Micrographie originale.

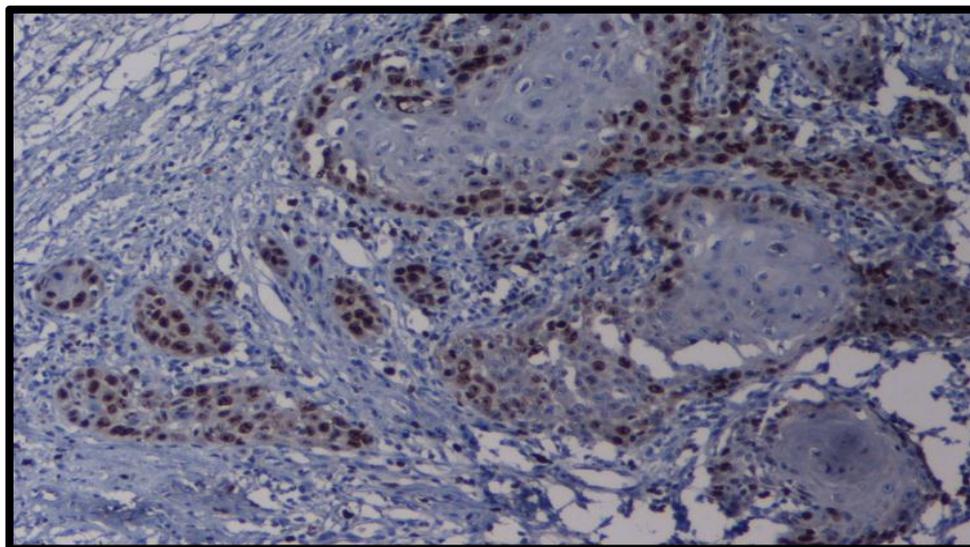


Figure 28 : Immunomarquage de la protéine P53 au niveau des cellules épithéliales chez un témoin positif atteint d'un carcinome épidermoïde buccal, technique d'immunohistochimie, Gr x 100,(Pity et Jalal.,2013).

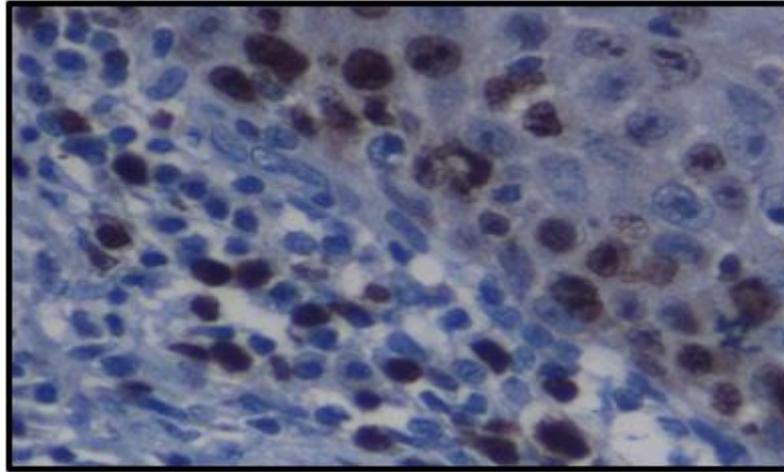


Figure 29 : Immunomarquage de la protéine p53 au niveau des cellules épithéliales chez un témoin positif atteint d'un carcinome épidermoïde buccal, technique d'immunohistochimie, Gr x400(B) ,(Pity et Jalal.,2013).

III.8 L'expression immunohistochimique de la protéine Ki67 au cours de syndrome de Gougerot Sjörger :

L'expression de Ki67 est présente chez $\frac{3}{4}$ des patients, le marquage nucléaire est observé intensément au niveau de l'infiltrat inflammatoire, cependant il est peu intense au niveau des canaux excréteurs et les acini. Nous avons aussi évalué l'expression de cette protéine chez les témoins sains pour lesquels les résultats étaient totalement négatifs (Figure 30,31,32).

Nos résultats concordent avec une autre étude où le marquage de ki67 est détecté dans l'infiltrat inflammatoire et l'épithélium canalaire tandis qu'il est absent au niveau des cellules acineuses (Herrera et al.,2008).

Le Ki67 a fait l'objet d'une étude histochimique effectuée sur 40 patients atteints d'une kératokyste odontogène (KKO) où son expression été présente chez 10/40 patients, principalement dans les couches super basales (Beltaif et al.,2012)

Le ki67 est une protéine nucléaire codée par le gène MKi67 son expression est variable en fonction de différente phase du cycle cellulaire , elle est nulle en G0, faible en G1,G2,S et plus élevée en M. il est fortement lié au contrôle du cycle cellulaire , il est exprimé dans toutes les cellules prolifératives normales ou tumorales ,il représente une méthode fiable d'évaluation de voie de cycle cellulaire ,en particulier dans le cancer du sein , il existe une corrélation positive entre le taux de l'expression de la protéine Ki67

et le taux de prolifération cellulaire et la phase active du cycle cellulaire dans le cancer du sein invasif , Un Ki67 élevé est associé à des tumeurs de haut grade et de grande taille (**Rouiz et al.,2006 ;Irigayen et al.,2001; Endl et Gerdes,2000 ; Gerdes et al.,1991**) .

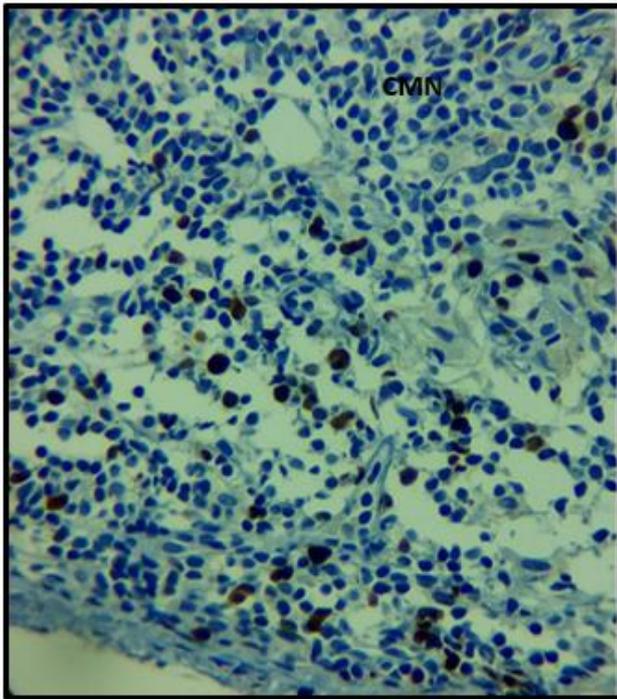
Dans une autre étude effectuée sur le cancer du sein l'expression de Ki67 est intense dans les tumeurs de phénotype Luminal B ce qui entraîne un risque relatif de rechute et de décès (**Agboola et al.,2013**).

L'étude des facteurs biologiques tissulaires a permis d'évaluer la sensibilité tumorale au traitement médical. Le Ki-67 qui est actuellement l'un des principaux facteurs prédictifs de la sensibilité à la chimiothérapie et à l'hormonothérapie. C'est dans ce contexte que la diminution de taux de Ki67 constitue un biomarqueur prédictif témoins de l'efficacité thérapeutique notamment la chimiothérapie au cours du cancer du sein (**El benna et al.,2015**).

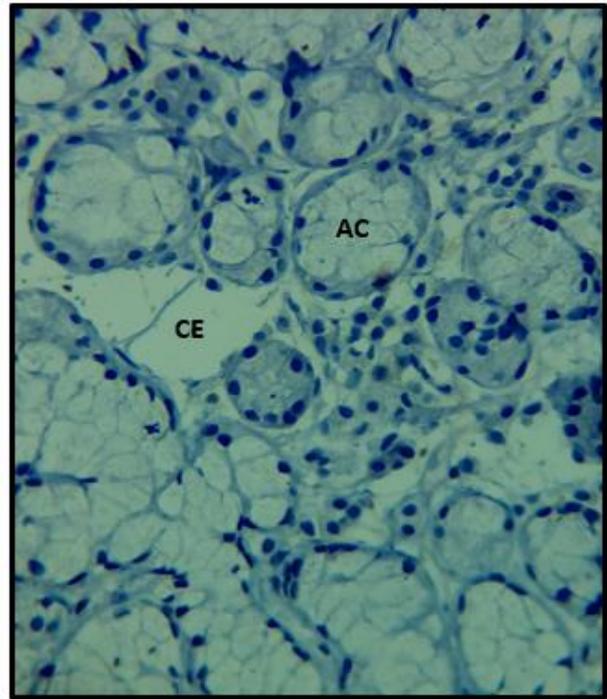
Une autre étude a montré une forte expression de Ki67 dans le carcinome épidermoïde il est exprimé à 53%, et 88.22% dans les carcinomes kystiques adénoïdes (**Alves et al.,2004 ;Lazzaro et Cleveland,2000**).

Les premières études visant à déchiffrer le rôle fonctionnel du Ki67 dans les cellules en prolifération ont suggéré que cette protéine était nécessaire pour le cycle cellulaire. En effet il a été rapporté que la synthèse de l'ADN pourrait être inhibée dans les cellules en culture à la suite de leur incubation avec des Oligo désoxynucléotides complémentaires de l'ARNm de Ki67 aussi la micro injection d'anticorps ciblant le Ki67 dans le noyau réduit le taux de division cellulaire dans les cellules en prolifération.

Cependant, certains rapports ont suggéré une implication potentielle de Ki67 dans la synthèse de l'ARNr en agissant comme un intensificateur de biogénèse de ribosomes favorisant la prolifération cellulaire (**Mrouj,2018**).



A



B

Figure 30: Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau du foyer inflammatoire(A) et au niveau des acini(B) chez des patients atteints de SGS de grade 4; Technique d'immunohistochimie ;Grx400, Micrographie originale.

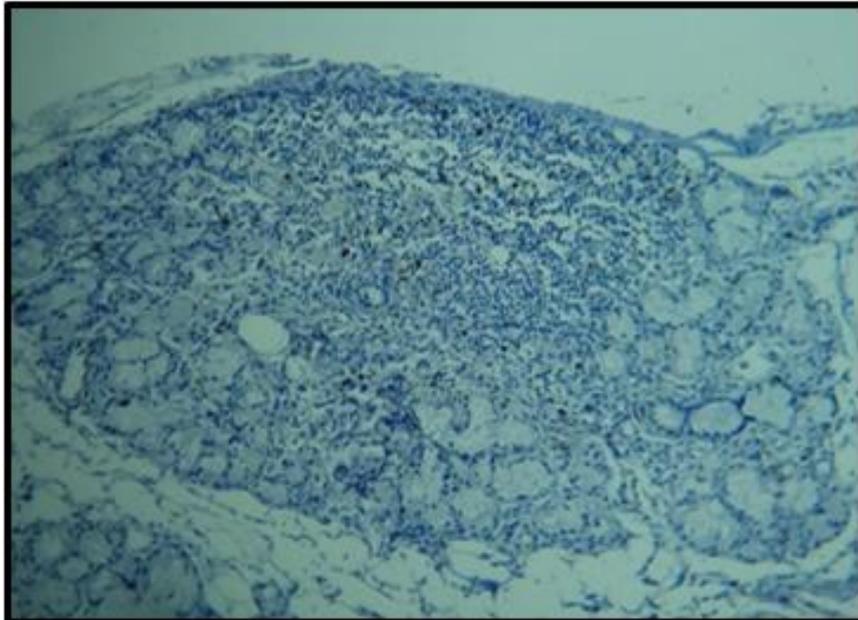
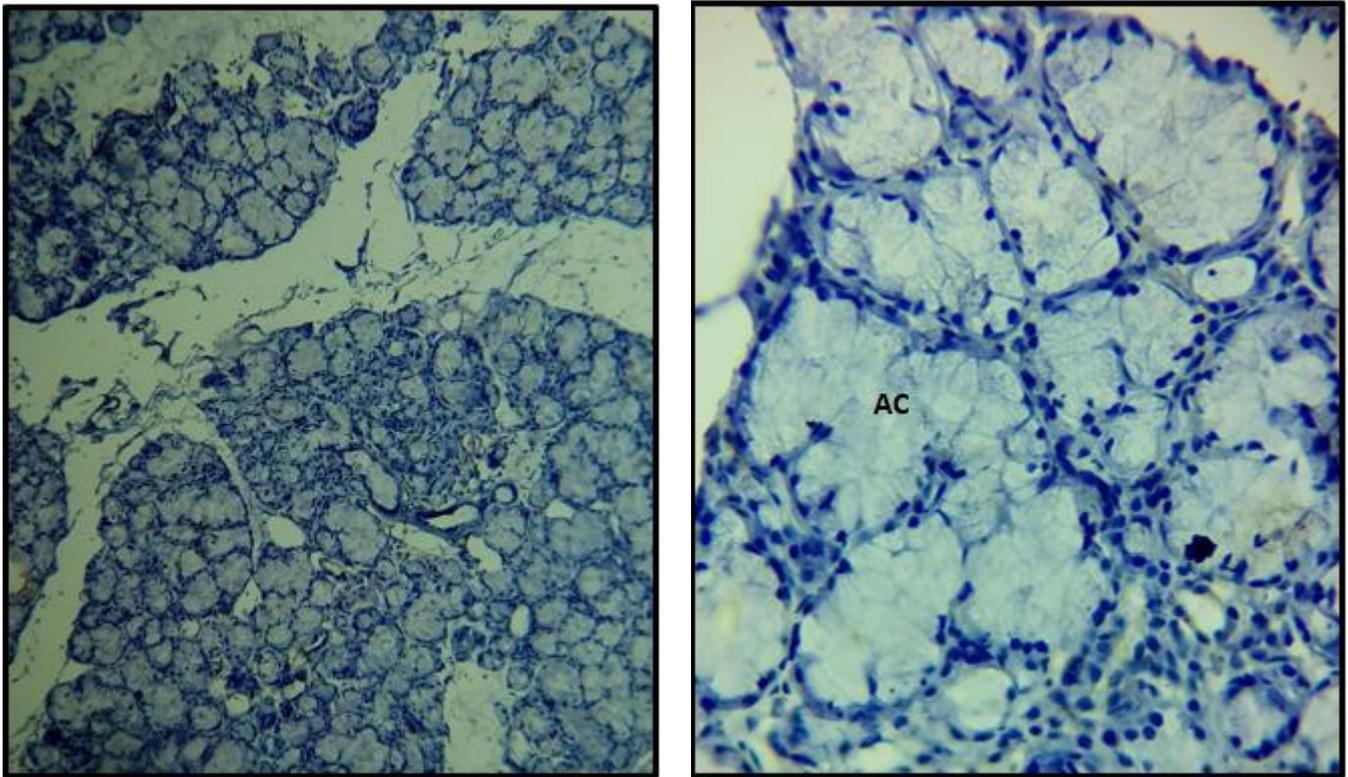


Figure 31: Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau des glandes salivaires accessoires chez des patients atteints de SGS de grade 4, Grx100; Technique d'immunohistochimie, Micrographie originale.



A

B

Figure 32: Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un témoin négatif de grade 1, Gr x100(A) et x400(B) , technique d'immunohistochimie , Micrographie originale.

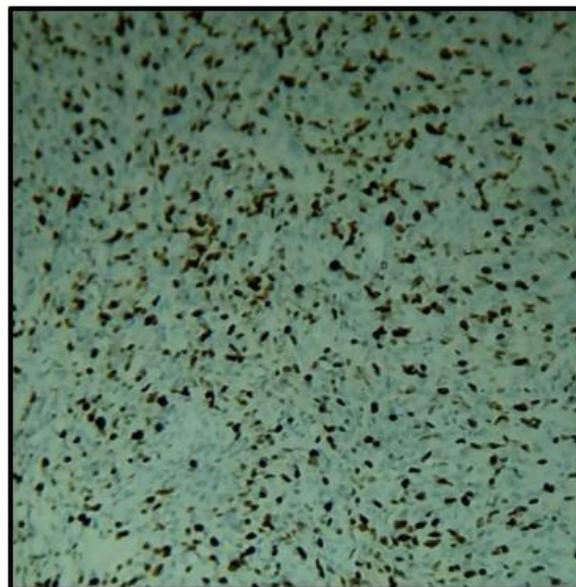


Figure 33 : Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau des cellules nerveuses chez un témoin positif atteint d'une tumeur cérébrale, Technique d'immunohistochimie , Gr x 100 , Micrographie originale .

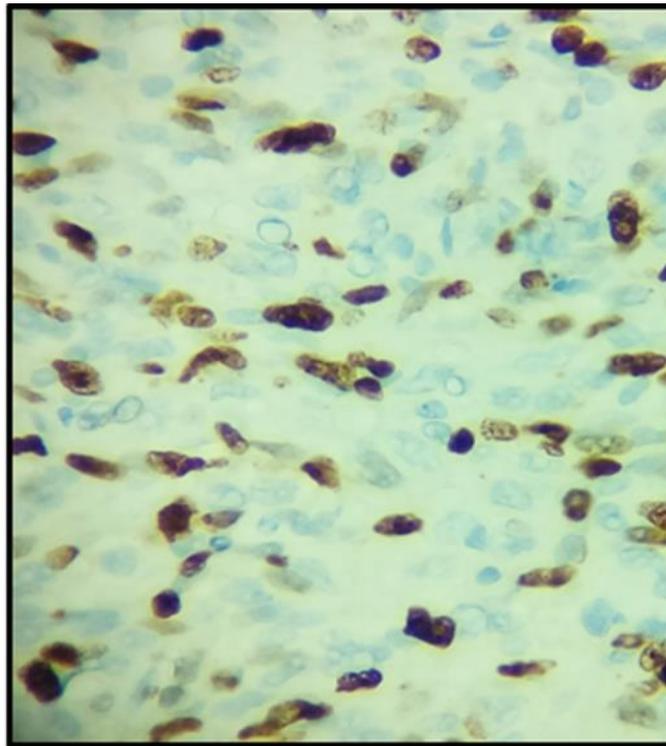


Figure 34 : Immunomarquage de la protéine Ki67 au niveau des cellules nerveuses chez un témoin positif atteint d'une tumeur cérébrale, Technique d'immunohistochimie , Gr x 400

Conclusion :

Le syndrome de Gougerot Sjörger est une pathologie auto-immune dont les manifestations cliniques sont polymorphes majorées par le syndrome sec qui est le signe orienteur de cette affection.

Les résultats obtenus à l'issue de cette étude sur un plan biochimique, histologique, et immunohistochimique chez les patients atteints du SGS ont montré :

Une nette prédominance féminine essentiellement en péri-ménopause.

Des bilans inflammatoires, hépatiques et rénaux sans différence significative entre les patients et les sujets sains, à l'exception du taux de monoxyde d'azote.

Une désorganisation architecturale au niveau des glandes salivaires accessoires, se caractérisant chez nos patients par la présence d'un infiltrat cellulaire.

L'étude histochimique par les anticorps ki67 et p53 nous a permis d'évaluer la prolifération et la destruction des cellules épithéliales des glandes salivaires accessoires pathologiques. Il a été constaté que le marquage de P53 est présent uniquement au niveau des cellules mononuclées formant le foyer inflammatoire ce qui signifie leur destruction, par contre ce marquage est totalement absent chez les témoins.

Le marquage de Ki67 est présent intensément au niveau des foyers inflammatoires et d'une façon moins intense au niveau des cellules épithéliales formant les canaux excréteurs et les acini avec une absence totale de ce marquage chez les témoins.

En perspective, il serait intéressant d'élargir l'échantillonnage de la population des patients et des témoins et d'explorer l'expression d'autres protéines impliquées dans les voies apoptose/prolifération.

Les références bibliographiques :

A

- **Abdelghani, K. B., Turki, S., Gharbi, C. H., Mahfoudhi, M., Hmida, F. B., Goucha, R. & Kheder, A. (2006).** Atteinte rénale au cours du Syndrome de Gougerot-Sjögren. *La revue de médecine interne*, 27(S3), 342.
- **Agboola, A. O., Banjo, A. A., Anunobi, C. C., Salami, B., Agboola, M. D., Musa, A. A. & Green, A. R. (2013).** Cell proliferation (KI-67) expression is associated with poorer prognosis in Nigerian compared to British breast cancer women. *ISRN oncology*, 2013.
- **Ahmed, S. A., Penhale, W. J. & Talal, N. (1985).** Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. Mechanisms of sex hormone action. *The American journal of pathology*, 121(3), 531
- **Aikaterini, L., Horisberger, A., Spertini F. & Ribic, C. (2016)).** Syndrome de Sjögren : quand le suspecter et comment le confirmer ? *Revue de la médecine suisse*, (12),689-702.
- **Alegria, GC, D. Guellec, V. Devauchelle-Pensec. & Saraux, A. (2015).** Is there specific neurological disorders of primary Sjögren's syndrome ?. *Colonne osseuse articulaire* , 82 (2), 86-89.
- **Alves, F. A., Pires, F. R., De Almeida, O. P., Lopes, M. A. & Kowalski, L. P. (2004).** PCNA, Ki-67 and p53 expressions in submandibular salivary gland tumours. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 33(6), 593-597.
- **ALLAIRE M, CECCHIN M, BANKOUSSOU S et SAKO B.** Décembre2011-Évaluation du débit de filtration glomérulaire et du dosage de la créatininémie dans le diagnostic de la maladie rénale chronique chez l'adulte. Haute autorité de santé. France .Vol: 25.
- **Andonopoulos, A. P., Christodoulou, J., Ballas, C., Bounas, A. & Alexopoulos, D. (1998).** Autonomic cardiovascular neuropathy in Sjögren's syndrome. A controlled study. *The Journal of rheumatology*, 25(12), 2385-2388.
- **Arakaki, R., Ishimaru, N. & Hayashi, Y. (2010).** Immunotherapeutic targets in estrogen deficiency-dependent Sjögren's syndrome-related manifestations. *Immunotherapy*, 2(3), 339-346.

- **Atkinson EA, Barry M, Darmon AJ, Shostak I, Turner PC, Moyer RW, & al.(1998).** Cytotoxic T lymphocyte-assisted suicide. Caspase 3 activation is primarily the results of the direct action of granzyme B. *J Biol Chem*;273:21261-6.

B

- **Badoual, C., Cros, J., Roussel, H., Wassef, M. & Cucherousset, J. (2013).** Les carcinomes des glandes salivaires: description histologique des principaux sous-types histologiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(448), 55-61.
- **Barnes, L., Eveson, J. W., Sidransky, D. & Reichart, P. (Eds.). (2005).** *Pathology and genetics of head and neck tumours* (Vol. 9). IARC.
- **Bartoloni, E., Baldini, C., Schillaci, G., Quartuccio, L., Priori, R., Carubbi, F. & Valesini, G. (2015).** Cardiovascular disease risk burden in primary Sjögren's syndrome: results of a population-based multicentre cohort study. *Journal of internal medicine*, 278(2), 185-192.
- **Baturone, R., Soto, M. J., Marquez, M., Macias, I., Montes de Oca, M., Medina, F. & Girón-González, J. A. (2009).** Health-related quality of life in patients with primary Sjögren's syndrome: relationship with serum levels of proinflammatory cytokines. *Scandinavian journal of rheumatology*, 38(5), 386-389.
- **Baudet-Pommel, M., Deschaumes, C., Sauvezie, D. & Sauvezie, B. (2001).** Syndrome de Gougerot-Sjögren: complications bucco-dentaires. *Actualités odonto-stomatologiques*, (213), 65-77
- **Beltaif,A.,Omezzine,M.,Sriha,B.,Chelbi,M.,Ayachi,S.,Mziou,Z.,Bougilou,J.,Moat mri,R. & Khochtali,H.(2012).**Etude immunohistochimique des facteurs de prolifération (Ki67,PCNA) et de l'apoptose (P53) sur 40 kératokystes odontogènes , *Med buccale chir buccale*,18 :17-22.
- **Benasr, M., Jaziri, F., Rouached, L., Sami, T., Abdelghani, K. B. & Abdallah, T. B. (2016).** Manifestations extraglandulaires du syndrome de Gougerot-Sjögren. À propos de 95 patients. *La Revue de Médecine Interne*, 37, A100.
- **Binard, A., Devauchelle-Pensec, V., Fautrel, B., Jousse, S., Youinou, P. & Saraux, A. (2007).** Epidemiology of Sjögren's syndrome: where are we now?. *Clinical and experimental rheumatology*, 25, 1-4.

- **Birnbaum, J. (2010).** Peripheral nervous system manifestations of Sjögren syndrome: clinical patterns, diagnostic paradigms, etiopathogenesis, and therapeutic strategies. *The neurologist*, 16(5), 287-297.
- **Bolstad, AI, Wassmuth, RALF, Haga, HJ et Jonsson, ROLAND (2001).** HLA markers and clinical characteristics in caucasians with primary Sjögren syndrome . *The Journal of rheumatology* , 28 (7), 1554-1562.
- **Bordron, A., Charras, A., Le Dantec, C. & Renaudineau, Y. (2018).** Épigénome et syndrome de Gougerot-Sjögren. *La Revue de Médecine Interne*, 39(5), 346-351.
- **Botsios, C., Furlan, A., Ostuni, P., Sfriso, P., Andretta, M., Ometto, F. & Punzi, L. (2011).** Elderly onset of primary Sjögren's syndrome: clinical manifestations, serological features and oral/ocular diagnostic tests. Comparison with adult and young onset of the disease in a cohort of 336 Italian patients. *Joint Bone Spine*, 78(2), 171-174.
- **Bowman, S. J., Booth, D. A. & Platts, R. G. (2004).** Measurement of fatigue and discomfort in primary Sjogren's syndrome using a new questionnaire tool. *Rheumatology*, 43(6), 758-764.

C

- **Carteron, N. L., Bootsma, H., Kroese, F. G., Vissink, A., Dumusc, A. & Bowman, S. J. (2019).** *Clinical Aspects of Sjögren's. In Dubois' Lupus Erythematosus and Related Syndromes (pp. 566-578). Content Repository Only!*.
- **Castel C. (2016)** Les thérapeutiques du syndrome de Gougerot-Sjögren. Thèse de doctorat. Université du droit et de la santé de Lille
- **Cejková, J., Ardan, T., Simonová, Z., Cejka, C., Malec, J., Jirsová, K., Filipec, M., Dotrelová, D. & Brůnová, B. (2007).** Nitric oxide synthase induction and cytotoxic nitrogen-related oxidant formation in conjunctival epithelium of dry eye (Sjögren's syndrome). *Nitric Oxide Biol. Chem.* 17, 10–17
- **Chaigne, B. (2014).** Syndrome de Gougerot-Sjögren et facteurs de risque environnementaux : une étude cas-témoins. Thèse de médecine, Université de Tours.
- **Charras,A.(2018).**altérations du méthylome au cours du syndrome de Gougerot Sjögren(thèse de doctorat).université de Bretagne occidentale,Brest.

- **Chebbi, W., Salem, W. B., Klii, R., Kessomtini, W., Jerbi, S. & Sfar, M. H. (2015).** Syndrome de Gougerot-Sjögren primitif du sujet âgé: Caractéristiques cliniques et immunologiques. *Pan African Medical Journal*, 20(1).
- **Chipuk, J. E., Kuwana, T., Bouchier-Hayes, L., Droin, N. M., Newmeyer, D. D., Schuler, M. & Green, D. R. (2004).** Direct activation of Bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. *Science*, 303(5660), 1010-1014.
- **Chisholm, D. M. & Mason, D. K. (1968).** Labial salivary gland biopsy in Sjögren's disease. *Journal of clinical pathology*, 21(5), 656-660.
- **Cornec, D., Devauchelle-Pensec, V., Saraux, A. & Jousse-Joulin, S. (2016).** Clinical usefulness of salivary gland ultrasonography in Sjögren's syndrome: where are we now?. *La Revue de medecine interne*, 37(3), 186-194.
- **Crestani, B., Schneider, S., Adle-Biassette, H., Debray, M. P., Bonay, M. & Aubier, M. (2007).** Manifestations respiratoires au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren. *Revue des maladies respiratoires*, 24(4), 535-551.

D

- **Damak, C., Salah, R. B., Sallemi, K., Frikha, F., Snoussi, M., Jallouli, M. & Bahloul, Z. (2016).** Acidose tubulaire distale au cours de syndrome de Gougerot-Sjögren: à propos de 8 cas. *La Revue de Médecine Interne*, 37, A160.
- **Daridon C, Youinou P, Pers JO. (2008).** BAFF, APRIL, TWE-PRIL: who's who? *Autoimmun Rev*;7(4):267-71.
- **Darmon AJ, Ley TJ, Nicholson DW, Bleackley RC.(1996).** Cleavage of CPP32 by granzyme B represents a critical role for granzyme B in the induction of target cell DNA fragmentation. *J Biol Chem*;271:2109-12.
- **Dawson, L. J., Caulfield, V. L., Stanbury, J. B., Field, A. E., Christmas, S. E. & Smith, P. M. (2004).** Hydroxychloroquine therapy in patients with primary Sjögren's syndrome may improve salivary gland hypofunction by inhibition of glandular cholinesterase. *Rheumatology*, 44(4), 449-455.
- **Dawson, L. J., Stanbury, J., Venn, N., Hasdimir, B., Rogers, S. N. & Smith, P. M. (2006).** Antimuscarinic antibodies in primary Sjögren's syndrome reversibly inhibit the

mechanism of fluid secretion by human submandibular salivary acinar cells. *Arthritis & Rheumatism*, 54(4), 1165-1173.

- **D'Arbonneau, F., Pers, JO, V. Devauchelle, Y. Pennec., Saraux A. & Youinou. P. (2006).** B cell activating factor induced changes in B cell antigen receptor containing lipid raft in Sjögren syndrome. *Arthritis & Rheumatism: Journal officiel of American College of Rheumatology*, 54 (1), 115-126.
- **Delalande S., De seze J., Ferriby D. & Vermersch P. (2010)** Les manifestations neurologiques du syndrome de Gougerot-Sjögren. *La Revue de médecine interne*. (31). S8-S15.
- **Demarchi, J., Papisidero, S., Medina, M. A., Klajn, D., Del Moral, R. C., Rillo, O. & Amitrano, C. (2017).** Primary Sjögren's syndrome: Extraglandular manifestations and hydroxychloroquine therapy. *Clinical rheumatology*, 36(11), 2455-2460.
- **Devoize, L., & Dallel, R. (2010).** Salivation [en ligne]. *EMC (Elsevier Masson SAS) Médecine buccale*, 28-150.
- **De Sousa Gomes, P., Juodzbaly, G., Fernandes, M. H. & Guobis, Z. (2012).** Diagnostic approaches to Sjögren's syndrome: A literature review and own clinical experience. *Journal of oral & maxillofacial research*, 3(1).
- **De Souza, T. R., Silva, I. H. M., Carvalho, A. T., Gomes, V. B., Duarte, A. P., Leão, J. C. & Gueiros, L. A. (2012).** Juvenile Sjögren syndrome: distinctive age, unique findings. *Pediatric dentistry*, 34(5), 427-430.
- **Diallo, S., Niasse, M., Diaw, C. A. B., Diallo, R. & Diouf, C. (2016).** Syndrome de Gougerot-Sjögren: étude préliminaire de 266 observations au Sénégal. *Revue du Rhumatisme*, 1(83), A266-A267.

E

- **El Benna, H., Zribi, A., Laabidi, S., Haddaoui, A., Mlika, M., Skhiri, H. & Boussen, H. (2015).** Ki-67: rôle dans le diagnostic, le pronostic et le suivi après traitement des cancers du sein Ki-67: role in diagnosis, prognosis and follow-up after treatment of breast cancers. *LA TUNISIE MEDICALE*, 93(12).
- **El hilali Z. (2001).** Le syndrome de gougerot sjogren : utilisation de RNM et la modélisation moléculaire en vue d'obtention d'une nouvelle approche thérapeutique.

Université Henri Poincaré Nancy. Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques.
Thèse présentée en vue d'obtention du diplôme d'état en pharmacie. Nancy. France.

- **El Miedany, Y. M., Ahmed, I., Moustafa, H. & El Baddini, M. (2004).** L'hyperprolactinémie dans le syndrome de Gougerot-Sjögren est-elle une caractéristique d'un sous-groupe de patients ou fait-elle partie de la maladie?. *Revue du rhumatisme*, 71(5), 365-371.
- **Endl, E. & Gerdes, J. (2000).** The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. *Experimental cell research*, 257(2), 231-237.

F

- **Ferri, C. & Mascia, M. T. (2006).** Cryoglobulinemic vasculitis. *Current opinion in rheumatology*, 18(1), 54-63.
- **Flament, T., Bigot, A., Chaigne, B., Henique, H., Diot, E. & Marchand-Adam, S. (2016).** Pulmonary manifestations of Sjögren's syndrome. *European Respiratory Review*, 25(140), 110-123.
- **Fauchier P, David P.(1997).** «*Exploration de la sécrétion salivaire, aspects cliniques et biologiques*».
- **Font, J., Ramos-Casals, M., de la Red, G., Pou, A., Casanova, A., García-Carrasco, M. & Ingelmo, M. (2003).** Pure sensory neuropathy in primary Sjögren's syndrome. Long term prospective follow up and review of the literature. *The Journal of rheumatology*, 30(7), 1552-1557.
- **Fox, R. I. & Kang, H. I. (1992).** Pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Rheumatic diseases clinics of North America*, 18(3), 517-538.
- **Fox, RI. (2005).** Sjogren's syndrome. *The Lancet*, 366 (9482), 321-331.

G

- **Gashegu, J., Vanmuylder, N., Kassengera, Z., Evrard, L., Glineur, R., Philippson, C. & Louryan, S. (2005).** L'expression de la caspase 3 et la protéine p53 au cours de l'apoptose physiologique et induite par 3 agents tératogènes au cours du développement crâniofacial précoce de l'embryon de souris. *Morphologie*, 89(285), 82-89.
- **Gentric-Tilly, A. (2002).** Syndrome de Gougerot-Sjögren du sujet âgé. *Ann Med Interne*, 153, 378-82

- **GHERLI M, BETTAYEB MA, TAHRI M et CHERF KHODJA M.**2008-Dosage de l'urée plasmatique.TP 05.Université DJILALI LIABES. Algérie. P 1-6
- **Gerdes J, Li L, Schlueter C. & al.(1991).** Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol*; 138:867-873.
- **Giles, I. & Isenberg, D. (2000).** Fatigue in primary Sjögren's syndrome: Is there a link with the fibromyalgia syndrome?. *Annals of the rheumatic diseases*, 59(11), 875-878.
- **Gregoire et Oberlin. (2004).** Précis d'anatomie. Tome1. 11e ed. Paris : EM Inter / Lavoisier.
- **Gottenberg, J. E., Busson, M., Loiseau, P., Cohen-Solal, J., Lepage, V., Charron, D. & Mariette, X. (2003).** In primary Sjögren's syndrome, HLA class II is associated exclusively with autoantibody production and spreading of the autoimmune response. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 48(8), 2240-2245.
- **Guellec, D., Cornec, D., Jousse-Joulin, S., Marhadour, T., Marcorelles, P., Pers, J. O. & Devauchelle-Pensec, V. (2013).** Diagnostic value of labial minosalivary gland biopsy for sjogren's syndrome : asystematique creview .autoimmunity reviews ,12(3),416-420 .
- **Guenane, H., Hartani, D., Chachoua, L., Lahlou-Boukoffa, O. S., Mazari, F. & Touil-Boukoffa, C. (2006).** Production des cytokines Th1/Th2 et du monoxyde d' azote au cours de l'uvéite «Behçet» et de l'uvéite «idiopathique». *Journal français d'ophtalmologie*, 29(2), 146-152.
- **Guggenbuhl, P., Jean, S., Jego, P., Grosbois, B., Chales, G., Semana, G. & Perdriger, A. (1998).** Primary Sjögren's syndrome: role of the HLA-DRB1* 0301-* 1501 heterozygotes. *The Journal of rheumatology*, 25(5), 900-905.

H

- **Hadden, WB (1888).** On dry mouth, or suppression of the salivary and buccal secretion transaction of the clinical society of london . *Tr Clin Soc Lond* , 21 , 176-179.
- **Haga, H. J. & Peen, E. (2007).** A study of the arthritis pattern in primary Sjögren's syndrome. *Clinical and experimental rheumatology*, 25, 88-91

- **Hajji, R., Cherif, E., Derbali, F. & Hassine, L. B. (2014).** Les manifestations extraglandulaires au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren primitif: à propos de 31 cas. *Abstracts/La Revue de médecine interne* 35S, 86, A200.
- **Hakkou,F.,Chbicheb, S.,El wady,W.(2011).**Syndrome de Gougerot-Sjogren : Manifestations buccales et prise en charge. *Revue Med Buccale Chir Buccale.* 17:323-330.
- **Hartkamp, A., Geenen, R., Bijl, M., Kruize, A. A., Godaert, G. L. & Derksen, R. H. (2004).** Serum cytokine levels related to multiple dimensions of fatigue in patients with primary Sjögren's syndrome. *Annals of the rheumatic diseases*, 63(10), 1335-1337
- **Hatron, P. Y. & Fauchais, A. L. (2001).** Le syndrome de Gougerot-Sjögren primitif: Syndromes secs. *La Revue du praticien*, 51(2), 159-164.
- **Hernández-Molina, G., Leal-Alegre, G. & Michel-Peregrina, M. (2011).** The meaning of anti-Ro and anti-La antibodies in primary Sjögren's syndrome. *Autoimmunity reviews*, 10(3), 123-125.
- **Herrera-Esparza, R., Bollain-y-Goytia, J. J., Ruvalcaba, C., Ruvalcaba, M., Pacheco-Tovar, D. & Avalos-Díaz, E. (2008).** Apoptosis and cell proliferation: the paradox of salivary glands in Sjögren's disease. *Acta reumatologica portuguesa*, 33(3).
- **Hinschberger, O., Martzloff, L., Ioannou, G., Baumann, D., Jaeger, F. & Kieffer, P. (2011).** Syndrome de Gitelman acquis au cours d'un syndrome de Gougerot-Sjögren associé à une sclérodermie. *La Revue de médecine interne*, 32(8), e96-e98
- **Homo-Delarche, F., Fitzpatrick, F., Christeff, N., Nunez, E. A., Bach, J. F. & Dardenne, M. (1991).** Sex steroids, glucocorticoids, stress and autoimmunity. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 40(4-6), 619-637.

I

- **Ihrie, R. A., Reczek, E., Horner, J. S., Khachatryan, L., Sage, J., Jacks, T. & Attardi, L. D. (2003).** Perp is a mediator of p53-dependent apoptosis in diverse cell types. *Current Biology*, 13(22), 1985-1990.

- **Irigoyen, M. A., García, F. V., Iturriagagoitia, A. C., Beroiz, B. I., Martínez, M. S. & Guillén, F. G. (2011).** Molecular subtypes of breast cancer: prognostic implications and clinical and immunohistochemical characteristics. In *Anales del sistema sanitario de Navarra* (Vol. 34, No. 2, pp. 219-233).
- **Ishimaru, N., Arakaki, R., Watanabe, M., Kobayashi, M., Miyazaki, K. & Hayashi, Y. (2003).** Development of autoimmune exocrinopathy resembling Sjögren's syndrome in estrogen-deficient mice of healthy background. *The American journal of pathology*, 163(4), 1481-1490
- **Iwabuchi, Y. & Masuhara, T. A. I. Z. O. (1994).** Sialogogic activities of SNI-2011 compared with those of pilocarpine and McN-A-343 in rat salivary glands: identification of a potential therapeutic agent for treatment of Sjögren's syndrome. *General pharmacology*, 25(1), 123-129

J

- **Jacobsson, L. T. H., & Manthorpe, R. (1995).** Epidemiology of Sjögren's syndrome. *Rheumatology in Europe*, 24, 46-47.
- **Jacquin, S. (2014).** Rôle de la protéine p53 dans l'hypertension artérielle pulmonaire humaine et expérimentale. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Sud - Paris XI. Français. NNT: 2014PA114838.tel-01424108.
- **Jonsson, M. V., Theander, E. & Jonsson, R. (2012).** Predictors for the development of non-Hodgkin lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *La Presse Médicale*, 41(9), e511-e516.

K

- **Kaplan, G. (1999).** SYNTHESSES-DOSSIER-Criteres de diagnostic et modalités thérapeutiques. *Presse Médicale*, 28(22), 1202-1208.
- **Kaplan, G. & Mariette, X. (2000).** Syndrome de Gougerot-Sjögren. Les maladies systémiques, 2nd edn. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 499-544.
- **Kassan, SS et Moutsopoulos, HM (2004).** Clinical manifestations and early diagnosis of Sjögren's syndrome. *Archives of internal medicine*, 164 (12), 1275-1284.

- **Keffer, J., Probert, L., Cazlaris, H., Georgopoulos, S., Kaslaris, E., Kioussis, D. & Kollias, G. (1991).** Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. *The EMBO journal*, 10(13), 4025-4031.
- **Kong L, Ogawa N, Nakabayashi T, Liu GT, D'Souza E, McGuff HS. & al.(1997).** Fas and Fas ligand expression in the salivary glands of patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*;40:87-97.
- **Konttinen, Y.T., Platts, L.A., Tuominen, S., Eklund, K.K., Santavirta, N., Törnwall, J., Sorsa, T., Hukkanen, M. & Polak, J.M. (1997).** Role of nitric oxide in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 40, 875–883.
- **Kudlacek S, Willvonseder R, Stohlawetz P, Pietschmann P.(2000).** Immunology and aging . *Aging Male* ;3 :137-42.

L

- **Lafitte, C. (2002).** Manifestations neurologiques du syndrome de Sjögren primitif: Médecine interne et maladies neurologiques. *Revue neurologique*, 158(10), 959-965.
- **Lahita, R. G. (1992).** The effects of sex hormones on the immune system in pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*, 28(3-4), 136-137 (a).
- **Lahita, R. G. (1992).** The importance of estrogens in systemic lupus erythematosus. *Clinical immunology and immunopathology*, 63(1), 17-18 (b).
- **Lambert, M., Fauchais, A. L., Hatron, P. Y., Michon-Pasturel, U., Queyrel, V., Hebbar, M. & Devulder, B. (2000).** Phenomene de Raynaud, facteur pronostique du syndrome de Gougerot-Sjogren primitif: a propos de 162 patients. *Revue de Medecine Interne*, 21(2), 154s-154s.
- **Lane, D. & Levine, A. (2010).** p53 Research: the past thirty years and the next thirty years. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(12).
- **Lazzaro, B. & Cleveland, D. (2000).** P53 and Ki-67 antigen expression in small oral biopsy specimens of salivary gland tumors. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 89(5), 613-617.
- **Lechtman, S., Roriz, M., Lloret-Linarès, C., Champion, K., Cacoub, P., Mouly, S. & Sène, D. (2016).** Cytopénies périphériques associées au syndrome de Gougerot-Sjögren primaire: facteurs cliniques, biologiques et immunologiques associés à partir d'une cohorte de 173 patients. *La Revue de Médecine Interne*, 37, A87.

- **Le Guern, V. & Mouthon, L. (2011).** Syndrome de Gougerot-Sjögren et lymphomes: de la physiopathologie au traitement. *La Presse Médicale*, 40(12), 1113-1119.
- **Le Pottier, L., Devauchelle, V., Fautrel, A., Daridon, C., Saraux, A., Youinou, P. & Pers, J. O. (2009).** Ectopic germinal centers are rare in Sjögren's syndrome salivary glands and do not exclude autoreactive B cells. *The Journal of Immunology*, 182(6), 3540-3547.
- ✓ **Lewandowski, N. (2016).** Apport d'une intervention orthophonique à la prise en charge d'un syndrome de gougerot sjogren . faculté de medecine, université de lorraine.
- ✓ **Li, J., Ha, Y. M., Kü, N. Y., Choi, S. Y., Lee, S. J., Oh, S. B. & Park, K. (2004).** Inhibitory effects of autoantibodies on the muscarinic receptors in Sjögren's syndrome. *Laboratory investigation*, 84(11), 1430.
- ✓ **Liapi, A., Horisberger, A., François, S., and Ribl, C. (2016).** [Sjögren's syndrome: when to suspect and how to confirm?]. *Rev. Med. Suisse* 12, 698–702.

M

- ✓ **Maciel, G., Crowson, C. S., Matteson, E. L. & Cornec, D. (2017, May).** Incidence and mortality of physician-diagnosed primary Sjögren syndrome: time trends over a 40-year period in a population-based US cohort. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 92, No. 5, pp. 734-743). Elsevier.
- ✓ **Mandl, T., Ekberg, O., Wollmer, P., Manthorpe, R. & Jacobsson, L. T. H. (2007).** Dysphagia and dysmotility of the pharynx and oesophagus in patients with primary Sjögren's syndrome. *Scandinavian journal of rheumatology*, 36(5), 394-401.
- ✓ **Mapoure, N. Y., Ali-Ahmad, R., Aubert, L., Fernandez, C., Schleinitz, N. & MacIa, F. (2011).** Polyneuropathie axonale aiguë et syndrome de Gougerot-Sjögren. *revue neurologique*, 167(6-7), 530-532.
- ✓ **Mariette, X. (2004).** Traitement actuel de la xérostomie au cours du syndrome de Sjögren. *La Revue de médecine interne*, 25(4), 287-293.
- ✓ **Mariette, X. (2010).** Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren. *La Revue de médecine interne*, (31), S2-S6.
- ✓ **Mariette X, Sibilia J, Roux S, Meignin V. & Janin A.(2002).** A new defensive mechanism to prevent apoptosis in salivary ductal cells from patients with Sjogren's syndrome: over-expression of p53 and p21. *Rheumatology*;41:96-9.

- ✓ **Markusse, H. M., Oudkerk, M., Vroom, T. M. & Breedveld, F. C. (1992).** Primary Sjögren's syndrome: clinical spectrum and mode of presentation based on an analysis of 50 patients selected from a department of rheumatology. *The Netherlands journal of medicine*, 40(3-4), 125-134.
- ✓ **Martel, C., Jauberteau, M. O., Vidal, E. & Fauchais, A. L. (2014).** Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren primitif. *La revue de médecine interne*, 35(8), 524-530.
- ✓ **Marx, R.E. & Stern.D.(2012).** Oral and maxillofacial pathology : A rational for diagnosis and treatment Hanover Park, IL: Quintessence Publishing ,pp.524-528.
- ✓ **Matsumoto, T., Morizane, T., Aoki, Y., Yamasaki, S., Nakajima, M., Enomoto, N. & Hashimoto, H. (2005).** Autoimmune hepatitis in primary Sjögren's syndrome: pathological study of the livers and labial salivary glands in 17 patients with primary Sjögren's syndrome. *Pathology international*, 55(2), 70-76.
- ✓ **Mavragani, C.P. & Moutsopoulos, H.M. (2010).** The geoepidemiology of Sjogren syndrome. *Autoimmunity reviews*, 9 (5), A305-A310.
- ✓ **Mayo, L. D. & Donner, D. B. (2002).** The PTEN, Mdm2, p53 tumor suppressor–oncoprotein network. *Trends in biochemical sciences*, 27(9), 462-467.
- ✓ **Meijer, J. M., Meiners, P. M., Vissink, A., Spijkervet, F. K. L., Abdulahad, W., Kamminga, N. & Bootsma, H. (2010).** Effectiveness of rituximab treatment in primary Sjögren's syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis & Rheumatism*, 62(4), 960-968.
- ✓ **Mihara, M., Erster, S., Zaika, A., Petrenko, O., Chittenden, T., Pancoska, P. & Moll, U. M. (2003).** p53 has a direct apoptogenic role at the mitochondria. *Molecular cell*, 11(3), 577-590.
- ✓ **Mori, K., Iijima, M., Koike, H., Hattori, N., Tanaka, F., Watanabe, H. & Saito, T. (2005).** The wide spectrum of clinical manifestations in Sjögren's syndrome-associated neuropathy. *Brain*, 128(11), 2518-2534.
- ✓ **Montebugnoli ,L., Felicetti ,L., Gissi ,D.B., Cervellati ,F., Servidio ,D. & Marchetti ,C. (2008).**Predictive role of p53 protein as a single marker or associated to Ki67 antigen in oral carcinogenesis. *Open Dent J*; 2:24-9.
- ✓ **Mrouj,A.(2018).** Functional analysis of the proliferation antigen, KI-67 roles in cancer. Agricultural sciences. Université Montpellier. English. NNT: 2018MONTT006. tel-01834620

N

- ✓ **Nocturne, G. & Mariette, X. (2013).** Advances in understanding the pathogenesis of primary Sjögren's syndrome. *Nature Reviews Rheumatology*, 9(9), 544.

O

- ✓ **Oedman, M. L. (2005).** Influence de l'alimentation dans l'émergence de la lithiase salivaire (Doctoral dissertation, University of Geneva).
- ✓ **Opplinger, R. (2006).** Syndrome de Sjögren, étude de la cohorte HUG entre 1995 et 2000 (Doctoral dissertation, University of Geneva).

P

- ✓ **Patel, R. & Shahane, A. (2014).** The epidemiology of Sjogren's syndrome. *Clinic epidemiology*, 6, 247.
- ✓ **Pătrașcu, A. M., Rotaru, I., Olar, L., Pătrașcu, Ș. T. E. F. A. N., Ghiluși, M. C., Neamțu, S. D. & Gluhovschi, A. (2017).** The prognostic role of Bcl-2, Ki67, c-MYC and p53 in diffuse large B-cell lymphoma. *Rom J Morphol Embryol*, 58(3), 837-843.
- ✓ **Palkar, A. V., Pillai, S. & Rajadhyaksha, G. C. (2011).** Hypokalemic quadriparesis in Sjogren syndrome. *Indian journal of nephrology*, 21(3), 191.
- ✓ **Pepys, M.B. & Baltz, M.L. (1983).** Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv. Immunol.*34:141–212.
- ✓ **Pepys, M.B. & Hirschfield, GM.(2003).** Protéine C-réactive: mise à jour critique. *Le journal d'investigation clinique* , 111 (12), 1805-1812.
- ✓ **Peri, Y., Agmon-Levin, N., Theodor, E. & Shoenfeld, Y. (2012).** Sjögren's syndrome, the old and the new. *Best practice & research Clinical rheumatology*, 26(1), 105-117.
- ✓ **Pers, J. O., Le Pottier, L., Devauchelle, V., Saraux, A. & Youinou, P. (2008).** Les lymphocytes B dans le syndrome de Gougerot-Sjögren. *La Revue de médecine interne*, 29(12), 1000-1006.
- ✓ **Picone, O., Alby, C., Frydman, R. & Mariette, X. (2006).** Syndrome de Gougerot-Sjogren en gynécologie obstétrique :Revue de la littérature. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*, 35(2), 169-175.

- ✓ **Pijpe J, van Imhoff GW, Spijkervet FK, Roodenburg JL, Wolbink GJ, Mansour K. & al.(2005).** Rituximab treatment in patients with primary Sjogren's syndrome: an open-label phase II study. *Arthritis Rheum*,52:2740– 50.
- ✓ **Pisella, P. J., Creuzot-Garcher, C. & Baudouin, C. (1999).** Actualités sur le syndrome de Gougerot-Sjögren: Dossier thematique: Keratoconjunctivite seche. *Journal français d'ophtalmologie*, 22(8), 889-892.
- ✓ **Pity,I.S. & Jalal,J.A.(2013).**Expression of ki67 and p53 in oral squamous epithelial abnormalities.*Medical Journal of Babylon*,10(1),85-99.
- ✓ **Polihronis M, Tapinos NI, Theocharis SE, Economou A, Kittas C. & Moutsopoulos H.M.(1998).** Modes of epithelial cell death and repair in Sjo "gren's syndrome (SS). *Clin Exp Immunol*; 114:485-90.

R

- ✓ **Raffray , L.,Le Pellec,E.,Dieval,C., Lifermann,F., Longy-Boursier,M., Viillard,F.J., Lequen, L. & Delbrel, X. (2003).**Manifestations hématologiques du syndrome de gougerot sjogren primitif.*La revue de medecine interne*.28 :1.pp :136.
- ✓ **Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Siso-Almirall A. & Bosch X.(2012).** Primary Sjogren syndrome. *BMJ*;344:e3821
- ✓ **Ramos-Casals, M., Brito-Zeron, P., Siso-Almirall, A., Bosch, X. & Tzioufas, A. G. (2012).** Topical and systemic medications for the treatment of primary Sjögren's syndrome. *Nature Reviews Rheumatology*, 8(7), 399.
- ✓ **Ramos-Casals, M., Tzioufas, A. G. & Font, J. (2005).** Primary Sjögren's syndrome: new clinical and therapeutic concepts. *Annals of the rheumatic diseases*, 64(3), 347-354.
- ✓ **Ramos-Casals, M., Tzioufas, A. G., Stone, J. H., Sisó, A. & Bosch, X. (2010).** Treatment of primary Sjögren syndrome: a systematic review. *Jama*, 304(4), 452-460.
- ✓ **Reczek, E. E., Flores, E. R., Tsay, A. S., Attardi, L. D. & Jacks, T. (2003).** Multiple Response Elements and Differential p53 Binding Control Perp Expression During Apoptosis1 1 Anna Fuller Fund (EER), Leukemia and Lymphoma Society of America (ERF), Damon Runyon Cancer Research Foundation (LDA), and NIH and Howard Hughes Medical Institute (TJ). *Molecular cancer research*, 1(14), 1048-1057.

- ✓ **Reff, M. E., Carner, K., Chambers, K. S., Chinn, P. C., Leonard, J. E., Raab, R. & Anderson, D. R. (1994).** Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood*, 83(2), 435-445.
- ✓ **Reveille J.D. & Arnett F.C.(1992).** The immunogenetics of Sjogren's syndrome. *Rheum Dis Clin North Am*; 18: 539-50.
- ✓ **Roncin, S. (2001).** *L'œil sec. Revu Prat*;31:140-7.
- ✓ **Ruchika, P. & Anupama, S. (2014).** The epidemiology of Sjögren's syndrome. *Clinical Epidemiology*, (6), 247-255.
- ✓ **Ruiz, C., Seibt, S., Kuraya, K. A., Siraj, A. K., Mirlacher, M., Schraml, P. & Simon, R. (2006).** Tissue microarrays for comparing molecular features with proliferation activity in breast cancer. *International journal of cancer*, 118(9), 2190-2194.

S

- ✓ **Salem, T. B., Tougorti, M., Bziouech, S., Lamoum, M., Khanfir, M., Ghorbel, I. B. & Houman, M. H. (2018).** Profil étiologique d'un phénomène de Raynaud secondaire dans un service de médecine interne. À propos de 121 patients. *JMV-Journal de Médecine Vasculaire*, 43(1), 29-35.
- ✓ **Salomonsson, S., Jonsson, M. V., Skarstein, K., Brokstad, K. A., Hjelmström, P., Wahren-Herlenius, M. & Jonsson, R. (2003).** Cellular basis of ectopic germinal center formation and autoantibody production in the target organ of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis & Rheumatism*, 48(11), 3187-3201.
- ✓ **Santos-García, A., Abad-Hernández, M. M., Fonseca-Sánchez, E., Cruz-Hernández, J. J. & Bullón-Sopelana, A. (2005).** Proteic expression of p53 and cellular proliferation in oral leukoplakias. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 10(1), 5-8.
- ✓ **Sauvezie B, Deschaumes C, Rigal D, Baudet-Pommel M, Kemeny JL, Bonafous J, Prin P. & Dubost JJ.(2000).** Syndrome de Gougerot-Sjögren. *Encycl Méd Chir Appareil locomoteur* 14-223-A-10. Elsevier SAS, Paris.
- ✓ **Sarau, A., (2010).** Approche thérapeutique du syndrome de Gougerot-Sjögren. *La revue de médecine interne*, 31, S1, 16-17
- ✓ **Savini, G., Prabhawasat, P., Kojima, T., Grueterich, M., Espana, E. & Goto, E. (2008).** The challenge of dry eyed diagnosis. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*, 2(1), 31.

- ✓ **Scofield, RH (2011).** Vasculitis in Sjögren's syndrome. *Rapports de rhumatologie en cours*, 13 (6), 482.
- ✓ **Schnabel, A. (2005).** Atteintes des voies respiratoires et des poumons au cours du syndrome de Sjögren. *Ressources*, 52, 10-12.
- ✓ **Shiboski, SC, Shiboski, CH, L. Criswell, A. Baer, S. Challacombe, H. Lanfranchi,... Groupes de recherche de l'Alliance clinique collaborative internationale (SICCA) de Sjögren (2012).** Critères de classification du syndrome de Sjögren de l'American College of Rheumatology: approche par consensus d'experts fondée sur les données de la cohorte de l'Alliance clinique collaborative internationale de Sjögren. *Arthritis care & research* , 64(4), 475–487.
- ✓ **Skopouli, F. N., Jagiello, P., Tsifetaki, N. & Moutsopoulos, H. M. (1996).** Methotrexate in primary Sjögren's syndrome. *Clinical and experimental rheumatology*, 14(5), 555-558.
- ✓ **Sobecki, M., Mrouj, K., Camasses, A., Parisis, N., Nicolas, E., Lleres, D. & Eguren, M. (2016).** The cell proliferation antigen Ki-67 organises heterochromatin. *Elife*, 5, e13722.
- ✓ **Société française de médecine vasculaire .(2012).**Atlas de capillaroscopie ; Elsevier Masson.
- ✓ **Steinfeld, S., Cogan, E., King, L. S., Agre, P., Kiss, R. & Delporte, C. (2001).** Abnormal distribution of aquaporin-5 water channel protein in salivary glands from Sjögren's syndrome patients. *Laboratory investigation*, 81(2), 143.
- ✓ **Strietzel, F. P., Martín-Granizo, R., Fedele, S., Lo Russo, L., Mignogna, M., Reichart, P. A. & Wolff, A. (2007).** Electrostimulating device in the management of xerostomia. *Oral diseases*, 13(2), 206-213.

T

- **Talal,N.(1998).** Sjögren syndrome : an historical perspectives .*Ann Medicine interne* .149(1) .pp :4-6.Paris.
- **Theander, E., Vasaitis, L., Baecklund, E., Nordmark, G., Warfvinge, G., Liedholm, R. & Jonsson, M. V. (2011).** *Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjogren's syndrome. Annals of the Rheumatic Diseases, 70(8), 1363–1368.*doi:10.1136/ard.2010.144782

- **Tincani, A., Andreoli, L., Cavazzana, I., Doria, A., Favero, M., Fenini, M. G. & Semeraro, F. (2013).** Novel aspects of Sjögren's syndrome in 2012. *BMC medicine*, 11(1), 93.
- **Tiwari, E., Pallipady, A., Misra, R. & Mishra, S. (2015).** P53 and ki67 Immunostaining in Gastric Biopsies: A Histopathological Study. *International Journal of Scientific Study*, 2(11), 96-101.
- **Tzioufas, A.G., Kapsogeorgou, E.K., and Moutsopoulos, H.M. (2012).** Pathogenesis of Sjögren's syndrome: What we know and what we should learn. *J. Autoimmun.* 39, 4–8.

V

- **Vaillant L., Le Dû S. (2007).** Syndrome de Gougerot-Sjögren. In: Manifestations dermatologiques des connectivites, vasculites et affections systémiques apparentées. Springer, Paris
- **Varin Marie-Michèle.(2012)** . Implication des lymphocytes B et de BAFF dans l'apoptose des cellules épithéliales des glandes salivaires au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren. Médecine humaine et pathologie. Université de Bretagne occidentale - Brest, Français. <NNT : 2012BRES0001>.363+9* <tel-00713910>
- **Varoquier, C., Salmon, J. H., Sibilia, J. & Gottenberg, J. É. (2013).** Critères diagnostiques du syndrome de Gougerot-Sjögren. *Revue du Rhumatisme monographies*, 80(1), 20-25.
- **Vitali, C. B. S. J., Bombardieri, S., Jonsson, R., Moutsopoulos, H. M., Alexander, E. L., Carsons, S. E. & Pillemer, S. R. (2002).** Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Annals of the rheumatic diseases*, 61(6), 554-558.
- **Vitali, C. (2011).** Immunopathologic differences of Sjögren's syndrome versus sicca syndrome in HCV and HIV infection. *Arthritis research & therapy*, 13(4), 233.
- **Vousden, K. H. & Lane, D. P. (2007).** p53 in health and disease. *Nature reviews Molecular cell biology*, 8(4), 275.

W

- **Westhoff, G., Dörner, T. & Zink, A. (2011).** Fatigue and depression predict physician visits and work disability in women with primary Sjögren's syndrome: results from a cohort study. *Rheumatology*, 51(2), 262-269.
- **Westhoff G, Zink A.(2010).** Epidemiology of primary Sjögren's syndrome. *Z Rheumatol*,69(1):41–9.

X

- **Xia, D., Deng, D. & Wang, S. (2003).** Alterations of nitrate and nitrite content in saliva, serum, and urine in patients with salivary dysfunction. *J. Oral Pathol. Med. Off. Publ. Int. Assoc. Oral Pathol. Am. Acad. Oral Pathol.* 32, 95–99.

Y

- **Yacoub, Y. I., Rostom, S., Laatiris, A. & Hajjaj-Hassouni, N. (2012).** Primary Sjögren's syndrome in Moroccan patients: characteristics, fatigue and quality of life. *Rheumatology international*, 32(9), 2637-2643.
- **Yang, Y., Li, Z., Wang, L. & Zhang, F. (2013).** The clinical and laboratory characteristics of Sjögren's syndrome that progresses to systemic lupus erythematosus: a retrospective case-control study. *International journal of rheumatic diseases*, 16(2), 173-177.
- **Yoon, C. H., Lee, H. J., Lee, E. Y., Lee, E. B., Lee, W. W., Kim, M. K., & Wee, W. R. (2016).** Effect of hydroxychloroquine treatment on dry eyes in subjects with primary Sjögren's syndrome: a double-blind randomized control study. *Journal of Korean medical science*, 31(7), 1127-1135.
- **Youinou, P., Moutsopoulos, H. M. & Pennec, Y. L. (1990).** Clinical features of Sjögren's syndrome. *Current opinion in rheumatology*, 2(5), 687-693.

Z

- **Zilfou, J. T. & Lowe, S. W. (2009).** Tumor suppressive functions of p53. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 1(5), a001883.
- **Ziza JM.(1996).**Syndrome de gougerot sjogren.In : Godeau P, Herson S,Piette J,editors.Traité de medecine.Paris :Flammarison.P.136-45.

Liste des annexes

Annexe I : Critères du diagnostic du syndrome de Gougerot Sjögren selon le groupe de consensus américano-européen (Vitali et al., 2002).

I – Symptômes oculaires

Au moins un des trois critères suivants :

- sensation quotidienne, persistante et gênante des yeux secs depuis plus de 3 Mois
- sensation fréquente de « sable dans les yeux »
- utilisation de larmes artificielles plus de « 3 fois/jour »

II – Symptômes buccaux

Au moins un des trois critères suivants :

- sensation quotidienne de bouche sèche depuis plus de 3 mois
- à l'âge adulte, glandes salivaires enflées de manière répétée ou persistante
- consommation fréquente de liquides pour avaler les aliments secs

III – Signes cliniques ophtalmologiques

Au moins un des deux tests suivants positif :

- test de Schirmer $\leq 5/5$ minutes
- score de van Bijsterveld ≥ 4 .

IV – Atteintes des glandes salivaires

Au moins un des trois tests suivants positif :

- scintigraphie salivaire
-

– sialographie parotidienne

– flux salivaire sans stimulation < 1,5 ml/15 minutes

V – Histopathologie

Sialadénite de score > 1 sur biopsie(s) des glandes salivaires accessoires
(foyer : > 50 cellules mononucléées agglomérées ; score = nombre de foyers
sur 4 mm² de tissu glandulaire)

VI – Auto-anticorps

– anti-Ro (SS-A)

– anti-La (SS-B)

Critères d'exclusion

- Antécédent d'irradiation cervicale
- Infection par le VIH ou le VHC
- Lymphome préexistant
- Sarcoïdose
- Réaction du greffon contre l'hôte
- Utilisation de médicaments anticholinergiques (après une période dépassant 4 fois la demi-vie).

Annexe II : liste du matériel non biologique et des automates du laboratoire.

✓ **L'appareillage :**

Appareillage	Marque	Référence	Photographie

Centrifugeuse	Hettich	rotofix 32A	
Etuve	Leica		
Microtome	leica	RM2235	
Automate de circulation	Leica	Asp300S	

<p>Automate d'inclusion</p>	<p>Leica</p>		
<p>Bain mari</p>	<p>Leica</p>	<p>HI1210</p>	
<p>Automate de biochimie</p>	<p>Selectra</p>	<p>ProM</p>	
<p>Automate d'hématologie</p>	<p>sysmex</p>	<p>xs-500i</p>	

Microscope optique	Leica	ICC50	
--------------------	-------	-------	--

✓ Les réactifs utilisés en immunohistochimie :

Réactifs	Marque	Référence
Formol	Eden labo	Mek 022013-2000
Paraffine	Leica	39601006
Eosine	Panréac	000040740
Hématoxyline	Leica	RE7104
Alcool	honeywell	UN1170
Eukitt	Ral diagnostics	36120-0500
H2O D	Biolyse	2-8-005-17
Xylène		
Dako pen	Dako	S2002
AC II	Dako	K8023
H2O2	Dako	K8002
Dab+chromogène	Dako	K8012
TRS	Dako	K8005

✓ **Tubes de prélèvements**

- **Tube EDTA** : Contient de l'EDTA qui altère le moins la morphologie des cellules. Il est utilisé surtout pour les Numérations de formule sanguine (NFS).
- **Tube héparine** : Contient de l'héparinate de lithium qui bloque la perméabilité cellulaire à l'ion potassium K. on l'utilise pour faire plusieurs paramètres biochimiques comme l'ionogramme.

Annexe III : Questionnaire :

- Nom : _____ Date : _____
- Date de naissance : _____ Prénom : _____
- N° de téléphone : _____
- ➤ **Antécédents personnels :**
-
- 1)- Ménopause : _____ Age : _____
- 2)- Fumeur : Oui _____ Nombre de paquets : _____
- Non _____
- 3)- autres : _____
- ➤ **Antécédents familiaux d'autres maladies auto immunes**
-
- ➤ **Age de début de la maladie**
- ➤ **Age au moment du diagnostic**
-
- ➤ **Diagnostic établi :**
-
- Le SGS a souvent un large spectre de manifestations, Ce qui rend le diagnostic de la maladie difficile et souvent tardif (10 ans entre le début des premiers symptômes et l'établissement du diagnostic final)
- ✓ Données cliniques :
- xérophtalmie et xérostomie Oui Non
- test de Schirmer Positif Négatif
- hypertrophie parotidienne bilatérale récidivante Oui Non

- | | Grade 3 | Grade 4 |
|--|---------|---------|
| • <input type="checkbox"/> Biopsie des glandes salivaires | Normal | Anormal |
| • <input type="checkbox"/> Scintigraphie des glandes salivaires | Oui | Non |
| • <input type="checkbox"/> Manifestations extra glandulaires | Oui | Non |
| • <input type="checkbox"/> L'atteinte articulaire (plus fréquente) | | |
| • | | |
| • Type : Arthralgies de type inflammatoire | Oui | Non |
| • Polyarthrite symétrique non destructive | Oui | Non |
| • <input type="checkbox"/> Manifestations neuropsychiatriques | Oui | Non |
| • | | |
| • Type : Atteintes du système nerveux périphérique soit | | |
| • *polyneuropathie axonale sensitive | Oui | Non |
| • *mono neuropathie multiple sensitivomotrice sévère des nerfs médians et sciatiques poplités externes | | Oui |
| Non | | |

- Atteinte du système nerveux central Oui Non
- L'atteinte pulmonaire Oui Non
- atteinte rénale Oui Non
- Purpura vasculaire Oui Non
- Vascularité leucocytoclasique (biopsie cutanée) Oui Non
- Phénomène de Raynaud Oui Non
- Adénopathies cervicales Oui Non

- - *Type du syndrome de gougerot sjogren :*

- *Primaire :*

- Existence d'une sécheresse buccale et oculaire ;
- Présence d'un infiltrat lymphocytaire sur une biopsie des glandes salivaires ;
- Présence d'auto-anticorps anti-SSA ou anti-SSB.

- *Secondaire :*

- Présence d'une autre connectivite ;
- Existence d'une sécheresse oculaire ou buccale ;
- Présence d'anticorps anti-SSA ou anti-SSB n'est pas nécessaire au diagnostic de SGS secondaire.

- - Plusieurs symptômes généraux apparaissent :

- Dépression et fatigue continue, fièvre, Purpura, Ganglions, douleurs musculaires, douleurs articulaires (arthralgies ou arthrites), neuropathie, vascularite cérébrale, pneumopathie interstitielle ...etc

- - Quelques anomalies biologiques :

- Hypergammaglobulinémie polyclonale, Oui
Non
- VS augmentée Oui
Non
- CRP normale Oui
Non
- Présence des : Anti-noyaux, Anti-SSA, Anti-SSB Oui
Non
- Anémie Oui
Non
- Leucopénie Oui
Non

- ***Manifestations clinique :***

- - Syndrome sec occulo-buccal
- - Atteintes neurologiques
- - Vascularite
- - Arthralgies
- - Purpura
- - Parenchymal-organ involvement (rein, foie, estomac)
- - Phénomène de Raynaud
- - Lymphome

**FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ECLAIRE ECRIT
DES PATIENTS INCLUS DANS LE PROJET DE RECHERCHE ANDRS
RELATIF A L'APPEL À PROJET RESTREINT 2010
POUR LA BIOLOGIE MOLECULAIRE ET L'IMMUNOLOGIE**

Consentement à lire attentivement avant de signer.

**Ne pas hésiter à poser des questions si certains aspects semblent peu clairs
ou si des précisions supplémentaires semblent nécessaires.**

**Consentement établi en deux (02) exemplaires dont un (01) exemplaire
à remettre à l'intéressé(e)**

Intitulé du projet de recherche ANDRS :

Lieu de réalisation :

Médecin investigateur : **Nom et prénom :**

Patient(e) : **Nom et Prénom :**

Date de naissance : **Origine géographique :** **Sexe :**

Invitation à participer : Je déclare avoir été informé(é), oralement et par écrit, de la manière la plus simple qui soit et dans la langue ou le dialecte que je maîtrise le mieux par le médecin indiqué ci-dessus, des objectifs et du déroulement de l'étude concernant.....
.....
.....
.....des effets présumés, des avantages et des inconvénients possibles ainsi que des risques éventuels.

Je certifie avoir lu et compris l'information orale et écrite qui m'a été remise sur cette étude.

J'ai reçu des réponses satisfaisantes aux questions que j'ai posées sur ma participation à cette étude. Je conserve l'information écrite aux patients et reçois une copie de la présente déclaration de consentement.

J'ai été informé de la possibilité de poursuivre tous mes traitements antérieurs.

J'ai été informé(e) du caractère facultatif des analyses médicales prévues dans l'étude, que je peux accepter ou refuser sans aucune conséquence sur mon traitement et mon suivi.

Bienfaits : j'ai compris que ma participation à cette recherche permettra l'avancement de la recherche et du savoir.

Confidentialité et anonymat : Je sais que mes données personnelles ne pourront être communiquées que sous une forme anonyme.

Conservation des données : j'ai reçu les garanties que les échantillons biologiques recueillis ainsi que les résultats des analyses biologiques seront conservés de façon sécurisée.

Participation volontaire : Je prends part de façon volontaire à cette étude clinique. Je peux, à tout moment et sans avoir à fournir de justification, révoquer mon consentement à participer à cette étude, sans pour cela en subir quelque inconvénient que ce soit dans mon suivi médical ultérieur. De mon côté, je m'engage à informer le médecin investigateur de tout traitement prescrit par un autre médecin ainsi que la prise de médicaments (prescrits ou achetés par moi-même).

Je m'engage également à informer le médecin responsable de tout phénomène inattendu pouvant survenir durant cette étude et à me conformer aux recommandations de ce médecin.

Acceptation : je déclare, accepter de mon plein gré de participer à cette recherche et je n'ai subi aucune contrainte pour donner mon consentement. Cependant toute utilisation nouvelle des prélèvements effectués à des fins de recherche, nécessitera un nouveau consentement de ma part.

En lieu et date :

lu et approuvé :

ATTESTATION DU MEDECIN INVESTIGATEUR

En tant qu'investigateur principal je m'engage à mener cette recherche selon les dispositions éthiques et déontologiques, à protéger l'intégrité physique, psychologique et sociale des personnes tout au long de la recherche.

J'atteste par ma signature avoir expliqué à ce/cette patient/e la nature, l'importance et la portée de cette étude.

Je déclare satisfaire à toutes les obligations en relation avec cette étude clinique.

Si je devais prendre connaissance, à quelque moment que ce soit durant la réalisation de l'étude, d'informations susceptibles d'influer sur le consentement du/de la patient/e à participer à l'étude, je m'engage à l'en informer immédiatement

En lieu et date :

Signature du médecin investigateur

Annexe IV : les valeurs normales de la numérotation formule sanguine (FNS).

Paramètres	Femmes	Hommes	Enfants (6 à 15 ans)	Unités
Globules blanc (GB)	3.8 – 6.0	4.0 – 5.9	5.0 – 11.0	m/mm ³
Lymphocyte (Lym)	20.0 – 40.0	0.6 – 4.0	1.5 – 6.5	m/mm ³
Monocyte(Mon)	0.0 – 1.0	1.0 – 10.0	0.0 – 0.8	m/mm ³
Granulocyte (Gra)	1.2 – 7.0	30.0 – 70.0	/	m/mm ³
Globules rouges (GR)	4.0 - 10.0	4.0 - 10.0	4.0 – 5.4	m/mm ³
VGM	80.0 – 100.0	83.0 – 98.0	77 – 91	fl
Hct	33.0 – 54.0	35.0 - 54.0	37 – 45	%
TCMH	25.0 – 32.0	25.0 – 33.0	24 – 30	pg
CCMH	28.0 – 36.0	28.0 – 36.0	32 – 36	g/dl
IDR	8.0 – 12.0	8.0 – 12.0	/	/
Hémoglobine (Hgb)	10.0 – 16.5	12.0 – 18.0	11.5 – 14.5	g/dl
Plaquettes (PLT)	100 - 450	150 - 450	150 – 400	m/mm ³
VMP	6.0 – 13.0	6.0 – 13.0	6 – 13	fl

Annexe V : les valeurs Normales (Hommes et femmes) des paramètres biochimiques.

Paramètres	Normes femmes	Normes hommes
CRP	<5mg/L	<5mg/L
ASAT	10- 35 UI/L	10- 40 UI/L
ALAT	10- 35 UI/L	10-45 UI/L
GGT	10 - 40 UI/L	15 -55 UI/L
Urée	0,15 -0,42 g/l	0,18 - 0,45 g/l
Créatinine	4 - 10 mg/l	6 -12 mg/l
Glycémie	0.8 -1,26 g/l	0.8 -1,26 g/l

Annexe VI : définition de la classification du score de Chisholm et Masson (Chisholm et Masson ,1968) :

Stade	Cotation histologique de Chisholm et Mason
0	Glande normale, pas d'infiltrat
1	Infiltrat léger
2	Infiltrat moyen comportant moins d'un foyer par 4mm ²
3	1foyer par 4mm ²
4	Plusieurs foyers par 4mm mm ²

