

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Blida 1

Faculté De Sciences De La Nature Et De La Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
Laboratoire des biotechnologie, Environnement et santé



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Option : **BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

Thème

Contribution à la caractérisation des phénomènes apoptotiques au niveau des glandes salivaires accessoires chez des patients algériens atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren.

Réalisé par :

M^{lle} BOUKHELF FETHIA

&

M^{lle} MAHAMI NABILA

Date de soutenance : Juillet 2018

Devant le jury :

M^{me} Saadi L.	Maitre de conférences A	université de Blida 1	Présidente
M^{me} Zerouti K.	Maitre assistante A	université de Blida 1	Examinatrice
M^{me} Benchabane S.	Maitre de conférences B	université de Blida 1	Promotrice
M^{me} Bendimerad T.	Maitre Assistante	CHU de Béni Messous	Co-promotrice

Dr.SAADI Leila responsable de l'option BMC

Ce travail de master a été réalisé au niveau de laboratoire anatomo-pathologie au sein de CHU Hassani Issad de Béni Messous

Année universitaire : 2017 -2018.

Remerciements

En préambule à ce mémoire, louange à ALLAH le tout puissant pour son guide, son aide dans un parcours acharné envers le savoir scientifique et qui nous avoir accordé la puissance et la volonté de terminer ce travail.

On souhaite adresser tous nos remerciements à tous qui nous ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce mémoire

Premièrement, nous adressons nos plus vifs remerciements, notre promotrice M^{me} Benchabane S, maitre de conférence B pour sa disponibilité, son aide, sa patience et ses remarques avisées qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous tenons à remercier également notre Co-promotrice Dr. Bendimerad T, pour sa qualité humaine et scientifique, pour son aide, sa disponibilité, ses conseils et ses encouragements.

M^{me} Saadi L, chef d'option biologie moléculaire et cellulaire, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce travaille.

M^{me} Zérouti, maitre assistante A, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

On veut exprimer nos reconnaissances à tous qui nous ont fournis de l'aide pour la réalisation de notre pratique :

Professeur Slimani, qui nous a accueillis dans son service d'Anatomo pathologie au CHU de Beni Messous, nous laissant le libre accès aux dossiers des malades.

Tout le personnel du service d'anatomopathologie du CHU de Beni Messous pour leur collaboration et leur gentillesse surtout Dr Akecem pour son aide.

Et toute personne qui a participé de loin ou de près pour l'accomplissement de ce travail.

Remerciements

En préambule à ce mémoire, louange à ALLAH le tout puissant pour son guide, son aide dans un parcours acharné envers le savoir scientifique et qui nous avoir accordé la puissance et la volonté de terminer ce travail.

On souhaite adresser tous nos remerciements à tous qui nous ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce mémoire

Premièrement, nous adressons nos plus vifs remerciements, notre promotrice M^{me} Benchabane S, maitre de conférence B pour sa disponibilité, son aide, sa patience et ses remarques avisées qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous tenons à remercier également notre Co-promotrice Dr. Bendimerad T, pour sa qualité humaine et scientifique, pour son aide, sa disponibilité, ses conseils et ses encouragements.

M^{me} Saadi L, chef d'option biologie moléculaire et cellulaire, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce travaille.

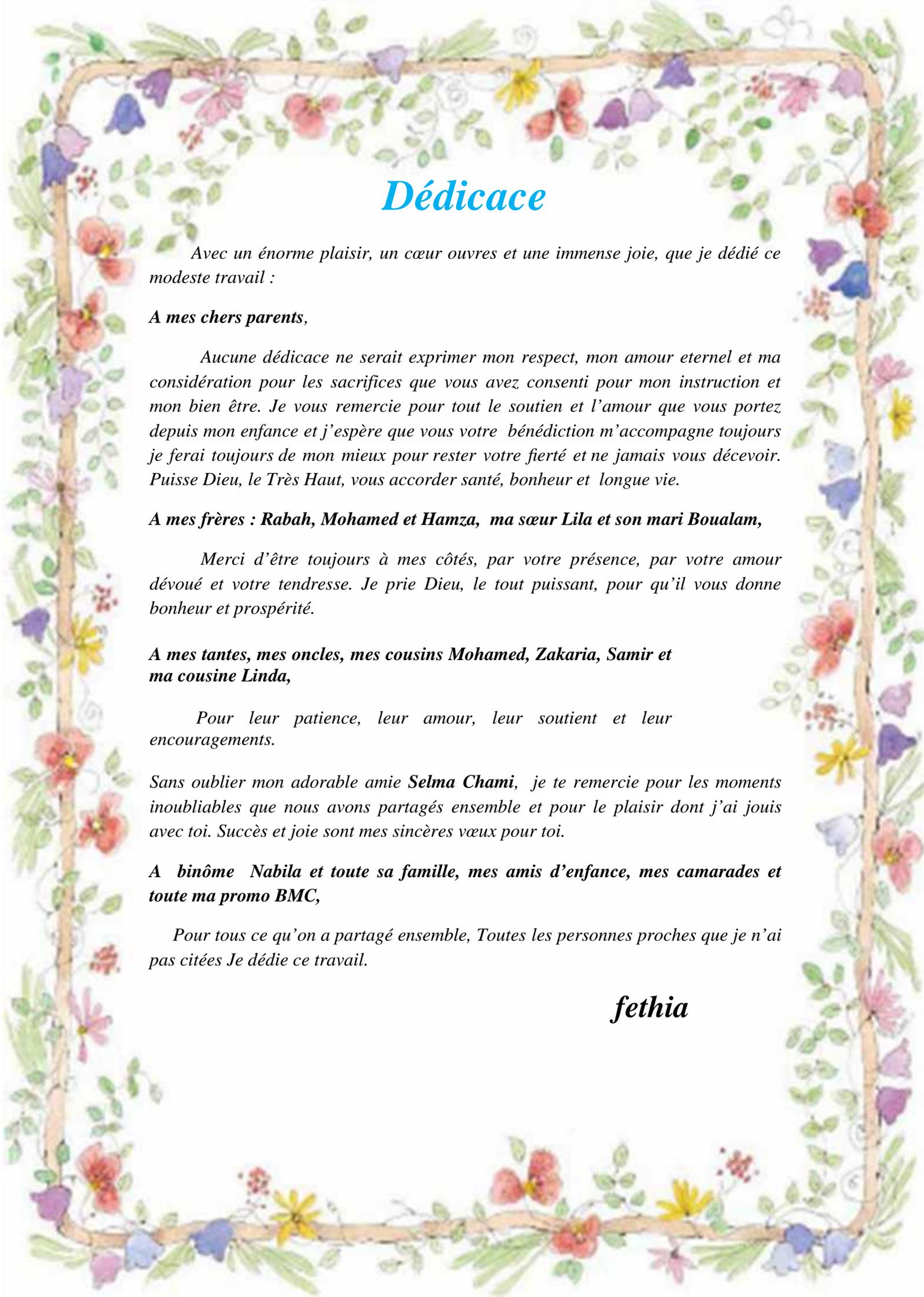
M^{me} Zérouti, maitre assistante A, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

On veut exprimer nos reconnaissances à tous qui nous ont fournis de l'aide pour la réalisation de notre pratique :

Professeur Slimani, qui nous a accueillis dans son service d'Anatomo pathologie au CHU de Beni Messous, nous laissant le libre accès aux dossiers des malades.

Tout le personnel du service d'anatomopathologie du CHU de Beni Messous pour leur collaboration et leur gentillesse surtout Dr Akecem pour son aide.

Et toute personne qui a participé de loin ou de près pour l'accomplissement de ce travail.



Dédicace

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents,

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mes frères : Rabah, Mohamed et Hamza, ma sœur Lila et son mari Boualam,

Merci d'être toujours à mes côtés, par votre présence, par votre amour dévoué et votre tendresse. Je prie Dieu, le tout puissant, pour qu'il vous donne bonheur et prospérité.

A mes tantes, mes oncles, mes cousins Mohamed, Zakaria, Samir et ma cousine Linda,

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragements.

Sans oublier mon adorable amie Selma Chami, je te remercie pour les moments inoubliables que nous avons partagés ensemble et pour le plaisir dont j'ai joui avec toi. Succès et joie sont mes sincères vœux pour toi.

A binôme Nabila et toute sa famille, mes amis d'enfance, mes camarades et toute ma promo BMC,

Pour tous ce qu'on a partagé ensemble, Toutes les personnes proches que je n'ai pas citées Je dédie ce travail.

fethia

Dédicace

Du fond de mon cœur, j'ai le plaisir de dédier ce modeste travail qui est le fruit de toutes ces années, à toutes les personnes qui m'aiment, qui croient en moi et me donnent des raisons d'arriver à mes buts.

A mes parents:

Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

A mes chères sœurs Ahlem, Zahra, Lamia, et Nour Elhouda

Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon amour et mon

Affection. J'implore DIEU qu'il vous apporte bonheur et vous aide à réaliser tous vos vœux. Je vous aime.

A mon chère fiancé

Merci pour ton soutien, ton aide et ta gentillesse. Puisse nous rester unis dans la tendresse, le respect et la fidélité. J'implore DIEU qu'il t'apporte bonheur et t'aide à réaliser tous tes vœux.

A mes très chers grands parents, A mes cousins et cousines : Fatima, Sabrina, Nabila, Mohamed, Et Monia, A tous mes oncles et tantes

Vous avez toujours été avec moi, par votre esprit et votre cœur et rien ne saurait traduire le Fond de mes sentiments envers vous.

Que cette mémoire soit pour vous le témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus Affectueux. Je vous adore.

A mes adorables amies Fadila, Souade, Meriem, Khalida, Imene et Safia

Pour tous les forts moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce modeste travail en vous souhaitant beaucoup de bonheur

A ma binôme Nabila et toute sa famille, A toute ma promotion de 2ème année master Biologie Moléculaire et Cellulaire sur tous (khalida, Ahlem, Khadija, et Meriem)

A tous ceux qui m'ont aidé de près et de loin

Nabila

Liste des figures

Figure 1 : Structure histologique des différents types d'acini et canaux glandulaires.....	3
Figure 2 : Anatomie des glandes salivaires principales.....	4
Figure 3 : Physiologie du syndrome de Gougerot-Sjögren.....	11
Figure 4: Répartition du SGS selon le sexe chez les patients algériens.....	23
Figure 5 : Répartition des patients atteints du SGS selon la tranche d'âge.....	25
Figure 6 : Histologie d'un parenchyme d'une glande salivaire accessoire saine. (Coloration HE, Gr x100(1) et Grx400 (2)).....	26
Figure 7 : Histologie d'une glande salivaire accessoire d'un patient SGS de grade 3, (coloration HE, Gx400).....	26
Figure 8 : Histologie d'une glande salivaire d'un patient SGS de grade 4, (coloration HE, Gx 100).....	27
Figure 9 : Histologie d'une glande salivaire d'un patient SGS de grade 4, (Coloration HE, Gx400).....	27
Figure 10 : Expression immunohistochimique de la protéine Bcl-2 dans une glande salivaire accessoire d'un patient SGS de grade 4 (Gr x40).....	29
Figure 11 : Immunomarquage par Bcl-2 des glandes salivaires accessoires chez les patients atteints du syndrome Gougerot-Sjögren ; G : x100 (b,c) et x400 (d,e).....	29
Figure 12: Immunomarquage par Bcl-2 des glandes salivaires accessoires chez un témoin de grade 1, G : x40 (f) ; x100 (g) et x400 (h).....	30
Figure 13: Immunomarquage par Bcl-2 négative des glandes salivaires accessoires d'un patient. G : x40 (i) ; x100 (j) et x400 (L).....	31
Figure 14 : Immunomarquage par p53 des glandes salivaires accessoires des patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren ;G : x40 (A), x100 (B) , x400 (C,D).....	32
Figure 15: Immunomarquage par p53 des glandes salivaires accessoires d'un témoin de grade 1 ;G : x100 (E) , x400 (F).....	33

Liste d'abréviations

AAN	Anticorps anti nucléaires
AC anti- SSA/Ro	Auto-Ac anti-syndrome sec de type A
AC anti-SSB/La	Auto-Ac anti-syndrome sec de type B
AQP5	Aquaporine 5
BAFF	B cell activating Factor belonging to the TNF Family
Bcl-2	B Cell Leukemia/Lymphoma, oncogène cellulaire
BGSA	Biopsie des Glandes Salivaires Accessoires
BR3	BAFF receptor 3
CE	Cellules épithéliales
CMH I, CMH II	Complexe Majeur d'Histocompatibilité I, II
CMN	Cellules mononuclées
CMV	Cytomégalovirus
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
DAB	Di-Amino-Benzidine
DHT	dihydrotestosterone
DNMT1	DNA methyl Transferase 1
E2	Estradiol
EBV	Epstein barr virus
GS	Glande Salivaire
GSA	Glande Salivaire Accessoire
HE	Hématoxyline et éosine
HLA	Complexe majeur d'histocompatibilité humain
HLA-DQ	Complexe majeur d'histocompatibilité humain-DQ
HLA-DR	Complexe majeur d'histocompatibilité humain-DR
IFN	Interféron
IFN-	Interféron-alpha
IFN-	Interféron-gamma
IHC	Immunohistochimie
Ig	Immunoglobuline
IRF-5	Interferon regulatory factor 5

Kd	Kilo dalton
LB	Lymphocyte B
LES	Lupus Érythémateux systémique
MAI	Maladie Auto Immune
M3R	Récepteur muscarinique 3
NOD	Nonobese diabetic
p53	Protéine 53
pDC	Cellule dendritiques plasmocytoïde
PR	Polyarthrite rhumatoïde
RNP	Rébunucléaire protéine
SGS	Syndrome de Gougerot -Sjörgen
SGSp	Syndrome de Gougerot -Sjörgen primitif
SGSs	Syndrome de Gougerot –Sjörgen secondaire
SSA/Ro	Autoantigène de syndrome sec de type A
SSB/La	Autoantigène de syndrome sec de type B
SS	Syndrome Sjögren
STAT-4	Signal transducer and activator of transcription4
Th17	Lymphocyte help17
TLR	Toll-like receptor
TGF	Transforming growth factor
TNF	Tumor necrosis factor
VHC	Virus de l'hépatite C

Résumé

Le syndrome de Gougerot-Sjögren est une maladie auto-immune systémique inflammatoire chronique, caractérisée principalement par la diminution des sécrétions salivaires et lacrymales. Notre présente étude a été réalisée sur 20 glandes salivaires pathologiques de patients atteints du Syndrome de Gougerot-Sjögren. L'examen histologique des glandes salivaires accessoires a eu pour but de mettre en évidence les modifications architecturales et structurales observées chez ces patients. Une étude immunohistochimique en présence des anticorps Bcl-2 et p53 a également été réalisée, afin de caractériser les phénomènes apoptotiques au niveau des glandes salivaires accessoires. Nos résultats histologiques ont révélé une altération structurale et architecturale de ces glandes, caractérisée par un infiltrat lymphoplasmocytaire autour des canaux excréteurs, ce qui n'a pas été démontré chez les témoins. L'examen immunohistochimique chez les patients a révélé une forte expression de la protéine Bcl-2, qui était exprimée préférentiellement dans les cellules mononuclées infiltrantes ainsi que dans les canaux excréteurs, alors que les acini n'expriment pas cette protéine. En revanche, notre étude a révélé une absence de l'expression de la protéine p53, aussi bien dans les glandes salivaires pathologiques que saines. Ainsi, nos résultats suggèrent que les cellules mononuclées infiltrantes ainsi que les canaux excréteurs sont protégées de la destruction contrairement aux acini, qui peuvent subir une apoptose. De plus, l'absence d'expression de la protéine p53 démontrerait que l'expression de Bcl-2 se produirait par un mécanisme indépendant de la voie p53.

Mots clés : syndrome de Gougerot-Sjögren, autoimmunité, apoptose, Bcl-2, p53.

Abstract

Sjögren's syndrome is a chronic inflammatory systemic autoimmune disease, characterized primarily by decreased salivary and lacrimal secretions. Our present study was performed on 20 pathological salivary glands of patients with primary Sjögren syndrome. The histological examination of accessory salivary glands was designed to highlight the architectural changes observed in these patients. An immunohistochemical study in the presence of Bcl-2 and p53 antibodies was also performed to characterize the apoptotic phenomena in the accessory salivary glands. Our histological findings revealed a structural and architectural alteration of these glands, characterized by lymphoplasmocytic infiltrate around the excretory ducts, which has not been demonstrated in the controls. The immunohistochemical examination in Syndrome Sjögren patients revealed a high expression of Bcl 2, which was expressed preferentially in the infiltrating mononuclear cells as well as in the excretory ducts, whereas the acini do not express this protein. On the other hand, our study revealed an absence of the expression of the p53 protein, in both pathological and healthy salivary glands. Thus, our results suggest that infiltrating mononuclear cells as well as excretory ducts are protected from destruction unlike acini, which may undergo apoptosis. In addition, the lack of expression of p53 would demonstrate that Bcl-2 expression would occur through a mechanism independent of the p53 pathway.

Key words: Sjögren's syndrome, autoimmunity, apoptosis, Bcl-2, p53.

متلازمة سجوجرن هي مرض التهابي تتميز بانخفاض الإفرازات اللعابية والدمعية. إجراء دراستنا الحالية على 20 الغدد اللعابية المرضية من المرضى الذين يعانون من متلازمة سجوجرن . الفحص النسيجي للغدد اللعابية الملحقة هو تسليط الضوء على التغيرات البنيوية والهيكلية التي لوحظت لدى هؤلاء المرضى ، و أجرينا p53 Bcl-2 لتمييز الظواهر الإستماتية على مستوى الغدد اللعابية . وكشفت نتائجنا النسيجية عن تغير هيكل وبنوي لهذه الغدد ، حيث تتميز بتسلل الليمفاويات حول القنوات الإخراجية ، والتي لم تظهر في الشاهد . في المرضى عن تعبير قوي للبروتين Bcl-2 تم التعبير عنه بشكل تفضيلي في الخلايا وحيدات النوى خراجية ، في حين أن الأسييني لا يعبر عن هذا البروتين. من ناحية أخرى ، كشفت دراستنا عن غياب كامل للتعبير عن البروتين p53 ، وذلك في الغدد اللعابية المرضية و السليمة . وهكذا ، تشير إليها الخلايا وحيدات النوى المتسللة الإخراجية محمية التدمير بخلاف الأسييني لموت الخلايا المبرمج. بالإضافة إلى ذلك ، فإن عدم التعبير عن البروتين p53 سيوضح أن تعبير Bcl-2 قد يحدث من خلال آلية p53

المفتاحية : , المناعة الذاتية, الخلايا المبرمج , Bcl-2 p53 .

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	2
Généralité.....	2
1- Définition du syndrome de Gougerot –Sjörger.....	2
2- Les glandes salivaires.....	2
2-1- Histologie.....	2
2-2- Anatomie.....	3
3- Epidémiologie du syndrome de Gougerot –Sjörger.....	4
4- Symptômes.....	5
5- Classification du syndrome de Gougerot –Sjörger.....	5
6- la physiopathologie du syndrome de Gougerot –Sjörger.....	5
6-1- Les facteurs génétiques.....	6
6-2- Les facteurs épigénétiques.....	6
6-3- Les facteurs environnementaux.....	7
6-4- Les facteurs hormonaux.....	8
6-5- Molécules et cellules du système immunitaire.....	9
6-6- Mécanismes physiopathologiques.....	10
7- Diagnostique.....	11
8- Traitement.....	12
9- Apoptose et marqueurs biologiques.....	13
9-1- Rappel sur l'apoptose.....	13
9-2- les voies apoptotiques.....	13

9- 3-La famille des Bcl-2.....	13
9-4- la protéine p53.....	14
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES.....	16
II-1-Matériel	16
1-1- Matériel biologique.....	16
1-2- Matériel non biologique.....	16
II-2- Méthodes.....	16
1-1- Etude anatomopathologique.....	16
1-2- Etude immunohistochimique.....	19
CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSION	23
1-caractérisation de la population.....	23
1-1-Répartition des patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren selon le sexe.....	23
1-2- Répartition des patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren selon l'âge	24
2- Etude architecturales et structurales des glandes salivaires accessoires lors du syndrome de Gougerot-Sjögren.....	25
3-Expression immuno-histochimique des protéines Bcl-2 et p53 au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren et chez une population témoin.....	27
3-1- Expression immuno-histochimique de la protéine Bcl-2 au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren et chez une population témoin.....	27
3-2- Expression immuno-histochimique de la protéine p53 au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren et chez une population témoin.....	31
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	35
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE	
ANNEXES	

Les maladies auto-immunes résultent d'un dysfonctionnement du système immunitaire. Elles sont classées en deux groupes, les maladies spécifiques d'organes dans lesquelles le système immunitaire attaque les antigènes spécifiques d'un organe donné, et les maladies systémiques où des autoantigènes attaqués sont partagés par toutes les cellules de l'organisme (**insERM.fr, 2013**).

Le syndrome de Gougerot-Sjögren est une maladie auto-immune systémique chronique (**Wang et al., 2006**), ciblant les glandes exocrines, essentiellement salivaires et lacrymales (**Ainola Mari et al., 2017**). Il se caractérise principalement par une infiltration lympho-plasmocytaire des glandes salivaires et lacrymales engendrant une sécheresse buccale et oculaire (**Chebbi et al., 2015**). Il s'agit de la deuxième maladie auto-immune après la polyarthrite rhumatoïde. Cliniquement, la maladie est définie par une triade symptomatique : sécheresse, asthénie et douleurs (**Martela et al., 2014**).

Le Syndrome de Gougerot-Sjögren peut être primitif ou secondaire à d'autres maladies auto-immunes. Le syndrome de Gougerot-Sjögren primitif affecte 0,3 à 5 % de la population (**Chebbi et al., 2015**). Il peut survenir à tout âge, mais touche préférentiellement les femmes entre la quarantaine et la cinquantaine (**Westhoff & Zink, 2010**).

Il a été proposé que les glandes salivaires et lacrymales sont détruites par un phénomène apoptotique, éventuellement déclenchée par les cytokines libérées par les cellules infiltrantes. Cependant, le ou les agents inducteurs spécifiques et leur rôle précis dans la pathogenèse sont inconnus. (**Wang et al., 2006**). Sa physiopathologie reste cependant, imparfaitement élucidée, faisant intervenir des facteurs génétiques, environnementaux et immunologiques (**Mariette, 2010**).

Dans cette présente étude, nous avons eu pour objectifs dans un premier temps de classifier les biopsies des glandes salivaires accessoires de notre cohorte de patients atteints du SGS selon le grade de Chislom, et ce après coloration histologique à l'hématoxyline et éosine (HE), afin de mettre en évidence les principales modifications architecturales et structurales de ces glandes pathologiques. Dans un second temps, nous avons réalisé une étude immunohistochimique en utilisant les protéines Bcl-2 et p53, afin d'étudier l'éventuelle expression et localisation de ces marqueurs apoptotique chez les patients atteints le syndrome du Gougerot-Sjörgen en comparaison avec la population témoin.

I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Généralité

1- Définition

Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une maladie auto-immune (MAI) systémique, se caractérisant par une infiltration lymphocytaire des glandes exocrines avec un tropisme au niveau des glandes salivaires et lacrymales (**Bordron et al., 2017**), entraînant ainsi une sécheresse buccale (xérostomie) et oculaire (xérophtalmie), qui définissent le syndrome sec, en association avec une fatigue intense et des douleurs étendues qui entraînent une altération profonde de la qualité de vie des patients (**Ramos-Casals et al., 2012**). La gravité de la maladie est liée au développement d'un lymphome de type B pour 5 à 10% des patients (**Brito-Zeron et al., 2016; Nocturne & Mariette, 2016**).

2- Les glandes salivaires

2-1- Histologie

Au terme de l'embryogénèse, les glandes salivaires sont organisées en lobes, constitués de plusieurs lobules, eux mêmes formés de plusieurs acini. L'unité sécrétrice des glandes salivaires est une formation tubuloacineuse appelée adénomère, dont les portions terminales sont les acini.

L'acinus est constitué d'un amas de cellules sécrétrices regroupées autour d'un canal collecteur appelé canal intercalaire. Autour des canaux intercalaires et des acini se trouvent des cellules myoépithéliales dont les prolongements cytoplasmiques contiennent des myofibrilles contractiles facilitant l'expulsion de la salive.

2-1-1- Types d'acini

Il existe plusieurs types d'acini en fonction de leur produit de sécrétion et leur morphologie observée en microscopie.

- Acinus séreux

L'acinus séreux est constitué de cellules séreuses basophiles de forme sphérique, possédant un gros noyau situé au pôle basal, lieu de synthèse des enzymes salivaires.

- Acinus muqueux

L'acinus muqueux est constitué de cellules muqueuses acidophiles, d'aspect tubulaire. Il est plus allongé que les acini séreux et possède une lumière plus large.

- **Acinus mixte**

L'acinus mixte réunit des cellules séreuses et muqueuses (Georges, 2012).

Les glandes salivaires sont ainsi muqueuses, séreuses ou mixtes en fonction du type d'acinus présent. Les glandes parotides sont qualifiées de glandes séreuses, les glandes submandibulaires et sublinguales sont des glandes mixtes. Les glandes accessoires sont également mixtes (Devoize et al., 2010).

2-1-2- Les éléments excréteurs

La salive sécrétée par les acini est collectée par un réseau de canaux différenciés qui comprend successivement : les canaux intercalaires qui collectent la salive issue des acini, les canaux striés intralobulaires pour le lobule, les canaux interlobulaires, puis le canal collecteur (Georges, 2012).

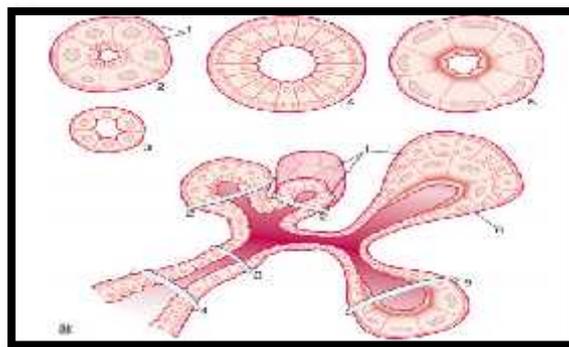


Figure 1 : Structure histologique des différents types d'acini et canaux glandulaires d'après (Devoize et al., 2010).

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

2-2- Anatomie.

Les glandes salivaires sont annexées à la cavité buccale et sécrètent un fluide appelé salive, elles sont donc dites exocrines. Il existe deux types de glandes exocrines : les glandes salivaires principales dites majeures et les glandes salivaires accessoires dites mineures (Georges, 2012).

2-2-1-Les glandes salivaires principales

Elles sont au nombre de six, trois paires symétriques de glandes salivaires principales de chaque côté : les glandes parotides, les glandes sous-maxillaires et les glandes sublinguales.

2.2.1.1. La glande parotide

C'est la glande salivaire la plus volumineuse, elle présente une surface lobulée. Elle se situe dans la loge parotidienne, limitée en dehors par la peau et en dedans par l'oropharynx.

2.2.1.2. La glande sub-mandibulaire

Située en dessous et en avant de l'angle mandibulaire dans la région supra-hyoïdienne. Cette glande se dispose dans une loge submandibulaire, dans le plancher de bouche.

2.2.1.3. La glande sublinguale

La plus petite des glandes salivaires principales, de forme allongée, aplatie transversalement. Elle est située dans le plancher buccal, Les glandes sublinguales droite et gauche s'unissent en fer à cheval autour du frein de la langue (Georges, 2012).

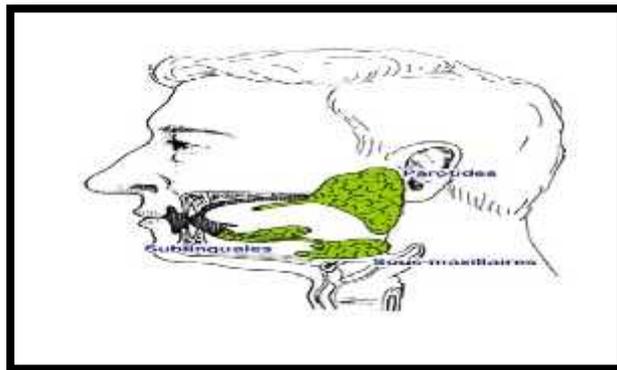


Figure 2 : Anatomie des glandes salivaires principales (Georges, 2012).

2-2-2-Les glandes salivaires accessoires

Ces glandes dites mineures sont très nombreuses et disséminées sur toute la surface de la muqueuse buccale, excepté au niveau des gencives, du vermillon des lèvres et de la partie antérieure du palais osseux. Sont constituées d'amas cellulaires. Ces glandes par leur sécrétion assurent l'humidification permanente de la cavité buccale (Devoize et al, 2010).

3- Epidémiologie

Avec une prévalence estimée entre 0,6 et 1,7 % dans la population générale, le SGSs est la deuxième maladie auto-immune systémique derrière la polyarthrite rhumatoïde (PR) et devant le

lupus érythémateux disséminé (LED) (Martela et al., 2014). Une nette augmentation en Afrique du nord a été rapportée (Ibn Yacoub et al., 2004). Cependant, dans notre pays la prévalence du SGS est difficile à déterminer compte tenu de l'absence d'études systématiques. Il affecte, comme la plupart des maladies auto-immunes, typiquement les femmes 9 femmes pour 1 homme, et peut souvenier à tout âge mais le plus souvent autours de la quarantaine (Bolstad et Skarstein, 2016).

4- Symptômes

Les symptômes principaux du SGS sont essentiellement représentés par une sécheresse touchant principalement les glandes exocrines oculaire et buccale, dû à l'invasion et au remplacement progressif du tissu épithélial des glandes salivaires (GS) et/ou oculaires par des cellules immunitaires. L'épithélium glandulaire est progressivement détruit, conduisant à terme à la diminution de la fonction sécrétrice des glandes (salive ou larmes). De plus des douleurs (principalement articulaire et /ou musculaire), ainsi qu'une fatigue font partie de la triade symptomatique (Hatron & Hachulla, 2016).

- les manifestations extraglandulaires

Des manifestations articulaires sont présentes dans 50 % des SGS primaires, un syndrome de Raynaud dans environ 30 % des cas. On peut également observer des manifestations broncho-pulmonaires, des manifestations gynécologiques, cutanées, digestives, neurologiques ou rénales en association avec le SGS (Hakkou et al., 2011).

5- Classification du Syndrome de Gougerot-Sjögren

Le syndrome de Gougerot Sjögren est dit:

-Primitif : ou isolé lorsqu'il n'est pas associé à une autre maladie auto-immune.

-Secondaire : lorsqu'il est associé à d'autres maladie auto-immune telles que la polyarthrite rhumatoïde ou encore le lupus érythémateux disséminé (P. Youinou & Y. Renaudineau, 2006).

6- Physiopathologie

L'étiologie exacte du SGS n'est pas encore formellement établie. Cependant, plusieurs facteurs sont décrits, comme déclenchant ou amplifiant la maladie, tels que les facteurs génétiques, épigénétiques, environnementaux et hormonaux (Marie-Michèle, 2012).

6-1-Les facteurs génétiques

Ces facteurs contribuant à la pathogenèse du SGS sont encore peu clairs et constituent un domaine de recherche actif (**Burbelo et al., 2014**).

6-1-1- Gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)

Le chromosome 6 humain comporte une région de 3,6 Mb codant pour le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), qui joue un rôle très important dans la régulation de l'immunité innée et adaptative. Il comporte des gènes hautement polymorphiques et de ce fait, présente une influence génétique de susceptibilité majeure aux MAI. En effet ; les gènes du HLA (human leucocyte antigen) ont été identifiés comme des facteurs de risque pour le SGS (**Burbelo et al., 2014**). En premier lieu, ce sont des facteurs impliqués dans la présentation antigénique soit directement au niveau des régions du système HLA de classe I et II, soit en amont avec des facteurs engagés dans la régulation et l'expression des molécules HLA. Les allèles HLA-DR et HLA-DQ représentent les associations les plus fréquemment étudiées dans le SGS, surtout HLA-DRB1 et HLA-DQB1 (**Marie-Michèle, 2012**).

Il est à noter que la présence des auto-Ac anti-SSA/SSB est associée avec un phénotype particulier, HLA-DR2 et DR3 (**Bordron et al., 2017**).

6-1-2- Le polymorphisme des cytokines

Le SGS a été associé au polymorphisme du gène de plusieurs cytokines. À l'exemple du gène de l'IL-10 est hautement polymorphique, l'influence de son locus dans le SGS primaire a été confirmée par plusieurs études (**Marie-Michèle, 2012**). Des études ont également démontré l'association du SGS au polymorphisme de deux gènes importants IRF-5 et STAT4. IRF-5 associé à la réponse de type interféron (IFN) de type 1 (IFN- α et IFN- β) et donc à une stimulation de l'immunité innée. STAT4 est quant à lui un facteur de transcription induit par l'IL-12 et permettant la synthèse d'interféron de type II (IFN- γ) (**Mariette, 2010**).

6-2 -Les facteurs épigénétiques

Les trois principales modifications épigénétiques sont la méthylation de l'ADN qui régulent la fixation des facteurs de transcription, les modifications post-traductionnelles des histones qui favorisent la compaction de l'ADN et les micro-ARNs qui interagissent avec les transcrits (**Marie-Michèle, 2012**).

6-2-1-Méthylation de l'ADN :

Les cellules épithéliales :

La preuve d'une déméthylation globale de l'ADN dans les cellules épithéliales des glandes salivaires au cours du SGS est récente. Cette déméthylation de l'ADN s'accompagne d'une réduction de l'expression de l'enzyme de méthylation DNMT1 et d'une augmentation de la protéine de stress Gadd45a ce qui est en faveur d'un processus de déméthylation actif. Ainsi que la déméthylation des cellules épithéliales au cours du SGS est favorisé par l'infiltration lymphocytaire et en particulier par l'infiltration lymphocytaire B. La déplétion des LB chez les patients SGS par immunothérapie anti-lymphocytaire B (rituximab) s'accompagnait de la ré-méthylation des cellules épithéliales des glandes salivaires chez ces patients. Parmi les gènes affectés par la déméthylation de l'ADN dans les cellules épithéliales des patients SGS, peut être cité le gène de l'aquaporine 5 (AQP5) qui est sensible à l'action des inhibiteurs de la méthylation et qui a été fortement incriminé au cours de cette pathologie (**Christelle et al., 2013**).

6-2-2- Modifications post-traductionnelles des histones

La déméthylation de l'ADN observée dans les cellules épithéliales chez les patients SS est associée à une modification des histones, parmi les autoanticorps anti-histones détectés chez ces patients, certains d'entre eux ciblent les modifications post-traductionnelles, et les modifications des histones peuvent être considérées comme un nouveau traitement dans ce cas (**Orsia Konsta et al., 2014**).

6-2-3-Les micro-ARNs

Plusieurs miARN sont impliqués dans le SGS. Les miR-150 et miR-146 sont surexprimés dans les tissus cibles et les lymphocytes périphériques des souris NOD, tandis que le miR-146 est surexprimé dans les lymphocytes périphériques et les GS des patients atteints du SGS. Par ailleurs, miR-574 et miR-768-3p sont surexprimés dans les GS de ces patients (**Marie Michel, 2012; Bordron et al., 2017**).

6-3- les facteurs environnementaux

Plusieurs facteurs environnementaux ont été associés au SGS tels que le tabac, les ultraviolets (**Bordron et al., 2017**). Cependant, l'entité virale à été la plus impliquée dans la genèse du SGSp (**Martel et al., 2014**). La présence d'anticorps antiviraux et le mimétisme moléculaire entre les antigènes viraux et les autoantigènes sont souvent cités pour renforcer cette hypothèse. L'étiologie

virale a été suspectée d'autant plus du fait de la fréquence du portage viral dans la cavité oropharyngée (**El HILALI, 2001**). Les cellules épithéliales (CE) des GS pathologiques peuvent agir comme présentatrices d'antigènes viraux ou d'autoantigènes aux LT, contribuant à l'expansion de LT autoréactifs (**Marie-Michèle, 2012**).

Au cours de la dernière décennie, l'attention s'est focalisée sur trois types de virus pouvant être associés ou impliqués dans l'étiologie du SGS : le virus d'Epstein-Barr (EBV) et certains autres virus du groupe herpès, les rétrovirus et le virus de l'hépatite C (VHC) (**El HILALI, 2001**). De plus, l'ARN de Coxsackie virus a été trouvé dans les GS de patients atteints de SGS, montrant l'implication active de ce virus dans la pathologie du SGS. En effet, Stathopoulou et *al* (2005) ont trouvé que la séquence peptidique de l'autoantigène Ro/SSA possède 87% d'homologie avec une région de la protéine 2B du Coxsackie virus A21 et de Coxsackie virus A 13. Leur étude montre qu'il y a une cross-réaction entre les anticorps reconnaissant la séquence peptidique homologue entre Ro/SSA et le virus. Ainsi, une infection par le virus Coxsackie pourrait initier une réponse immune caractérisée par la production d'anticorps dirigés contre la protéine 2B, contenant une homologie avec l'autoantigène Ro/SSA (**Marie-Michèle, 2012**).

6-4- Les facteurs hormonaux :

En tenant compte de la prédominance féminine et de l'apparition tardive du syndrome de Sjögren(SS). Les stéroïdes sexuels ont été dès lors impliqués dans l'étiologie de cette maladie. Plus spécifiquement, il a été suggéré que le facteur déterminant du syndrome de Sjögren pourrait être le manque d'androgènes (**POROLA et al., 2007**). Bien que chez les femmes ménopausées, les mécanismes par lesquels la carence en œstrogènes influence l'auto-immunité restent méconnue (**Naozumi et al., 2008**). Cette suspicion a été appuyée sur les souris dans lesquels a été induite une carence en œstrogène. Ces souris sur-expriment le facteur de transcription RbAP48 et développent une sécheresse oculaire et buccale. De plus, il existe également un infiltrat lymphocytaire glandulaire et une sécrétion d'auto-anticorps de type anti-SSA, anti-SSB et anti-fodrine. L'augmentation de l'expression de RbAP48 provoque l'apoptose des cellules épithéliales favorisant ainsi l'expression de certains auto-antigènes. Elle induit aussi la sécrétion d'interleukine-18 et de l'IFN- par les cellules épithéliales des glandes salivaires conduisant à l'expression membranaire de molécules HLA de classe II et de molécules de Co-stimulation notamment CD80, CD86 et ICAM (**Martel et al., 2014**).

6-5-Molécules et cellules du système immunitaire

6-5-1 - Les cytokines secrétées

Outre l'interleukine (IL) 2, l'interféron- est secrété par les lymphocytes T salivaires, ce qui est en faveur d'un profil de sécrétion cytokinique de type TH1. Cependant, comme souvent dans les MAI, la situation est plus complexe car des cytokines de type TH2 : l'IL-6 et l'IL-10 sont également secrétées par les lymphocytes T salivaires favorisant probablement l'activité des lymphocytes B glandulaires sécréteurs d'auto-anticorps (**Mariette, 2010**). Dans le SGSp, une implication des Th17 est suspectée devant la constatation de niveaux élevés d'IL-17 circulante chez ces patients et la mise en évidence de la présence de ces LTh17 en grand nombre au sein des infiltrats lymphocytaires des glandes salivaires. De plus, une augmentation de la concentration salivaire de BAFF, qui est un facteur de survie des LB, appartenant à la superfamille des tumor necrosis factor (TNF) a été décrite chez certains patients atteints de SGS, Cette hyperproduction de BAFF entraînerait donc une survie prolongée des LB par l'intermédiaire d'une résistance augmentée à l'apoptose, permettant le maintien d'une stimulation pathologique responsable de la production d'autoanticorps ainsi que du risque d'évolution vers une hémopathie lymphoïde maligne (**Martel et al., 2014**).

6-5-2- Les cellules épithéliales

Dans les glandes exocrines, on distingue des cellules épithéliales canaliculaires et des cellules épithéliales glandulaire ou acini responsables des fonctions exocrines. Dans le SGS c'est essentiellement une altération morphologique et fonctionnelle des acini qui est observée. Les cellules épithéliales des glandes salivaires expriment de grandes quantités de HLA-DR (contrairement aux cellules de sujets normaux) et cette expression est augmentée par l'interféron- . Dans les cellules épithéliales des acini des patients atteints de SGS il y aurait une délocalisation de l'antigène SSB (La) du noyau vers le cytoplasme voir même la membrane, ce qui le rendrait potentiellement antigénique. Ces modifications spécifiques de la cellule épithéliale ont valu le terme d'épithélite auto-immune utilisée pour définir la maladie (**Mariette, 2010**).

6-5-3 Les cellules dendritiques plasmocytoïdes

Les cellules dendritiques plasmocytoïdes (pDC) sont les cellules présentatrices d'antigène (CPA) par excellence et sont à la jonction entre l'immunité innée et l'immunité adaptative. Elles présentent de nombreux récepteurs des « signaux de danger » à leur surface notamment des TLRs, différant selon leur sous-type. Leur présence a été démontrée

au niveau des glandes salivaires de patients atteints de SGSp alors qu'elle ne l'est pas chez des sujets sains. De plus, ces pDC sont activées puisqu'elles sur-expriment des molécules de Co-stimulation comme CD40 et CD86. Par ailleurs, les pDC sont les principales productrices d'IFN-alpha. En réponse à une stimulation par cet IFN ainsi que par l'IFN- γ , les pDC augmentent leur production de BAFF et peuvent ainsi influencer sur l'activation lymphocytaire B.

Dans le modèle murin NOD, une accumulation de cellules dendritiques dans les glandes salivaires précède l'infiltrat lymphocytaire, plaidant en faveur d'un rôle de ces cellules dans l'initiation du SGSp. Cette corrélation entre infiltration par les cellules dendritiques et le degré de l'infiltrat salivaire semble également exister chez l'homme (**Martel et al., 2014**).

6-5-4-- Les auto-anticorps

Le SGS primitif est caractérisé par une pléthore d'auto-anticorps (Ac), qui accompagnent le déclin des structures exocrines, parmi lesquelles les GS. Les auto-anticorps dirigés contre les petits peptides cytoplasmiques liés au RNP sont importants pour le diagnostic. le SGS primaire est caractérisé par la présence d'anticorps anti-SSA ainsi que anti-SSB. De plus, la présence des anticorps antifodrine ont également été rapportés au cours de cette pathologie. L'accumulation des produits de dégradation de 120 kd de l'alpha-fodrine et de 65 kd de la bêta-fodrine dans les cellules épithéliales est également la conséquence d'une apoptose anormale par la voie des caspases ou d'un clivage anormal par le granzyme B produit par les lymphocytes T cytotoxiques. De plus, l'alpha-fodrine intacte, au lieu d'être localisée au pôle apical de la cellule, est retrouvée au pôle basal (**Youinou, 2016**).

Des anticorps anti-récepteurs muscariniques (RM) (et plus particulièrement le récepteur M3R) ont été également retrouvés dans le sérum de patients atteints de SGS. Ces auto-anticorps fonctionnels reconnaissent le M3R et inhibent la neurotransmission, rendant les cellules moins sensibles à la stimulation muscarinique et réduisant ainsi la sécrétion de salive (**Youinou & Renaudineau, 2006**).

6-6- Mécanismes physiopathologiques

En se basant sur des données bibliographiques acquises, plusieurs phases ont été mises en évidence au cours de ce processus pathologique (**figure 3**). Est tout d'abord décrit, une activation de l'épithélium entraînant une infiltration lymphocytaire majoritairement constituée des

lymphocytes T (LT) CD4 et CD8. Ensuite, et de façon concomitante avec la progression de la maladie, de nouvelles populations cellulaires apparaissent telles que les cellules dendritiques (productrices d'interféron [IFN]), et les lymphocytes B (LB). Ces derniers peuvent devenir prédominants et s'organiser en centres germinatifs ectopiques avec l'aide des LT folliculaires et de la cytokine BAFF. L'hyperactivation lymphocytaire B entraîne l'émergence de plasmocytes ce qui s'accompagne d'une production locale d'autoanticorps (auto-Ac) dont les auto-Ac anti-syndrôme sec de type A (SSA/Ro) et de type B (SSB/La). Cette hyperactivation s'accompagne, au niveau périphérique, d'anomalies des sous-populations lymphocytaires B, reflet de l'attraction des LB mémoires dans les tissus. (Bordron et al., 2017). La destruction caractéristique des cellules épithéliales des patients atteints de SGS est probablement due à des troubles de l'apoptose aussi bien dans les cellules canaliculaires qu'acinaires (OPPLIGER, 2006).

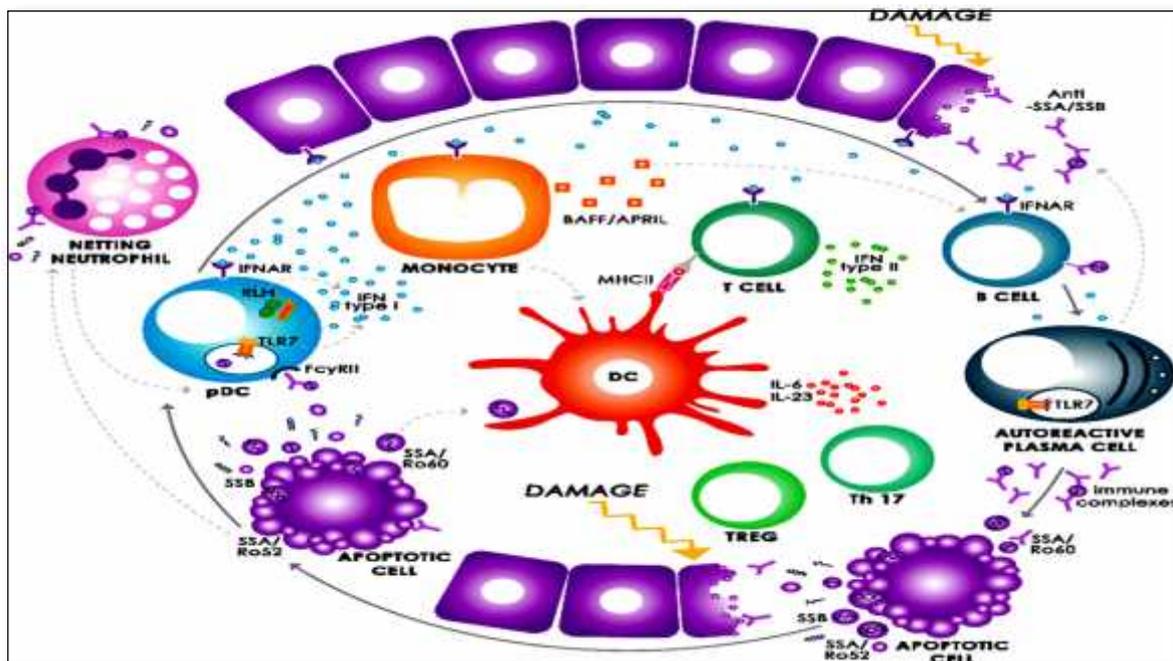


Figure 3 : la Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren (Maria et al., 2015).

7- Diagnostique.

Le diagnostic du SGS est basé sur les critères de classification du groupe de consensus américano-européen (Annexe I) pour le syndrome de Sjögren (Tim Both et al., 2017). Ils peuvent

fournir une grande aide pour le diagnostic de la maladie (KOITA, 2012). Le SGS est suspecté par l'examen ophtalmologique avec réalisation des tests de Schirmer et de Rose Bengale. Cependant, la confirmation du SGS repose sur la biopsie des GSA. L'examen histologique des GS renseigne sur l'importance de l'infiltrat lymphocytaire l'altération des structures glandulaires, acini et canaux excréteurs, et la fibrose du parenchyme (Hilliquin, 1999).

8- Traitement

Le traitement est adapté à la sévérité des symptômes et de la présence de complications. La plupart des patients ayant un SGS ne requièrent qu'un traitement local pour le syndrome sec (Hachulla et al., 2006). Ces traitements qui peuvent être : symptomatiques, traitement de fond et des biothérapies par anticorps monoclonaux ciblés.

1-Traitement Symptomatique

- pour la xérostomie, sont utilisés par exemple Artisial ®, Syali-spray ®, ou des dispositifs endobuccaux.
- pour la xérophtalmie, sont prescrits des larmes artificielles (hydralarm...), des polymères visqueux (Lacrigel®, Dulcilar®, méthylcellulose...), des gels de carbomères et acide hyaluronique (Visméd ®)
- pour la douleur, les antalgiques simples, en évitant ceux qui assèchent les muqueuses et les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont souvent prescrits.

2-Traitement de fond

- le plaquenil, notamment en cas d'arthralgie et de purpura avec hypergammaglobulinémie, mais sa place est controversée.
- le méthotrexate et le léflunomide sont surtout utilisés en cas de polyarthrite.
- les corticoïdes sont quant à eux utilisés en cas de complications viscérales (en association aux immunosuppresseurs le plus souvent)

3-Des biothérapies et anticorps monoclonaux ciblés

Les anti-TNF (La première étude humaine a utilisé de l'infliximab (Rémicade®)) ont été utilisés mais sans grande efficacité. Les anti-lymphocytes B (anti CD-22 et surtout anti-CD-20) ont des

résultats plus prometteurs, notamment dans les formes récentes (moins de dix ans) et sévères et/ou anciennes avec des atteintes extraglandulaires (Saroux, 2010 ; Varache et al., 2010).

9- Apoptose et marqueurs biologiques

9- 1- Rappel sur l'apoptose.

L'apoptose est un phénomène de mort cellulaire programmée. On la retrouve de manière physiologique ou pathologique dans la plupart des phénomènes biologiques tels que de régulation, différenciation ou cicatrisation tissulaires (Brignole et al., 2003). L'apoptose peut être déclenchée par des molécules provenant d'autres cellules, comme les LT infiltrant la GS. Ces facteurs pro-apoptotiques peuvent être des enzymes comme la perforine, ou des récepteurs de mort membranaires comme Fas (CD95) (Marie-Michèle, 2012).

9- 2- les voies apoptotiques.

L'apoptose peut être activée par 2 voies principales :

-la voie extrinsèque : est déclenchée par des récepteurs de mort (Fas). L'activation de Fas par son ligand induit le recrutement des caspases effectrices, parmi lesquelles la caspase-3, ce dernier induit l'apoptose (Jeong EJ et al.,1999) (Annexe II).

-La voie intrinsèque de l'apoptose (ou voie mitochondriale) : déclenchée par l'activation du facteur de transcription p53 lors des dommages importants à l'ADN (Annexe II).

-Une troisième voie annexe a été décrite plus récemment qui fait intervenir le réticulum endoplasmique en cas de stress (INGUENEAU, 2010).

9-3-La famille des Bcl-2.

De nombreux signaux pour la vie cellulaire et la mort sont régulés par les protéines de la famille Bcl-2 et convergente vers les mitochondries, où le destin cellulaire est finalement décidé. Une vingtaine de membres de la famille Bcl-2 ont été identifiés, sont divisées en sous-populations pro-apoptotiques (par exemple BAX, BAK) et anti-apoptotique (par exemple Bcl-2, BCL-XL), qui possèdent quatre domaines d'homologie Bcl-2 (BH1-4). Les membres pro-apoptotiques sont constitués de protéines multi-domaine et domaine BH3 seulement (BH3 only Domain) et ce dernier groupe a des dépresseurs et des activateurs (Annexe III).

(Gillies & Tomomi, 2014) et (Volkman, et al., 2013).

Selon des critères fonctionnels et structurels, la famille de Bcl-2 divise en 3 groupes :

- Les anti-apoptotiques multidomaines, comme Bcl-2 et Bcl-xL.
- Les pro-apoptotiques multidomaines, comme Bax et Bak.
- Les pro-apoptotiques qui possèdent qu'un seul domaine BH3, telles que Bad et Bid.

Les membres de la famille Bcl-2 forment des hétéro- ou homodimères et agissent comme des régulateurs anti- ou pro-apoptotiques qui sont impliqués dans une grande variété d'activités cellulaires. On rapporte que la protéine Bcl-2 interagit avec le canal anionique voltage-dépendant mitochondrial (VDAC) et augmente son ouverture, ce qui entraîne une perte de potentiel membranaire et la libération du cytochrome c. L'expression de son gène est régulée par le suppresseur de tumeur p53 (Gillies & Tomomi, 2014).

Le gène *Bcl-2* a initialement été découvert à la jonction de la translocation chromosomique (14;18) retrouvée chez des cellules B cancéreuses. La prolifération excessive de ces cellules a été expliquée par la surexpression de Bcl-2 résultant de cette translocation, qui empêchait leur mort normale. C'est un gène anti-apoptose exprimé par de nombreux types cellulaires surtout les lymphocytes T et B. Il est localisé sur le chromosome 18q21, formé de trois exons. La protéine codée par *Bcl-2* est localisée au niveau de la membrane mitochondriale interne, du réticulum endoplasmique granulaire et de l'enveloppe nucléaire. Elle protège la cellule contre l'apoptose (Khalfaoui et al., 2007).

9-4- la protéine p53.

Le suppresseur de tumeur p53 a été appelé «gardien du génome » en raison de sa position nodale reliant plusieurs voies différentes qui préservent l'intégrité de l'information génétique (Moll et al., 2005). Le gène *p53* est fréquemment muté dans une grande variété de cancers humains (Fields & Jang, 1990). La fonction la plus étudiée de p53 est son rôle en tant que facteur de transcription capable d'activer la transcription d'un nombre croissant de gènes cible, son activation transcriptionnelle des gènes pro-apoptotiques, ainsi que sa répression transcriptionnelle des gènes anti-apoptotiques. De plus, p53 a été proposé pour activer les points de contrôle du cycle cellulaire (Hemann & Lowe, 2016).

Des études récentes ont commencé à définir les mécanismes des activités p53 pro-apoptotiques opérant dans la voie intrinsèque de l'apoptose. Jusqu'à présent, deux mécanismes différents ont été décrits, chacun d'entre eux étant affecté à une localisation spécifique de la protéine p53, soit dans le cytosol, soit directement au niveau des mitochondries. Bien que mécaniquement différents, les deux modes d'induction de l'apoptose indépendants de la transcription convergent,

puisqu'ils initient tous les deux la perméabilisations de la membrane mitochondriale externe via l'activation des membres de la famille Bcl-2 pro-apoptotiques Bax ou Bak.

Les activités de p53 dépendantes et indépendantes de la transcription convergent au niveau des mitochondries. Alors que le p53 nucléaire via son activité transcriptionnelle induit l'expression des protéines seules BH3 PUMA, Noxa et Bid. La p53 cytosolique ou mitochondriale via des mécanismes indépendants de la transcription active directement Bax/Bak et neutralise l'effet anti-apoptotique de Bcl-2 / Bcl-xL (**Moll et al., 2005**).

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

Nous avons réalisé notre étude rétrospective au niveau du laboratoire d'anatomie cytologie pathologique appartenant au service d'anatomo-pathologie du CHU Hassani Issade de Béni Messous depuis le mois du Janvier au mois du Mai 2018.

II-1- Matériel.

1-1-Matériel biologique (Annexe IV)

Il s'agit d'une étude Anatomo-clinique réalisée sur des biopsies des glandes salivaires accessoires, effectuée sur une série de 20 cas de sialadénite lymphocytaire de grade 3 et 4 selon la classification de Chilsholm et Masson chez des patients présentant un syndrome de Gougerot-Sjögren.

Nous avons aussi comparé ces cas à un cas de sialadénite non spécifique.

1-2-Matériel non biologique (Annexe V)

1-2-1-Appareillage

1-2-2-Réactifs et solutions

1-2-3-Matériel et verreries

II-2-Méthode

Les biopsies des glandes salivaires accessoires ont été réceptionnées et enregistrées au service d'anatomie pathologique du CHU de Beni Messous. Ces biopsies sont accompagnées d'une fiche de renseignements comprenant les mentions suivants : l'âge de patients, le sexe, l'antécédents personnels et familiaux de MAI. Ces biopsies ont subi la technique d'étude usuelle (HE) et une autre caractérisation immunohistochimique (étude immunohistochimique en présence des anticorps Bcl-2 et p53).

2-1-Etude anatomopathologique

Les biopsies destinées au laboratoire pour un examen histologique, passent par une série d'étapes avant qu'ils ne soient lus et interprétés par le pathologiste. Tout d'abord elles sont enregistrées à la réception où un numéro d'identification leur ai attribué.

La technique usuelle appelée hématoxyline éosine (HE) est réalisée en différentes étapes qui sont principalement :

1-Fixation

Les biopsies des glandes salivaires accessoires sont fixées au formol tamponné à 10% pendant 4h à 6h, cette fixation a pour but la conservation des structures et le durcissement des tissus, Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans du fixateur (généralement le formaldéhyde). La durée de fixation est variable et la quantité de fixateur utilisée doit être au moins dix fois plus importante que le volume de tissu à fixer : quelques heures suffisent donc pour fixer les petits fragments. Après fixation des prélèvements un examen macroscopique est réalisé où les petits fragments sont examinés à l'œil nu afin de rechercher des anomalies. Nos biopsies sont ensuite incluses en totalité dans du papier Joseph (pour ne pas tomber) puis dans des cassettes où elles vont subir une déshydratation.

2- La déshydratation

La déshydratation c'est élimination de l'eau du tissu de nos biopsies GSA par l'alcool, cette étape est nécessaire car la paraffine est une substance hydrophobe (non miscible à l'eau), et non soluble dans l'alcool,

Comme la substance d'inclusion est généralement la paraffine, qu'une substance liquide à chaud, solide à température ambiante et insoluble dans l'eau et dans l'alcool. Donc les biopsies doivent être entièrement déshydratées avant son inclusion dans la paraffine, ce qu'il faut :

- Déshydratation par l'alcool: consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient. La déshydratation se fait par le passage dans 5 bains d'Alcool de degré croissant 75%, 80%, 90%, 95%, et absolu (1h pour chacun des 5 bains avec agitation)
- Eclaircissement par le toluène : cette étape est destinée à remplacer l'alcool par un solvant de la paraffine et à chasser l'alcool par quatre bains successifs de toluène, chaque bain dur une heure de temps avec agitation.

3- L'inclusion

L'inclusion ne se fera de façon satisfaisante que si les biopsies GSA à couper ne contiennent ni eau ni solvant intermédiaire (alcool). Cette étape se fait par un appareil d'enrobage représenté par la figure (voir **Annexe V**)

Cette étape est faite pour faciliter la formation des blocs pour la réalisation de coupes histologiques, et permettant d'obtenir des coupes minces au microtome. Pour ce faire nous avons réalisé les étapes suivantes :

- Les moules ont été préchauffés dans une enceinte thermique (66°C).
- Les fragments tissulaires placés et orientés dans les moules à moitié rempli de paraffine.
- Remplissage des moules et les transférer sur une plaque froide. Les blocs de paraffines sont décollés facilement et conservés au réfrigérateur à température de 4°C jusqu'à la réalisation des coupes.

4- Réalisation des coupes ou microtomie

La réalisation des coupes fines de 3 à 5 µm d'épaisseur et régulière se fait à l'aide d'un microtome, sous forme de rubans puis étalés sur lame. Les lames sont mises dans l'étuve à 75°C pendant 2 heures dans le but d'éliminer la paraffine du prélèvement et d'augmenter l'adhérence des coupes.

5- Coloration par Hématoxyline – Éosine (HE)

C'est une coloration histologique topographique qui, en différenciant le noyau du cytoplasme, donne une vue d'ensemble d'un tissu. Cette coloration permet de visualiser la morphologie des cellules (noyau et cytoplasme) afin de déterminer leur répartition, architecture et structure. C'est une coloration combinée qui s'effectue avec 2 colorants :

L'hématoxyline qui colore le noyau en violet, et l'éosine qui colore le cytoplasme en rose.

La coloration est précédée de déparaffinage et de réhydratation ;

➤ Déparaffinage :

Cette étape consiste à enlever la paraffine de la coupe tissulaire pour que les colorants (préparés en phase aqueuse), puissent pénétrer le tissu et le colorer. Pour cela les lames sont mises dans l'étuve à 75°C pendant 2 heures, puis plongés dans le toluène.

- Quatre bains de toluène (5 mn pour chaque bain)

➤ Hydratation :

Elle a pour objet de retirer le toluène du tissu et le remplacer par de l'eau. Le toluène et l'eau n'étant pas miscibles, le toluène est d'abord remplacé par l'alcool, puis les lames sont passées dans un bain d'eau courante, permettant de remplacer l'alcool par l'eau.

- Premier bain dans l'alcool à 95°.

- Deuxième bain dans l'alcool à 95 °.
- Troisième bain dans l'alcool à 80 °.
- Quatrième bain dans l'alcool à 80 °.
- Rinçage a l'eau courante (5min).

Puis nos biopsies ont été colorées, suivant les étapes suivantes :

- Coloration des lames dans un bain d'Hématoxyline (4mn) pour coloration des noyaux.
- Rinçage a l'eau courante.
- Coloration des lames a l'éosine (1 mn) pour colorer le cytoplasme.
- Passage dans éthanol a des degrés croissants : 80°, 90° et absolu pendant 30 secondes pour chacun.
- Passage dans 3 bains de xylène (30 secondes pour chacun)

6- Montage

Cette opération consiste, une fois la coloration terminée, à fixer à l'aide d'un milieu de montage le (E-kitt), une lamelle de verre sur la coupe tissulaire.

Le montage permet une protection mécanique des coupes, ainsi qu'une protection chimique des colorants. La lame colorée est ensuite transmise au médecin anatomopathologiste pour faire la lecture à l'aide d'un microscope photonique à différents grossissements (X200, et X400), afin de réaliser l'observation de nos lames.

2-2 – Etude immunohistochimique :

- **Principe**

L'immunohistochimie (IHC) permet l'identification "*in situ*", sur coupe histologique, d'un antigène cellulaire ou tissulaire. Cette technique est basée sur une réaction spécifique antigène-anticorps utilisant des anticorps mono ou polyclonaux conjugués à une substance

fluorescente ou à une enzyme qui réagit avec son substrat en donnant une coloration facile à voir au microscope optique en lumière blanche ou ultra-violette. Ces techniques sont effectuées sur coupes en paraffine ou à congélation (au cryostat, à partir de prélèvements frais, non fixés, congelés par immersion dans l'azote liquide)

- **Intérêt**

-Localisation précise de certaines protéines.

-Etude de leur siège.

-Evaluation de leur expression.

Dans notre travail, l'intérêt de l'immunohistochimie est de rechercher la présence ou l'absence des protéines P53 et BCL2 dans les cellules épithéliales et inflammatoires des glandes salivaires accessoires au cours de SGS ; pour évaluer la survie ou l'apoptose des cellules épithéliales.

- **Mode opératoire**

1-Coupes tissulaires :

Des coupes de 2 à 4 micromètre sont réalisées à partir de la biopsie des glandes salivaires accessoires à l'aide d'un microtome et sont étalées sur des lames silanisées pour éviter le décollement des tissus lors de la manipulation.

2-Séchage :

Le séchage est effectué dans l'étuve à 50°C pendant 24h pour une meilleure adhésion des tissus sur les lames.

3-Déparaffinage, démasquage et refroidissement

1-Déparaffinage et réhydratation :

Les lames sont plongées dans la batterie initiale qui contient :

-3 bains de xylène (10 min pour chacun) pour déparaffiner, puis dans les bains d'alcool, de concentration décroissante pour réhydrater

_ Alcool (100°/°) 5min

_ Alcool (90°/°) 5min

_ Alcool (70°/°) 5min

-les lames sont lavées par l'eau de robinet.

2-Démasquage antigénique :

Les lames sont plongées dans la solution de démasquage (PH=9) préchauffée dans un bain marie entre 95 à 98°C pendant 30 à 40 min

3-Refroidissement :

Les lames sont refroidies sur la paillasse à température ambiante pendant 20 min par l'eau de robinet pour le démasquage des antigènes. Puis les lames sont mises dans l'eau distillée pendant 5 min.

4-Immunomarquage

On dépose les lames sur une compresse humide.

-cerclage des fragments avec un gel hydrophobe (DAKO Pen) pour indiquer le siège et ne pas laisser la diffusion des anticorps sur la lame.

-Blocage des peroxydases endogènes en utilisant de l'eau oxygéné H₂O₂ (10min).

-Rinçage à l'eau distillée, puis plonger les lames dans un bain de TBS (5min).

-Tapotage des lames pour éliminer le tampon en excès (pour éviter l'excès de liquides autour des coupes).

-Application suffisante des gouttes de l'anticorps primaire (anti-BCL2, et anti-p53).

-Rinçage dans deux bains de tampon TBS.

-Tapotage des lames pour éliminer le tampon en excès.

-Incubation avec l'anticorps secondaire amplifiant (Anticorps secondaire amplifiant avec la Streptavidine) pendant 15 min.

-Rinçage dans de deux bains de tampon TBS (5min), suivi par un séchage des lames.

-Révélation utilisant le chromogène de la peroxydase qui est le DAB (3,3Diaminobenzidine). L'enzyme dégrade le substrat DAB, le produit qui en résulte en présence de la chromogène donne une coloration marron.

-Rinçage à l'eau distillée.

-contre coloration à l'hématoxyline : incuber les lames dans une solution d'hématoxyline (5min) cette étape a pour but de colorer le noyau en bleu.

-Rinçage avec l'eau du robinet.

-L'impression est effectuée dans l'ammoniaque.

6-Déshydratation et éclaircissement

On met les lames dans une concentration croissante d'alcool.

- Alcool 70° pendant 5min,
- Alcool 90°pendant 5min
- Alcool 100°pendant 5 min (DSH)
- 1 bain de l'xylène pendant 5 min dans chacun (éclaircissement).

7- Montage

L'ajout d'une petite goutte de milieu de montage alcoolique (EUKITT) sur la lamelle a permis un montage sur la lame.

CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

1- Caractérisation de la population

1-1- Répartition des patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren selon le sexe

Nos résultats démontrent que le SGS affecte plus les femmes (95% de notre population) que les hommes 5% ; avec un ratio de 19F/1H. Ce résultat corrobore avec d'autres travaux ayant également rapporté que le SGS touche essentiellement les femmes (**García-Carrasco et al., 1999**).

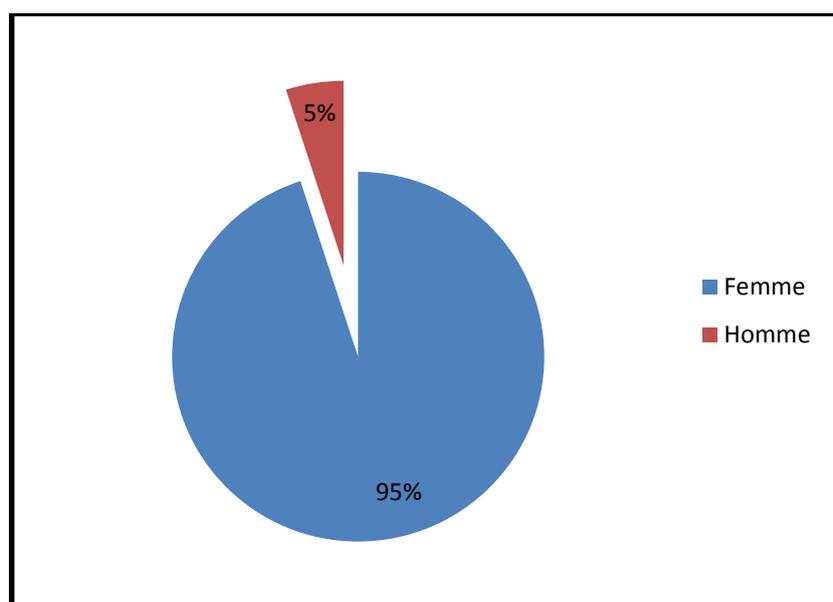


Figure 4: Répartition du SGS selon le sexe chez les patients algériens.

Cette prédominance féminine observée au cours de cette pathologie a poussé les scientifiques à s'interroger sur l'implication éventuelle des hormones sexuelles dans l'étiologie de la maladie (**Lockshin, 2002 ; Porola, 2007**). Les différences d'hormones sexuelles entre les hommes et les femmes pourraient expliquer partiellement cela. En effet, dans ce contexte, il a été suggéré que l'action œstrogénique est responsable de la forte prépondérance féminine des maladies auto-immunes, y compris au cours du SGS (**Naozumi I et al., 1999**).

Il a été rapporté que les œstrogènes réduisent sélectivement les précurseurs des cellules B. En effet, la carence en œstrogènes stimule le développement des cellules B dans la moelle osseuse de la souris, stimulant ainsi l'augmentation de la production d'auto-anticorps fortement impliqués au cours de cette pathologie. L'interaction entre les CE et les LB conduit à l'apoptose des CE des GS via la voie PKC qui va activer les caspases (**Marie Michele, 2012**). la production d'auto-anticorps par déficience en œstrogènes est essentiellement médiée par des cytokines à caractère pro-inflammatoire telles que l'interleukine-6, l'IFN- γ , ainsi que le TNF- α (**Naozumi I et al., 1999**).

Il a ainsi été démontré que les niveaux réduits d'hormones sexuelles activent les cellules immunitaires dans la glande salivaire et lacrymale, entraînant une augmentation de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α , qui provoque alors l'apoptose des cellules épithéliales des glandes salivaires et lacrymales au cours du SGS (**Kamachi et al., 2002 ; Safinaz et al., 2012**).

De plus, il a été démontré que les androgènes contribuent au développement et au maintien de la structure et de la fonction des glandes salivaires (**Porola et al, 2007**). **Safinaz et al** ont évalué que le taux d'œstrogènes et des androgènes sont diminués après ovariectomie, ce qui accélère l'infiltration inflammatoire dans les glandes lacrymales et salivaires des souris, et peut accélérer le développement de la maladie. Le traitement par dihydrotestostérone (DHT) ou œstradiol (E2) seul pourrait empêcher l'infiltration lymphocytaire, la dégradation de l'ADN nucléaire et l'activité de la caspase-3 dans la glande lacrymale après ovariectomie.

Des études ont également révélé une augmentation des cas du SGS après la grossesse indiquant ainsi un potentiel lien entre la maladie et la grossesse, pouvant impliquer un mécanisme de microchimérisme fœtal. En effet, les cellules souches fœtales persistantes dans la circulation maternelle peuvent se différencier en cellules de l'immunité compétentes matures, qui pourraient reconnaître des antigènes spécifiques de la mère, et jouer par conséquent un rôle dans l'inflammation des tissus (**Evans et al., 1999; Marie-Michèle, 2012**).

1-2- Répartition des patients atteints de syndrome de Gougerot Sjögren selon l'âge

Dans notre série, la moyenne d'âge des patients est de $47 \pm 14,58$ ans avec des extrêmes d'âge allant de 30 à 69 ans.

Nous avons réparti notre série de patients en 3 tranches d'âge : [20- 40 ans], [40-60 ans], et [60-80 ans], La tranche d'âge la plus atteinte dans notre population de patients est celle se situant dans l'intervalle entre 40 et 60 ans, soit 50% de la population. Nos résultats corroborent avec les travaux réalisés sur une autre population décrivant que cette affection touche essentiellement les femmes en péri-ménopause (**Hilliquin, 1999; García-Carrasco et al., 1999**).

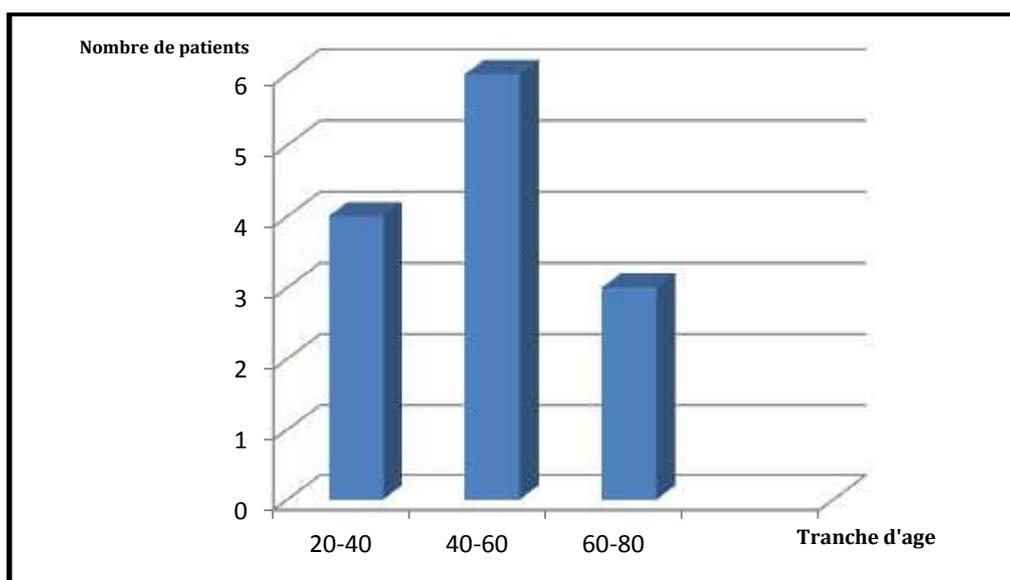


Figure 5 : Répartition des patients atteints du SGS selon la tranche d'âge.

Le SGS est effectivement une maladie typique de l'adulte d'âge moyen, rarement observé chez les enfants (Mzabi *et al.*, 2011 ; Chebbi *et al.*, 2015). Son diagnostic est en effet, souvent posé durant la quatrième et la cinquième décennie de la vie. Cependant, il n'est pas exceptionnel d'observer des cas de SGS chez les enfants (Ruchika & Anupama, 2014).

La diminution de la production des œstrogènes, pourrait expliquer l'âge d'apparition de cette maladie ou du développement des symptômes chez ces sujets (Valtysdottir, 2001).

2- Etude architecturale et structurale des glandes salivaires accessoires dans le syndrome de Gougerot-Sjögren

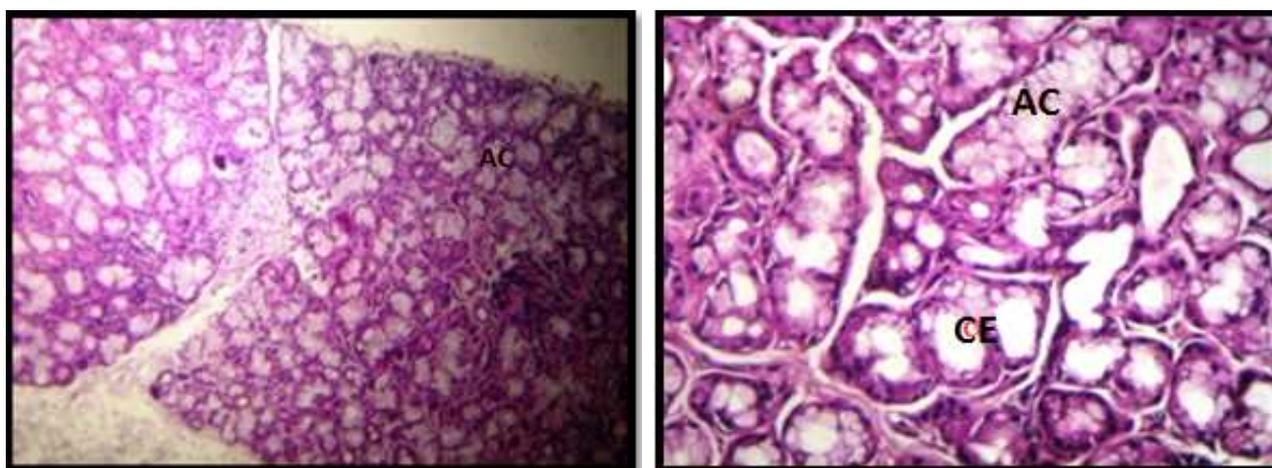
L'étude histologique des glandes salivaires accessoires montre un infiltrat lymphoplasmocytaire autour des acini et des canaux excréteurs ce qui provoque leur altération puis leur destruction, entraînant ainsi une modification architecturale des structures exocrines contrairement aux glandes salivaires accessoires des sujets sains (figure 6).

Dans le SGS, on définit un foyer comme une accumulation focale de plus de 50 cellules mononuclées adjacents à des acini, constituant un infiltrat lymphocytaire dans une glande salivaire. Le nombre d'agrégats contenant plus de 50 lymphocytes est alors défini, puis un score en fonction du nombre de ces agrégats par 4 mm² est établi (Oughazzou, 2016).

L'infiltration lymphoplasmocytaire est habituellement classée en fonction de son importance en 4 stades. Les stades 1 et 2 correspondent à un infiltrat léger, avec un infiltrat plus prononcé pour le stade 2, mais comportant moins de 50 cellules lymphocytaires par 4 mm², de tissu glandulaire.

Le stade 3 quant à lui correspond à un foyer de plus de 50 lymphocytes par 4 mm² (**figure 7**) ; enfin dans le stade 4, l'infiltration est encore plus importante, réalisant plus d'un foyer de 50 cellules par 4 mm² (**figure 8 et 9**). Cependant, seuls les stades 3 et 4 de la classification de Chisholm et Masson sont caractéristiques de la maladie.

Le SGS affecte surtout les glandes exocrines, où le tissu épithélial est graduellement remplacé par des infiltrats lymphoplasmocytaire, conduisant ainsi à une altération des structures glandulaires (acini et canaux excréteur) ainsi qu'à une prolifération parenchymateuse résultants à une diminution de la fonction sécrétrice de ces glandes exocrines (**Opplinger, 2006**).



(1)

(2)

AC : Acini ; CE : Canal excréteur

Figure 6: Histologie d'un parenchyme d'une glande salivaire accessoire saine. (Coloration HE, Gr x100(1) et Grx400 (2)).

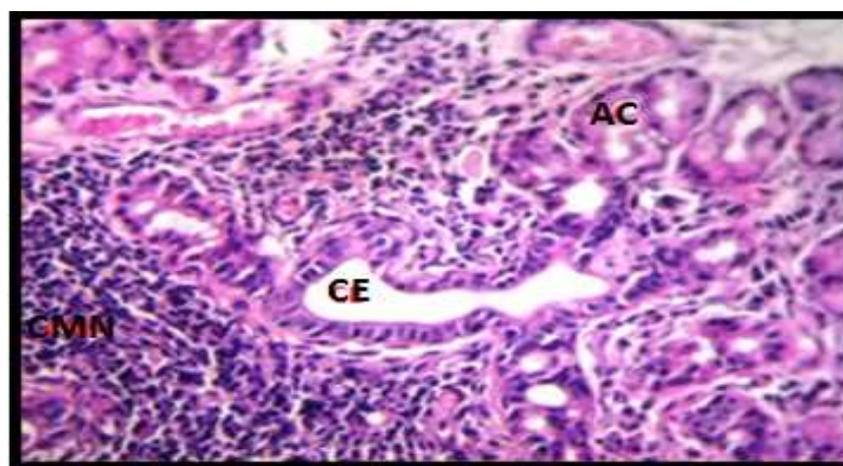


Figure 7: Histologie d'une glande salivaire accessoire d'un patient SGS de grade 3, (coloration HE, Gx400).

CMN: cellules mononucléaires infiltrantes; CE: Canal excréteur ; AC: Acini

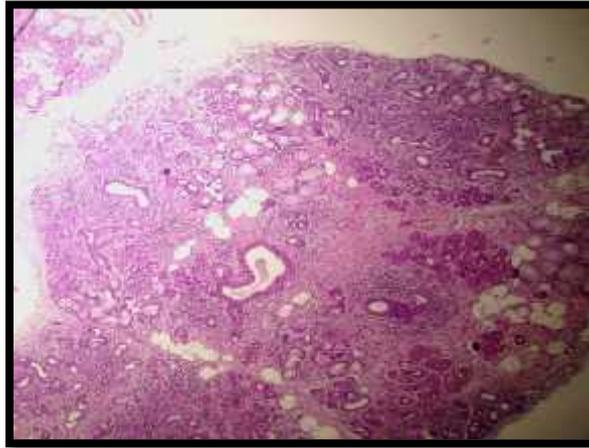


Figure 8: Histologie d'une glande salivaire d'un patient SGS de grade 4, (coloration HE, Gx100).

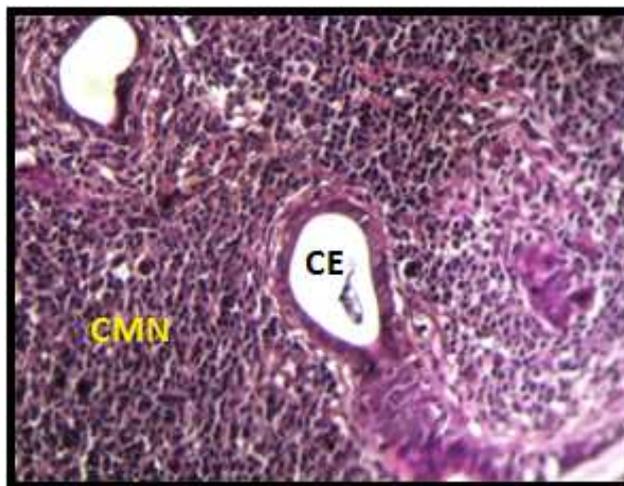


Figure 9: Histologie d'une glande salivaire d'un patient SGS de grade 4, (Coloration HE, Gx400).

CMN: cellules mononucléaires infiltrantes; CE: Canal excréteur

3-Expression immuno-histochimique des protéines Bcl-2 et p53 au cours de syndrome de Gougerot-Sjögren et chez une population témoin

Dans notre étude nous avons évalué l'expression immunohistochimique en utilisant deux marqueurs que sont les anticorps anti p53 et anti Bcl-2.

3-1- Expression immuno-histochimique de la protéine Bcl-2 au cours de syndrome de Gougerot-Sjögren et chez une population témoin

Sur les 20 cas présentant un syndrome de Gougerot-Sjögren étudiés, l'expression du Bcl-2 au niveau des glandes salivaires accessoires a été retrouvée dans 19 cas. Cette expression est de

caractéristique nucléaire, très intense au niveau des cellules inflammatoires. Cependant, au niveau de la plus part des cellules bordant les canaux excréteurs, l'expression du Bcl-2 est parfois faible, d'autres fois modérée ou encore intense dans certains autres cas de grade 4 essentiellement. Il n'a pas été noté de marquage anti Bcl-2 au niveau des acini (**Figure 10 et 11**).

Dans un seul cas d'un patient présentant un SGS, nous avons trouvé l'absence de marquage du Bcl-2 au niveau des cellules inflammatoires, des canaux et des acini (**Figure 13**).

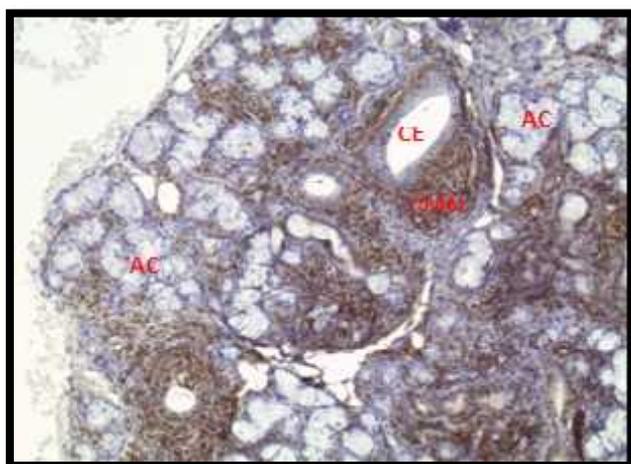
Nous avons également évalué l'expression de la protéine Bcl-2 au niveau des glandes salivaires de sujets témoins. Notre résultat révèle que l'expression du Bcl-2 était nucléaire, cependant faible dans les cellules inflammatoires ainsi que dans les cellules épithéliales bordant les canaux excréteurs, contrairement à son expression plus intense et plus abondante chez les patients. De même, nous avons également noté une absence de marquage Bcl-2 au niveau des acini chez ces sujets témoins (**Figure 12**).

D'une façon concordante il a également été rapporté dans une autre étude une expression de Bcl-2 plus intense au niveau des cellules inflammatoires et épithéliales au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren, qu'au cours d'une sialadénite non spécifique (**Kong et al, 1998**). Cette même étude a révélé que les cellules épithéliales acineuses salivaires expriment une élévation de la protéine Bax, une protéine appartenant à la famille Bcl-2. Cette expression anormale de Bax dans les cellules acineuses peut représenter une caractéristique pathologique (**Manganelli et Fietta, 2003**). Cependant, l'expression d'autres régulateurs apoptotiques dans les cellules acineuses et canalaire (Bcl-X et Bak) n'était pas significativement différente entre la GS des patients SGS et des sujets témoins. Dans la GSA saine, les cellules exprimant Bax ont été retrouvées seulement dans les canaux excréteurs, reflétant probablement le renouvellement cellulaire normal. Ces résultats suggèrent que Bax pourrait être impliqué dans la destruction glandulaire salivaire du SGS alors que l'expression de Bcl-2 dans les CMN infiltrantes et les cellules canalaire pourrait contribuer à leur survie au cours de cette exocrinopathie auto-immune (**Kong et al, 1998**).

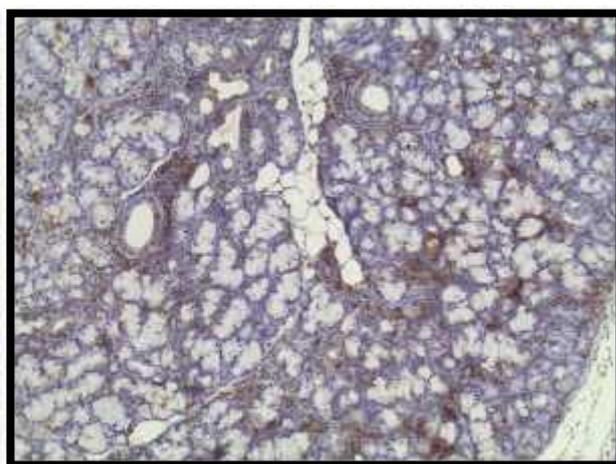
Le rapport Bcl-2 / Bax affecte le taux de mort cellulaire programmée. Cette observation que les CMN infiltrantes et certaines cellules canalaire expriment Bcl-2 suggère que cette molécule remplace l'action de promotion de la mort de Bax. En effet, l'expression du gène *Bcl-2* est un puissant inhibiteur de l'apoptose induite par les dommages causés par les radiations, les stéroïdes. En outre, d'autres facteurs de survie tels que les cytokines ou l'interaction avec des molécules d'adhésion ou de co-stimulation peuvent neutraliser la surexpression de Bax dans la GS des patients atteints du SGS (**Reed et al, 1994 ; Kong et al, 1998**).



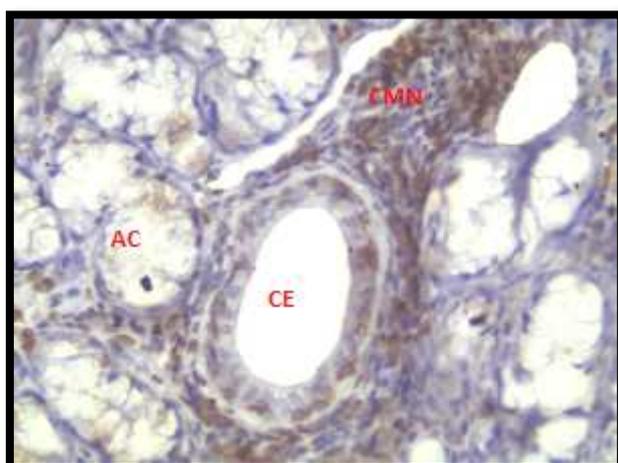
Figure 10: Expression immunohistochimique de la protéine Bcl-2 dans une glande salivaire accessoire d'un patient SGS de grade 4 (Gr x40).



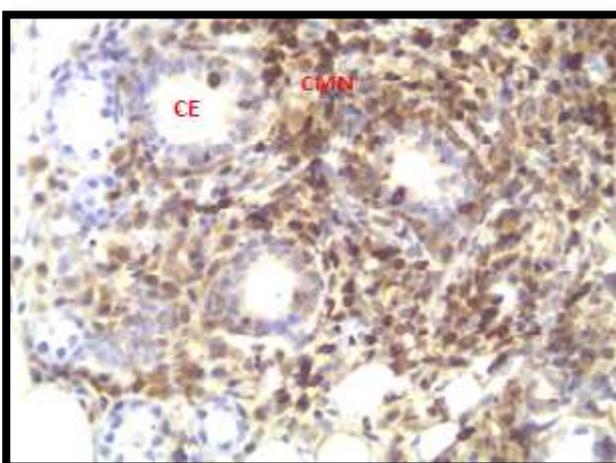
(b)



(c)

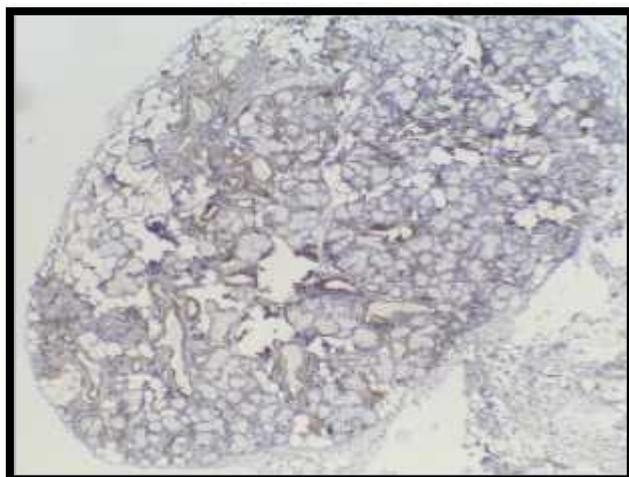


(d)

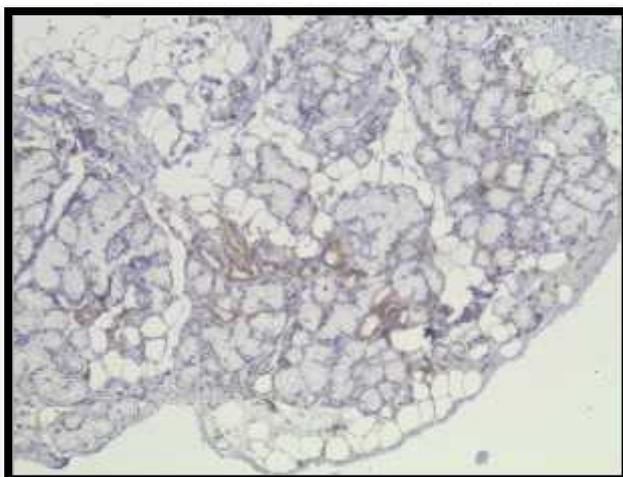


(e)

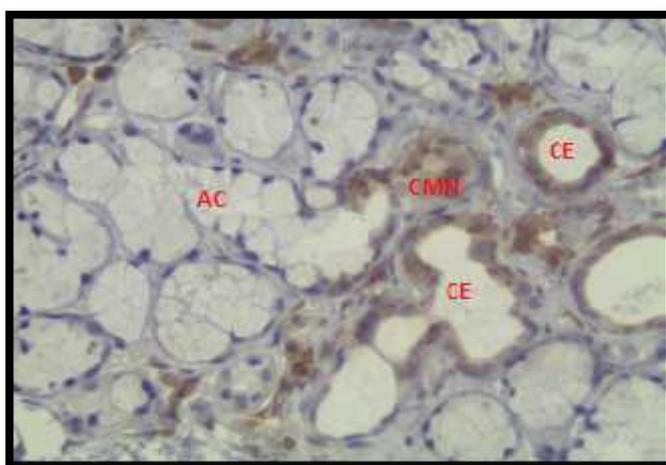
Figure 11: Immunomarquage par Bcl-2 des glandes salivaires accessoires chez les patients atteints du syndrome Gougerot-Sjögren ; G : x100 (b,c) et x400 (d,e).



(f)

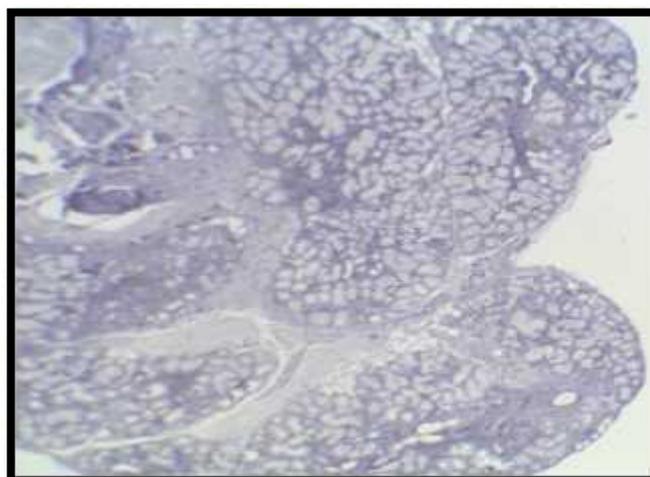


(g)



(h)

Figure 12: Immunomarquage par Bcl-2 des glandes salivaires accessoires chez un témoin de grade 1, G : x40 (f) ; x100 (g) et x400 (h).



(i)

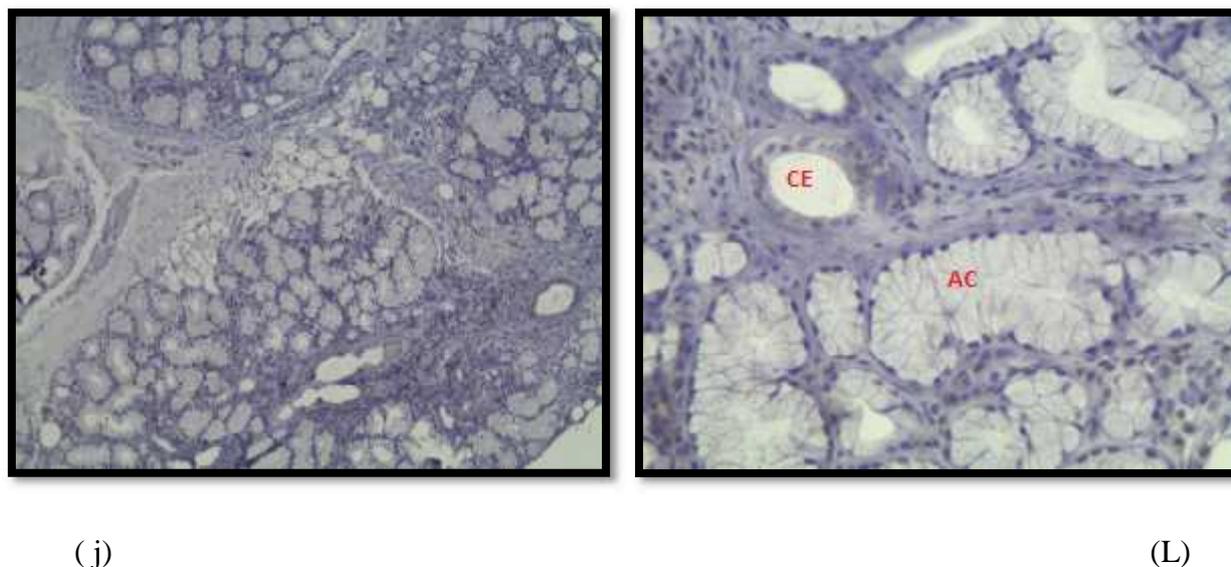


Figure 13: Immunomarquage par Bcl-2 négative des glandes salivaires accessoires d'un patient. G : x40 (i) ; x100 (j) et x400 (L).

CMN: cellules mononucléaires infiltrantes; CE: Canal excréteur ; AC: Acini

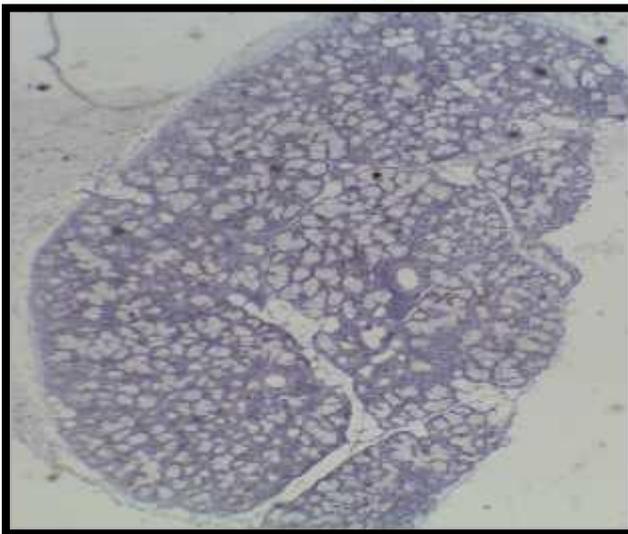
3-2- Expression immuno-histochimique de la protéine p53 au cours de syndrome de Gougerot-Sjögren et chez une population témoin

L'expression de la protéine p53 s'est révélée être négative chez les 20 cas de patients SGS et ce aussi bien au niveau des éléments inflammatoires, que des cellules épithéliales (canaux excréteurs et acini) (**figure 14**). Nous avons également évalué l'expression de la p53 chez des sujets témoins (**figure 15**). Notre résultat révèle également l'absence de l'expression de cette protéine.

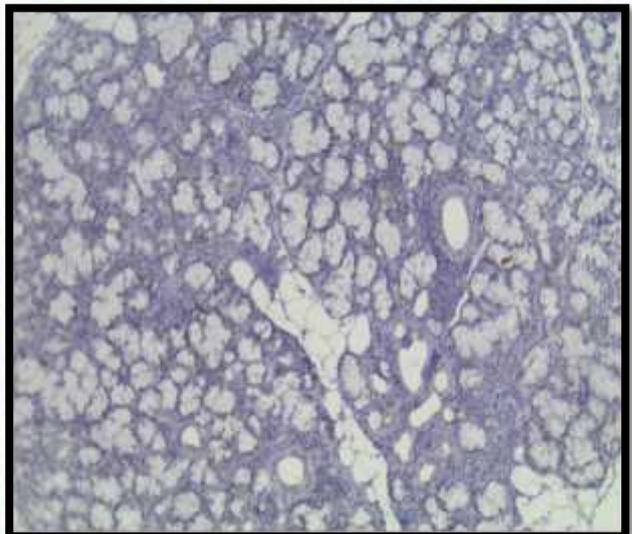
Au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren, il existe une destruction des cellules épithéliales au niveau des glandes salivaires, engendrant une diminution de la sécrétion salivaire et se manifestant cliniquement par une xérostomie. Pour mettre en évidence le mécanisme de destruction des cellules épithéliales dans le SGS, deux phases distinctes sont à distinguer au cours de la pathogenèse du SGS. La première, étant une étape indépendante des lymphocytes, et qui peut être caractérisée par une anomalie génétiquement déterminée responsable de l'apoptose des CE, aboutissant à l'exposition sur la membrane cellulaire d'autoantigènes tels que l'α-fodrine, SS-A (Ro), et SS-B (La). En effet, l'apoptose permet la translocation des SS-A (Ro) et SS-B (La) sur les membranes des CE, où elles peuvent être exposées à des cellules présentatrices d'antigènes telles

que les macrophages, et ainsi générer une réponse auto-immune. Au cours de cette première phase, une expression élevée de cytokines pro-inflammatoires et de métalloprotéases peut également se produire, entraînant une dégradation des membranes basales épithéliales. Une telle phase asymptomatique peut être suivie par la seconde étape, caractérisée par une infiltration des cellules mononuclées, une apoptose lymphocytaire, une lésion glandulaire et une diminution de l'écoulement sécrétoire. Les lymphocytes T peuvent induire l'apoptose au moyen de 3 mécanismes différents: 1) interaction Fas/FasL; 2) la libération de perforine et de granzyme B; et 3) la production de cytokines, telles que l'IFN- γ , le TNF- α et le TGF- β (**Manganelli et Fietta , 2003**).

Nos résultats démontrant l'absence d'expression de la p53 montre que la survie des cellules épithéliales mise en évidence dans notre étude par la forte expression de la protéine Bcl-2 est indépendante de la voie de la p53.



(A)



(B)

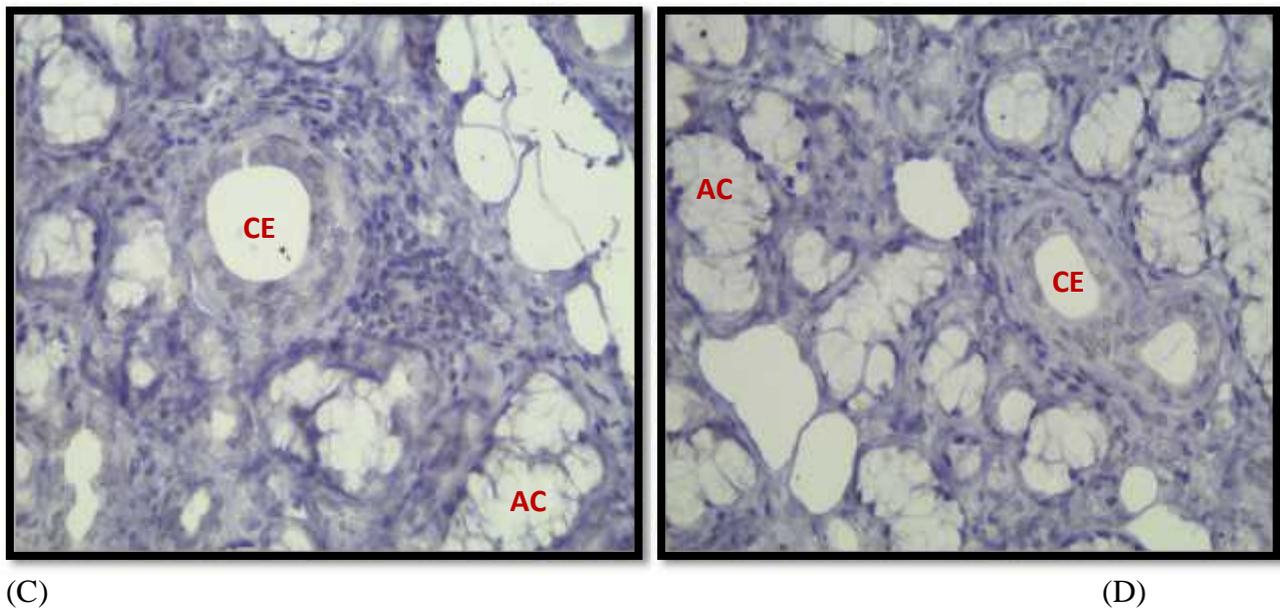


Figure 14 : Immunomarquage par p53 des glandes salivaires accessoires des patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren ;G : x40 (A), x100 (B) , x400 (C,D).

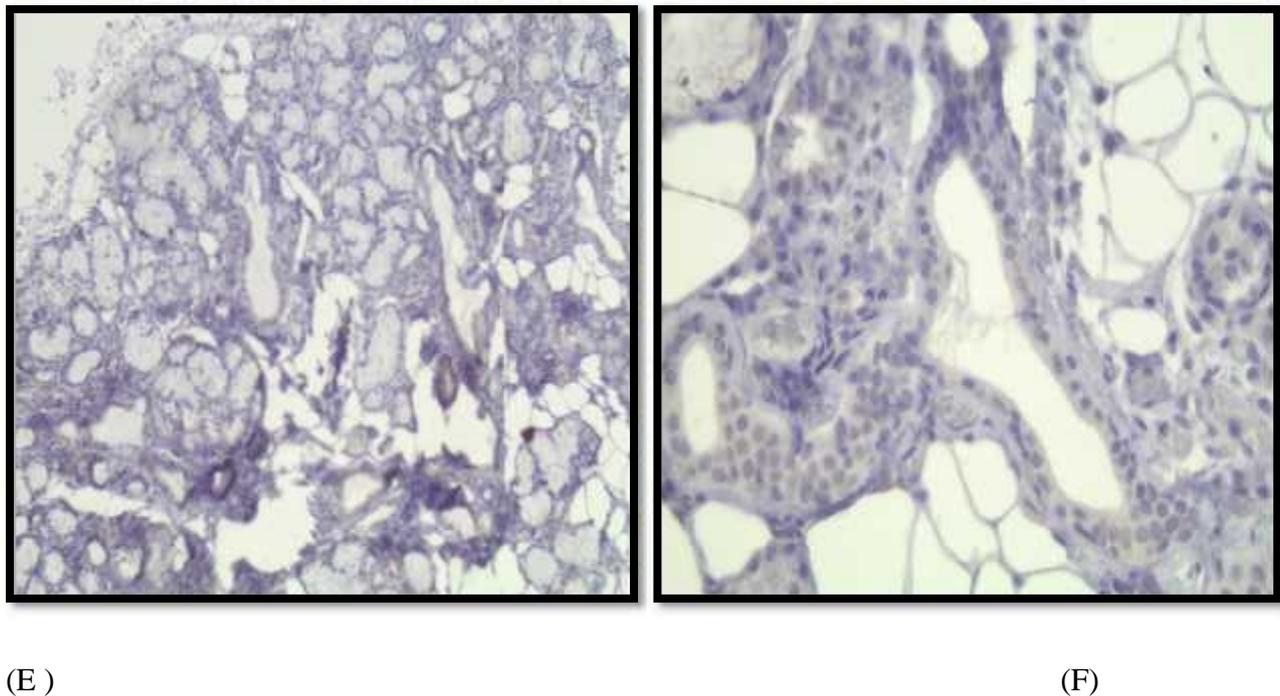


Figure 15: Immunomarquage par p53 des glandes salivaires accessoires d'un témoin de grade 1 ;G : x100 (E) , x400 (F).

CMN: cellules mononucléaires infiltrantes; CE: Canal excréteur ; AC: Acini

La protéine p53 est un facteur de transcription, suppresseur de tumeur, pouvant réguler à la fois l'expression des gènes Bcl-2 et Bax, et ayant été détectée dans les noyaux de tumeurs malignes des GS (**Miyashita et al., 1994; Li, X et al., 1995 ; Kong et al.,1998**). Donc l'absence de l'expression de la protéine p53 au cours du SGS dans notre présente étude suggèrerait que l'expression de Bcl-2 se produirait par un mécanisme indépendant de la voie p53.

Uniquement deux travaux internationaux ont évalué l'expression de la protéine p53 dans les GSA des patients SGS. Cependant, les résultats obtenus dans ces deux études sont contradictoires. En effet, nos résultats rejoignent se rapprochent fortement de ceux rapportés par **Kong et al., 1998** ayant révélé l'absence d'un marquage p53 au niveau des cellules mononucléées infiltrantes et des cellules acineuses dans la plus grande majorité des GSA des patients SGS (16/18), alors que les témoins sains étaient tous négatifs pour p53. De plus, un marquage p53 cytoplasmique atypique a été noté dans ces 2 tissus contrairement à l'expression nucléaire attendue rapportée dans les tumeurs.

Cependant, nos résultats ne sont pas en accord avec ceux de **Mariette et al.,2002** visant à détecter l'expression de la protéine p53 et sa cible de transcription p21 (qui est exprimée seulement si p53 est fonctionnelle et non muté), dans les GS révèle que les cellules canalaire salivaires expriment la protéines p53 dans 9 parmi les 10 patients SGS, et seulement un des 10 des contrôles, tandis que p21 a été détecté dans huit des 10 patients SGS et de deux des 10 contrôles, ainsi p53 et p21 ont été localisés dans les mêmes cellules canalaire chez les patients SGS. Suggérant que l'expression de p21 dans les cellules canalaire salivaires a démontré que p53 était fonctionnel et non muté. Son expression peut être un mécanisme défensif qui fournit du temps aux cellules canalaire pour réparer les dommages d'ADN et prévenir l'apoptose. L'absence d'expression de p53 et de p21 dans les cellules acineuses pourrait être l'un des mécanismes clés de la destruction de l'acinus par l'apoptose chez les SGS.

Le syndrome de Gougerot-Sjögren est une pathologie inflammatoire chronique caractérisée par une sécheresse oculaire et buccale. Les résultats de notre étude rejoignent ceux de la littérature concernant l'âge d'attients de cette pathologie survenant principalement en période de péri-ménopause (souvent posé durant la quatrième et la cinquième décade de la vie) ainsi qu'une prédominance féminine a été fortement retrouvée.

L'examen histologique des glandes salivaires accessoires a révélé une infiltration lymphoplasmocytaire engendrant des modifications des structures exocrines (acini et canaux excréteur).

De plus, une étude immunohistochimique par les anticorps Bcl-2 et p53 nous a permis d'évaluer la survie et la destruction des cellules épithéliales des glandes salivaires accessoires pathologiques. Il a été constaté dans ce contexte que les cellules mononuclées infiltrantes et les canaux excréteurs des glandes salivaires pathologiques expriment fortement l'antigène Bcl-2, ce qui les protégerait de l'apoptose, alors que les cellules épithéliales acineuses n'expriment pas cet antigène et donc contrairement aux cellules mononuclées infiltrantes et les canaux excréteurs, peuvent subir une apoptose. L'absence d'expression de la protéine p53 dans toutes les glandes pathologiques ainsi que chez les témoins; démontrerait que l'expression de Bcl-2 se produirait par un mécanisme indépendant de la voie p53.

En perspective, nous pouvons proposer d'élargir l'échantillonnage de la population des patients et des témoins et d'explorer l'expression d'autres protéines impliqués dans les voies apoptotiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Ainola M., Porola P., Takakubo Y., Przybyla B., Kouri V., Tolvanen T., Hänninen A., Nordström D., 2017.** *Activation of plasmacytoid dendritic cells by apoptotic particles - mechanism for the loss of immunologic tolerance in Sjögren's syndrome.* doi: 10.1111/cei.13077.
- Anaya J., Rojas-Villarraga A., Ruben D.M., Arcos-Burgos M., Sarmiento-Monroy J., 2016.** *Polyautoimmunity in Sjögren Syndrome.* Elsevier.
- Andrès E., Mecili M., Serraj K., Federici L., et Doffoel M., 2007.** *Les atteintes digestives du syndrome de Gougerot Sjögren primaire.* Mise au point.
- Bolstad I., Skarstein K., 2016.** *Epidemiology of Sjögren's Syndrome-from an Oral Perspective.* Curr Oral Health Rep.
- Bordron A., et al., 2017.** *Épigénome et syndrome de Gougerot-Sjögren* Rev Med Interne, <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2017.09.003>.
- Bowman S., Rao V., 2014.** Sjögren 's syndrome. Elsevier.
- Brignole F., Auzerie O., Baudouin C., 2003.** *Apoptose et surface oculaire.* Journal Français d'Ophthalmologie. Vol 26, N° 3, pp. 299-306. Doi : JFO-03-2003-26-3-0181-5512-101019-ART13.
- Brito-Zeron P., Kostov B., Solans R., Fraile G., Suarez-Cuervo C., Casanovas A., 2016.** *Systemic activity and mortality in primary Sjögren syndrome: predicting survival using the EULAR-SS Disease Activity Index (ESSDAI) in 1045 patients.* Ann Rheum Dis.
- Burbelo PD., et al., 2014.** *Genome-wide association studies in Sjögren's syndrome: What do the genes tell us about disease pathogenesis?.* Autoimmun Rev. <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2014.02.002>.
- Chebbi W., Ben Salem W., Klii R, Kessomtini W., Jerbi S., et Sfar M., 2015.** *Syndrome de Gougerot-Sjögren primitif du sujet âgé: caractéristiques cliniques et immunologiques.* Pan African Medical Journal. Médecin interne. DOI : 10.11604/pamj.2015.20.8.5042
- Christelle L.D., Alain C., Yves R., 2013.** *Épigénétique et auto-immunité.* REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES- DÉCEMBRE2013 - N°457//67. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(13\)72268-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(13)72268-8).

Devoize L., Dallel R., 2010. Salivation [en ligne]. In : EMC (Elsevier Masson SAS) Médecine buccale 2010 ; 28-150-M-10. Disponible sur : <<http://www.em-premium.com.bases-doc.univ-lorraine.fr/article/189353/> (consulté le 14.06.2011).

EL HILALI Z., 2001 .*Le syndrome de Gougerot-Sjögren : utilisation de la RMN et de la modélisation moléculaire en vue d'une nouvelle approche thérapeutique.* THÈSE d'État de Docteur en Pharmacie. Nancy I : FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES Et **Biologiques**.

Evans P.C., Lambert N., Maloney S., Furst D.E., Moore J.M., Nelson J.L., 1999. *Long-term fetal microchimerism in peripheral blood mononuclear cell subsets in healthy women and women with scleroderma.* *Blood* 93(6): 2033-2037, 1999.

Fields S., Jang S.K., 1990. *Presence of a potent transcription activating sequence in the p53 protein.* *Science* 31 Aug 1990: Vol. 249, Issue 4972, pp. 1046-1049. DOI: 10.1126/science.2144363.

García-Carrasco M, Cervera R., Rosas J., Ramos-Casals M., et al., 1999. *Primary Sjögren's syndrome in the elderly: clinical and immunological characteristics.* *Lupus.* 8(1):203. [PubMed].

Georges D., 2012. *Pathologies Générales et Salive.* Chirurgie Dentaire. Université Henri Poincare - Nancy 1.

Gillies L.A and Tomomi Kuwana., 2014. *Apoptosis Regulation at the Mitochondrial Outer Membrane.* *Journal of Cellular Biochemistry* 115:632–640. DOI 10.1002/jcb.24709.

Gottenberg J., Sordet C., Chatelus E., Theulin A., Rahal N., Javier R., Sibia J., 2015. *Biothérapies au cours du syndrome de gougerot sjogren primitive.* *La lettre du rhumatologue.*

HACHULLA E., Harton P.Y., Labalette P., 2006. *Le syndrome de Gougerot Sjögren. Détecter les maladies systémiques auto-immunes;* Masson, Ed 2.

Hakkou F., Chbicheb S., El Wady W., 2010. *Syndrome de Gougerot-Sjögren: manifestations buccales et prise en charge.* *Med Buccale Chir Buccale.*

Hatron P-Y., Hachulla E., 2015. *Les deux visages du syndrome de Gougerot-Sjögren.* *Rev Med Interne.*

Hemann MT and Lowe SW., 2006. *The p53–Bcl-2 connection.* *Cell Death Differ.* 2006 Aug; 13(8): 1256–1259. doi: 10.1038/sj.cdd.4401962.

Hilliquin P., 1999. *Syndrome de Gougerot-Sjögren*. Rev du rhumatisme.

Ibn Yacoub Y., Rostom S., Laatiris A., & Hajjaj-Hassouni N., 2012. Primary Sjögren's syndrome in Moroccan patients: Characteristics, fatigue and quality of life. *Rheumatology International*, 32, 2637–2643.

INGUENEAU C., 2010. *Régulation de la signalisation calcique dans l'apoptose induite par les lipoprotéines oxydées. Implication dans l'athérosclérose*. THÈSE en vue de l'obtention du DOCTORAT, Biologie Cellulaire. Toulouse: Université Toulouse III Paul Sabatier, 187p.

inserm.fr. Les maladies auto-immune [en ligne]. (2013). Disponible sur :<
[https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/maladies-auto-immunes ...](https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/maladies-auto-immunes...)>
(consulté le 18juin 2018).

Jeong E.J., Bang S., Lee T.H., Park Y.I., Sim W.S., Kim K.S., 1999. "The solution structure of FADD death domain. Structural basis of death domain interactions of Fas and FADD". *J Biol Chem*. 1999 Jun 4;274(23):16337-42.

Kamachi M., Kawakami A., Yamasaki S., Hida A., Nakashima T., Nakamura H., Ida H., Furuyama M., Nakashima K., Shibatomi K., Miyashita T., Migita K., Eguchi K., 2002. *Regulation of apoptotic cell death by cytokines in a human salivary gland cell line: distinct and synergistic mechanisms in apoptosis induced by tumor necrosis factor alpha and interferon gamma*. *J Lab Clin Med*. 2002;139:13–9. [PubMed].

Khalfaoui T., Beltaief O., Meddeb Amel O., 2007. *Expression des facteurs apoptotiques Bax et Bcl-2 dans la conjonctive des patients diabétiques : étude préliminaire*. *Journal Français d'Ophthalmologie* Vol 30, N° 8 - octobre 2007 pp. 799-806. Doi : JFO-10-2007-30-8-0181-5512-101019-200703161.

Koita Ibrahim-David., 2012. *Hyposialaie et asialie : le cas particulier du syndrome de Gougerot-Sjögren*. Chirurgie dentaire. Nantes : Université de Nantes, 2012, 55p.

Kong L., Noriyoshi O., H. Stan Mc Guff., Toru N., Ken-mei S., Reiji M., Norma V.R., Norman T., and Howard D., 1998. *Bcl-2 Family Expression in Salivary Glands from Patients with Primary Sjögren's Syndrome: Involvement of Bax in Salivary Gland Destruction*. *CLINICAL IMMUNOLOGY AND IMMUNOPATHOLOGY* .Vol. 88, No. 2, August, pp. 133–141.

Le Jacques B., Guerrero F., Sebert P., Youinou P., et Dueymes M., 2006. *Les anticorps contre les récepteurs muscariniques : s'agit-il d'un nouvel argument dans le diagnostic d'un syndrome de Gougerot-Sjögren ?*. Elsevier.

Le Guern V., Mouthon L., 2011. *Syndrome de Gougerot-Sjögren et lymphomes : de la physiopathologie au traitement.* Médecin interne.

Li, X., Tsuji T., Wen S., Sobhan F., Wang Z., and Shinozaki F., 1995. *Cytoplasmic expression of p53 protein and its morphological features in salivary gland lesions.* J.Oral Pathol. Med. 24, 201– 205.

Lockshin M.D., 2002. *Sex ratio and rheumatic disease.* Autoimmunity Reviews 1 ,162–167.

Longuet.M, Lucciano M., Magnan J., Lavieille J-P., 2005. *Implication de l'apoptose mitochondriale dans la dégénérescence neurale de la cochlée dans un modèle murin de presbyacousie.* REV LARYNGOL OTOL RHINOL. 2005;126,2:67-74.

Manganelli P., Fietta P., 2003. *Apoptosis and Sjögren Syndrome.* Seminars in Arthritis and Rheumatism, Vol 33, No 1 (August), 2003: pp 49-65.

Maria N., Vogelsang ., and Versnel M.A ., 2015. *The clinical relevance of animal models in Sjögren's syndrome: the interferon signature from mouse to man.* Arthritis Res Ther. 2015; 17(1): 172. doi: 10.1186/s13075-015-0678-2.

Marie-Michèle Varin., 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, 2012. Français.

Mariette X., 2002. *Current and potential treatments for primary Sjögren's syndrome – Joint Bone Spine .*

Mariette X., 2010. *Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren.* La Revue de médecine interne 31S (2010) S2–S6.

Martel C., et al., 2014. *Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren primitif .* Rev Med Interne, <http://dx.doi.org/10.1016/j.revmed.2013.12.011>.

Miyashita T., Krajewski S., Krajewska., M., Wang., H. G., Lin, H. K., Lieberman, D. A., Hoffman B., and Reed J. C., 1994. *Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo.* Oncogene 9, 1799–1805.

Moll U.M ., Sonja W., Daniel S and Wolfgang D., 2015. *Transcription-independent pro-apoptotic functions of p53.* Current Opinion in Cell Biology 2005, 17:631–636. DOI 10.1016/j.ceb.2005.09.007.

Muret J., 2011. *Analyse du rôle de la voie p53 dans la réponse des sarcomes des tissus mous au traitement par TNF-alpha.* Cancer. Université Paris Sud - Paris XI.

Naozumi I., Kaoru S., Kumiko Y., Norio H., Ichiro S., and Yoshio H., 1999. *Estrogen Deficiency Accelerates Autoimmune Exocrinopathy in Murine Sjögren's Syndrome through Fas-Mediated Apoptosis.* Am J Pathol. 1999 Jul; 155(1): 173–181. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65111-5.

Naozumi I., Rieko A., Satoko Y., Akiko Y., Sumihare N., and Yoshio H., 2008 . *Expression of the retinoblastoma protein RbAp48 in exocrine glands leads to Sjögren's syndrome-like autoimmune exocrinopathy.* J Exp Med. Nov 24; 205(12): 2915–2927. doi: 10.1084/jem.20080174.

Nicolas X., Ansart S., Le Berre R., Pennec Y., 2014. *Syndrome de Gougerot Sjögren primitif : problèmes diagnostiques et thérapeutiques.* Rev de médecine interne.

Nocturnea G., Mariette M., 2016. *Du syndrome de Gougerot Sjögren aux lymphomes.* Rev de médecine interne.

Oppliger R., 2006. *Syndrome de Sjögren, étude de la cohorte HUG entre 1995 et 2000.* Médecine interne. Université De Genève.

Orsia D.K., Yosra T., Christelle L.D., Wesley H.B., Athanasios G.T, Jacques O.P., and Yves R., 2014. *The contribution of epigenetics in Sjögren's Syndrome.* Journal List Front Genetv.5; PMC3982050. doi: 10.3389/fgene.2014.00071

Oughazzou I., 2016. *Auto-Anticorps Et Syndrome De Gougerot Sjögren:Experience Du CHU De Marrakech.* Médecin interne. Université CADI AYYAD.

Picone O., Alby C., Frydman R., Mariette X., 2006. *Syndrome de gougerot sjögren en gynécologie obstétrique.* J Gynecol obstet biol reprod.

POROLA P., MIKAEL L., LIISA V., PRASEET P., AND YRJOT K., 2007. *The Influence of Sex Steroids on Sjögren's Syndrome.* Ann. N.Y. Acad. Sci. 1108: 426–432. doi: 10.1196/annals.1422.045.

Ramos C.M., Brito Z.P., Siso-Almirall A., Bosch X., 2012. Primary Sjogren syndrome. BMJ .

Reed J., Sato T., Hanada M., Bodrug S., Irie S., Iwama N., Boise L. H., Thompson C. B., Golemis E., Fong L., Wang H.-G., 1994. Interactions among members of the Bcl-2 protein family analysed with a yeast two-hybrid system. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 9238–9243.

Ruchika P & Anupama S., 2014. The epidemiology of Sjögren's syndrome. Clinical Epidemiology.

Safinaz M., Vanessa S., and Ana M., 2012. Influence of sex hormones and genetic predisposition in Sjögren's syndrome: A new clue to the immunopathogenesis of dry eye disease. Exp Eye Res. 2012 Mar; 96(1): 88–97. doi: 10.1016/j.exer.2011.12.016.

Saraux A, 2010. Approche thérapeutique du syndrome de Gougerot-Sjögren. Rev de médecine interne 31S.

Tim B., Virgil A.S.H. Dalm., P. Martin van. H, et Paul L.A. van Daele., 2017. . Reviewing primary Sjögren's syndrome: beyond the dryness - From pathophysiology to diagnosis and treatment . Int J Med Sci. 2017; 14(3): 191–200. doi: 10.7150/ijms.17718.

Valtysdottir ST., Wide L, Hallgren R., 2001. Low serum dehydroepandrosterone sulfate in women with primary sjögren's syndrome as an isolated sign of impaired HPA axis function. J Rheumatol 28(6): 1259-1265.

Varache A., Devauchellepensec V., Jousse-Joulin S., Saraux A, 2010. Comment prendre en charge un syndrome de Gougerot-Sjögrenen ? . Service de R humatologie, 2010.

Volkman F M Marassi., D D Newmeyer & D Hanein, 2013. The rheostat in the membrane: BCL-2 family proteins and apoptosis. Cell Death and Differentiation Review. doi:10.1038/cdd.2013.153 Download Citation.

Wang Yan Adi S., Virji Paul Howard ., Yaseen Sayani., Jianghong Zhang ., Paul Achu., Carole McArthur, 2006. Detection of cleaved -fodrin autoantigen in Sjögren's syndrome: Apoptosis and colocalisation of cleaved -fodrin with activated caspase-3 and cleaved poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) in labial salivary glands. Archives of Oral Biology (2006) 51, 558—566.

Westhoff G., Zink A., 2010. Epidemiology of primary Sjögren's syndrome. Z Rheumatol.

Youinou P., Pers J-O., 2016. *Le syndrome de Gougerot-Sjögren primitif : une actualisation.*
Rev du rhumatisme 83.

Youinou P., Renaudineau Y. *Les nouveaux anticorps du syndrome de Gougerot-Sjögren.* Immunoanal Biol Sp, 2006.

Annexes

Annexe I: Les critères de classification du groupe de consensus américano-européen pour le syndrome de Sjögren.

Ces critères (ou items) incluent:

-Item 1 : Symptômes oculaires (subjectifs)

Cet item est composé de 3 questions dont au moins une doit être positive :

-Avez-vous quotidiennement une sensation persistante et gênante d'yeux secs depuis plus de 3 mois ?

-Avez-vous la sensation récidivante d'avoir du « sable dans les yeux » ?

-Utilisez-vous des larmes artificielles plus de 3 fois par jour ?

-Item 2 : Symptômes buccaux (subjectifs).

3 questions dont au moins une doit être positive pour que l'item soit validé :

-Avez-vous quotidiennement une sensation de sécheresse buccal depuis plus de 3 mois ?

-Avez-vous eu, à l'âge adulte, des épisodes récidivants ou permanents de gonflement des glandes salivaires ?

-Utilisez-vous fréquemment des liquides pour vous aider à avaler des aliments secs ?

Item 3 : Signes d'atteinte oculaire (objectifs) : au moins un des 2 tests ci-dessous doit être positif

- Le test de Schirmer : on place une mince bande de papier buvard au niveau du cul de sac conjonctival. Le test est considéré comme positif si la longueur de la partie humide est inférieure à 5 mm au bout de 5 minutes.

-Le test au vert de lissamine : remplace maintenant le rose de Bengale qui était très douloureux pour le patient, ce colorant imprègne sélectivement les cellules épithéliales et/ou cornéennes altérées.

Item 4 : signes d'atteinte salivaires (objectifs) : ce fait par le test de scintigraphie salivaire, montrant un débit salivaire réduit (1,5 ml en 15 minutes) et / ou des sialectasies diffuses.

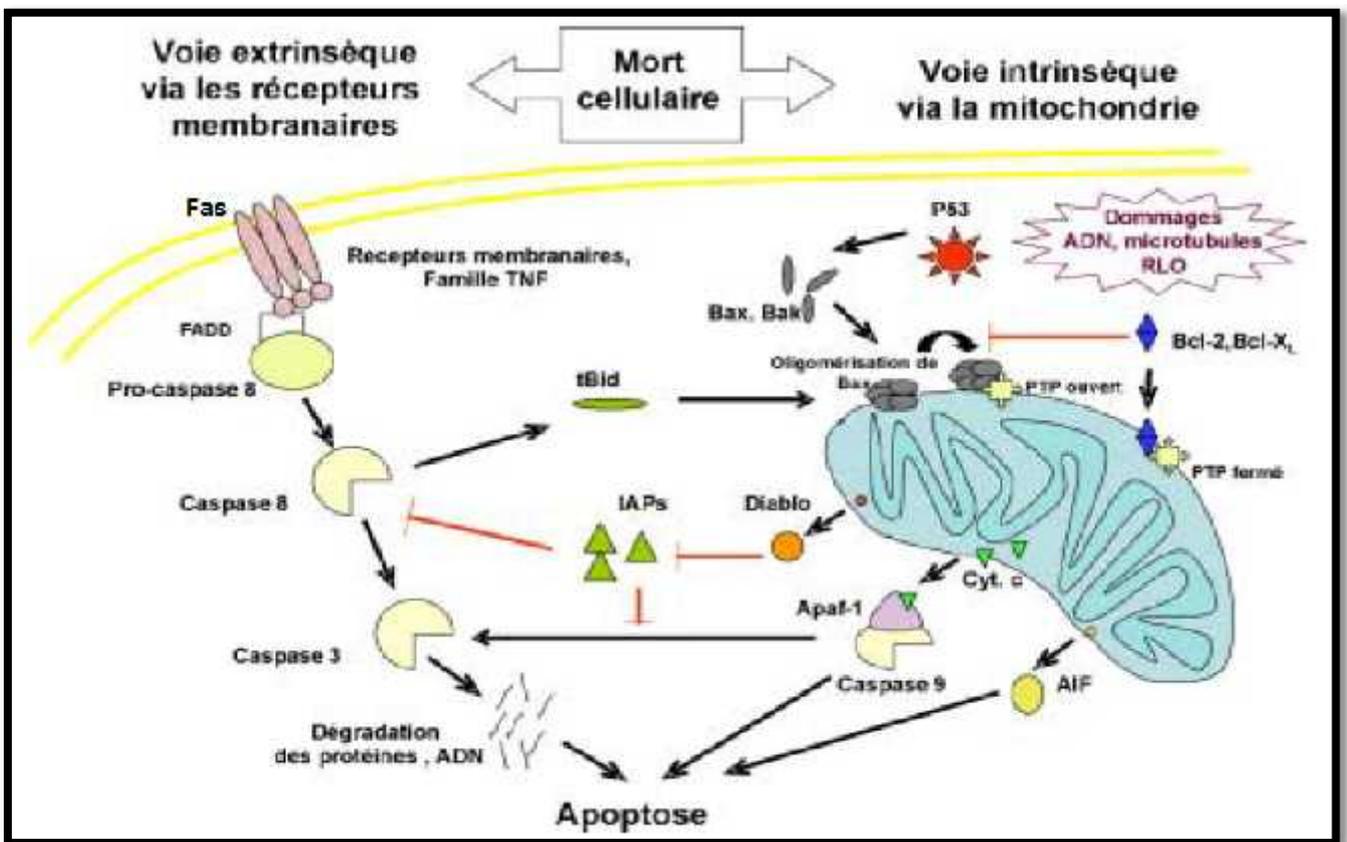
Item 5 : Signes histologiques : la biopsie des glandes salivaires accessoires s'agit d'un test hautement spécifique qui est fortement évocateur du SGS. Le test est positif si présence d'une sialadénite avec un focus score supérieur ou égale à 1, le focus score c'est le nombre de foyers par 4mm² de tissu glandulaire. Un foyer étant défini par l'agglomération d'au moins 50 cellules mononuclées. On utilise également le grade de Chisholm qui comprend 5 stades. Les stades 3 et 4 correspondent à un foyer ou plus par 4mm², le test sera positif si le grade de Chisholm est supérieur ou égale à 3 (le grade 3 correspond au focus score de 1).

Item 6 : des auto-anticorps positifs contre SS-A et / ou SS-B. SS est diagnostiqué lorsque 4 des 6 éléments sont présents; une pathologie de la glande salivaire ou la présence d'auto-anticorps dirigés contre SS-A / SS-B est obligatoire.

-Le diagnostic de SGS primitif est suspecté devant la présence de 4 des 6 items avec la présence obligatoire de l'item 5 ou 6 ; ou lors de la présence de l'item objectifs du 3 à 6.

- le diagnostic de SGS secondaire est suspecté devant la présence de l'item 1 ou 2 avec deux items 3,4 ou 5, en plus d'une maladie systémique associée (PR, Lupus ...).

Annexe II : Schéma représentant les voies de mort cellulaire programmée



1 : la voie «extrinsèque» mettant en jeu des récepteurs membranaires de mort cellulaire, 2 : la voie «intrinsèque» mitochondriale (Riva., et al, 2005)

Annexe III :

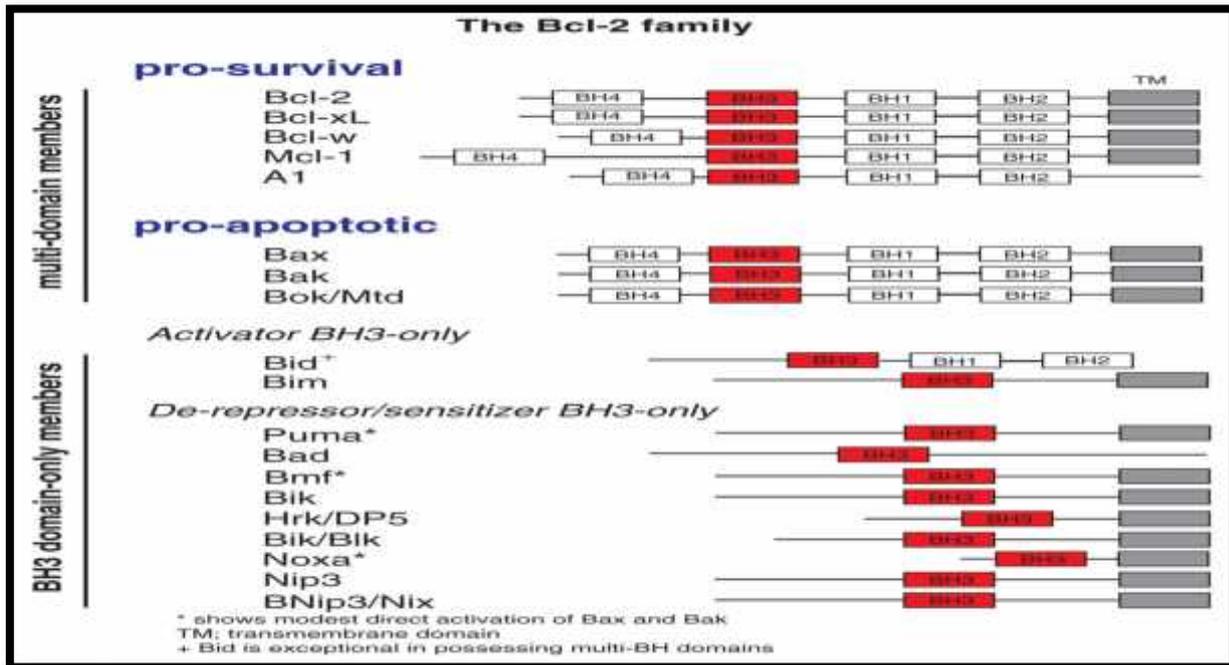


Figure : La famille de protéine Bcl-2.

The Bcl-2 family proteins regulate apoptosis at the mitochondrial outer membrane. They share up to four Bcl-2 homology (BH) domains, of which the BH3 domain is functionally critical. They are divided into pro-survival and -apoptotic categories. There are pro-apoptotic members possessing the BH3 domain only (BH3-only proteins) in the pro-apoptotic category. They inhibit pro-survival members, but some BH3-only proteins can activate Bax and Bak directly (activator BH3-only), (Laura A. Gillies and Tomomi Kuwana, 2014).

Annexe IV :

Matériel biologique.

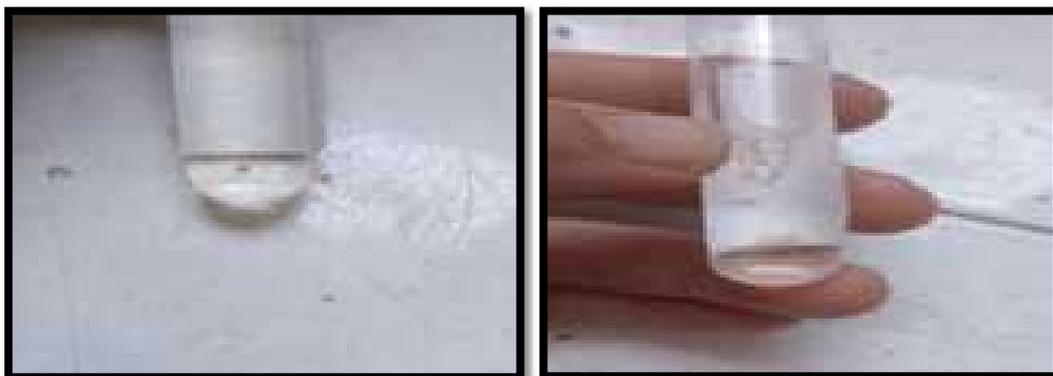


Figure : les biopsies des glandes salivaires accessoires (originale)

Annexe V :

Matériel non biologique.

Appareillage	Réactifs et solutions	Matériel et verreries
 <p data-bbox="153 656 464 696">-Appareil de circulation</p>	 <p data-bbox="592 678 919 719">-Hématoxyline Eosine</p>	 <p data-bbox="999 678 1342 719">-Les Bacs.</p>
 <p data-bbox="153 1081 432 1122">-Appareil d'enrobage.</p>	 <p data-bbox="592 1081 727 1122">-Paraffine</p>	 <p data-bbox="999 1081 1086 1122">-Pince</p>
 <p data-bbox="153 1462 312 1503">-Microtome.</p>	 <p data-bbox="592 1462 847 1503">-Xylène ou toluène.</p>	
 <p data-bbox="153 1848 248 1888">-Etuve.</p>	 <p data-bbox="592 1848 671 1888">-TBS.</p>	 <p data-bbox="999 1848 1158 1888">-porte lames</p>



-Plaque chauffante.



-E-kitt



-Lamelles



-Microscope équipé d'un appareil photo numérique relié a un micro-ordinateur.



Les anticorps primaire (Anti-BCL2 et Anti-p53)



- moule en métal.



-Microscope photonique



-Eau distillé



- cassette en plastique



-Hotte.



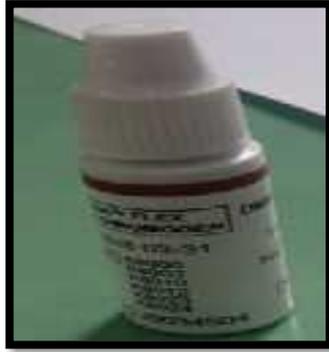
-Alcool



-Pinceau.



-Bain marie



-Chromogène.



-Congélateur



-Solution de démasquage.



-Gants

Tableau 1 : le matériel non biologique