

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



UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1

**Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie et physiologie cellulaire**

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master

*Option : **Biochimie***

Thème :

***Apoptose et expression des protéines P53, BCL2 et KI67 au cours de la progression
du syndrome de Gougerot Sjörger en association avec quelques paramètres
biochimiques***

Réalisé par :

M^{elle} Arkam Sara , M^{elle} Belkessa Wardia & M^{elle} Bouyaïche Wissam

Soutenu le : 23 Septembre 2020

Devant le jury composé de :

<i>M^{me} Louerrad Y.</i>	<i>Maitre de conférences B</i>	<i>Université de Blida 1</i>	<i>Présidente</i>
<i>M^{me} Touaibia M.</i>	<i>Maitre de conférence A</i>	<i>Université de Blida 1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>M^{me} Benchabane S.</i>	<i>Maitre de conférences A</i>	<i>Université de Blida 1</i>	<i>Promotrice</i>
<i>M^r Mesbah R.</i>	<i>Maitre-Assistant</i>	<i>CHU Béni Messous</i>	<i>Co-promoteur</i>

Année universitaire : 2019 -2020



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Louange à 'ALLAH' le tout Puissant et Miséricordieux qui nous a guidées et aidées durant ce long parcours que sont nos études couronnées aujourd'hui par la présentation de notre mémoire

Avant tout nous tenons à rendre hommage à notre cher et inoubliable professeur, la regrettée M^{me} Kebbas qui a profondément marquées malgré son bref passage parmi nous, Que Dieu l'accueil dans son vaste Paradis.

Au terme de ce travail, qui, espérons aura toute votre approbation, nous tenons à remercier Notre promotrice M^{me} Benchabane. S maitre de conférence A pour son aide précieuse et ses judicieux conseils qu'elle nous a prodiguées tout au long de ce projet.

Nos plus vifs remerciements vont

Au Dr Lourrad maitre de conférence B qui nous fait l'honneur de présider notre jury

A M^{me} Touaibia qui a accepté d'examiner notre travail

Au Dr Mesbah qui nous a encadrées lors de notre stage pratique

Nous exprimons également notre reconnaissance à tous nos enseignants de l'université Saad Dahleb qui armés de courage et de patience nous ont formées et suivies tout au long de notre cursus universitaire

Nous témoignons toute notre gratitude au Pr Slimani qui nous a accueillies au sein de son service d'anatomopathologie et ce malgré la situation critique que nous vivons actuellement ainsi que tout le personnel de ce service





A mes très 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, vous êtes toujours là à me consoler,

Me soulager et m'encourager, vous êtes la cause de ma réussite dans la vie.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés,

Le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai

Jamais assez.

Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé,

Bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à :

A mes chères sœurs Meriem, Madina et Amina.

A toute ma chère famille en particulier mes chers grands-parents.

A mon fiancé Hichem, pour tout l'amour et le soutien que tu m'as offert.

A ceux qui ont partagé la réalisation de ce travail Wissam et Wardia

A mes chers amis, pour leur soutien tout au long du projet.

Et à tous ceux qui ont contribué de pré ou loin

Pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

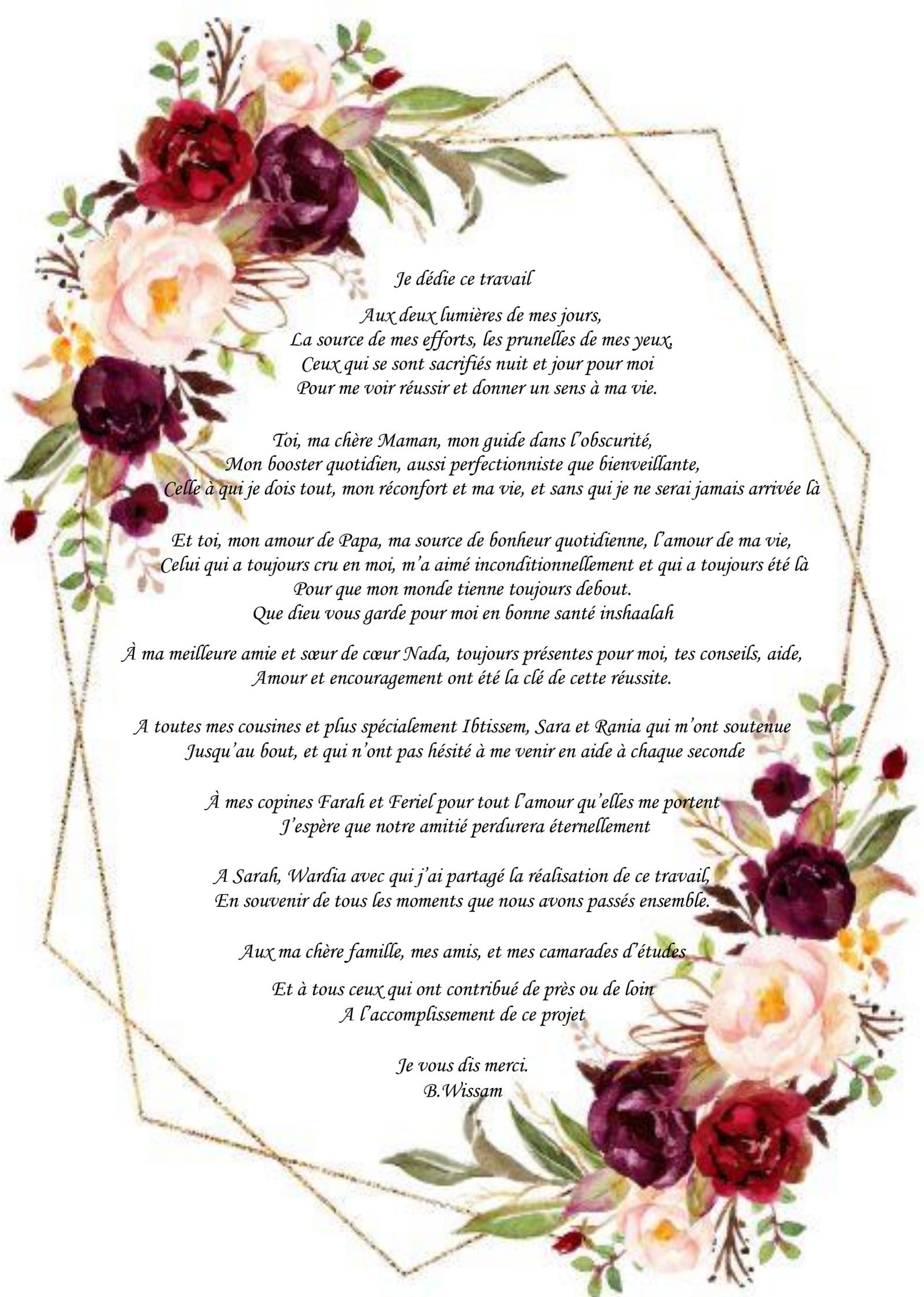
A.Sara



*Je dédie ce modeste travail
Aux êtres qui me sont les plus chers
Je cite :
Mes très chers et adorables parents
Qui m'ont toujours encouragée et aidée
Dans la recherche du savoir durant tout mon parcours
Avec beaucoup de tendresse, de dévouement de gentillesse et d'amour ...
Je vous aimerai jusqu'à mon dernier souffle
Mes sœurs et ma belle-sœur Massilya
Mes frères et mon beau-frère Seddik
Mon soutien moral et source de joie et de bonheur « mon fiancé Walid »
Tu es et tu resteras toujours ma raison de vivre t'as supporté mes caprices
Pendant certaines périodes de ce parcours, sincère gratitude
Mes chers neveux que j'aime beaucoup :
Yacine1, Yacine2, Abderahim, Islam et Racim que Dieu vous protège mes anges
Mes chères copines : Amani, Wardia et Meriem
En souvenir de nos éclats de rire et des beaux moments
En souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble,
J'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement
Je dédie ce travail aussi à mes trinômes Wissam et Sarah
Et à toute la promo MASTER II biochimie de BLIDA*

2019/2020

B.Wardia



Je dédie ce travail

*Aux deux lumières de mes jours,
La source de mes efforts, les prunelles de mes yeux,
Ceux qui se sont sacrifiés nuit et jour pour moi
Pour me voir réussir et donner un sens à ma vie.*

*Toi, ma chère Maman, mon guide dans l'obscurité,
Mon booster quotidien, aussi perfectionniste que bienveillante,
Celle à qui je dois tout, mon réconfort et ma vie, et sans qui je ne serai jamais arrivée là*

*Et toi, mon amour de Papa, ma source de bonheur quotidienne, l'amour de ma vie,
Celui qui a toujours cru en moi, m'a aimé inconditionnellement et qui a toujours été là
Pour que mon monde tienne toujours debout.
Que dieu vous garde pour moi en bonne santé inshaalah*

*À ma meilleure amie et sœur de cœur Nada, toujours présentes pour moi, tes conseils, aide,
Amour et encouragement ont été la clé de cette réussite.*

*À toutes mes cousines et plus spécialement Ibtissem, Sara et Rania qui m'ont soutenue
Jusqu'au bout, et qui n'ont pas hésité à me venir en aide à chaque seconde*

*À mes copines Farah et Ferial pour tout l'amour qu'elles me portent
J'espère que notre amitié perdurera éternellement*

*À Sarah, Wardia avec qui j'ai partagé la réalisation de ce travail,
En souvenir de tous les moments que nous avons passés ensemble.*

Aux ma chère famille, mes amis, et mes camarades d'études

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin
À l'accomplissement de ce projet*

Je vous dis merci.

B. Wissam

RESUME

Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une maladie auto-immune systémique ayant une prévalence dans la population générale qui varie entre 0.6 et 1.7 %, qui se caractérise par une infiltration lymphocytaire des glandes lacrymales et salivaires. L'étude que nous avons menée a été réalisée sur 10 patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren, pour ce faire, des biopsies de glandes salivaires accessoires ainsi que des prélèvements sanguins ont été prélevés chez l'ensemble de ces patients, nous avons effectué une étude histologique des glandes salivaires accessoires, ainsi qu'une étude immunohistochimique à l'aide des anticorps primaires p53, BCL-2 et Ki-67 et secondaires, une étude biochimique (bilan rénal, glycémique). De plus, a également été réalisé pour ces patients. Il en ressort de notre étude que le syndrome de Gougerot-Sjögren est une pathologie à prédominance féminine survenant principalement en période de péri-ménopause. Les résultats histologiques ont révélé une altération structurale et architecturale des glandes salivaires pathologiques, caractérisées par un infiltrat lymphoplasmocytaire autour des canaux excréteurs. L'étude immunohistochimique a démontré une forte expression de la protéine Bcl-2, préférentiellement exprimée dans les cellules mononuclées infiltrantes ainsi que dans les canaux excréteurs. Cette protéine n'a pas été détectée au niveau des acini. En outre, notre étude a révélé une absence de l'expression de la protéine p53 au niveau des éléments inflammatoires et des cellules épithéliales (canaux excréteurs et acini). La protéine Ki67 a été modérément retrouvée chez tous les patients au niveau de l'infiltrat inflammatoire et totalement absente au niveau des acini et des canaux excréteurs. Les résultats du bilan biologique ont révélé une absence totale de toute anomalie.

Mots clé : syndrome de Gougerot-Sjögren, apoptose, Bcl-2, ki67, p53, auto-immunité.

ABSTRACT

Sjogren's syndrome (SGS) is a systemic autoimmune disease with a prevalence in the general population that varies between 0.6 and 1.7%, characterized by lymphocyte infiltration of the lacrimal and salivary glands. The study conducted here, was carried out on 10 patients with SGS. For this purpose, biopsies of the accessory salivary glands as well as blood samples were taken from all these patients and an histological study of the accessory salivary glands was performed. Moreover, another immunohistochemical study using primary P53, BCL2 and Ki 67 antibodies. Blood samples were then subjected to a biochemical assessment (renal, glyceimic). According to our study, Sjogren's syndrome is a predominantly female pathology occurring mainly in the peri-menopausal period. Histological results revealed a structural and architectural alteration of these pathological glands, characterized by lymphoplasmocyte infiltration around the excretory ducts. The immunohistochemical study demonstrated a high expression of the Bcl-2 protein, which was preferentially expressed in the infiltrating mononuclear cells as well as in the excretory ducts, but not in the acini. In addition, our study revealed an absence of p53 protein expression at the level of inflammatory elements, and in epithelial cells (excretory ducts and acini). Protein ki67 was found in all patients population at the level of the inflammatory infiltrate and totally absent at the level of the acini and excretory ducts. The results of the biochemistry assay revealed a total absence of any abnormality.

Keywords: Gougerot-Sjögren syndrome, apoptosis, Bcl-2, ki67, p53, autoimmunity

ملخص

متلازمة شوغرن هي مرض مناعي ذاتي جهازي ينتشر في عموم السكان ويتراوح ما بين 0.6 و 1.7 ٪ والذي يتميز بالتسلل للمفاوي للغدد الخارجية، وخاصة الغدد الدمعية. واللعاب مع انخفاض إفرازات الدموع واللعاب المنتجة لمتلازمة السيكا، والمظاهر الجهازية التي يمكن أن تؤثر على الأعضاء المختلفة. تم إجراء الدراسة التي أجريناها على 10 مرضى مصابين بمتلازمة غوجروت- سجوجرن، للقيام بذلك، تم أخذ خزعات من الغدد اللعابية الإضافية وكذلك عينات الدم من جميع هؤلاء المرضى. أجرى دراسة نسيجية للغدد اللعابية الملحقة، من أجل إظهار التعديلات الهيكلية الموجودة في هؤلاء المرضى، ثم دراسة كيميائية ثانية باستخدام الأجسام المضادة الأولية والثانوية، p53 و BCL2 و Ki67 من أجل الهدف من توصيف ظاهرة موت الخلايا المبرمج في الغدد اللعابية.

ثانياً، تم إخضاع عينات الدم لمجموعة كاملة من الفحوصات بما في ذلك: التقييم البيوكيميائي (تقييم الكلى، نسبة السكر في الدم والكبد) إلى. تظهر نتائجنا غلبة واضحة للنساء في هذه المتلازمة، أظهرت النتائج النسيجية حدوث تغيرات هيكلية في هذه الغدد، تتميز بالارتشاح للمفاوي حول القنوات الإخراجية، مقارنة بمرضى السيطرة. أظهرت الدراسة الكيميائية المناعية تعبيراً قوياً عن بروتين Bcl-2، والذي تم التعبير عنه بشكل تفضيلي في تسلسل الخلايا أحادية النواة (IMC) وكذلك في القنوات الإخراجية، في حين أن الأسيني لا تعبر عن هذا البروتين. بالإضافة إلى ذلك، كشفت دراستنا عن غياب التعبير عن البروتين p53 على مستوى العناصر الالتهابية، أي تلك الموجودة في الخلايا الظهارية (القنوات الإخراجية والأسيني)، وغياب التعبير عن البروتين p53 سيثبت أن التعبير عن Bcl-2 يحدث بواسطة آلية مستقلة عن مسار p53. وكذلك تم العثور على بروتين ki67 في جميع مرضى مجتمع الدراسة على مستوى التسلسل الالتهابي وغائب تماماً على مستوى الأسيني والقنوات الإخراجية. وكشفت نتائج التقييم البيوكيميائي عن الغياب التام لأي شذوذ.

الكلمات الرئيسية: متلازمة سجوجرن سجوجرن ، موت الخلايا المبرمج ، Bcl-2 ، ki67 ، p53 ، المناعة الذاتية

Sommaire :

Introduction.....	01
I. Etude bibliographique.....	04
<i>I.1. Définition.....</i>	<i>04</i>
<i>I.2. Classification du syndrome.....</i>	<i>04</i>
<i>I.3. Epidémiologie.....</i>	<i>05</i>
<i>I.4. Clinique et manifestations glandulaires.....</i>	<i>05</i>
<i>I.4.1. Manifestations buccales.....</i>	<i>05</i>
<i>I.4.2. Manifestations oculaires.....</i>	<i>06</i>
<i>I.4.3. Manifestations extra glandulaires.....</i>	<i>06</i>
<i>I.4.4. Les glandes salivaires</i>	<i>07</i>
<i>I.5. Evolution du syndrome.....</i>	<i>09</i>
<i>I.6. Diagnostic.....</i>	<i>10</i>
<i>I.6.1. Critères de diagnostic</i>	<i>11</i>
<i>I.6.2. Méthodes de diagnostic.....</i>	<i>11</i>
<i>I.6.3. Diagnostic différentiel</i>	<i>12</i>
<i>I.7. Etiologie/physiopathologie</i>	<i>12</i>
<i>I.7.1. Facteurs environnementaux</i>	<i>13</i>
<i>I.7.2. Facteurs génétiques</i>	<i>13</i>
<i>I.7.3. Facteurs épigénétiques</i>	<i>14</i>
<i>I.7.4. Facteurs hormonaux</i>	<i>14</i>
<i>I.7.5. Les cellules épithéliales.....</i>	<i>14</i>
<i>I.7.6. Les cytokines.....</i>	<i>15</i>
<i>I.7.7. Les auto-anticorps.....</i>	<i>15</i>
<i>I.7.8. Mécanismes physiopathologiques.....</i>	<i>15</i>
<i>I.8. Traitement</i>	<i>17</i>
<i>I.8.1. Traitement symptomatique</i>	<i>17</i>
<i>I.8.2. Traitement de fond</i>	<i>18</i>

I.8.3. Biothérapies et anticorps monoclonaux ciblés.....	18
I.9. Historique et définition de l'apoptose	19
I.10. Pathologies et dérégulation de l'apoptose.....	19
I.11. Les phases de l'apoptose.....	20
I.12. Les voies d'induction de l'apoptose.....	20
I.13. Les membres de la famille de Bcl 2.....	20
I.14. La protéine P53	22
I.15. La protéine Ki 67	23
II. Matériel et méthodes.....	25
II.1. Matériel	25
II.1.1. Matériel biologique.....	25
II.1.2. Matériel non biologique.....	25
II.2. Méthodes.....	25
II.2.1. Etude anatomopathologique HE.....	26
II.2.2. Etude immunohistochimique	30
II.2.3. Etude des prélèvements sanguins.....	32
III. Résultats et discussion	36
III.1. Caractérisation de la population étudiée	36
III.1.1. Répartition des patients atteints du syndrome de gougerot selon le sexe.....	36
III.1.2. Répartition des patients atteints de syndrome de Gougerot Sjögren selon l'âge	37
III.2. Etude architecturale et structurale des glandes salivaires chez des patients atteints de syndrome de gougerot sjogren	38
III.3. Expression immunohistochimique de la protéine bcl 2 au cours de syndrome de gougerot-sjogren	40
III.4. Expression immunohistochimique de la protéine P53 au cours de syndrome de gougerot-sjogren	42
III.5. Expression immunohistochimique de la protéine ki67 au cours de syndrome de gougerot-sjogren	45
III.6. Interprétation du bilan rénal	47
III.7. Interprétation du bilan glycémique	48

Conclusion et perspectives.....	50
Références bibliographiques.....	51
Annexes.....	58

Liste des 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

BAFF: B cell activiting Factor belonging to the TNF Family

Bcl-2: B Cell Leukemia/Lymphoma, oncogène cellulaire

BGSA: Biopsie des Glandes Salivaires Accessoires

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

DNMT1: DNA methyl Transferase 1

E2: Estradiol

EBV: Epstein barr virus

GL: Glande Lacrymale

GS: Glande Salivaire

GSA: Glande Salivaire Accessoire

HE: Hématoxyline et éosine

HHV6: Virus de l'herpès humain 6

HLA: Complexe majeur d'histocompatibilité humain

HLA-DQ: Complexe majeur d'histocompatibilité humain-DQ

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

HTLV1: Virus human T-cell lymphotropic virus 1

IFN: Interféron

IFN- α : Interféron-alpha

IFN- γ : Interféron-gamma

IHC: Immunohistochimie

Ig: Immunoglobuline

IRF-5 : Interferon regulatory factor 5

Kd: Kilo dalton

LB: Lymphocyte B

LES: Lupus Érythémateux systémique

LNH: Lymphome non hodgkinien

MAI: Maladie Auto Immune

M3R: Récepteur muscarinique 3

p53: Protéine 53

pDC: Cellule dendritiques plasmocytoïde

PR: Polyarthrite rhumatoïde

RNP: Rébunucléaire protéine

SGS: Syndrome de Gougerot -Sjörger

SGSp: Syndrome de Gougerot -Sjörger primitif

SGSs: Syndrome de Gougerot –Sjörger 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 trascription4

Th17: Lymphocyte help17

TLR: Toll-like receptor

TGF: Transforming growth factor

TNF: Tumor necrosis factor

VHC: Virus de l'hépatite

VIIH: Virus de l'immunodéficience humaine

Glossaire

Anticorps antinucléaires : ils sont dirigés contre les antigènes nucléaires solubles de certains ribonucléoprotéines, on trouve les particules RO/SSA avec deux (2) fractions : 52 KDa à localisation cytoplasmique et 60 KDa à localisation nucléaire ainsi que les particules La/SSB de 48KDa qui sont caractéristiques du SGSp, mais ne sont pas spécifiques, par contre la coexistence entre Anti-SSA et anti-SSB est spécifique au SGS.

BAFF : c'est une cytokine constituant un facteur de survie majeur des lymphocytes B, elle est sécrétée au cours des maladies auto-immunes par les cellules résidentes de l'organe atteint.

CD20 : c'est une phosphoprotéine non glycosylée transmembranaire spécifique à la lignée B principalement exprimée sur les pré-LB et les LB matures. Son induction conduit à l'activation et la différenciation des LB et lorsqu'elles forment des amas à leur surface elles induisent l'apoptose.

Centre germinatif ectopique : zone d'un follicule dans un organe lymphoïde secondaire dans laquelle les lymphocytes B sont activés.

Cryoglobulinémie : les Cryoglobulinémie sont définies par la présence dans le sang d'une immunoglobuline ou d'un complexe immunitaire qui donne un précipité à une température inférieure à 37 °C et se resolubilise lors d'un réchauffement.

Cytochrome c : Cytochrome c, une protéine périphérique de la membrane interne mitochondriale (IM), fonctionne comme une navette électronique entre complexe III et complexe IV de la chaîne respiratoire et son activité est nécessaire pour la vie.

Domaine forkhead associated: En biologie moléculaire, le domaine forkhead-associated (domaine FHA) est un domaine de reconnaissance de phosphopeptides trouvé dans de nombreuses protéines régulatrices.

Fibrose : c'est la transformation fibreuse de certains tissus à l'origine d'une augmentation du tissu conjonctif, elle intervient également dans la dernière phase de l'inflammation chronique où elle s'étale sur une longue période.

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

Haplotype : c'est un ensemble de gènes de différents loci situés sur un même chromosome, ils sont généralement transmis ensemble à la génération suivante.

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

Larmolement : Une production excessive de larmes peut provoquer une sensation de larmolement ou provoquer une coulée de larmes sur la joue.

Lupus erythemateux : Le lupus (loup en latin) érythémateux (LE) est une maladie inflammatoire de cause inconnue, caractérisée sur le plan biologique par la production de multiples autoanticorps dont les plus caractéristiques sont dirigés contre certains composants du noyau tels que l'acide désoxyribonucléique (ADN) natif et les nucléosomes.

Lymphome de type B : La maladie ou lymphome de Burkitt est un lymphome lymphoblastique B caractérisé par une prolifération monoclonale de cellules lymphoïdes B

Lymphome hodgkinien : Un lymphome hodgkinien apparaît lorsqu'un lymphocyte initialement normal se transforme, puis se multiplie de façon incontrôlée en formant un amas de cellules anormales qu'on appelle une tumeur cancéreuse.

Lymphopénie : Une lymphopénie est définie par un nombre de lymphocytes circulants inférieur à 1500/mm³ chez l'adulte et 4500/mm³ chez l'enfant avant huit mois.

Neutropénie : La découverte d'une neutropénie, définie par un nombre de neutrophiles < 1 500/mm³.

Phénomène de Raynaud : c'est un trouble vasomoteur, réversible, déclenché par le froid ou l'émotion.

Photophobie : La photophobie est une hypersensibilité à la lumière décrite par les migraineux se traduisant par un inconfort visuel en intercrise et une augmentation de la douleur en crise.

Pilocarpine : c'est un alcaloïde qui appartient à la classe de médicaments appelée classe cholinomimétiques (le même effet que l'acétylcholine), il est utilisé au cours du SGS pour pallier le manque de la salive.

Polyarthrite rhumatoïde : La polyarthrite rhumatoïde (PR) est un rhumatisme inflammatoire responsable d'une destruction de l'articulation qui contribue à une impotence fonctionnelle parfois majeure.

Polypeptide GAL4 : Cette protéine est un régulateur positif de l'expression génique des gènes induits par le galactose tels que GAL1, GAL2, GAL7, GAL10, et MEL1 qui code pour les enzymes utilisées pour convertir le galactose en glucose.

Salive : C'est une sécrétion aqueuse, hypotonique qui contient des quantités variables de : mucines, enzymes, anticorps. La production salivaire peut varier de 0.1-4ml/min avec une production journalière de 1.5L.

Splénomégalie : C'est une augmentation du volume de la rate. On parle de splénomégalie lorsque la rate devient palpable, tandis qu'elle ne l'est pas d'ordinaire.

Statut vitaminique D : c'est lorsque le taux sérique de 25 hydroxyvitamine D est supérieur à 30 ng/ml, les réserves sont dites « suffisantes » et le statut vitaminique D est qualifié d'optimal.

Teste au rose bengal : Cette épreuve consiste à instiller dans l'œil une solution de rose Bengale qui colore sélectivement les cellules de la conjonctive et de la cornée, lésées par la maladie. Ce colorant permet ainsi grâce à un examen à la lampe à fente, de visualiser les zones sèches.

Thrombopénie : C'est une anomalie de la quantité de thrombocytes (plaquettes) dans le sang, caractérisée par une diminution du nombre de thrombocytes en dessous du seuil de 150 Giga thrombocytes par litre ou une diminution de 50 % par rapport au niveau de référence

Toll like receptor (TLR) : c'est une classe de récepteurs présents aux surfaces de certaines cellules, jouant un rôle important dans l'immunité innée et la défense contre les microorganismes par reconnaissance de leurs motifs moléculaire dénommés PAMP.

Xérophtalmie : c'est une sécheresse et atrophie de la conjonctive de l'œil avec opacification de la cornée.

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

Liste des figures

Figure 1 : Langue sèche, partiellement dépapillée.....	05
Figure 2 : Xérophtalmie	06
Figure 3 : Anatomie des glandes salivaires	07
Figure 4 : Structure histologique des différents types d'acini et canaux glandulaires.....	09
Figure 5 : Arbre décisionnel diagnostique du SGS.....	10
Figure 6 : Mécanisme physiopathologique du syndrome de Gougerot Sjögren.....	17
Figure 7 : Cellule en train de se suicider. Elle fragmente son contenu (dont le noyau) et forme de petits ballonnets (les corps apoptotiques)	19
Figure 8 : schéma récapitulatif des étapes de l'étude anatomopathologique.....	29
Figure 9 : Répartition des patients Algériens atteints du syndrome de Gougerot Sjögren selon le sexe.....	37
Figure 10 : Répartition des patients atteints du SGSp en fonction de l'âge.....	38
Figure 11 : Histologie d'un parenchyme d'une glande salivaire accessoire d'un patient atteint de SGS de grade 3 (coloration HE Gx100 (A) ; Gx400 (B)) (Micrographie originale)	39
Figure 12 : coupe histologique d'un parenchyme de glande salivaire accessoire d'un patient atteint de SGS de grade 4. (Coloration HE G×100 (A) ; G×400 (B)) (Micrographie originale).....	39
Figure 13 : immunomarquage de la protéine bcl 2 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 3 (Gx40 (A) ; Gx100 (B) ; Gx400 (C)) (Micrographie originale).....	41
Figure 14 : immunomarquage de la protéine bcl 2 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 4 (Gx100 (A) ; Gx400 (B)) (Micrographie originale).....	41
Figure 15 : immunomarquage de la protéine P53 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 3 (Gx40 (A) ; Gx100 (B) ; Gx400 (C)) (Micrographie originale).....	44

Figure 16 : immunomarquage de la protéine P53 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 4 (Gx100 (A) ; Gx400 (B)) (Micrographie originale).....44

Figure 17 : immunomarquage de la protéine ki67 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 3 (Gx40 (A) ; Gx100 (B) ; Gx400 (C)) (Micrographie originale).46

Figure 18 : immunomarquage de la protéine ki67 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 4 (G×100 (A) ; G×400 (B)) (Micrographie originale).....46

Figure 19 : Evaluation des taux sériques de la créatinine chez les patients atteints du SGS et les témoins.....47

Figure 20 : Evaluation des taux sériques de l'urée chez les patients atteints du SGS et les témoins.....48

Figure 21 : Evaluation du taux sérique de la glycémie chez des patients atteints de SGS et des témoins.....48

Introduction

Introduction

Une maladie auto-immune peut se définir par l'activation du système immunitaire du patient contre ses propres antigènes. Les lymphocytes T et B autoréactifs activés vont entraîner la destruction des propres constituants de l'individu via plusieurs mécanismes, soit directement par les lymphocytes T cytotoxiques ou par les dépôts d'anticorps activant le système du complément, soit indirectement via l'activation d'autres cellules impliquées dans la réponse inflammatoire. **(Bonnotte et al., 2004)**

Ces pathologies auto-immunes 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 auto-antigènes attaqués sont partagés par toutes les cellules de l'organisme.

Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une de ces maladies auto-immunes, ciblant les glandes exocrines, essentiellement salivaires (GS) et lacrymales (GL) **(Ainola Mari et al., 2017)**, il se caractérise principalement par une infiltration lympho-plasmocytaire de ces dernières causant l'apoptose des cellules épithéliales (CE). Il s'agit de la deuxième maladie auto-immune la plus fréquente après la polyarthrite rhumatoïde. Cliniquement, la maladie est définie par une triade symptomatique : sécheresse, asthénie et douleurs **(Martela et al., 2014)**.

Il a été proposé que les glandes salivaires et lacrymales sont détruites par un phénomène apoptotique, éventuellement déclenché 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)**

Ce syndrome peut être isolé et appelé SGS primitif ou associé à une autre pathologie auto-immune, il est alors caractérisé comme secondaire. **(Liang et al., 2013)**. Cependant, le principal risque à craindre chez un patient atteint du SGS est la survenue d'un lymphome **(Guern & mouthon, 2011)**.

Notre présente étude a essentiellement porté sur la caractérisation des phénomènes apoptotiques et l'expression des protéines BCL2, P53, KI67 chez les patients atteints du SGS en association avec une étude d'une partie du profil biologique.

Pour ce faire et dans un premier temps, nous avons effectué une coloration histologique a l'hématoxyline et éosine (HE) sur des biopsies des glandes salivaires accessoires afin de classifier notre population de patients SGS selon son grade histologique et ce à l'aide du score de Chisholm et Masson.

Par la suite, nous avons réalisé une étude immunohistochimique en utilisant les protéines BCL2, P53, KI67, afin d'évaluer l'expression ainsi que la localisation de ces protéines chez les patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren.

Dans un second temps, des prélèvements sanguins ont été effectués et soumis à une batterie de tests comprenant essentiellement un bilan biochimique (bilan rénal et glycémique).

Chapitre I :
Etude Bibliographique

I/ Etude bibliographique

I.1/ Définition :

Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une maladie auto-immune systémique caractérisée par une infiltration lymphocytaire des glandes exocrines, principalement des glandes salivaires et lacrymales, ainsi que la production d'auto-anticorps contre des antigènes nucléaires solubles (**Aikaterini et al., 2016**), 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 et al., 2012**).

La maladie touche surtout les femmes (90 %) entre 30 et 40 ans, elle n'est ni contagieuse ni héréditaire, elle peut survenir à tout âge. Néanmoins, le pic de fréquence de début de la maladie se situerait autour de 50 ans (**Jousse-joulin, 2015 ; Desprez, 2013 ; Hakkou et al., 2011**).

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**).

I.2/ Classification du syndrome :

Il existe deux types de SGS :

- Le SGS est dit, par définition, primitif lorsque la xérophtalmie et la xérostomie ne sont pas associées à une maladie systémique clairement définie (**D'arbonneau et al., 2006**).
- Il est par contre qualifié de secondaire quand xérostomie et xérophtalmie compliquent l'évolution d'une maladie systémique comme la polyarthrite rhumatoïde ou le lupus érythémateux disséminé (**Youinou et al., 2003**)

I.3/ Epidémiologie :

L'épidémiologie du SGS, tout comme celle des maladies auto-immunes est difficile à déterminer avec précision, compte tenu de l'absence d'étude systématique. Cependant, une nette augmentation chez la population magrébine a été rapportée (**Ibn Yacoub et al., 2012**).

Le SGS a une prévalence dans la population générale qui varie entre 0.6 et 1.7 % (**Martel et al., 2014**), c'est la deuxième maladie auto-immune (MAI) systémique derrière la polyarthrite rhumatoïde (PR) (**De Seze et al., 2008**).

I.4/ Clinique et manifestations glandulaires :

Le SGS est une affection auto-immune touchant en premier lieu les glandes exocrines. Sa principale manifestation clinique est le syndrome sec salivaire et/ou oculaire par infiltration lymphoplasmocytaire des glandes salivaires et/ou lacrymales (**hakkou et al., 2011**).

I.4.1 Manifestations buccales :

Les signes buccaux sont ceux de la xérostomie (**figure 1**) qui représente le symptôme principal de l'atteinte des glandes salivaires, elle se traduit par une difficulté à avaler, d'un manque de stabilité de ses prothèses dentaires amovibles, de l'apparition de caries, de brûlures chroniques de la muqueuse buccale, d'une intolérance aux aliments épicés ou acides, d'une incapacité à manger des aliments secs ou de parler de manière continue pendant quelques minutes (**hakkou et al ;2011**).



Figure 1 : Langue sèche (Xérostomie), partiellement dépapillée (**hakkou et al ;2011**).

1.4.2/ Manifestations oculaires :

Les signes fonctionnels oculaires correspondent à ceux d'une kératoconjonctivite sèche. Ce terme recouvre aussi bien la diminution de la production de larmes que les changements pathologiques touchant les cellules épithéliales de la surface de l'œil et des paupières. Les symptômes de la xérophtalmie (sensation de brûlures, sensation de corps étranger, photophobie, rougeur oculaire, et larmoiement réflexe s'il existe une atteinte cornéenne) (**figure 2**) varient d'un patient à l'autre car ils dépendent de la sévérité de la sécheresse oculaire (**Hakkou et al., 2011**)



Figure 2 : Xérophtalmie (Hakkou et al., 2011).

1.4.3/ Manifestations extra glandulaires :

➤ **Atteinte neurologique :**

Les manifestations neurologiques rencontrées peuvent toucher le système nerveux périphérique et/ou central (**Delalande et al ; 2010**).

➤ **Atteinte rénale :**

L'atteinte rénale tubulo-interstitielle est une manifestation extra glandulaire qui survient dans 20 à 50 % des cas et qui touche 4,2 à 44 % des patients (**Bennaser et al ; 2016**).

➤ **Atteinte vasculaire :**

Le phénomène de Raynaud est l'atteinte vasculaire la plus fréquemment décrite chez ces patients (**Hakkou et al., 2011**).

➤ **Atteinte pulmonaire :**

Classiquement, elle est plus fréquente et plus sévère au cours du SGS secondaire, l'atteinte se manifeste par une sécheresse nasale et une sécheresse trachéo-bronchique se traduisant par une toux chronique (Crestani et al., 2006).

➤ **Atteinte locomotrice :**

Qui regroupe les manifestations articulaires ou musculaires.

I.4.4/ Les glandes salivaires :

Les glandes salivaires sont des glandes de petite taille annexées à la cavité buccale et qui sécrètent un fluide appelé salive, elles sont donc dites exocrines. Ces dernières sont réparties en 2 classes : (Georges, 2012).

➤ **Glandes salivaires principales (majeures) :**

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

➤ **Glandes salivaires accessoires (mineures) :**

Selon Devaize et Dallel en 2010, elles sont dispersées dans les muqueuses buccales, regroupées en petits amas non encapsulées, elles sont réparties dans toutes les régions de la cavité orale, ce qui leur confère un rôle d'humidification. (Figure 3)

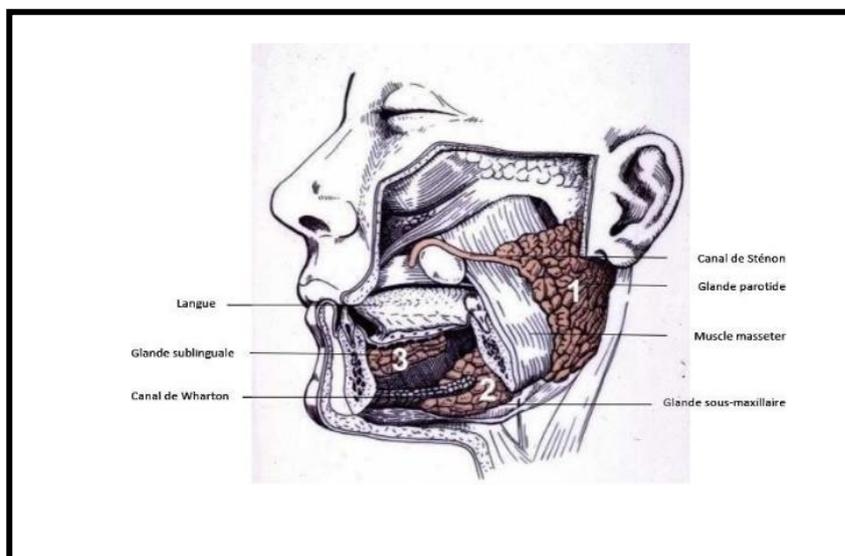


Figure 3 : Anatomie des glandes salivaires (Varin,2012)

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.

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**).

Les éléments excréteurs :

La salive sécrétée par les acini est collectée par un réseau de canaux différenciés (**figure 4**) 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**).

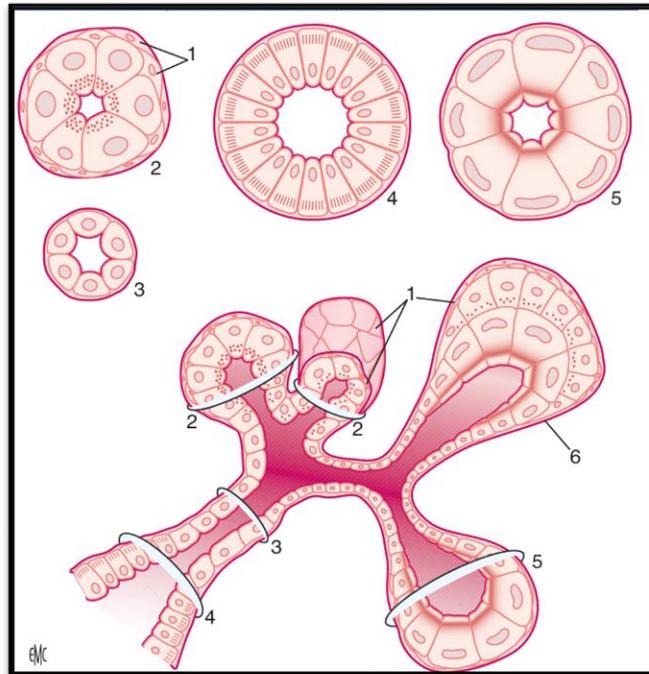


Figure 4 : Structure histologique des différents types d'acini et canaux glandulaires
(Devoize et al., 2010).

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

1.5/ Evolution du Syndrome :

Le principal risque à craindre chez un patient atteint du SGS est la survenue d'un lymphome (Guern & mouthon, 2011). En effet, Au cours de l'évolution de la maladie, l'activation chronique ultérieure des cellules B peut entraîner le développement de manifestations systémiques ou des lymphomes non hodgkiniens (LNH). (Parisis et al, 2020). Divers facteurs prédictifs, tels que l'élargissement persistant des glandes parotides, l'adénopathie, la splénomégalie, une cryoglobulinémie mixte et/ou une gammapathie monoclonale, suggère une évolution potentielle du lymphome. (Régent et al ;2012).

La présentation initiale du SGS détermine l'évolution. Ainsi, l'apparition d'atteinte systémique n'est pas liée à l'ancienneté de la maladie et l'existence d'un syndrome sec isolé sans aucune manifestation extraglandulaire est de bon pronostic.

1.6/ Diagnostique :

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

Un diagnostic approprié du syndrome de Gougerot-Sjögren dépend de l'observation de ses manifestations cliniques, de l'élimination des diagnostics différentiels, primaire et secondaire.

(Figure 5)

Voir les critères de gravité de la sécheresse (Annexe 1)

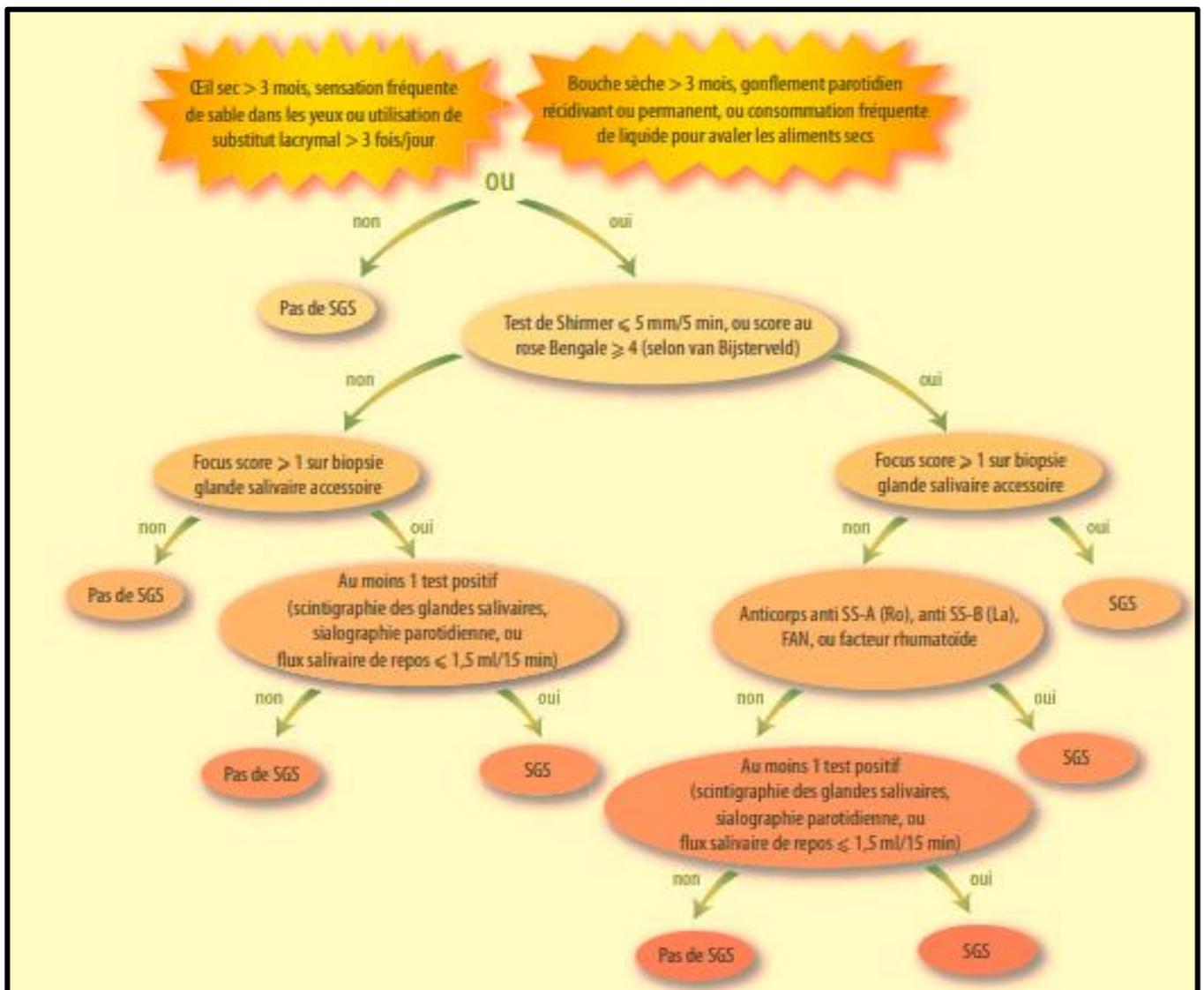


Figure 5 : arbre décisionnel diagnostique du SGS (Vaillant et Le dù, 2007)

1.6.1/ Critères de diagnostic :

Bien que la biopsie des glandes salivaires mineures ait traditionnellement été considérée comme le critère de choix pour le diagnostic du syndrome de Gougerot-Sjögren, de nouveaux critères permettent de ne pas nécessairement effectuer cette procédure. **(Guellec et al, 2013)**

Sur les six critères donnés dans le tableau de classification issus du consensus américano-européen (**Tableau Annexe 2**), quatre doivent être présents pour établir un diagnostic de SGS, avec au moins un critère correspondant à une mesure objective (soit l'examen histopathologique, soit le dépistage d'anticorps).

En dehors des examens nécessaires pour établir la classification d'un SGS, il faut demander un bilan biologique incluant la recherche d'une hypergammaglobulinémie, d'une immunoglobuline monoclonale (10-15 %), d'une cryoglobulinémie mixte (5-15 %), d'une hypocomplémentémie (C3, C4, CH50), d'un facteur rhumatoïde (50-80 %).

Les critères d'exclusion imposent de rechercher par sérologie une hépatite C et une infection par le VIH. Les examens biologiques usuels sont parfois perturbés : lymphopénie (20-30 %) et parfois thrombopénie ou neutropénie, créatininémie et protéinurie. Il n'existe pas habituellement de syndrome inflammatoire (CRP normale). En cas de VS accélérée, il faut rechercher une hypergammaglobulinémie à l'électrophorèse des protéides.

À l'avenir, la recherche de nouveaux auto-anticorps pourrait aider au diagnostic. **(Vitali et al, 2002)**

1.6.2/ Méthodes de diagnostic :

L'évaluation de l'atteinte oculaire et buccale est essentielle pour le diagnostic précis du SGS, plusieurs tests sont alors utilisés **(Revol et al, 2005)** :

- **Le test de Schirmer**
- **Le test au rose de Bengale**
- **La sialométrie**
- **La sialographie conventionnelle**
- **La scintigraphie**
- **La sialographie par résonance magnétique (sialo-IRM)**
- **La biopsie** des glandes salivaires accessoires reste un test hautement spécifique pour la composante salivaire du SGS.

- **Les tests sérologiques :** environ 80% des patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren, présentent une hypergammaglobulinémie diffuse. Plusieurs auto-anticorps parmi les immunoglobulines (facteurs rhumatoïdes, les anticorps antinucléaires et les anticorps des antigènes Ro / SS-A, La / SS-B et anti-Ro / SS-A) ne sont pas spécifiques du syndrome de Gougerot-Sjögren et sont présents dans d'autres maladies auto-immunes, en particulier pour le lupus érythémateux disséminé (LED). [(Revol et al, 2005) 06 Cependant, les patients atteints de LED qui ont des anticorps anti-La / SS-B ont généralement le syndrome de Gougerot-Sjögren. Chez environ 20% des patients souffrants de ce syndrome, les cryoglobulines sont présentes et sont constituées d'immunoglobulines monoclonales IgM κ cryoprécipitables qui ont une activité de facteur rhumatoïde.
- **L'échodoppler.**
- **L'échographie.**

1.6.3/ Diagnostic différentiel :

Le diagnostic différentiel du syndrome de Gougerot-Sjögren comprend les conditions et les médications qui peuvent induire la kératoconjonctivite sèche, la xérostomie et l'élargissement de la glande parotide.

Le diagnostic différentiel est particulièrement important pour la thérapeutique des manifestations systémiques du syndrome de Gougerot-Sjögren.

Il est également important d'exclure d'autres troubles systémiques qui peuvent affecter les glandes exocrines

Le but est d'éliminer les possibilités de diagnostic différentiel et de documenter les caractéristiques clés du SGS. Un bilan complet implique souvent la coordination de plusieurs spécialistes.

1.7/ Etiologie/physiopathologie :

L'origine de cette affection, comme la plupart des maladies auto-immunes, est inconnue. Dans l'état actuel des connaissances, il est difficile de procéder autrement qu'en envisageant successivement les facteurs génétiques, l'infiltrat lymphoplasmocytaire, les cellules

épithéliales, les auto-anticorps et les virus, sans pour autant établir de liens assurés entre ces multiples partenaires de la physiopathologie du SGS. Cependant, même si la façon dont s'associent ensemble les différentes pièces du puzzle n'est pas encore connue, les différents éléments en présence sont de mieux en mieux individualisés. (**Vaillant et al du, 2007**)

Voir pathogénie du SGS (**Annexe III**).

I.7.1/ Facteurs environnementaux :

Virus : Du fait de la présence d'une grande fatigue et d'arthralgies au diagnostic, une cause virale a été incriminée et avec comme accusés les membres de la famille Herpès tels que le virus d'Epstein Barr (EBV) et le virus de l'herpès humain 6 (HHV6).

D'autres virus ont été suspectés, mais sans preuve directe également pour le virus human T-cell lymphotropic virus 1 (HTLV1) et le virus de l'hépatite C (HCV)

Autres facteurs : le tabac, les ultraviolets et des agents chimiques sont incriminés.

De plus, la composante géographique du SGS vient renforcer l'implication de facteurs environnementaux avec une plus forte prévalence rapportée dans les pays nordiques (**Bordon et al, 2018**).

I.7.2/ Facteurs génétiques :

Il existe très probablement un terrain génétique particulier au SGS. Si les cas familiaux sont peu fréquents, il n'est pas rare en revanche de retrouver d'autres maladies auto-immunes chez les apparentés. Les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II ont été impliqués ainsi que certains polymorphismes du gène du TNF- ou de la région promotrice des gènes de l'interleukine 10 (IL-10) et de l'IL-6 (**Martel et al, 2014**).

En premier lieu, ce sont des facteurs impliqués dans la présentation antigénique soit directement au niveau des régions du système human leucocyte antigen (HLA) de classe I et II, soit en amont avec des facteurs engagés dans la régulation et l'expression des molécules HLA. 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, 2018**).

I.7.3/ Facteurs épigénétiques :

Les méthylations de l'ADN, les modifications post-traductionnelles des histones et les ARNs non codants dont les micro-ARN se définissent par leurs capacités à modifier l'expression des gènes sans faire appel à des mutations de l'ADN et cela de manière réversible et transmissible au fil des divisions cellulaires et des générations.

D'importantes modifications de ces processus ont été observées en pathologie et en particulier lors des cancers et des pathologies auto-immunes (**Bordron et al, 2018**).

I.7.4/ Facteurs hormonaux :

La proportion de femmes atteintes par le syndrome de Gougerot-Sjögren par rapport aux hommes suggère que les hormones sexuelles sont impliquées dans le développement du syndrome. En effet, l'œstrogène et la prolactine sont des stimulateurs du système immunitaire. (**Castel, 2016**).

L'importance de facteurs hormonaux dans le SGS et particulièrement d'une carence en œstrogène est fortement suggérée par la très nette prépondérance féminine et le pic de survenue de la maladie après la ménopause. (**Martel et al, 2014**).

I.7.5/ Les Cellules épithéliales :

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- γ . 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 voire 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**).

I.7.6/ Les cytokines :

Les cytokines inflammatoires sont des régulateurs clés des réponses immunitaires. La production persistante et excessive de cytokines inflammatoires souligne le développement de maladies auto-immunes. **(Lai et Dong, 2015).**

La sécrétion des IL2, L'IFN- γ , IL6, IL10 par les LT salivaires favorise l'activité des LB glandulaires sécrétrices d'anticorps **(Guggenbuhl et al, 1998).**

Un autre acteur jouant un rôle dans la lymphomagenèse du SGS est la cytokine BAFF. Cette cytokine est produite de façon excessive au cours de plusieurs maladies auto-immunes, mais particulièrement au cours du SGS, corrélée aux titres des auto-anticorps **(Le Guern,et Mouthon,2011).**

I.7.7/ Les auto-anticorps :

Le diagnostic de SGS primitif nécessite l'existence de symptômes de sécheresse buccale et oculaire, et soit la présence d'une infiltration lymphocytaire sur la biopsie des glandes salivaires soit la présence d'auto-anticorps (anti-SSA ou anti-SSB). **(Crestani et al, 2007).**

Le SGS primitif est caractérisé par une pléthore d'auto-anticorps (Ac), qui accompagnent le déclin des structures exocrines. **(Youinou et Pers, 2016).**

I.7.8/ Mécanismes physiopathologiques :

Le syndrome de Gougerot Sjögren constitue un excellent modèle d'étude des maladies auto-immunes car les organes intéressés par le processus (glandes salivaires accessoires) et les cellules impliquées sont aisément accessibles et se prêtent assez facilement à l'analyse. L'origine de cette affection, comme la plupart des maladies auto-immunes, est inconnue **(Fox et al. 1992).**

En se basant sur des données acquises à partir des glandes exocrines, et en particulier des glandes salivaires, plusieurs phases ont été mises en évidence **(Figure 6).**

Tout d'abord, une activation de l'épithélium est observée entraînant une infiltration lymphocytaire majoritairement constituée de lymphocytes T (LT) et plus particulièrement de LT activés 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 en présence de la cytokine B cell activating factor (BAFF).

L'hyperactivation lymphocytaire B entraîne l'émergence de plasmablastes ce qui s'accompagne d'une production locale d'autoanticorps dont les auto-Ac anti-syndrôme sec de type A (SSA/Ro) et de type B (SSB/La).

Au niveau périphérique, la mise en évidence d'auto-Ac anti-SSA/SSB associés avec la détection de facteurs rhumatoïdes, d'une hypergammaglobulinémie, et d'une hypocomplémentémie.

Traduisant un profil immunologique actif, cette hyperactivation s'accompagne, au niveau périphérique, d'anomalies des sous-populations lymphocytaires B, reflet de l'attraction des LB mémoires dans les tissus. Au niveau des glandes salivaires et du fait de cette hyperactivation, une augmentation de la taille des glandes et d'importantes modifications ultra-sonographiques sont observées.

Dans ce processus, les cellules épithéliales ne sont pas seulement les cibles mais également les acteurs puisqu'elles sont capables de conserver leurs propriétés activatrices vis-à-vis du système immunitaire inné et acquis après plusieurs semaines de cultures.

Accusés ; les membres de la famille Herpès tels que le virus d'Epstein Barr (EBV) et le virus de l'herpès humain 6 (HHV6). Plusieurs arguments indirects plaident en ce sens tels que la mise en évidence d'une plus forte prévalence d'immunoglobulines de type G spécifiques de l'EBV et d'HHV6. Une réactivité croisée est également décrite pour ces deux virus avec la protéine SSB/La du fait d'épitopes communs. Toutefois, aucune preuve directe n'a été rapportée sur le rôle direct de ces virus qui sont largement répandus dans la population générale, et plusieurs études ne retrouvent pas cette association. En conséquence, d'autres virus ont été suspectés, mais sans preuve directe également pour le virus human T-cell lymphotropic virus 1 (HTLV1) et le virus de l'hépatite C (HCV). Parmi les autres facteurs associés au SGS, le tabac, les ultraviolets et des agents chimiques sont incriminés. **(Bordron et al, 2018)**

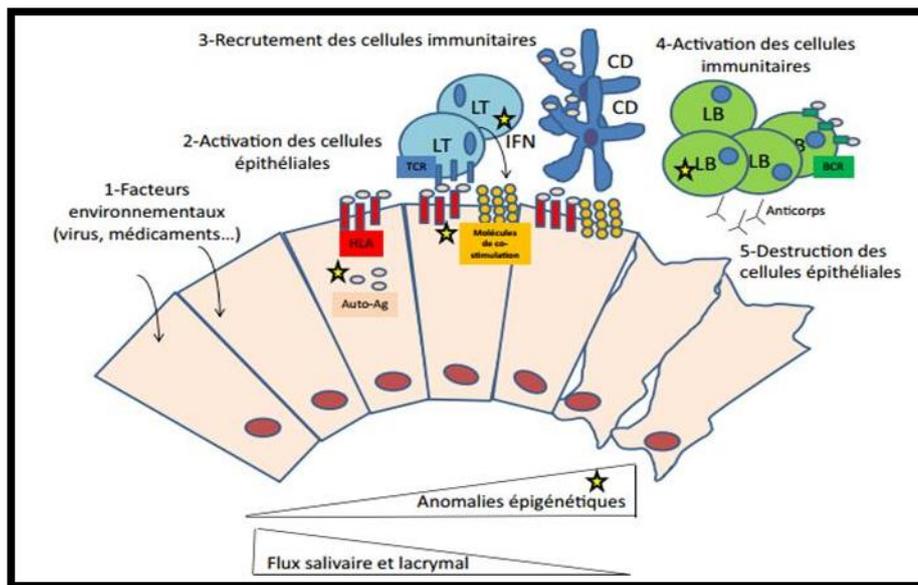


Figure 6 : mécanisme physiopathologique du syndrome de Gougerot Sjögren
(Bordron et al, 2018)

CD : cellule dendritique ; **DNMT1** : DNA méthyltransférase 1 ; **HLA** : human leucocyte antigen ; **IFN** : interféron ; **LB** : lymphocyte B ; **LT** : lymphocyte T.

I.8/ Traitement :

A l'heure actuelle, aucun traitement ne peut modifier l'évolution du syndrome de Gougerot-Sjögren. Le traitement est principalement symptomatique et est dirigé vers la reconnaissance et le traitement précoce des complications de la maladie.

Ces traitements qui peuvent être : symptomatiques, traitement de fond et des biothérapies par anticorps monoclonaux ciblés

Le traitement dépend de la sévérité des symptômes et de la présence de complications. La clinique peut varier d'un état asymptomatique à une expression sévère de la maladie

Le traitement comporte :

I.8.1/ Traitement symptomatique :

De la triade des symptômes à savoir, la sécheresse, les douleurs diffuses et l'asthénie qui compromettent la qualité de vie des patients.

- •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.

1.8.2/ Traitement de fond :

Aujourd'hui aucun traitement de fond n'a fait la preuve de son efficacité.

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

1.8.3/ Des biothérapies et anticorps monoclonaux ciblés

Les anti-TNF 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 (**Saraux, 2010**).

I.9/ Historique et définition de l'apoptose

Le terme d'apoptose ou mort cellulaire programmée a été introduit en 1972 pour définir une forme de mort cellulaire morphologiquement, biochimiquement et moléculairement différente de la nécrose (**Kerr et al., 1972**). (**Figure 7**)

L'apoptose est un mécanisme inné de Suicide Cellulaire Programmé (SCP). Elle est invoquée dans des situations biologiques diverses, allant du développement embryonnaire à la suppression d'une malignité et la régulation de populations de cellules immunitaires. Par ailleurs, l'apparence morphologique d'une cellule apoptotique est, entre autres, caractérisée par une condensation nucléaire et le développement de corps apoptotiques (**Ameisen, 1996**).



Figure 7 : Cellule en train de se suicider. Elle fragmente son contenu (dont le noyau) et forme de petits ballonnets (les corps apoptotiques) (**El Hilali, 2001**).

L'induction et la régulation de l'apoptose est un processus complexe. En effet, un certain nombre de molécules de surface cellulaire (récepteur du facteur de nécrose des tumeurs (TNF-R), Fas), de protéines intracellulaires (famille *Bcl2*, *p53*, *e-myc*) et d'enzymes (caspases, protéine kinases, sphingomyélinases, phosphatases...), y sont impliquées (**Patel et McHugh, 2000**)

I.10/ Pathologies et dérégulation de l'apoptose :

Le dérèglement des mécanismes de régulation de la mort cellulaire par apoptose est impliqué dans la physiopathologie de nombreuses maladies. Ces dérèglements peuvent conduire à un excès ou à un défaut d'apoptose et caractérisent des types différents de pathologies (**Léger, 2006**).

Un défaut d'apoptose a été observé dans le développement de maladies auto-immunes résultant de l'apparition de lymphocytes auto-réactifs qui n'ont pas été éliminés par apoptose au cours

de la sélection clonale lymphocytaire (**Saikumar et al., 1999**)

I.11/ Les phases de l'apoptose :

L'apoptose peut classiquement être divisée en trois phases :

- Une phase d'induction (d'initiation) : La phase d'initiation de l'apoptose est un phénomène réversible au cours duquel le signal apoptotique (intra- ou extracellulaire) est transmis à des caspases initiateuses par des molécules adaptatrices.
- Une phase d'exécution et une phase de dégradation : ces caspases interviennent dans l'exécution de l'apoptose et conduiront à la dégradation de la cellule (**Léger, 2006**).

I.12/ Les voies d'induction de l'apoptose :

Il existe deux voies principales d'induction de l'apoptose (**Annexe 4**) :

- voie extrinsèque (ou voie de récepteurs de mort) : se fait en réponse à la fixation de ligands spécifiques FasL sur des récepteurs de surface appelés récepteurs de mort Fas (**Ashkenazi, 2002**) cette fixation conduit à la trimérisation du récepteur qui lui permet d'être actif (**Léger, 2006**). Fas activé recrute les caspases dites effectrices comme la caspase-3 qui sont responsables de la phase d'exécution de l'apoptose (**Khosravi-Far, 2004**)
- voie intrinsèque (ou mitochondriale) : est induite par des signaux de stress cellulaire tels que l'exposition à des radiations UV, une irradiation γ , des dommages à l'ADN, une déprivation en facteurs de survie ou encore suite à l'action d'oncoprotéines, de protéines suppresseur de tumeurs comme la protéine p53 ou de protéines de virulence virale. Enfin, la voie mitochondriale est activée par la plupart des agents chimiothérapeutiques (**Kaufmann et Earnshaw, 2000. Kroemer, 2003**).
- Une troisième voie activée en réponse à un stress et faisant intervenir le réticulum endoplasmique (RE) a également été décrite (**Ron et Habener, 1992**).

I.13/ Les membres de la famille de Bcl 2

Les homologies de séquences et de fonctions entre CED-4 (protéine de mort cellulaire) et Bcl-2 (B cell CLL/lymphoma-2) semblent indiquer que les protéines de la famille Bcl-2, tout comme CED-4, jouent un rôle majeur dans la régulation des caspases et plus généralement de l'apoptose. la translocation t(14,18) retrouvée dans les lymphomes folliculaires de type B a

conduit à l'identification de Bcl-2 chez l'homme (**White, 1996**). La surexpression de Bcl-2 permet de bloquer l'apoptose induite par de nombreux stimuli (dommages de l'ADN, irradiations, expression d'oncogènes, glucocorticoïdes,) (**Yang et Korsmeyer, 1996**).

Si l'on réfère à leurs fonctions biologiques, on peut classer les membres de la famille Bcl-2 en deux sous-familles :

- Des membres **anti-apoptotiques** tel que Bcl-2, mais aussi Bcl-XL (**Boise et Thompson, 1997**).
- Des membres **pro-apoptotiques** : comme Bax (**Oltvai et al., 1993**) et Bak (**Chittenden et al., 1995 ; Farrow et al., 1995 ; Kiefer et al., 1995**).

Cette famille se caractérise par la présence de domaines **BH 1 à 4** (Bcl-2 homology domain) (**Kelekar et Thompson, 1998**). La distribution de ces domaines permet de regrouper cette famille en trois classes : Voir figure (**Annexe 5**):

- Les membres anti-apoptotique multidomaines (Bcl 2 et Bcl-xl)
- Les membres pro-apoptotiques multidomaines (Bax t Bak)
- Les membres pro-apoptotiques n'ayant qu'un seul domaine BH3 (Bik et Bid).

Une caractéristique importante des membres de la famille Bcl-2 est de pouvoir former des homo ou des hétérodimères. En fait il semble que la balance entre la vie et la mort cellulaire soit influencée par le type et la proportion de dimères anti- ou pro-apoptotiques formés (**Oltvai et al., 1993; Oltvai et Korsmeyer, 1994; Sedlak et al., 1995**). Ainsi par exemple, lorsque Bax est préférentiellement exprimé, des homodimères Bax-Bax se formeront et conduiront à la mort cellulaire. En revanche, si c'est Bcl-2 qui est majoritairement exprimée alors il y aura formation de dimères Bcl-2-Bcl-2 et donc survie cellulaire (**Conus et al., 2000**). L'expression de gène de Bcl 2 est régulée par le suppresseur de tumeur p53 (**Gillies & Tomomi, 2014**).

En définitive, les membres de la famille Bcl-2 exercent deux fonctions essentielles : ils participent d'une part à la formation de pores régulant le passage d'ions et de certaines substances activatrices de l'apoptose et d'autre part modulent la fonction des molécules régulatrices de l'apoptose par l'intermédiaire d'interactions protéine-protéine (**Kluck et al., 1997 ; Vander Heiden et al., 1997 ; Yang et al., 1997**)

1.14/ La protéine P53 :

Dans un premier temps la protéine p53 a été considérée comme un proto-oncogène. C'est en 1989 que p53 a été identifiée comme suppresseur de tumeur suite à l'observation de la perte de son activité dans de nombreuses tumeurs humaines (**Nigro, et al. 1989 ; Hollstein, Sidransky et al., 1991 ; Hollstein, Marion et al., 1994**).

La protéine P53 est présente dans toutes les cellules de l'organisme, elle est activée lorsqu'une cellule subit un stress oncogénique ou génotoxique, elle est susceptible d'induire des réponses antiprolifératives comme l'arrêt de sa croissance, son entrée en sénescence voire sa destruction, par activation de la transcription de ses gènes cibles. Elle est fortement impliquée dans la régulation du cycle cellulaire et l'induction de l'apoptose (**Bouali, 2008**).

Une fois la protéine p53 liée au polypeptide GAL4, elle agit comme un activateur de transcription (**Fields et Jang 1990**). Cette découverte innovatrice est à la base de l'identification de la fonction majeure de P53 dans la régulation transcriptionnelle de nombreux gènes cibles. Leur action détermine le destin des cellules, arrêt du cycle cellulaire ou apoptose. Des études récentes montrent que P53 induit l'apoptose directement au niveau de la mitochondrie. La protéine p53 exerce son action pro-apoptotique par deux voies l'une passant par l'activité de transactivation de la protéine et l'autre utilisant un mécanisme indépendant de la transcription. Pour la voie dépendante de la transcription, plusieurs gènes ont été identifiés. Il s'agit de Bax, IGF-BP3 et PIG3 (**Bouali, 2008**).

Déférentes formes de stress cellulaires provoquent l'activation du gène p53 (capable de contrôler l'expression d'autres gènes) menant à une augmentation de sa synthèse, ce qui a comme conséquence une diminution de Bcl-2 et une augmentation de Bax. Ceci induit alors une chute du potentiel de la membrane interne des mitochondries, ce qui entraîne l'ouverture de pores protéiques dans cette membrane, et enclenche une libération de cytochrome c par ces organites. Ce cytochrome c se fixe à une protéine adaptatrice (Apaf-1) qui en retour s'agrège avec d'autres molécules d'Apaf-1, et cet ensemble se lie finalement à la procaspase-9 (effecteur clé de l'apoptose) et est parfois appelé « apoptosome » (**Baatout et al., 2001**).

1.15/ La protéine Ki 67 :

Le Ki-67 a été identifié pour la première fois comme un antigène dans les noyaux des cellules du lymphome hodgkinien (**Gerdès et al. 1983**). L'anticorps correspondant a été décrit dans la ville de Kiel (d'où « Ki ») après immunisation des souris avec la lignée cellulaire de lymphome de Hodgkin L428 (67 fait référence au numéro de clone sur la plaque à 96 puits dans laquelle il a été trouvé). L'absence de Ki-67 dans les cellules quiescentes et son expression universelle dans les tissus en prolifération ont créé un grand intérêt pour son rôle potentiel comme marqueur de la prolifération cellulaire cliniquement important pour classer plusieurs types de cancers (**Sun et Kaufman, 2018**). Un grand nombre d'études ont confirmé cette caractéristique, et l'expression de Ki 67 dans les cellules au repos a rarement été rapportée

Le ki 67 est une énorme protéine d'env. 395 kDa, codés par près de 30 000 paires de bases dans le génome humain. La structure primaire de pKi67 a été établie. La protéine subit une phosphorylation et une déphosphorylation pendant la mitose, elle est sensible aux protéases et sa structure implique que son expression est régulée par des voies protéolytiques (**Schluter et al., 1993**) pKi67 partage également des similitudes structurelles (en ce qu'il possède un soi-disant domaine forkhead-associated (FHA)) avec d'autres protéines connues pour être impliquées dans la régulation du cycle cellulaire (**Brown et Gatter, 2002**)

Malgré son utilisation répandue en pathologie clinique et en oncologie, les connaissances tirées des études fonctionnelles du Ki-67 ont été limitées en partie en raison de la grande taille de la protéine Ki-67, de son extrême sensibilité à la dégradation des protéases et de sa courte demi-vie, qui entravent toutes les analyses moléculaires (**Cidado et al., 2016**)

Dans des études récentes, les fonctions moléculaires multiples de cette grosse protéine sont devenues mieux comprises. Le Ki-67 joue un rôle à la fois dans les cellules interphases et mitotiques, et sa distribution cellulaire change considérablement pendant la progression du cycle cellulaire. Ces localisations sont en corrélation avec des fonctions distinctes. Par exemple, pendant l'interphase, Ki-67 est requis pour la distribution cellulaire normale des antigènes d'hétérochromatine et pour l'association nucléolaire de l'hétérochromatine. Pendant la mitose, le Ki-67 est essentiel pour la formation de la couche périchromosomique (PCL) (**Sun et Kaufman, 2018**).

Plusieurs observations déjà anciennes indiquaient que Ki67 est un constituant de la périphérie chromosomique, dont son rôle est d'empêcher la coalescence des chromosomes et assurer leur dispersion (**Albagli et Pelczar, 2019**).

Chapitre II :
Matériel et méthodes

II/ Matériel et méthodes

Nous avons réalisé notre étude rétrospective au niveau du laboratoire d'anatomie cytologie pathologique appartenant au service d'anatomo-pathologie du CHU Hassani Issad de Béni Messous depuis le mois de décembre 2019 au mois de Septembre 2020

II.1/ Matériel :**II.1.1/ Matériel biologique (Annexe IV) :**

Il s'agit d'une étude Anatomo-clinique réalisée sur des biopsies de glandes salivaires accessoires, effectuée sur une série de 10 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.

Voir tableau de la classification de Chilsholm et Masson annexe VIII.

II.1.2/Matériel non biologique (Annexe IX):

- 1-2-1- Appareillage
- 1-2-2- Réactifs et solutions
- 1-2-3- Matériel et verreries

II.2/ Méthodes :

Des biopsies des glandes salivaires accessoires ainsi que des prélèvements sanguins ont été réalisés chez tous les patients SGS, accompagnés d'une fiche de renseignements comprenant les mentions suivantes :

L'âge des patients, le sexe, les antécédents personnels et familiaux de MAI.

1-Etude des biopsies :

Les biopsies subissent :

- a) Une étude anatomopathologique usuelle (H.E)
- b) Une caractérisation immunohistochimique en présence des anticorps Bcl-2, p53 et Ki 67.

2-Etude des prélèvements sanguins :

Les prélèvements sanguins sont soumis à un bilan biologique comprenant :

- Un bilan biochimique :

- Bilan rénal : Urée sanguine, Créatinine sanguine.
- Bilan glycémique : Glycémie à jeun

II.2.1/ Etude anatomopathologique (HE) :

Les biopsies destinées au laboratoire pour un examen histologique, passent par une série d'étapes avant qu'elles ne soient lues et interprétées par le pathologiste.

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

1- La fixation :

Les biopsies des glandes salivaires accessoires sont fixées au formol tamponné à 10% pour une durée de 4h à 6h, Cette fixation a pour but la conservation morphologique des tissus dans un état aussi proche que possible de leur état vivant et leur durcissement, 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 des cassettes où elles vont subir une déshydratation.

2- La déshydratation

La déshydratation signifie l'élimination de l'eau du tissu de nos biopsies GSA par l'alcool, cette étape est nécessaire, car la substance d'inclusion qui est généralement la paraffine, est une substance hydrophobe (non miscible à l'eau), cette 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).

3- L'imprégnation

Cette étape consiste à faire passer le prélèvement dans un liquide intermédiaire afin d'en éliminer les traces d'alcool absolu par quatre bains successifs de xylène ou le toluène, solvants intermédiaire favorable aux échanges membranaires entre l'alcool/toluène d'une part, et toluène/paraffine d'autre part. chaque bain dur une heure de temps avec agitation.

4- 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) et a pour but de permettre la réalisation de coupes histologiques fines et régulières (d'une épaisseur de 2 à 5 μm). Le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine (résine blanche opaque). Cette étape se fait par un appareil d'enrobage, le prélèvement baigne dans de la paraffine fondue et qui infiltre alors toutes les cellules.

Pour ce faire nous avons réalisé les étapes suivantes :

- Préchauffage des moules dans une enceinte thermique (à 66°C).
- Placement et orientation des fragments tissulaires dans les moules à moitié remplis de paraffine.
- Remplissage des moules, le prélèvement baigne dans de la paraffine fondue et qui infiltre alors toutes les cellules.
- Transfert sur une plaque froide
- Les blocs de paraffine sont décollés facilement et conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à réalisation des coupes.

5- Réalisation des coupes ou microtomie :

La réalisation des coupes fines se fait à l'aide d'un microtome, ces dernières sont en séries régulières sous forme d'un ruban qu'on étale sur lame.

La confection des coupes histologiques comporte alors 3 étapes :

- L'étalement : de segments de ruban de paraffine sur une lame de verre contenant un liquide d'étalement tel que l'eau albumineuse.
- Le collage : les lames de verre sont placées sur une plaque chauffante, réglée à une température de 40°C, pendant 15 min.
- Le séchage de la préparation : en inclinant les lames et en les séchant au moyen de papier buvard absorbant.

6- 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)

7- Hydratation :

Elle a pour objet l'élimination de la paraffine intracellulaire et 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).

8- Coloration :

C'est une coloration histologique topographique qui, en différenciant le noyau du cytoplasme, donne une vue d'ensemble d'un tissu. Cette coloration permet d'accentuer les contrastes afin de différencier les différents constituants tissulaires (noyau, membrane plasmique 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.

Nos biopsies vont donc être colorées en plusieurs étapes :

-Coloration des lames dans un bain d'Hématoxyline (4mn) pour la coloration des noyaux.

-Rinçage a l'eau courante.

-Coloration des lames a l'éosine (1 mn) pour colorer le cytoplasme.

-Passage dans éthanol à des degrés croissants : 80°, 90° et absolu pendant 30 secondes pour chacun.

-Passage dans 3 bains de xylène (30 secondes pour chacun)

9- 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.

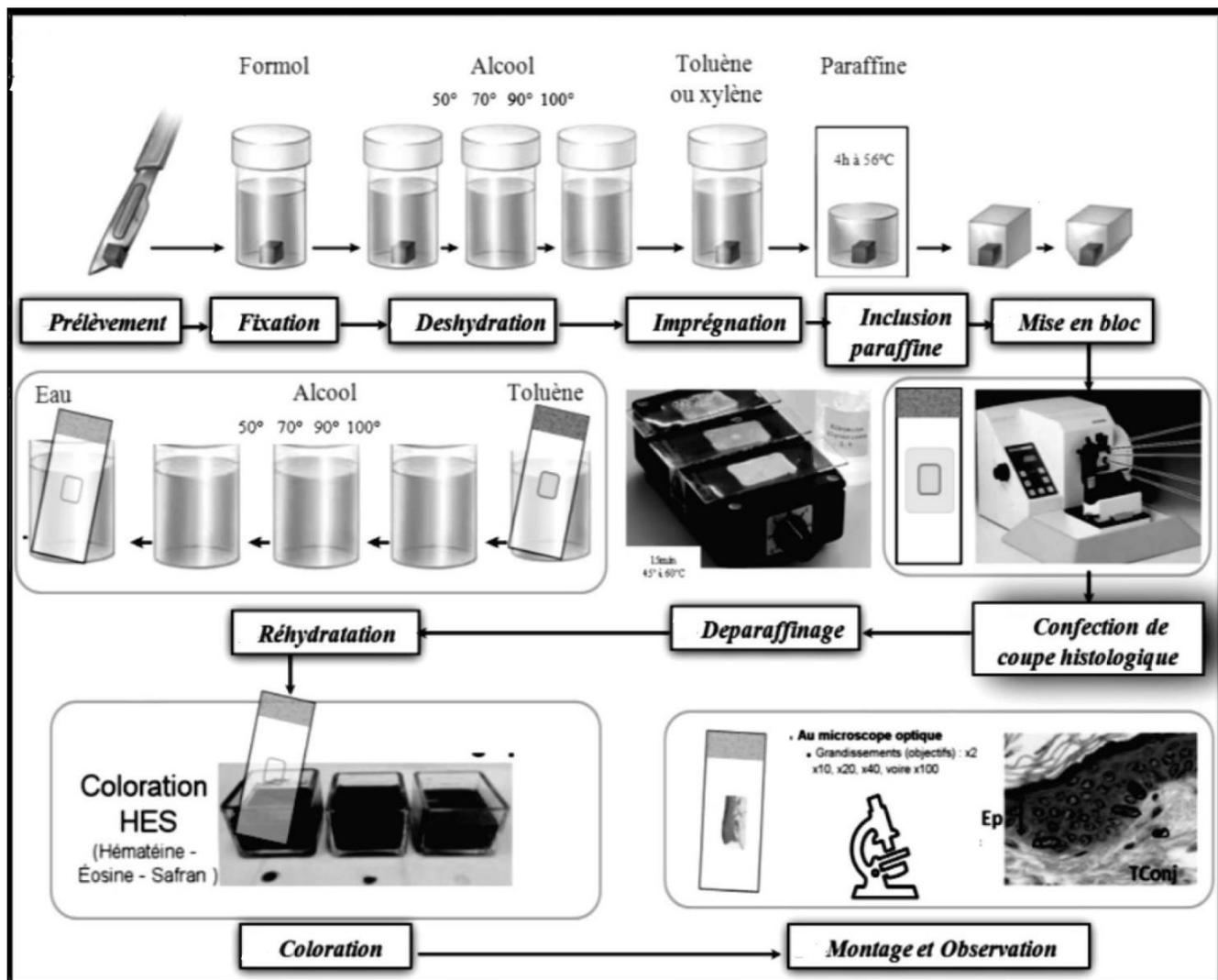


Figure 8 : schéma récapitulatif des étapes de l'étude anatomopathologique

II.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 :

- Une localisation précise de certaines protéines.
- L'étude de leur siège.
- L'évaluation de leur expression.

Dans notre travail, l'intérêt de l'immunohistochimie est de rechercher la présence ou l'absence des protéines P53, BCL2 et KI 67 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

- **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

- **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

- **Refroidissement :**

Les lames sont refroidies sur la pailasse 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 :

-Dépôt une compresse humide sur les lames

-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, anti-p53 et anti-Ki67).

-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 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 marronne.

-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.

5- 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).

6- Montage :

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

Voir tableau des réactifs utilisés (**Annexe 6**).

7- Interprétation :

Nous avons interprété nos résultats sous microscope suivant le grade des patients avec plusieurs grossissements différents avec l'aide du Dr Mesbah.

II.2.3/ Etude des prélèvements sanguins :

Réalisation du bilan biologique des patients SGS :

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

On a prélevé pour chaque patient 02 tubes comme suit :

- 01 tube EDTA
- 01 tube héparinate de lithium.

A) Bilan biochimique :

Principe de dosage des paramètres biochimiques :

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

enzymatiques peuvent être suivies par spectrophotométrie en observant l'apparition d'un produit ou la disparition d'un substrat.

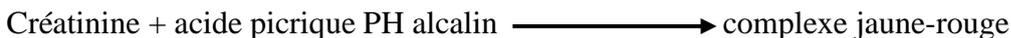
Les différents principes de dosage de l'étude :

- **L'urée :**

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

- **La créatinine sanguine :**

Selon **Ghermi et al (2009)** la méthode de Jaffé décrite pour la première fois en 1886, dans une solution alcaline, la créatinine réagit avec le picrate pour former un produit jaune-rouge selon la réaction suivante :

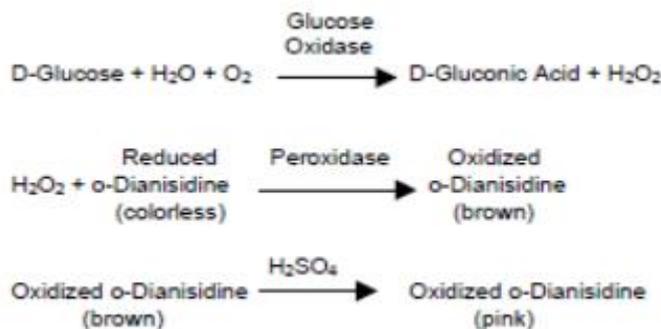


La vitesse de formation de colorant (intensité de la couleur) est directement proportionnelle à la concentration de créatinine de l'échantillon. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 512 nm. Cette méthode a été minutieusement décrite pour ses avantages : simplicité de détermination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

- **La glycémie :**

La glycémie correspond à la concentration de glucose dans le sang d'un individu. Elle est exprimée soit en g.L-1 (ou en mmol. L1)

Presque toutes les techniques actuelles reposent sur l'utilisation de la glucose-oxydase, couplée à une réaction colorimétrique :



On mesure alors l'absorbance de la solution après réaction colorimétrique à la longueur d'onde 540nm, celle-ci est proportionnelle à la concentration de glucose présente dans la solution testée.

Mode opératoire :

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

- Etiqueter les tubes par des codes à barres spécifiques
- Centrifuger les tubes héparines à 3000 tr/min
- Placer les tubes centrifugés dans les portoirs d'échantillons de l'automate **U4A80 - BECKMAN COULTER**
- Déposer des portoirs au niveau de l'automate de manière à orienter son étiquette code-barres vers l'avant de l'instrument.
- Attendre la fin de l'analyse.
- Retirer les portoirs d'échantillons à la fin de l'analyse.

Impression des résultats.

Valeurs normales tableau : (**Annexe 7**)

Chapitre :
Résultats et discussion

III/Résultats et discussion**III.1/ Caractérisation de la population étudiée :****III.1.1/ Répartition des patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjögren selon le sexe**

Nos résultats démontent, que le SGS affecte plus les femmes que les hommes (**Figure 9**).

La répartition de notre série de patients a révélé une importante prédominance féminine, avec une fréquence de 90%, soit (9 femmes) par rapport aux hommes qui représentent 10 % (1 hommes) de l'ensemble des patients 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**).

Des études ont ainsi incriminé les hormones stéroïdiennes et plus précisément une carence œstrogénique (**Porola et al., 2007**). 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 et al., 1999**).

De même, la prolactine, hormone pro-inflammatoire, est un stimulateur du système immunitaire. Certaines études rapportent que le couple œstrogène/prolactine pourrait intervenir au cours de la réponse immunitaire et donc jouer un rôle dans le développement du syndrome de Gougerot-Sjögren (**taim et al ;2004**)

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 δ qui va activer les caspases (**Marie Michele, 2012**) Cette production d'auto-anticorps par déficience en œstrogènes est essentiellement médiée par des cytokines à caractère pro-inflammatoire telles que IL-6, l'IFN γ , ainsi que le TNF- α (**Ishimaru et al., 1999**).

Une augmentation de la sécrétion de l'inteleukine-18 par les cellules épithéliales des glands salivaires et lacrymales conduisant à l'expression membranaire de molécules HLA de classe II et de molécules de co-stimulation notamment CD80, CD86, ICAM a également été décrite (**Ishimaru et al ; 2008**)

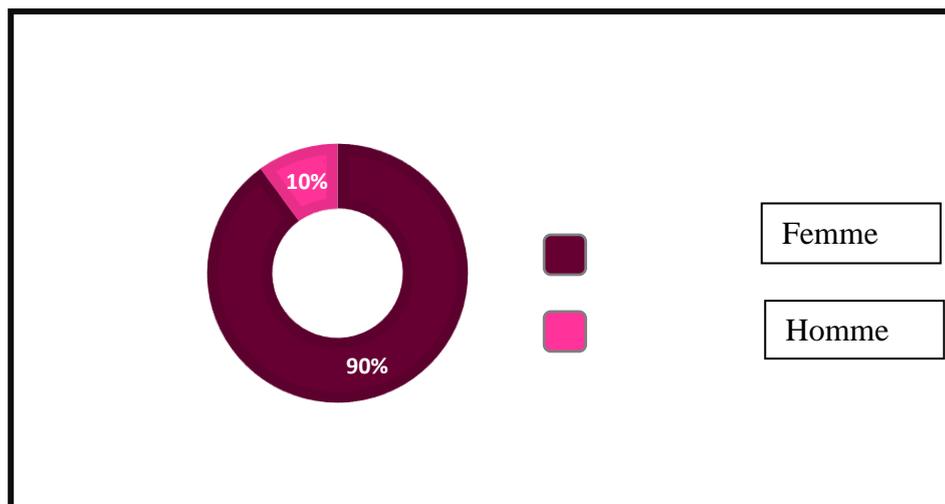


Figure 9 : Répartition des patients Algériens atteints du syndrome de Gougerot Sjögren selon le sexe

III.1.2/ Répartition des patients atteints de syndrome de Gougerot Sjögren selon l'âge :

La moyenne d'âge de nos patients est de 76 ± 53.9 ans. Avec des extrêmes d'âge allant de 28 à 76 ans. Nous avons réparti notre série de patients en trois tranches d'âge : [20-40 ans], [40-60 ans], et [60-80 ans]. La tranche d'âge où la survenue du SGSp a été la plus importante est celle se situant entre 40 à 60 ans avec un pourcentage de 70% (**Figure 10**). Nos résultats corroborent avec les travaux réalisés sur une autre population décrivant que le début du SGSp est survenu après l'âge de 65 ans, L'âge moyen du début du SGSp était de $70,5 \pm 3,1$ ans avec des extrêmes allant de 67 à 77 ans. (**Wafa et al,2015**). Et que le pic d'incidence est situé au voisinage de la ménopause, période durant laquelle le taux d'œstrogène chute ((**Meyer, 2003 ; Castel, 2016**). 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**).

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**). Cependant, il n'est pas exceptionnel d'observer des cas de SGS chez les enfants (**Ruchika et Anupama,2014**).

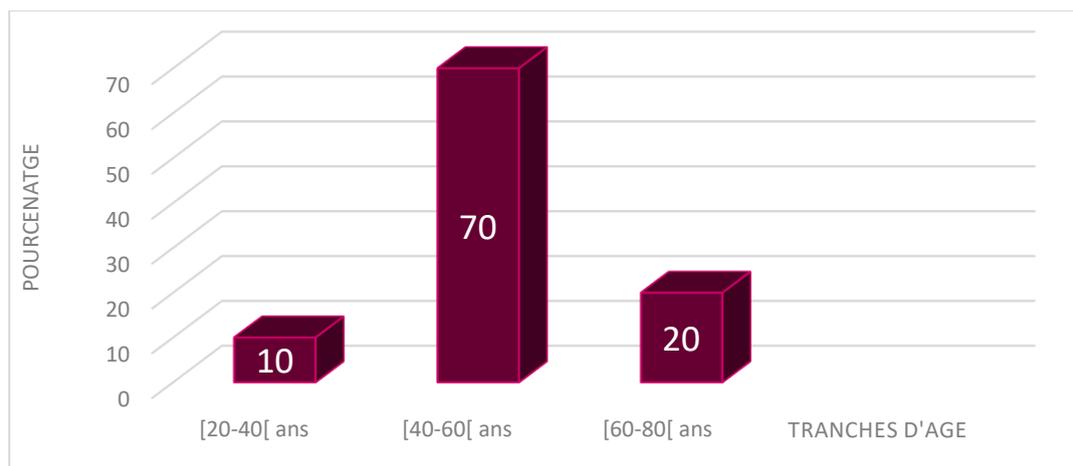


Figure 10 : Répartition des patients atteints du SGS en fonction de l'âge

III.2/ Etude architecturale et structurale des glandes salivaires chez des patients atteints du SGS:

La biopsie des glandes salivaires accessoires est un examen simple, mais essentiel qui permet de savoir s'il y a une véritable inflammation (lymphocytaire) dans les glandes salivaires. L'examen histopathologique recherche des agrégats de cellules inflammatoires mononucléaires de plus de 50 cellules, que l'on considère comme un foyer (focus). Selon la classification de Chisholm et Masson qui comporte 4 stades il n'y a que le score III ou IV (≥ 1 focus/4 mm) qui est retenu comme critère de SGS (**Annexe 9**). Ces 4 stades de Chisholm ne correspondent donc qu'uniquement au degré de l'infiltration du tissu glandulaire par les cellules lymphocytaires, et il n'y a aucune corrélation entre ces stades et la sévérité du syndrome sec ou le nombre et la gravité des éventuelles manifestations systémiques extra glandulaires de la maladie.

Le SGS affecte principalement les glandes exocrines, induisant une fonction sécrétoire compromise et une destruction de tissu épithéliale qui sera infiltré par des cellules lymphocytaires (**Benchabane et al., 2018**) conduisant ainsi à une altération des structures glandulaires (acini et canaux excréteurs) (**Oppliger, 2006**).

L'étude histologique des glandes salivaires accessoires montre un infiltrat lymphocytaire autour des acini et des canaux excréteurs ce qui prouve leur altération puis leur destruction, entraînant ainsi une modification architecturale au niveau des structures exocrines contrairement aux GSA des sujets sains qui possèdent un tissu épithéliale intacte dépourvu d'infiltrat lymphocytaire (**Figures 11 et 12**).

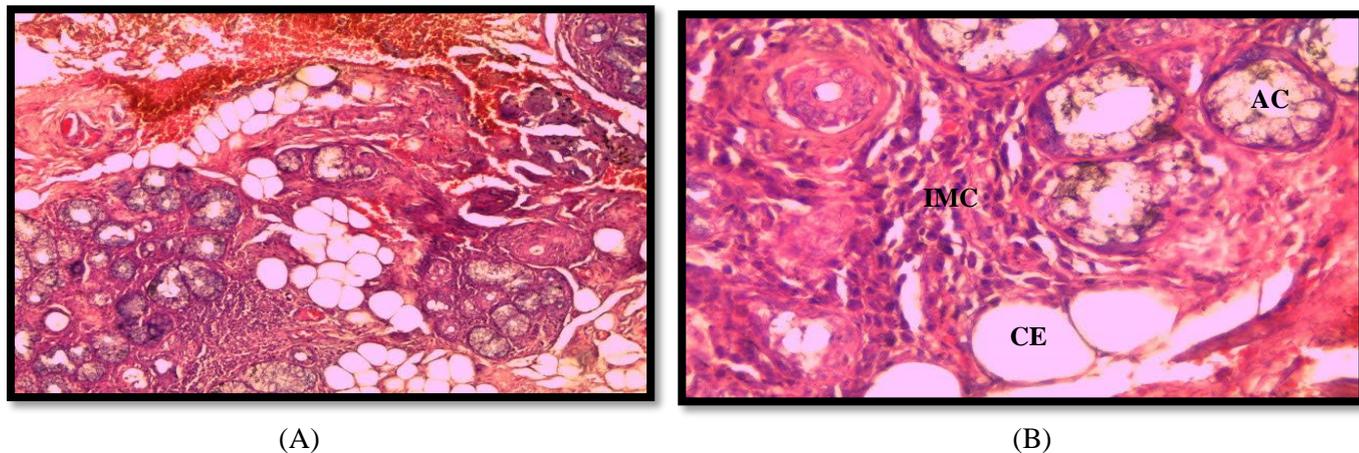


Figure 11 : histologie d'un parenchyme d'une glande salivaire accessoire d'un patient atteint de SGS de grade 3 (coloration HE Gx100 (A) ; Gx400 (B)) (Micrographie originale).

CE : canal excréteur IMC : cellules mononuclées infiltrantes AC : acini

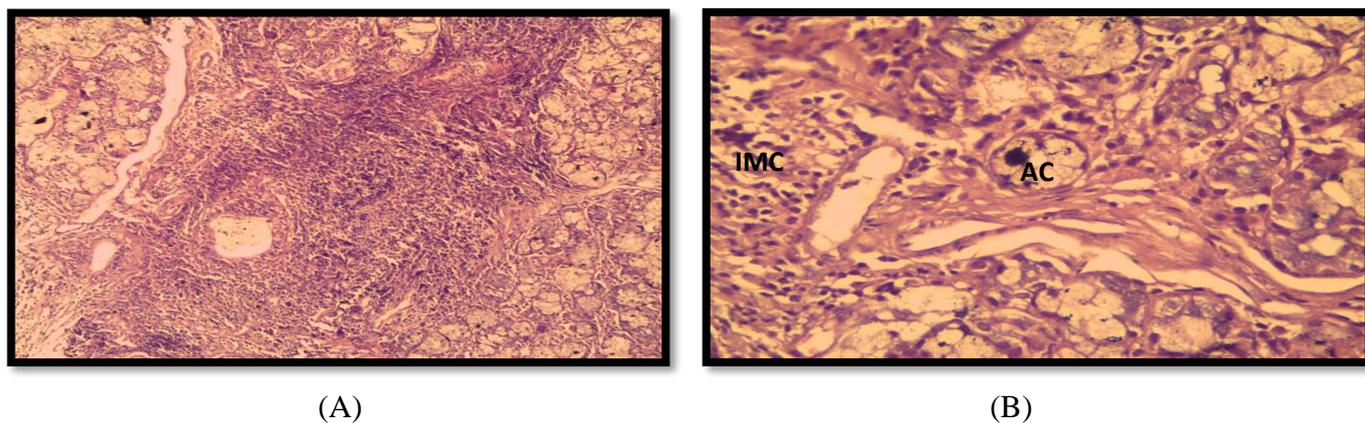


Figure 12 : coupe histologique d'un parenchyme de glande salivaire accessoire d'un patient atteint de SGS de grade 4. (Coloration HE Gx100 (A) ; Gx400 (B)) (Micrographie originale).

III.3/ Expression immunohistochimique de la protéine Bcl-2 au cours du SGS

L'expression de la protéine bcl 2 au niveau des GSA s'est révélée positive chez tous les sujets atteints de SGS de la population étudiée. Cette expression est cytoplasmique, diffuse et son intensité diffère selon le grade du syndrome, elle est plus intense chez les patients atteints de SGS de grade 4 que chez ceux atteints de SGS de grade 3.

La protéine bcl 2 est localisée essentiellement au niveau des cellules mononuclées infiltrantes (IMC), par contre elle est faible, voire, absente au niveau des cellules épithéliales acineuses et canalaire (figures 13,14).

Nos résultats sont en accord avec une autre étude où un niveau élevé de bcl 2 a été décelé dans les IMC des biopsies des GSA des patients atteints de SGS par rapport au niveau de bcl2 dans les cellules épithéliales acineuses et canalaire qui est beaucoup plus faible (Ohlsson et al., 2002). Cette même étude a détecté une faible expression de Bax (une protéine pro apoptotique appartenant à la famille de bcl 2) dans les IMC et une positivité dans les cellules épithéliales acineuses et canalaire aussi bien chez les biopsies GSA des patients atteints de SGS que chez les témoins. 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).

Des études antérieures sur la famille des Bcl-2 régulant l'apoptose ont émis l'hypothèse que la perte de la fonction sécrétoire pendant le SGS est le résultat d'une faible expression de Bcl-2 et d'une forte expression de Bax, et donc d'un risque accru de destruction apoptotique des cellules acineuses médié par Fas (Manganelli et al., 1997 ; Polihronis et al., 1998 ; Kong et al., 1998).

D'une façon concordante il a également été rapporté dans une autre étude qu'au niveau des cellules épithéliales acineuses et canalaire des biopsies des GSA chez les patients atteints de SGS la bcl 2 a été significativement régulée à la baisse tandis que Bax a été significativement régulée à la hausse. Ces résultats suggèrent que la surexpression de différents messages induisant l'apoptose (Fas et Bax) par les cellules épithéliales de patients et la diminution de l'expression de Bcl-2 par ces cellules sont capables de tourner la balance vers l'apoptose

D'autre part, l'expression de Bcl-2 par les IMC des BGSA chez les patients atteints de SGS a été régulée à la hausse. Cette forte expression de Bcl-2 semble expliquer l'inhibition des stimuli apoptotiques donnés par Bax (dont l'expression est également régulée à la hausse dans les cellules infiltrantes mononucléaires dans les biopsies SS MSG) et Fas (Polihronis et al., 19)

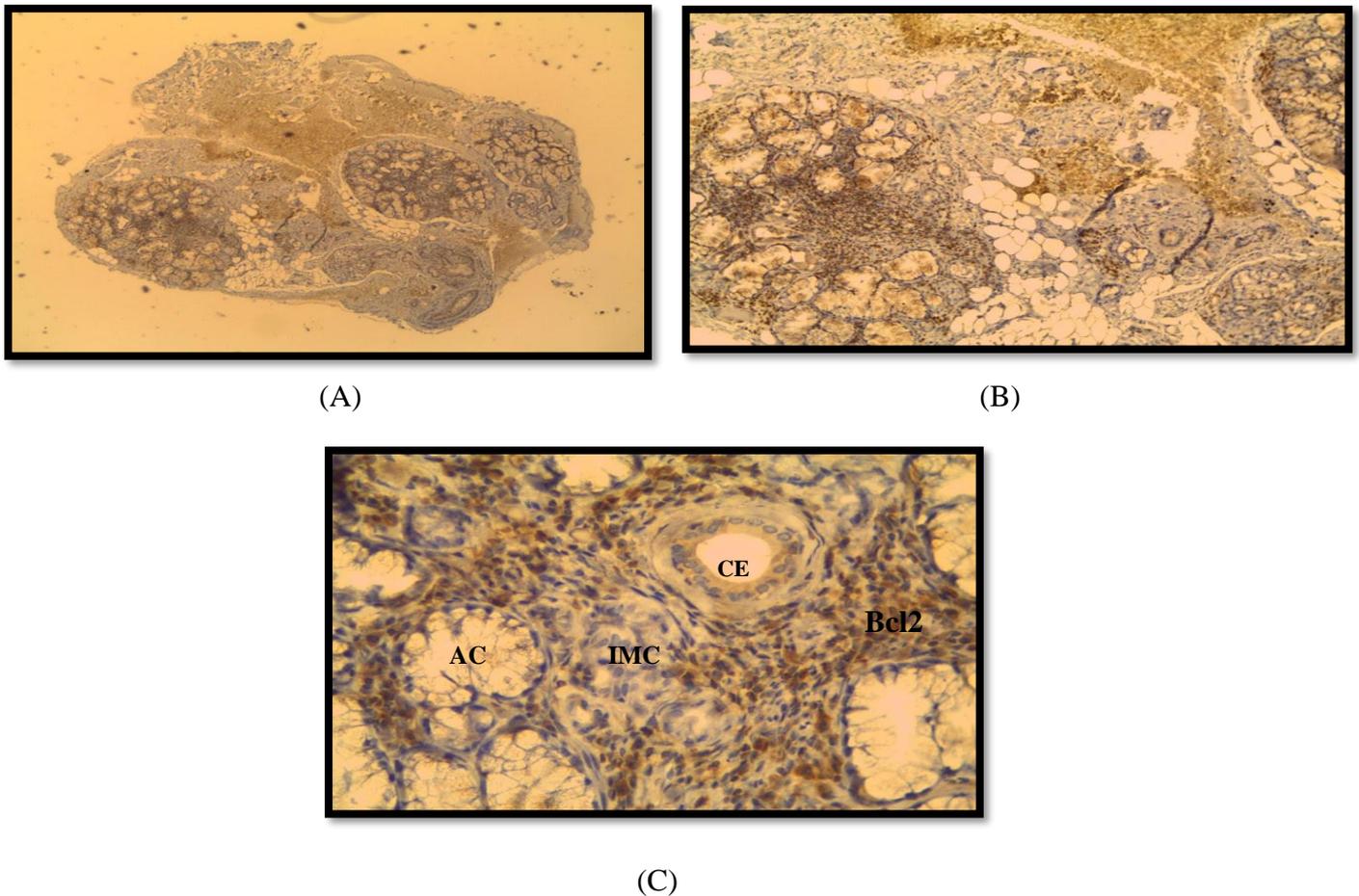


Figure 13 : immunomarquage de la protéine bcl 2 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 3 (Gx40 (A) ; Gx100 (B) ; Gx400 (C)) (Micrographie originale).

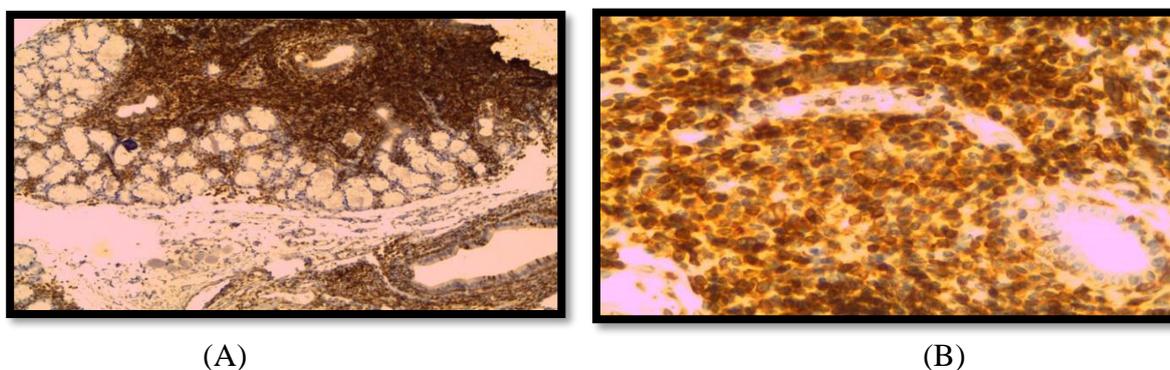


Figure 14 : immunomarquage de la protéine bcl 2 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 4 (Gx100 (A) ; Gx400 (B)) (Micrographie originale).

III.4/ Expression immunohistochimique de la protéine P53 au cours de syndrome de goujerot-sjogren :

Lors de notre observation, l'expression de la protéine p53, qui est une expression à caractère nucléaire, s'est révélée être négative chez les 10 cas de patients SGS et ce aussi bien au niveau des éléments inflammatoires, que dans les cellules épithéliales (canaux excréteurs et acini) (**figures 15,16**).

D'après l'étude de **Jacquin,2014**, la P53 joue un rôle essentiel dans le maintien de l'intégrité du génome dans le but d'empêcher une prolifération cellulaire inappropriée.

La P53 régule donc l'activité des protéines impliquées dans des voies de signalisation conduisant à l'arrêt du cycle cellulaire réversible), associé à la réparation de l'ADN si elle est nécessaire et possible, ou bien à la mort cellulaire par apoptose si les dommages cellulaires sont trop importants.

En fonction des dommages cellulaires, la p53 peut induire un arrêt transitoire du cycle cellulaire en phase G1 empêchant à l'ADN endommagé d'être répliqué, un arrêt en phase G2 permettant la suspension du cycle avant la mitose ou un arrêt irréversible du cycle cellulaire. (**Jacquin,2014**).

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.

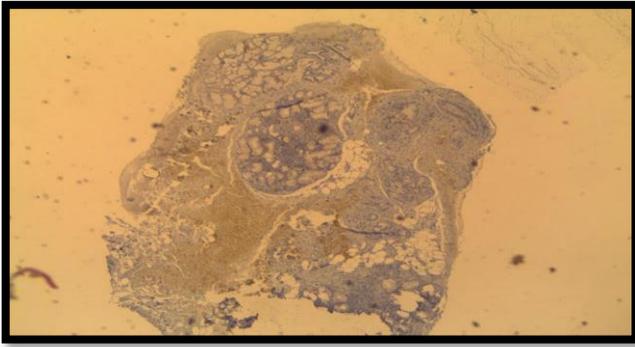
Uniquement deux travaux internationaux ont évalué l'expression de la protéine p53 dans les GSA des patients SGS. Cependant, les résultats obtenus dans ces deux études sont contradictoires.

En effet, nos résultats 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 (IMC) et des cellules acineuses dans la plus grande majorité des GSA des patients SGS, alors que les témoins sains étaient tous négatifs pour la p53.

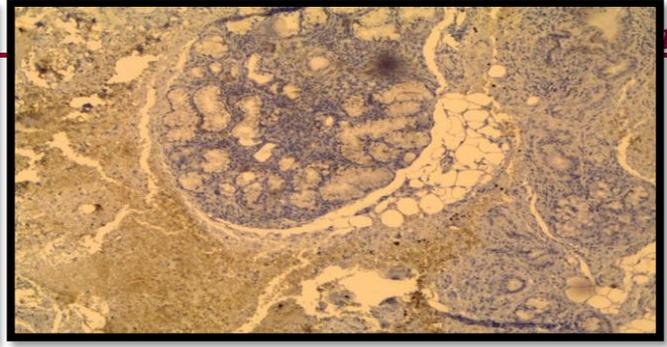
Cette même étude rapporte que la protéine p53 est un facteur de transcription, suppresseur de tumeur, pouvant réguler à la fois l'expression des gènes Bcl-2 et Bax, et ayant été détectée dans les noyaux de tumeurs malignes des GS (**Kong et al., 1998**).

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 cette étude, les GS pathologiques révèlent que les cellules canalaire salivaires expriment la protéine p53 chez 9 des 10 patients SGS, et seulement un des 10 des contrôles, tandis que p21 a été détectée dans huit des 10 patients SGS et de deux des 10 contrôles. La p53 et p21 ont été localisées dans les mêmes cellules canalaire chez les patients SGS. Suggérant ainsi que l'expression de la P53 puisse être un mécanisme défensif qui donne du temps aux cellules canalaire de réparer l'ADN et d'empêcher l'apoptose.

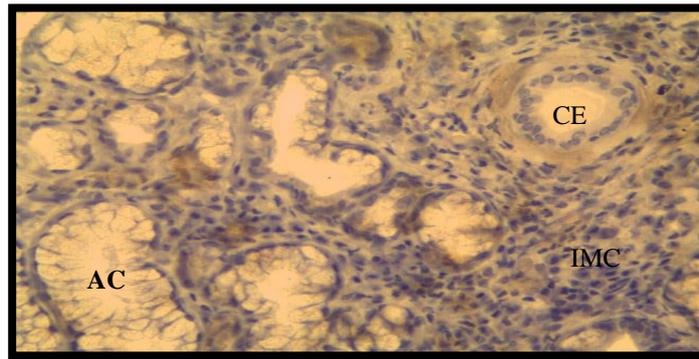
De plus, l'absence de surexpression de la P53 dans les cellules acineuses pourrait être l'un des principaux mécanismes de destruction de l'acinus par apoptose dans le SGS et pourrait être cible de nouvelles thérapies (**Mariette et al.,2002**).



(A)

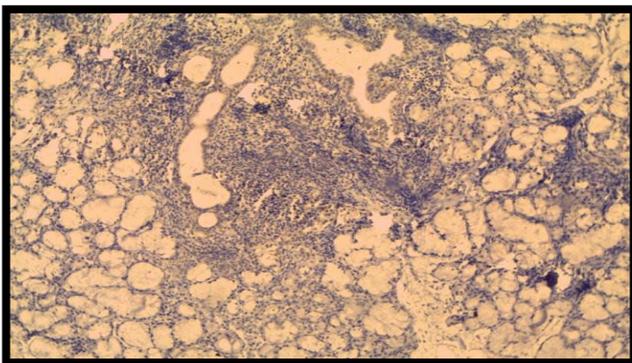


(B)

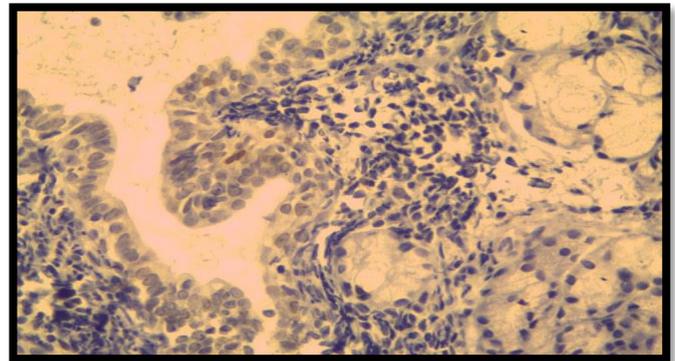


(C)

Figure 15 : immunomarquage de la protéine P53 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 3 (Gx40 (A) ; Gx100 (B) ; Gx400 (C)) (Micrographie originale).



(A)



(B)

Figure 16 : immunomarquage de la protéine P53 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 4 (Gx100 (A) ; Gx400 (B)) (Micrographie originale).

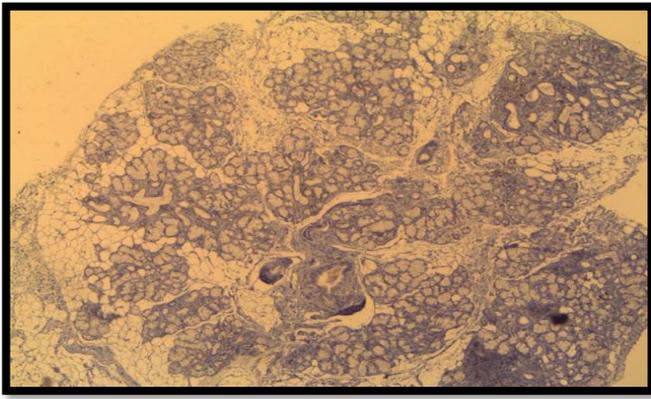
III.5/ Expression immunohistochimique de la protéine ki67 au cours de syndrome de goujerot-sjogren :

Selon les résultats de notre étude, la protéine ki67 a été retrouvée chez tous les patients de la population étudiée. Elle est estimée à 20% au niveau de l'infiltrat inflammatoire et totalement absente au niveau des acini et des canaux excréteurs (**Figures 17,18**). Nos résultats sont en accord avec une autre étude qui a montré que la protéine ki67 a été principalement détectée le long des infiltrats de cellules inflammatoires et des épithéliums canaux et absente dans les cellules acineuses (**Pacheco et al., 2008**)

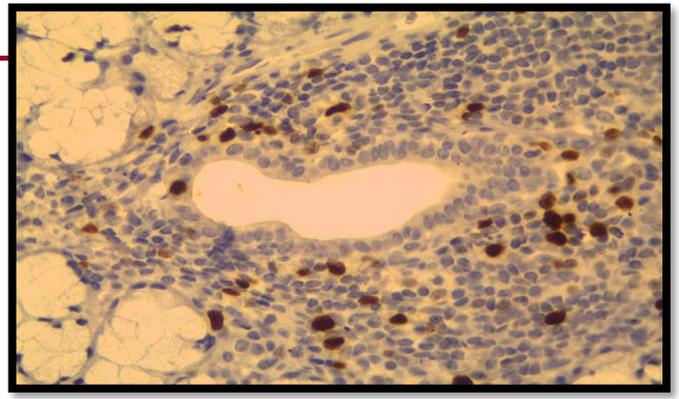
Les premières études visant à déchiffrer le rôle fonctionnel de la protéine Ki67 dans les cellules en prolifération ont suggéré que cette protéine était nécessaire pour le cycle cellulaire. En effet il a été rapporté que la synthèse de l'ADN pourrait être inhibée dans les cellules en culture à la suite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

Cependant, certains rapports ont suggéré une implication potentielle de Ki67 dans la synthèse de l'ARNr en participant à la biogénèse des ribosomes favorisant la prolifération cellulaire (**Mrouj,2018**). Une autre étude récente qui avait pour but de déterminer le rôle du Ki67 dans le pronostic des lymphomes B centrofolliculaires cutanés a apporté que Le Ki67 qui n'entrait habituellement pas en compte dans les facteurs pronostics de ce type de lymphome était né en moins supérieur à 90 %, et qu'une étude menée sur les lymphomes malins non Hodgkinien mettait en évidence une survie à 1 an de 18 % des patients avec un Ki67 supérieur à 80 %, contre 82 % des patients avec un Ki67 inférieur à 80 %. (**Brunet et al ; 2015**)

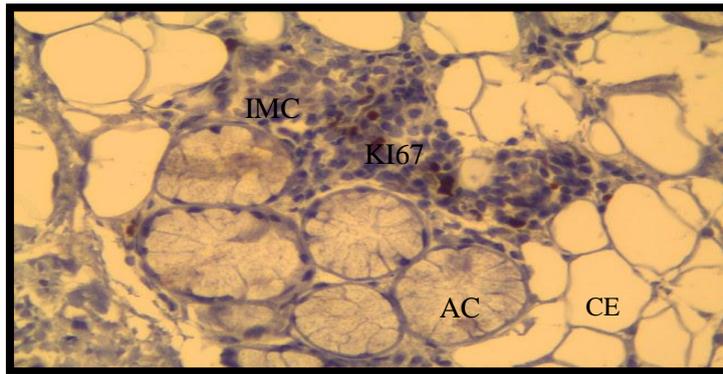
La valeur pronostique de Ki67 pour la survie globale et la survie sans maladie a été prouvée par un grand nombre d'études C'est la raison pour laquelle Ki67 semble être une méthode de mesure de la prolifération qui pourrait être utile dans la pratique clinique (**Kontzoglou et al., 2013**).



(A)

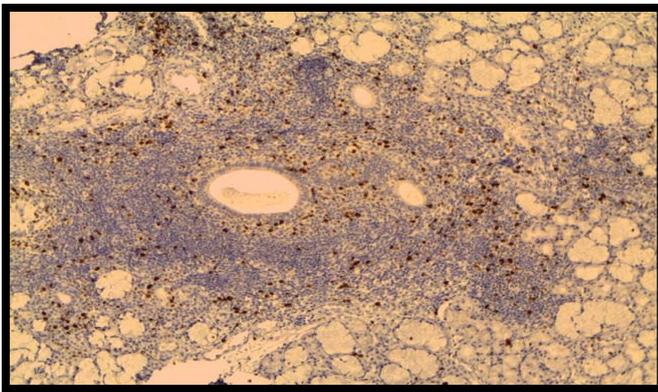


(B)

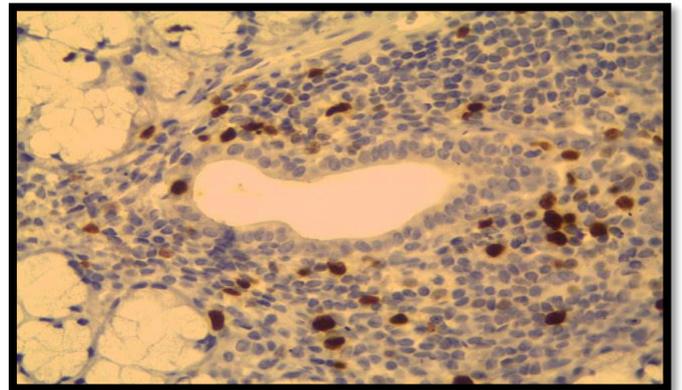


(C)

Figure 17 : immunomarquage de la protéine ki67 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 3 (Gx40 (A) ; Gx100 (B) ; Gx400 (C)) (Micrographie originale).



(A)



(B)

Figure 18 : immunomarquage de la protéine ki67 au niveau des glandes salivaires accessoires chez un patient atteint de SGS de grade 4 (Gx100 (A) ; Gx400 (B)) (Micrographie originale).

III.6/ Interprétation du bilan rénal :

D’après **Damak et al., 2016**, l’atteinte rénale au cours du SGSp est souvent sous-estimée, sa recherche doit être systématique afin de prévenir les complications potentiellement graves. Nos résultats ne montrent pas une différence significative (**Figure 19,20**) et ils sont contradictoires par rapport au résultat trouvé précédemment chez une autre population décrivant une baisse de la créatinine (**Bossini et al., 2001**).

Il y a plusieurs manifestations de l’implication du rein dans les SGSp. Le plus commun est la néphrite interstitielle, caractérisée par un infiltrat interstitiel, conduisant à des lésions tubulaires. En effet, il a été rapporté qu’environ 30% des patients atteints de SGSp ont une néphrite interstitielle, mais seulement 5 à 10% des patients présentent des symptômes cliniques (**Moerman et al., 2013**).

Néanmoins, l’atteinte rénale dans le SGSp diffère de celle du LED, car elle est typiquement caractérisée par une néphrite interstitielle et associée à une acidose systémique, de faibles taux de protéinurie ainsi qu’à une perte progressive de la fonction rénale (**Mariette et Criswell, 2018**).

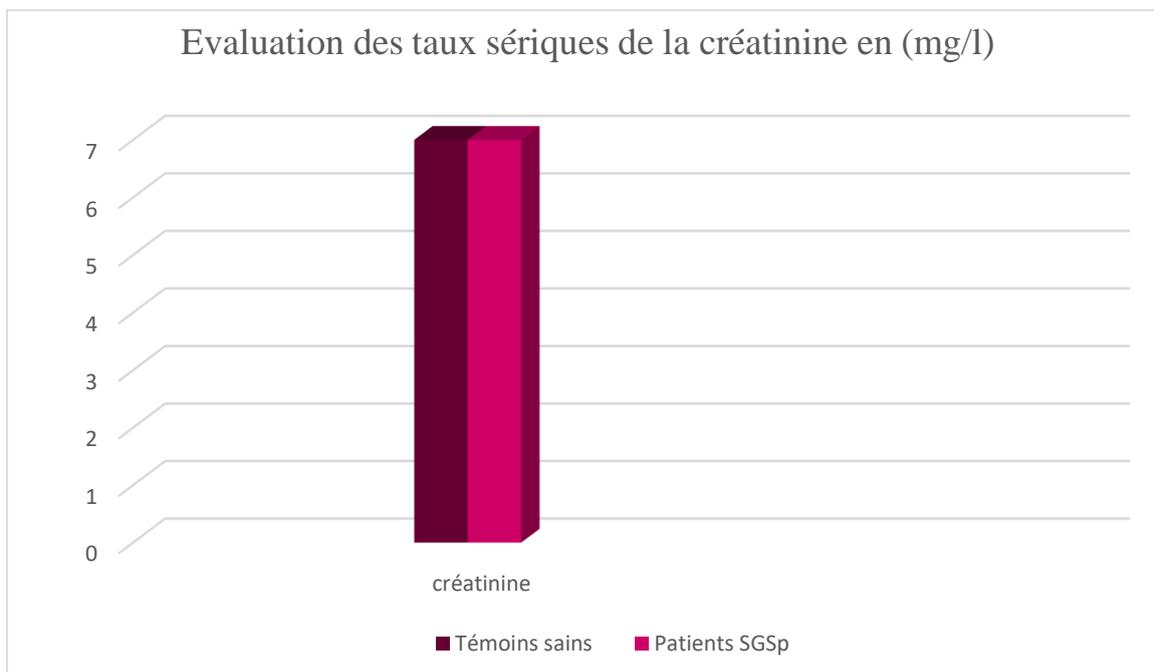


Figure 19 : Evaluation des taux sériques de la créatinine chez les patients atteints du SGSp et les témoins.

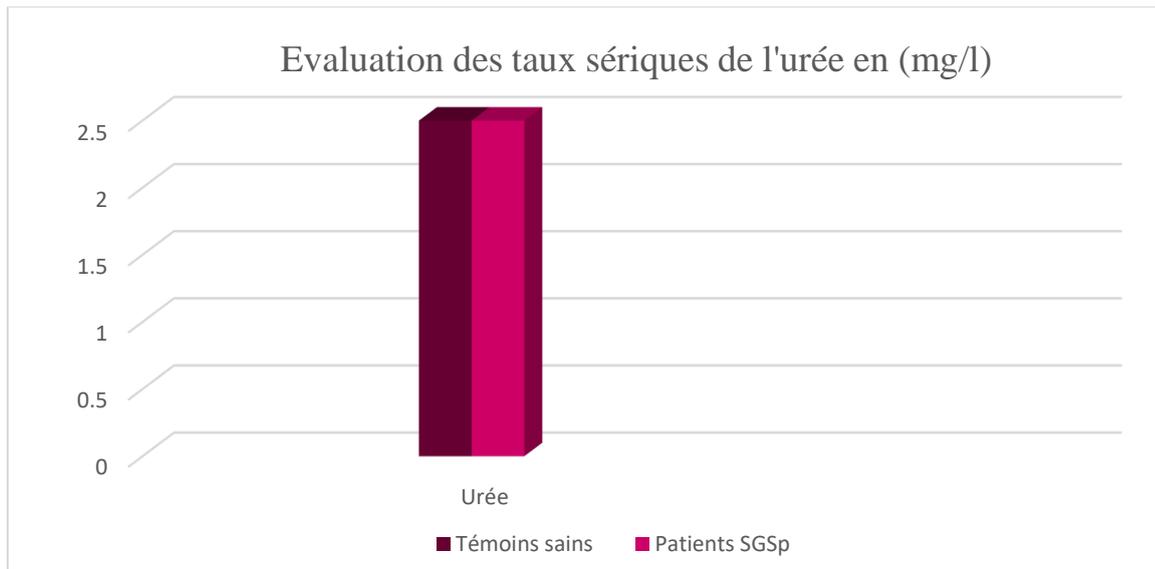


Figure 20 : Evaluation des taux sériques de l’urée chez les patients atteints du SGSp et les témoins.

III.7/ Interprétation du bilan glycémique :

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



Figure 21 : Evaluation du taux sérique de la glycémie chez des patients atteints de SGS et des témoins.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Le syndrome de SGS est une maladie inflammatoire auto-immune caractérisée d'une xérophtalmie (tarissements des larmes) et une xérostomie (disparition de la sécrétion salivaire).

Nos résultats montrent que le SGS touche principalement les femmes essentiellement en tranche d'âge de péri-ménopause.

L'étude histologique des glandes salivaires accessoires, révèle une infiltration lymphoplasmocytaire engendrant des modifications des structures exocrines (acini et canaux excréteur).

De plus, il a été constaté au cours de l'étude immunohistochimique que les cellules mononuclées infiltrantes des glandes salivaires pathologiques expriment fortement l'antigène Bcl-2 ce qui les protège de l'apoptose, alors que les cellules épithéliales acineuses n'expriment pas cet antigène et donc peuvent subir une apoptose. L'expression du ki67 au niveau des cellules mononuclées infiltrantes est un signe de prolifération de ces dernières.

L'absence de la protéine p53 dans toutes les glandes pathologiques ainsi que dans les témoins, démontre que l'expression de bcl 2 se produirait par un mécanisme indépendant de la voie p53. Cette absence de surexpression de la P53 dans les cellules acineuses pourrait être l'un des principaux mécanismes de destruction de l'acinus par apoptose dans le SGS et pourrait être cible de nouvelles thérapies.

Les résultats du bilan biochimique ont révélé une absence totale de toute anomalie.

En perspective, il serait intéressant d'élargir notre échantillon et de cibler d'autres protéines intervenant au cours de l'apoptose afin de mieux définir le rôle de ce processus au cours de ce syndrome.

Références Bibliographiques

A.

Albagli, O., & Pelczar, H. (2019). Ki67 : un surfactant des chromosomes mitotiques. *Médecine/sciences*, 35(10), 732-735.

Ameisen, J. C. (1996). Le suicide des cellules. *Pour la science*, 224, 52-59.

Andrès, E., Weitten, T., Federici, L., Mecili, M., Ciobanu, E., Vogel, T., & Maloïsel, F. (2008). Neutropénie de l'adulte et du sujet âgé. *Médecine thérapeutique*, 14(5), 314-321.

Ashkenazi, A. (2002). Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily. *Nature Reviews Cancer*, 2(6), 420-430.

B.

Baatout S., Derradji, H., Petitfour, O., Suchodoletz, H. V., & Mergeay, M. (2002). Mécanismes de l'apoptose radio-induite. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 80(7), 629-637.

Ballouch, L., Hommadi, A., Karouach, A., & Bamou, Y. (2007, September). Cryoglobulinémie de type I engendrant un accident vasculaire cérébral ischémique. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 65, No. 5, pp. 563-568).

Bennaser M., Jaziri F., Rouached L., Aoudia R., El leuch M., Mahfoudhi M. & Abdallah T.B. (2016) Atteinte rénale cours de syndrome de Gougerot Sjögren. *La Revue de Médecine Interne*, (37), A160-A161.

Boise, L. H., and Thompson, C. B. (1997). Bcl-x(L) can inhibit apoptosis in cells that have undergone Fas-induced protease activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 3759-64.

Bordron, A., Charras, A., Le Dantec, C. & Renaudineau, Y. (2018). Épigénome et syndrome de Gougerot-Sjögren. *La Revue de Médecine Interne*, 39(5), 346-351

Bouali, S. (2008). Transfert des gènes p53 et pten par vectorisation non virale: effet pro-apoptotique et potentialisation de la réponse cellulaire au cétuximab (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).

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.

Brown, D. C., & Gatter, K. C. (2002). Ki67 protein: the immaculate deception? *Histopathology*, 40(1), 2-11.

Brunet.A, Rioli D.I, NajiE.M, Wierzbicka-HainautG.Guillet Rôle du Ki67 dans le pronostic des lymphomes B centrofolliculaires cutanés. (2015)

C.

Castel C. (2016) Les thérapeutiques du syndrome de Gougerot-Sjögren. Thèse de doctorat. Université du droit et de la santé de Lille 2

Chapman, Aervedo, AM (2018), "article-29386", Splenomegaly, Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing, PMID 28613657, retrieved 2019-02-26

Chittenden, T., Harrington, E. A., O'Connor, R., Flemington, C., Lutz, R. J., Evan, G. I., and Guild, B. C. (1995). Induction of apoptosis by the Bcl-2 homologue Bak. *Nature* 374, 733-6.

Cidado, J., Wong, H. Y., Rosen, D. M., Cimino-Mathews, A., Garay, J. P., Fessler, A. G., ... & Zabransky, D. J. (2016). Ki-67 is required for maintenance of cancer stem cells but not cell proliferation. *Oncotarget*, 7(5), 6281.

Conus, S., Kaufmann, T., Fellay, I., Otter, I., Rosse, T., and Borner, C. (2000). Bcl-2 is a monomeric protein: prevention of homodimerization by structural constraints. *Embo J* 19, 1534-44

Crestani B. & Schneider S. (2006) Les atteintes respiratoires au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren. *Revue Maladies Respiratoire*, 23(6), 751-3.

Crestani, B., Schneider, S., Adle-Biassette, H., Debray, M. P., Bonay, M., & Aubier, M. (2007). Manifestations respiratoires au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren. *Revue Des Maladies Respiratoires*, 24(4), 535–551.

D.

Delalande, S., De Seze, J., Ferriby, D., & Vermersch, P. (2010). Les manifestations neurologiques du syndrome de Gougerot-Sjögren. *La Revue de Médecine Interne*, 31, S8–S15.

Denuelle, M., Bouloche, N., Payoux, P., Trotter, Y., Fabre, N., & Géraud, G. (2008). La photophobie chez le migraineux : une étude en TEP. *Revue Neurologique*, 164, 13-14.

Desprez J., Galicier L., Goudemand J., Quemeneur T., Vrigneaud L. & Coppo P. (2013) Purpura thrombotique thrombocytopénique associé au syndrome de Gougerot- Sjögren primitif. *Néphrologie & Thérapeutique*, 5(9), 325.

Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R et al (2011). Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the international Ki67 in breast cancer working group. *J Natl Cancer Inst* 103(22):1656– 1664.

Ducloy-Bouthors, A. S., Valat, A. S., Wibaut, B., Tournoy, A., Caulier, M. T., & Gaucher, A. (2001). Thrombopénie obstétricale : diagnostic et conduite à tenir. Arnette, editor. MAPAR, 153-65.

E.

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 (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

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 (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

F.

Farrow, S. N., White, J. H., Martinou, I., Raven, T., Pun, K. T., Grinham, C. J., Martinou, J. C., and Brown, R. (1995). Cloning of a bcl-2 homologue by interaction with adenovirus E1B 19K [published erratum appears in Nature 1995 Jun 1;375(6530):431]. *Nature* 374, 731-3

Fields, S. and S. K. Jang (1990). "Presence of a potent transcription activating sequence in the p53 protein." *Science* 249(4972): 1046-9.

Fouzia Hakkou*, Saliha Chbicheb, Wafae El Wady. (2011). Syndrome de Gougerot-Sjögren : manifestations buccales et prise en charge. Service d'Odontologie chirurgicale, CCTD, Rabat, Maroc (Reçu le 12 août 2011, accepté le 3 octobre 2011).

Fox RI, Kang H.I. Pathogenesis of sjogren's syndrome. 1992. *Rheum Dis Clin North Amer* 18 : 517-38.

G.

Garciaz, S., Coso, D., Brice, P., & Bouabdallah, R. (2016). Lymphomes hodgkiniens et non hodgkiniens des adolescents et des jeunes adultes. *Bulletin du Cancer*, 103(12), 1035-1049.

Garrido, C., Galluzzi, L., Brunet, M., Puig, P. E., Didelot, C., & Kroemer, G. (2006). Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria. *Cell Death & Differentiation*, 13(9), 1423-1433.

Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H (1983). Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 31(1):13–20

Gerdes J, Stein H, Pileri S, Rivano MT, Gobbi M, Ralfkiaer E, Nielsen KM, Pallesen G, Bartels H, Palestro G, Delsol G (1987). Prognostic relevance of tumour-cell growth fraction in malignant nonHodgkin's lymphomas. *Lancet* 2(8556):448–449.

Gillies L.A and Tomomi Kuwana., 2014. Apoptosis Regulation at the Mitochondrial outer Membrane. *Journal of cellular Biochemistry* 115 :632-640.

Guellec D, Cornec D, Jousse-Joulin S, Marhadour T, Marcorelles P, Pers JO, Saraux A, Devauchelle-Pensec V, « Diagnostic value of labial minor salivary gland biopsy for Sjögren's syndrome : a systematic review, » *Autoimmun Revue*, vol. 12, pp. 416-420, 2013.

Guggenbuhl, P., Jean, S., Jegou, P., Grosbois, B., Chales, G., Semana, G. & Perdriger, A. (1998). Primary Sjögren's syndrome: role of the HLA-DRB1* 0301-* 1501 heterozygotes. *The Journal of rheumatology*, 25(5), 900-905.

H.

Hofmann K, Bucher P (September 1995). "The FHA domain: a putative nuclear signalling domain found in protein kinases and transcription factors". *Trends in Biochemical Sciences*. 20 (9) : 347–9.

Hollstein, M., Marion, M. J., Lehman, T., Welsh, J., Harris, C. C., Martel-Planche, G., ... & Montesano, R. (1994). p53 mutations at A: T base pairs in angiosarcomas of vinyl chloride-exposed factory workers. *Carcinogenesis*, 15(1), 1-3.

Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B., & Harris, C. (1991). "p53 mutations in human cancers." *Science* 253(5015) : 49-53.

Hopper, J. E., Broach, J. R., & Rowe, L. B. (1978). Regulation of the galactose pathway in *Saccharomyces cerevisiae*: induction of uridyl transferase mRNA and dependency on GAL4 gene function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(6), 2878-2882.

I.

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

J.

Jousse-joulin S. (2015) L'échographie des glandes salivaires. *Revue du Rhumatisme Monographies*, 82(4), 212-216.

K.

Kassan SS, Moutsopoulos HM. Clinical manifestations and early diagnosis of Sjögren syndrome. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1275-84.

Kaufmann, S. H., & Earnshaw, W. C. (2000). Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. *Experimental cell research*, 256(1), 42-49.

Kausch I, Lingnau A, Endl E, et al: Antisense treatment against Ki-67 mRNA inhibits proliferation and tumor growth in vitro and in vivo. *Int J Cancer*. 105:710–716. 2003

Kelekar, A., and Thompson, C. B. (1998). Bcl-2-family proteins: the role of the BH3 domain in apoptosis. *Trends Cell Biol* 8, 324-30.

Kerr J. F., Wyllie, A. H., & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 26, 239-57.

Khosravi-Far, R. (2004). Death receptor signals to the mitochondria. *Cancer biology & therapy*, 3(11), 1051-1057.

Kiefer, M. C., Brauer, M. J., Powers, V. C., Wu, J. J., Umansky, S. R., Tomei, L. D., and Barr, P. J. (1995). Modulation of apoptosis by the widely distributed Bcl-2 homologue Bak. *Nature* 374, 736-9

Kluck, R. M., Bossy-Wetzell, E., Green, D. R., and Newmeyer, D. D. (1997). The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis [see comments]. *Science* 275, 1132-6

Kong L, Ogawa N, McGuff HS et al. Bcl-2 family expression in salivary glands from patients with primary Sjögren's syndrome: involvement of Bax in salivary gland destruction. *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 88: 133– 41.]

Kontzoglou, K., Palla, V., Karaolani, G., Karaiskos, I., Alexiou, I., Pateras, I., ... & Stamatakis, M. (2013). Correlation between Ki67 and breast cancer prognosis. *Oncology*, 84(4), 219-225.

Kroemer, G. (2003). Mitochondrial control of apoptosis: an introduction. Biochemical and biophysical research communications, 304(3), 433-435.

L.

La Revue de Médecine Interne Volume 19, Issue 5, May 1998, Pages 319-324

Lai, Y., & Dong, C. (2015). Therapeutic antibodies that target inflammatory cytokines in autoimmune diseases. International Immunology, 28(4), 181–188.

Le Guern, V., & Mouthon, L. (2011). Syndrome de Gougerot-Sjögren et lymphomes : de la physiopathologie au traitement. La Presse Médicale, 40(12), 1113–1119.

Léger, D. (2006). Etude des voies de signalisation cellulaire au cours de l'apoptose et de la différenciation mégacaryocytaire induites par la diosgénine dans la lignée érythroleucémique humaine HEL: rôle anti-apoptotique du léflunomide et voies de transduction du signal activées dans des lignées leucémiques humaines (Doctoral dissertation, Limoges).

Li, L. T., Jiang, G., Chen, Q., & Zheng, J. N. (2015). Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer. Molecular medicine reports, 11(3), 1566-1572.

M.

Manganelli P, Quaini F, Andreoli AM et al. Quantitative analysis of apoptosis and bcl-2 in Sjögren's syndrome. J Rheumatol 1997; 24: 1552– 7

Marchetti, P. (2005). L'apoptose: bases fondamentales et applications médicales. Gynécologie obstétrique & fertilité, 33(9), 632-641.

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

Martel, C., Jauberteau, M.-O., Vidal, E., & Fauchais, A.-L. (2014). Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren primitif. La Revue de Médecine Interne, 35(8), 524–530.

Martel, C., Jauberteau, M.-O., Vidal, E., & Fauchais, A.-L. (2014). Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren primitif. La Revue de Médecine Interne, 35(8), 524–530.

Meyer, O. (2005). Lupus érythémateux systémique. EMC-Rhumatologie-Orthopédie, 2(1), 1-32.

Morel, J., Miossec, P., & Combe, B. (2004). Immunopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. EMC-Rhumatologie-Orthopédie, 1(3), 218-230.

Mrouj,A.(2018). Functional analysis of the proliferation antigen, KI-67 roles in cancer. Agricultural sciences. Université Montpellier. English. NNT: 2018MONTT006. tel- 01834620

N.

Nakano T, Ohno T, Ishikawa H, et al: Current advancement in radiation therapy for uterine cervical cancer. J Radiat Res. 51:1–8. 2010

Nigro, J. M., Baker, S.J., Presinger, A.C., Jessup, J.M., Hosteller, R., Cleary, K., ... Vogelstein, B. (1989). Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. Nature, 342(6250):705–708.

O.

Ohlsson, M., Szodoray, P., Loro, L. L., Johannessen, A. C., & Jonsson, R. (2002). CD40, CD154, Bax and Bcl-2 expression in Sjögren's syndrome salivary glands: a putative anti-apoptotic role during its effector phases. *Scandinavian journal of immunology*, 56(6), 561-571.

Oltvai, Z. N., and Korsmeyer, S. J. (1994). Checkpoints of dueling dimers foil death wishes [comment]. *Cell* 79, 189-92

Oltvai, Z. N., Milliman, C. L., and Korsmeyer, S. J. (1993). Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74, 609-19.

P.

Pacheco-Tovar, D., & Avalos-Díaz, E. Rafael Herrera-Esparza, JuanJosé Bollain-y-Goytia, Claudia Ruvalcaba, MaGuadalupe Ruvalcaba. Apoptose et prolifération cellulaire: le paradoxe des glandes salivaires dans la maladie de Sjögren. 2008; 33 (3): 299-303.

Parisis D, Chivasso C, Perret J, Soyfoo MS, Delporte C. État actuel des connaissances sur le syndrome de Sjögren primaire, une exocrinopathie auto-immune. *Journal de médecine clinique*. MDPI AG; 20 juillet 2020; 9 (7): 2299.

Patel, YI et McHugh, NJ (2000). Apoptose-nouveaux indices sur la pathogenèse du syndrome de Sjögren? *Rhumatologie* , 39 (2), 119-121.

Polihronis M, Tapinos NI, Theocharis SE, Economou A, Kittas C, Moutsopoulos HM. Modes of epithelial cell death and repair in Sjögren's syndrome (SS). *Clin Exp Immunol* 1998; 114: 485– 90

R.

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

Régent, A., Kluger, N., Bérezné, A., Lassoued, K., & Mouthon, L. (2012). Démarche diagnostique devant une lymphopénie : quand penser à la lymphopénie CD4+ idiopathique ? *La Revue de médecine interne*, 33(11), 628-634.

Revol P, Devoize L, Deschaumes C, Barthélémy I, Baudet-Pommel M, Mondié JM.(2005). « Stomatologie gériatrique, » EMC – Stomatologie, vol. 1, n° 14, pp. 295-317.

Ron, D., & Habener, J. F. (1992). CHOP, a novel developmentally regulated nuclear protein that dimerizes with transcription factors C/EBP and LAP and functions as a dominant-negative inhibitor of gene transcription. *Genes & development*, 6(3), 439-453.

S.

Saikumar, P., Dong, Z., Mikhailov, V., Denton, M., Weinberg, J. M., & Venkatachalam, M. A. (1999). Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease. *The American journal of medicine*, 107(5), 489-506.

Saraux, A., (2010). Approche thérapeutique du syndrome de Gougerot-Sjögren. *La revue de médecine interne*, 31, S1, 16-17

Schlüter, C., Duchrow, M., Wohlenberg, C., Becker, M. H., Key, G., Flad, H. D., & Gerdes, J. (1993). The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. *The Journal of cell biology*, 123(3), 513-522.

Scholzen T, Gerdes J: The Ki67 protein: from the known to the unknown. *J Cell Physiol* 2000;182:311–322.].

Sedlak, T. W., Oltvai, Z. N., Yang, E., Wang, K., Boise, L. H., Thompson, C. B., and Korsmeyer, S. J. (1995). Multiple Bcl-2 family members demonstrate selective dimerizations with Bax. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 7834-8.

Segbena, A. Y., Kueviakue, M., Vovor, A., Tataganagbi, K., Assimadi, K., Napo-Koura, G. A., & Kpodzro, K. (1997). Le lymphome de BURKITT au Togo. Aspects épidémiologique, clinique thérapeutique et évolutif. *Médecine d'Afrique noire*, 44(3), 141-145.

Sun, X., & Kaufman, P. D. (2018). Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*, 127(2), 175-186.

Syndrome de Sjögren : quand le suspecter et comment le confirmer ?)(Drs AIKATERINI LIAPI a , ALICE HORISBERGERa , Pr FRANÇOIS SPERTINI a et Dr CAMILLO RIBI (2016). a *Rev Med Suisse* ; 12 : 698-702)

T.

Tsujimoto, Y., and Shimizu, S. (2000). Bcl-2 family: life-or-death switch. *FEBS Lett* 466, 6-10.

V.

Vaillant L., Le Dû S. (2007).Syndrome de Gougerot-Sjögren. In: *Manifestations dermatologiques des connectivites, vasculites et affections systémiques apparentées*. Springer, Paris.

Vander Heiden, M. G., Chandel, N. S., Williamson, E. K., Schumacker, P. T., and Thompson, C. B. (1997). Bcl-xL regulates the membrane potential and volume homeostasis of mitochondria [see comments]. *Cell* 91, 627-37

Vitali C., Bombardieri S., Jonsson R., Moutsopoulos H.M., Alexander E.L., Carsons S. E. (2002). « Classification criteria for Sjögren's syndrome : a revised version of the European criteria proposed by the American– European Consensus Group, » *Ann Rheum Dis*, vol. 61, pp. 554-558

W.

White, E. (1996). Life, death, and the pursuit of apoptosis. *Genes & development*, 10(1), 1-15.

Y.

Yang, E., and Korsmeyer, S. J. (1996). Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death. *Blood* 88, 386-401.

Yang, J., Liu, X., Bhalla, K., Kim, C. N., Ibrado, A. M., Cai, J., Peng, T. I., Jones, D. P., and Wang, X. (1997). Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked [see comments]. *Science* 275, 1129-32.

Youinou P, Mariette X. Immunopathologie du syndrome de Gougerot Sjögren. La Rev Prat 2001, 51 : 165-70.

Youinou, P. (2003) Avancées biologiques dans le syndrome de Gougerot-Sjögren primaire. Bio trib. mag. 7, 26–28 .

Youinou, P., & Pers, J.-O. (2016). Le syndrome de Gougerot-Sjögren primitif : une actualisation. Revue Du Rhumatisme, 83(3), 166–168.

Annexes

Annexe I : les critères de gravité de la sécheresse

1. Les médicaments

- ✓ *Les neuroleptiques (benzodiazépines)*
- ✓ *Les antidépresseurs : IMAO (inhibiteurs de monoamine oxydase), tricycliques*
- ✓ *Les antihistaminiques*
- ✓ *L'alpha et bêta bloquants*
- ✓ *Les antiparkinsoniens*
- ✓ *Les opiacés*
- ✓ *Les inhibiteurs calciques*
- ✓ *L'atropine (antispasmodique qui bloque la stimulation aux réponses cholinergiques)*

2. Antécédents de radiothérapie

3. Vieillessement

4. Tabac

5. Etat anxio-dépressif

6. Sarcoïdose (maladie inflammatoire systémique qui touche préférentiellement les poumons)

7. Le vent

8. Longue exposition à la télévision ou PC.

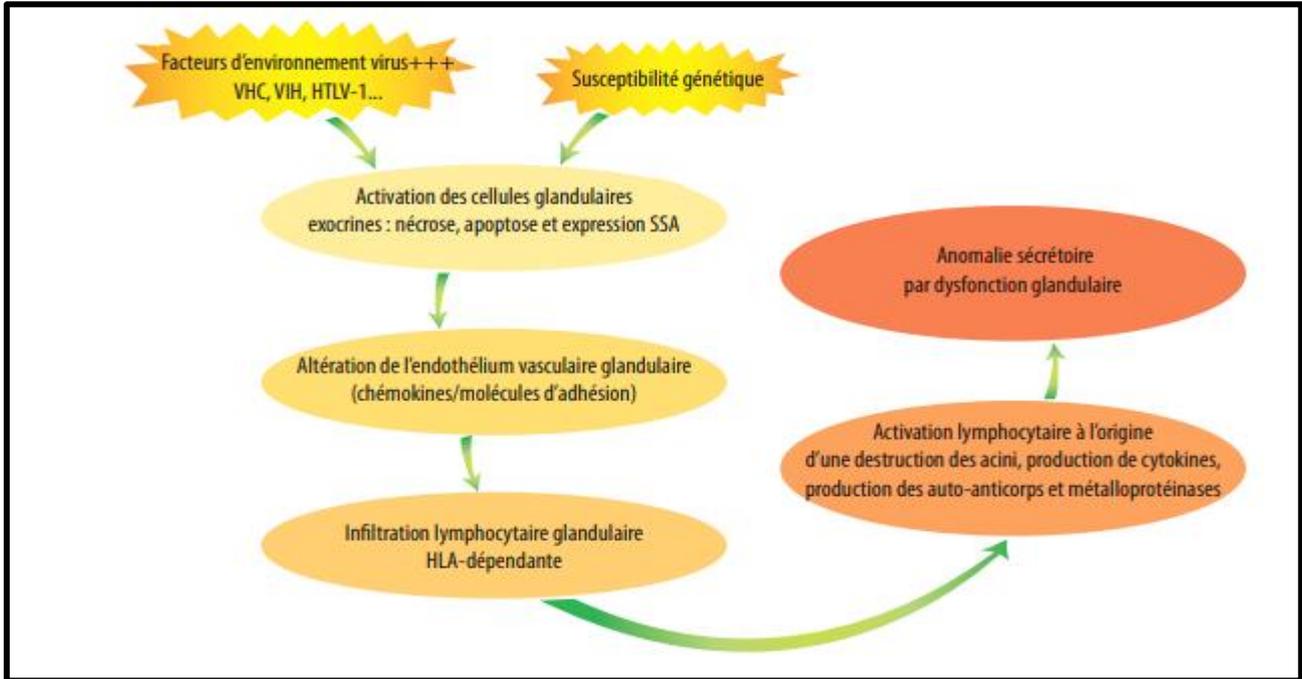
Annexes

*Annexe II : **Tableau 1** : Critères de classification issus du consensus américano-européen. [27] (Vitali et al., 2002).05*

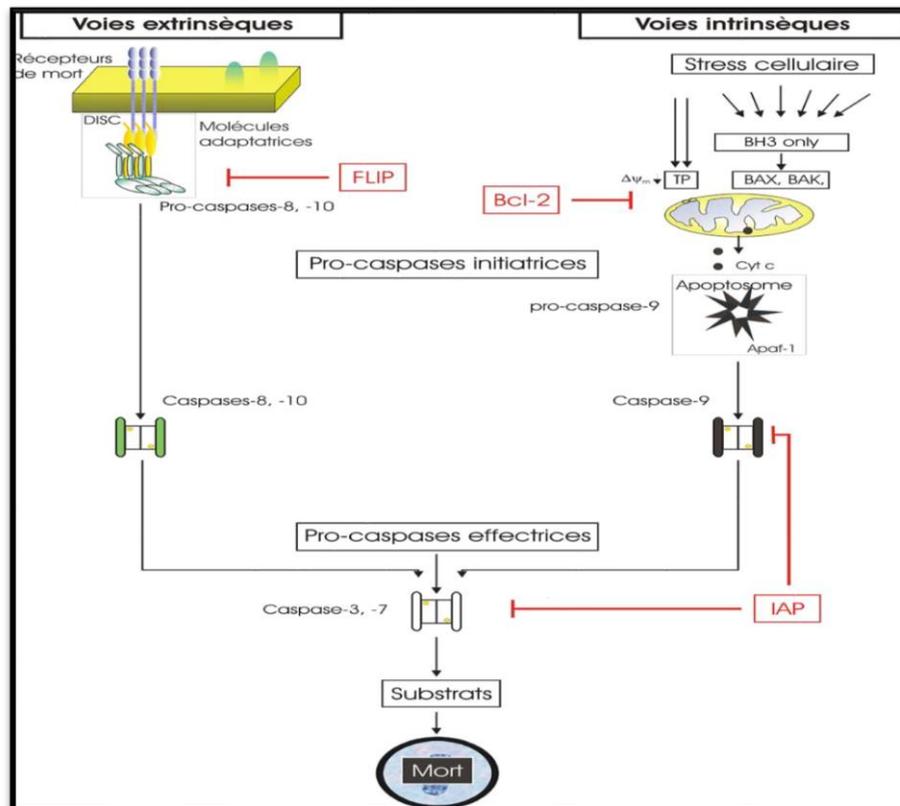
<p>1. Symptômes oculaires</p>	<p>Une réponse positive à au moins une des 3 questions suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> . Avez-vous eu les yeux secs de façon quotidienne gênante et persistante depuis plus de 3 mois ? . Avez-vous la sensation récidivante d'avoir du sable ou du gravier dans les yeux ? . utilisez-vous des larmes artificielles plus de 3 fois par jour?
<p>2. Symptômes buccaux</p>	<p>Une réponse positive à au moins une des 3 questions suivantes :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Avez-vous eu quotidiennement une sensation de bouche sèche depuis plus de 3 mois ? 2. Avez-vous eu à l'âge adulte un gonflement des glandes salivaires persistant ou récidivant ? 3. Utilisez-vous souvent des liquides pour vous aider à avaler les aliments secs ?
<p>3. Signes oculaires : atteinte oculaire objective et évidente définie par un résultat positif à au moins un des 2 tests suivants :</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Test de Schirmer, sans anesthésie (< ou = à 5 mm en 5 minutes) 2. Score de Rose de Bengale (> ou = à 4 selon le score Van Bijsterveld)
<p>4. Données histopathologies : Score focal > ou = à 1 à la biopsie des glandes salivaires mineures</p>	<p>Un foyer est défini par l'agglomération d'au moins 50 cellules mononuclées. Le score focal est défini par le nombre de foyers sur 4 mm de tissu glandulaire.</p>
<p>5. Atteinte des glandes salivaires : atteinte objective et évidente des glandes salivaires définie par au moins un test positif parmi les 3 tests suivants :</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Scintigraphie salivaire 2. Sialographie des parotides 3. Débit salivaire sans stimulation (< 1,5 ml en 15 minutes)
<p>6. Autoanticorps : présence d'au moins un type des anticorps sériques suivants :</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Anti-SSA 2. anti-SSB

Annexes

Annexe III : pathogénie dy SGS (vaillant et al du ,2007)

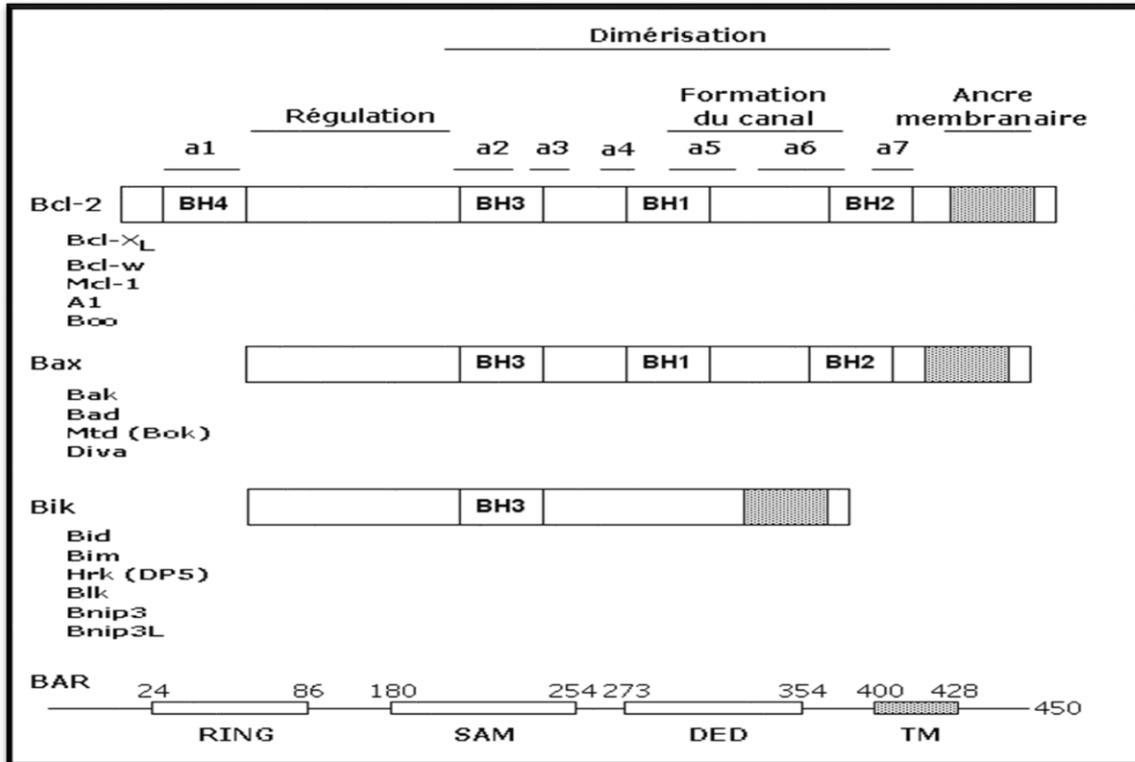


Annexe IV : Représentation simplifiée des voies apoptotiques extrinsèques et intrinsèques qui conduisent à la mort de la cellule. (Marchetti, 2005).



Annexes

Annexe V : Représentation schématique des membres de la famille Bcl-2



Annexe VI : Les réactifs utilisés en immunohistochimie :

Annexes

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

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

<i>Paramètres</i>	<i>Normes femmes</i>	<i>Normes hommes</i>
Urée	0,15 -0,42 g/l	0,18 - 0,45 g/l
Créatinine	4 - 10 mg/l	6 -12 mg/l
Glycémie	0.8 -1,26 g/l	0.8 -1,26 g/l

Annexes

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

<u>Stade</u>	<u>Cotation histologique de Chisholm et Masson</u>
0	<i>Glande normale, pas d'infiltrat</i>
1	<i>Infiltrat léger</i>
2	<i>Infiltrat moyen comportant moins d'un foyer par 4mm²</i>
3	<i>1foyer par 4mm²</i>
4	<i>Plusieurs foyers par 4mm mm²</i>

Annexe IX : matériel non biologique



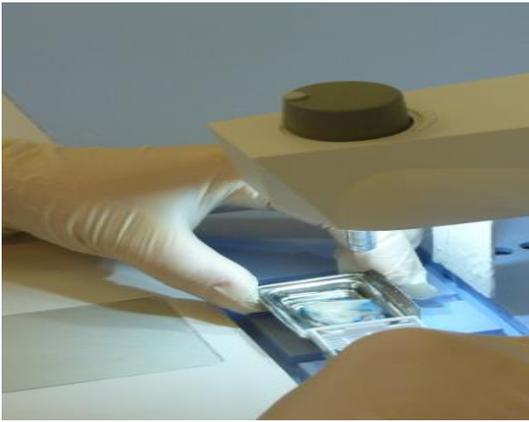
Centrifugeuse médicale de laboratoire



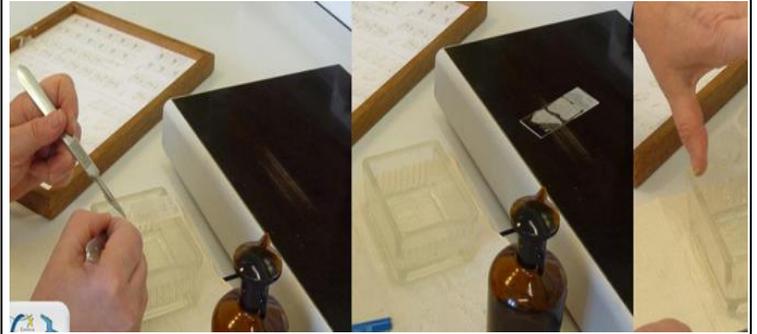
Automate de biochimie

U4A80 - BECKMAN COULTER

Annexes



Appareil Enrobage



Etalement