



Faculté des sciences
médicales et paramédicales
Aix-Marseille Université

**Intérêt de la détection d'une clonalité B au sein des glandes salivaires
accessoire dans l'évaluation du risque de lymphome au cours
du syndrome de Gougerot Sjögren.**

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES

DE MARSEILLE

Le 17 Octobre 2019

Par Monsieur Antoine POULET

Né le 9 août 1990 à Nancy (54)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de MÉDECINE INTERNE

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur KAPLANSKI Gilles

Président

Madame le Docteur BENYAMINE Audrey

Directeur

Monsieur le Professeur GABERT Jean

Assesseur

Monsieur le Professeur DANIEL Laurent

Assesseur

Monsieur le Professeur COSTELLO Régis

Assesseur

AIX-MARSEILLE UNIVERSITE

Président : Yvon BERLAND

FACULTE DES SCIENCES MEDICALES ET PARAMEDICALES

Doyen Georges LEONETTI

Vice-doyen aux Affaires Générales et aux Sciences Médicales : Patrick DESSI
Vice-doyen aux Sciences Paramédicales : Philippe BERBIS

Direction d'école :

- **Ecole de Médecine** : Jean-Michel VITON
- **Ecoles de Maïeutique** : Carole ZAKARIAN
- **Ecoles des Sciences de la Réadaptation** : Philippe SAUVAGEON
- **Ecoles des Sciences Infirmières** : Sébastien COLSON

Assesseurs :

- aux Etudes : Kathia CHAUMOITRE
- à la Recherche : Jean-Louis MEGE
- aux Prospectives Hospitalo-Universitaires : Frédéric COLLART
- aux Enseignements Hospitaliers : Patrick VILLANI
- à l'Unité Mixte de Formation Continue en Santé : Fabrice BARLESI
- pour le Secteur Nord : Stéphane BERDAH
- aux centres hospitaliers non universitaires : Jean-Noël ARGENSON

Chargés de mission :

- 1^{er} cycle : Jean-Marc DURAND et Marc BARTHET
- 2^{ème} cycle : Marie-Aleth RICHARD
- 3^{ème} cycle DES/DESC : Pierre-Edouard FOURNIER
- Licences-Masters-Doctorat : Pascal ADALIAN
- DU-DIU : Véronique VITTON
- Stages Hospitaliers : Franck THUNY
- Sciences Humaines et Sociales : Pierre LE COZ
- Préparation à l'ECN : Aurélie DAUMAS
- Démographie Médicale et Filiation : Roland SAMBUC
- Relations Internationales : Philippe PAROLA
- Etudiants : Arthur ESQUER

Chef des services généraux : Déborah ROCCHICCIOLI

Chefs de service :

- Communication : Laetitia DELOUIS
- Examens : Caroline MOUTTET
- Intérieur : Joëlle FAVREGA
- Maintenance : Philippe KOCK
- Scolarité : Christine GAUTHIER

DOYENS HONORAIRES

M. Yvon BERLAND
M. André ALI CHERIF
M. Jean-François PELLISSIER

PROFESSEURS HONORAIRES

MM	AGOSTINI Serge	MM	FAVRE Roger
	ALDIGHIERI René		FIECHI Marius
	ALESSANDRINI Pierre		FARNARIER Georges
	ALLIEZ Bernard		FIGARELLA Jacques
	AQUARON Robert		FONTES Michel
	ARGEME Maxime		FRANCOIS Georges
	ASSADOURIAN Robert		FUENTES Pierre
	AUFFRAY Jean-Pierre		GABRIEL Bernard
	AUTILLO-TOUATI Amapola		GALINIER Louis
	AZORIN Jean-Michel		GALLAIS Hervé
	BAILLE Yves		GAMERRE Marc
	BARDOT Jacques		GARCIN Michel
	BARDOT André		GARNIER Jean-Marc
	BERARD Pierre		GAUTHIER André
	BERGOIN Maurice		GERARD Raymond
	BERNARD Dominique		GEROLAMI-SANTANDREA André
	BERNARD Jean-Louis		GIUDICELLI Roger
	BERNARD Pierre-Marie		GIUDICELLI Sébastien
	BERTRAND Edmond		GOUDARD Alain
	BISSET Jean-Pierre		GOUIN François
	BLANC Bernard		GRILLO Jean-Marie
	BLANC Jean-Louis		GRISOLI François
	BOLLINI Gérard		GROULIER Pierre
	BONGRAND Pierre		HADIDA/SAYAG Jacqueline
	BONNEAU Henri		HASSOUN Jacques
	BONNOIT Jean		HEIM Marc
	BORY Michel		HOUEL Jean
	BOTTA Alain		HUGUET Jean-François
	BOURGEADE Augustin		JAQUET Philippe
	BOUVENOT Gilles		JAMMES Yves
	BOUYALA Jean-Marie		JOUVE Paulette
	BREMOND Georges		JUHAN Claude
	BRICOT René		JUIN Pierre
	BRUNET Christian		KAPHAN Gérard
	BUREAU Henri		KASBARIAN Michel
	CAMBOULIVES Jean		KLEISBAUER Jean-Pierre
	CANNONI Maurice		LACHARD Jean
	CARTOUZOU Guy		LAFFARGUE Pierre
	CAU Pierre		LAUGIER René
	CHABOT Jean-Michel		LE TREUT Yves
	CHAMLIAN Albert		LEVY Samuel
	CHARREL Michel		LOUCHET Edmond
	CHAUVEL Patrick		LOUIS René
	CHOUX Maurice		LUCIANI Jean-Marie
	CIANFARANI François		MAGALON Guy
	CLEMENT Robert		MAGNAN Jacques
	COMBALBERT André		MALLAN- MANCINI Josette
	CONTE-DEVOLX Bernard		MALMEJAC Claude
	CORRIOL Jacques		MARANINCHI Dominique
	COULANGE Christian		MARTIN Claude
	DALMAS Henri		MATTEI Jean François
	DE MICO Philippe		MERCIER Claude
	DESSEIN Alain		METGE Paul
	DELARQUE Alain		MICHOTEY Georges
	DEVIN Robert		MILLET Yves
	DEVRED Philippe		MIRANDA François
	DJIANE Pierre		MONFORT Gérard
	DONNET Vincent		MONGES André
	DUCASSOU Jacques		MONGIN Maurice
	DUFOUR Michel		MONTIES Jean-Raoul
	DUMON Henri		NAZARIAN Serge
	ENJALBERT Alain		NICOLI René

MM NOIRCLERC Michel
OLMER Michel
OREHEK Jean
PAPY Jean-Jacques
PAULIN Raymond
PELOUX Yves
PENAUD Antony
PENE Pierre
PIANA Lucien
PICAUD Robert
PIGNOL Fernand
POGGI Louis
POITOUT Dominique
PONCET Michel
POUGET Jean
PRIVAT Yvan
QUILICHINI Francis
RANQUE Jacques
RANQUE Philippe
RICHAUD Christian
RIDINGS Bernard
ROCHAT Hervé
ROHNER Jean-Jacques
ROUX Hubert
ROUX Michel
RUFO Marcel
SAHEL José
SALAMON Georges
SALDUCCI Jacques
SAN MARCO Jean-Louis
SANKALE Marc
SARACCO Jacques
SASTRE Bernard
SCHIANO Alain
SCOTTO Jean-Claude
SEBAHOUN Gérard
SERMENT Gérard
SERRATRICE Georges
SOULAYROL René
STAHL André
TAMALET Jacques
TARANGER-CHARPIN Colette
THOMASSIN Jean-Marc
UNAL Daniel
VAGUE Philippe
VAGUE/JUHAN Irène
VANUXEM Paul
VERVLOET Daniel
VIALETTES Bernard
WEILLER Pierre-Jean

PROFESSEURS HONORIS CAUSA

1967

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

1974

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

1975

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

1976

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

1977

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

1978

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

1980

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

1981

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

1982

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

1985

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

1986

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

1987

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

1988

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

1989

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

1990

MM. les Professeurs J.G. MC LEOD (Australie)
J. PORTER (U.S.A.)

1991

MM. les Professeurs J. Edward MC DADE (U.S.A.)
W. BURGDORFER (U.S.A.)

1992

MM. les Professeurs H.G. SCHWARZACHER (Autriche)
D. CARSON (U.S.A.)
T. YAMAMURO (Japon)

1994

MM. les Professeurs G. KARPATI (Canada)
W.J. KOLFF (U.S.A.)

1995

MM. les Professeurs D. WALKER (U.S.A.)
M. MULLER (Suisse)
V. BONOMINI (Italie)

1997

MM. les Professeurs C. DINARELLO (U.S.A.)
D. STULBERG (U.S.A.)
A. MEIKLE DAVISON (Grande-Bretagne)
P.I. BRANEMARK (Suède)

1998

MM. les Professeurs O. JARDETSKY (U.S.A.)

1999

MM. les Professeurs J. BOTELLA LLUSIA (Espagne)
D. COLLEN (Belgique)
S. DIMAURO (U. S. A.)

2000

MM. les Professeurs D. SPIEGEL (U. S. A.)
C. R. CONTI (U.S.A.)

2001

MM. les Professeurs P-B. BENNET (U. S. A.)
G. HUGUES (Grande Bretagne)
J-J. O'CONNOR (Grande Bretagne)

2002

MM. les Professeurs M. ABEDI (Canada)
K. DAI (Chine)

2003

M. le Professeur Sir T. MARRIE (Canada)
G.K. RADDI (Grande Bretagne)

2004

M. le Professeur M. DAKE (U.S.A.)

2005

M. le Professeur L. CAVALLI-SFORZA (U.S.A.)

2006

M. le Professeur A. R. CASTANEDA (U.S.A.)

2007

M. le Professeur S. KAUFMANN (Allemagne)

PROFESSEURS EMERITE

2008

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

2009

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

2010

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

2011

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

2012

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

2013

M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUF0 Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016

2014

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

2015

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

2016

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

2017

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

2018

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

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert	CHINOT Olivier	GRIMAUD Jean-Charles
ALBANESE Jacques	CHOSSEGROS Cyrille	GROB Jean-Jacques
ALIMI Yves	<i>CLAVERIE Jean-Michel Surnombre</i>	GUEDJ Eric
AMABILE Philippe	COLLART Frédéric	GUIEU Régis
AMBROSI Pierre	COSTELLO Régis	GUIS Sandrine
ANDRE Nicolas	COURBIERE Blandine	GUYE Maxime
ARGENSON Jean-Noël	COWEN Didier	GUYOT Laurent
ASTOUL Philippe	CRAVELLO Ludovic	GUYS Jean-Michel
ATTARIAN Shahram	CUISSET Thomas	HABIB Gilbert
AUDOUIN Bertrand	CURVALE Georges	HARDWIGSEN Jean
AUQUIER Pascal	DA FONSECA David	HARLE Jean-Robert
AVIERINOS Jean-François	DAHAN-ALCARAZ Laetitia	<i>HOFFART Louis Disponibilité</i>
AZULAY Jean-Philippe	DANIEL Laurent	HOUVENAEGHEL Gilles
BAILLY Daniel	DARMON Patrice	JACQUIER Alexis
BARLESI Fabrice	D'ERCOLE Claude	JOURDE-CHICHE Noémie
BARLIER-SETTI Anne	D'JOURNO Xavier	JOUVE Jean-Luc
BARTHET Marc	DEHARO Jean-Claude	KAPLANSKI Gilles
BARTOLI Christophe	DELAPORTE Emmanuel	KARSENTY Gilles
BARTOLI Jean-Michel	DELPERO Jean-Robert	KERBAUL François
BARTOLI Michel	DENIS Danièle	KRAHN Martin
BARTOLOMEI Fabrice	DISDIER Patrick	LAFFORGUE Pierre
BASTIDE Cyrille	DODDOLI Christophe	LAGIER Jean-Christophe
BENSOUSSAN Laurent	DRANCOURT Michel	LAMBAUDIE Eric
BERBIS Philippe	DUBUS Jean-Christophe	LANCON Christophe
BERDAH Stéphane	DUFFAUD Florence	LA SCOLA Bernard
<i>BERLAND Yvon Surnombre</i>	DUFOUR Henry	LAUNAY Franck
BERNARD Jean-Paul	DURAND Jean-Marc	LAVIEILLE Jean-Pierre
BEROUD Christophe	DUSSOL Bertrand	LE CORROLLER Thomas
BERTUCCI François	EUSEBIO Alexandre	LECHEVALLIER Eric
BLAISE Didier	FAKHRY Nicolas	LEGRE Régis
BLIN Olivier	<i>FAUGERE Gérard Surnombre</i>	LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
BLONDEL Benjamin	FELICIAN Olivier	LEONE Marc
BONIN/GUILLAUME Sylvie	FENOLLAR Florence	LEONETTI Georges
BONELLO Laurent	FIGARELLA/BRANGER Dominique	LEPIDI Hubert
BONNET Jean-Louis	FLECHER Xavier	LEVY Nicolas
<i>BOTTA/FRIDLUND Danielle Surnom</i>	FOURNIER Pierre-Edouard	MACE Loïc
BOUBLI Léon	<i>FRANCES Yves Surnombre</i>	MAGNAN Pierre-Edouard
BOUFI Mourad	FRANCESCHI Frédéric	<i>MATONTI Frédéric Disponibilité</i>
BOYER Laurent	FUENTES Stéphane	MEGE Jean-Louis
BREGEON Fabienne	GABERT Jean	MERROT Thierry
BRETELLE Florence	GABORIT Bénédicte	METZLER/GUILLEMAIN Catherine
BROUQUI Philippe	GAINNIER Marc	MEYER/DUTOUR Anne
BRUDER Nicolas	GARCIA Stéphane	MICCALEF/ROLL Joëlle
BRUE Thierry	GARIBOLDI Vlad	MICHEL Fabrice
BRUNET Philippe	GAUDART Jean	MICHEL Gérard
BURTEY Stéphane	GAUDY-MARQUESTE Caroline	MICHEL Justin
CARCOPINO-TUSOLI Xavier	GENTILE Stéphanie	MICHELET Pierre
CASANOVA Dominique	GERBEAUX Patrick	MILH Mathieu
CASTINETTI Frédéric	GEROLAMI/SANTANDREA René	MOAL Valérie
CECCALDI Mathieu	GILBERT/ALESSI Marie-Christine	MONCLA Anne
CHAGNAUD Christophe	GIORGI Roch	MORANGE Pierre-Emmanuel
CHAMBOST Hervé	GIOVANNI Antoine	MOULIN Guy
CHAMPSAUR Pierre	GIRARD Nadine	MOUTARDIER Vincent
CHANEZ Pascal	GIRAUD/CHABROL Brigitte	<i>MUNDLER Olivier Surnombre</i>
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle	GONCALVES Anthony	NAUDIN Jean
CHARREL Rémi	GORINCOUR Guillaume	NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
<i>CHARPIN Denis Surnombre</i>	GRANEL/REY Brigitte	NICOLLAS Richard
CHAUMOITRE Kathia	GRANVAL Philippe	OLIVE Daniel
CHIARONI Jacques	GREILLIER Laurent	OUAFIK L'Houcine

PAGANELLI Franck	ROCHE Pierre-Hugues	THOMAS Pascal
PANUEL Michel	ROCH Antoine	THUNY Franck
PAPAZIAN Laurent	ROCHWERGER Richard	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès
PAROLA Philippe	ROLL Patrice	TRIGLIA Jean-Michel
<i>PARRATTE Sébastien Disponibilité</i>	ROSSI Dominique	TROPIANO Patrick
PELISSIER-ALICOT Anne-Laure	ROSSI Pascal	TSIMARATOS Michel
PELLETIER Jean	ROUDIER Jean	TURRINI Olivier
PERRIN Jeanne	SALAS Sébastien	VALERO René
PETIT Philippe	<i>SAMBUC Roland Surnombre</i>	VAROQUAUX Arthur Damien
PHAM Thao	SARLES Jacques	VELLY Lionel
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	SARLES/PHILIP Nicole	VEY Norbert
PIQUET Philippe	SARLON-BARTOLI Gabrielle	VIDAL Vincent
PIRRO Nicolas	SCAVARDA Didier	VIENS Patrice
POINSO François	SCHLEINITZ Nicolas	VILLANI Patrick
RACCAH Denis	SEBAG Frédéric	VITON Jean-Michel
RANQUE Stéphane	SEITZ Jean-François	VITTON Véronique
RAOULT Didier	SIELEZNEFF Igor	VIEHWEGER Heide Elke
REGIS Jean	SIMON Nicolas	VIVIER Eric
REYNAUD/GAUBERT Martine	STEIN Andréas	XERRI Luc
REYNAUD Rachel	TAIEB David	
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	THIRION Xavier	

PROFESSEUR DES UNIVERSITES

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

PROFESSEUR CERTIFIE

BRANDENBURGER Chantal

PRAG

TANTI-HARDOUIN Nicolas

PROFESSEUR ASSOCIE DE MEDECINE GENERALE A MI-TEMPS

ADNOT Sébastien
 FILIPPI Simon

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIEN HOSPITALIER

ACHARD Vincent (<i>disponibilité</i>)	EBBO Mikaël	NGUYEN PHONG Karine
AHERFI Sarah	FABRE Alexandre	NINOVE Laetitia
ANGELAKIS Emmanouil (<i>dispo oct 2018</i>)	FAURE Alice	NOUGAIREDE Antoine
ATLAN Catherine (<i>disponibilité</i>)	FOLETTI Jean- Marc	OLLIVIER Matthieu
BARTHELEMY Pierre	FOUILLOUX Virginie	OVAERT Caroline
BEGE Thierry	FROMNOT Julien	PAULMYER/LACROIX Odile
BELIARD Sophie	GASTALDI Marguerite	PESENTI Sébastien
BERBIS Julie	GELSI/BOYER Véronique	RESSEGUIER Noémie
BERGE-LEFRANC Jean-Louis	GIUSIANO Bernard	REY Marc
BERTRAND Baptiste	GIUSIANO COURCAMBECK Sophie	ROBERT Philippe
BEYER-BERJOT Laura	GONZALEZ Jean-Michel	SABATIER Renaud
BIRNBAUM David	GOURIET Frédérique	SARI-MINODIER Irène
BONINI Francesca	GRAILLON Thomas	SAVEANU Alexandru
BOUCRAUT Joseph	GRISOLI Dominique	SECQ Véronique
BOULAMERY Audrey	GUERIN Carole	SUCHON Pierre
BOULLU/CIOCCA Sandrine	GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné	TABOURET Emeline
BUFFAT Christophe	GUIDON Catherine	TOGA Caroline
CAMILLERI Serge	HAUTIER/KRAHN Aurélie	TOGA Isabelle
CARRON Romain	HRAIECH Sami	TOMASINI Pascale
CASSAGNE Carole	KASPI-PEZZOLI Elise	TOSELLO Barthélémy
CHAUDET Hervé	L'OLLIVIER Coralie	TROUSSE Delphine
CHRETIEN Anne-Sophie	LABIT-BOUVIER Corinne	TUCHTAN-TORRENTS Lucile
COZE Carole	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	VELY Frédéric
CUNY Thomas	LAGIER Aude (<i>disponibilité</i>)	VION-DURY Jean
DADOUN Frédéric (<i>disponibilité</i>)	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	ZATTARA/CANNONI Hélène
DALES Jean-Philippe	LEVY/MOZZICONACCI Annie	
DAUMAS Aurélie	LOOSVELD Marie	
DEGEORGES/VITTE Joëlle	MANCINI Julien	
DELLIAUX Stéphane	MARY Charles	
DESPLAT/JEGO Sophie	MASCAUX Céline	
DEVILLIER Raynier	MAUES DE PAULA André	
DUBOURG Grégory	MILLION Matthieu	
DUFOUR Jean-Charles	MOTTOLA GHIGO Giovanna	

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZINEH Mohammad	DEGIOANNI/SALLE Anna	RUEL Jérôme
BARBACARU/PERLES T. A.	DESNUES Benoît	THOLLON Lionel
BERLAND/BENHAIM Caroline	MARANINCHI Marie	THIRION Sylvie
BOUCAULT/GARROUSTE Françoise	MERHEJ/CHAUVEAU Vicky	VERNA Emeline
BOYER Sylvie	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte	
COLSON Sébastien	POGGI Marjorie	

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic
GENTILE Gaëtan

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BARGIER Jacques
BONNET Pierre-André
CALVET-MONTREDON Céline
GUIDA Pierre
JANCZEWSKI Aurélie

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS

MATHIEU Marion
REVIS Joana

ANATOMIE 4201

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

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

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203

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

DALES Jean-Philippe (MCU-PH)
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)
SECQ Véronique (MCU-PH)

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

ALBANESE Jacques (PU-PH)
BRUDER Nicolas (PU-PH)
LEONE Marc (PU-PH)
MICHEL Fabrice (PU-PH)
VELLY Lionel (PU-PH)

GUIDON Catherine (MCU-PH)

ANGLAIS 11

BRANDENBURGER Chantal (PRCE)

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

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

BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE 4301

GUEDJ Eric (PU-PH)
GUYE Maxime (PU-PH)
MUNDLER Olivier (PU-PH) Surnombre
TAIEB David (PU-PH)

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

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

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

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

CLAVERIE Jean-Michel (PU-PH) Surnombre
GAUDART Jean (PU-PH)
GIORGI Roch (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)
DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)
GIUSIANO Bernard (MCU-PH)
MANCINI Julien (MCU-PH)

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

ANTHROPOLOGIE 20

ADALIAN Pascal (PR)

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

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501

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

AHERFI Sarah (MCU-PH)
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) disponibilité octobre 2018
DUBOURG Grégory (MCU-PH)
GOURIET Frédérique (MCU-PH)
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

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

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401

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

BUFFAT Christophe (MCU-PH)
FROMNOT Julien (MCU-PH)
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

BIOLOGIE CELLULAIRE 4403

ROLL Patrice (PU-PH)

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

CARDIOLOGIE 5102

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

CHIRURGIE DIGESTIVE 5202

BERDAH Stéphane (PU-PH)
HARDWIGSEN Jean (PU-PH)
SIELEZNEFF Igor (PU-PH)

BEYER-BERJOT Laura (MCU-PH)

CHIRURGIE GENERALE 5302

DELPERO Jean-Robert (PU-PH)
MOUTARDIER Vincent (PU-PH)
SEBAG Frédéric (PU-PH)
TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)
BIRNBAUM David (MCU-PH)

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)
 BLONDEL Benjamin (PU-PH)
 CURVALE Georges (PU-PH)
 FLECHER Xavier (PU PH)
PARRATTE Sébastien (PU-PH) Disponibilité
 ROCHWERGER Richard (PU-PH)
 TROPIANO Patrick (PU-PH)

OLLIVIER Matthieu (MCU-PH)

CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE 4702

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

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

CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103

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

FOUILLOUX Virginie (MCU-PH)
 GRISOLI Dominique (MCU-PH)
 TROUSSE Delphine (MCU-PH)

CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104

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

HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE 4202

LEPIDI Hubert (PU-PH)

ACHARD Vincent (MCU-PH) disponibilité
 PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003

BERBIS Philippe (PU-PH)
 GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)
 GROB Jean-Jacques (PU-PH)
 RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

DUSI

COLSON Sébastien (MCF)

ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5404

BRUE Thierry (PU-PH)
 CASTINETTI Frédéric (PU-PH)
 CUNY Thomas (MCU PH)

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION 4601

AUQUIER Pascal (PU-PH)
 BOYER Laurent (PU-PH)
 GENTILE Stéphanie (PU-PH)
SAMBUC Roland (PU-PH) Surnombre
 THIRION Xavier (PU-PH)

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

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF)(06ème section)
 TANTI-HARDOUIN Nicolas (PRAG)

CHIRURGIE INFANTILE 5402

GUYS Jean-Michel (PU-PH)
 JOUVE Jean-Luc (PU-PH)
 LAUNAY Franck (PU-PH)
 MERROT Thierry (PU-PH)
 VIEHWEGER Heide Elke (PU-PH)
 FAURE Alice (MCU PH)
 PESENTI Sébastien (MCU-PH)

CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503

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

FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛOLOGIE 5004

CASANOVA Dominique (PU-PH)
 LEGRE Régis (PU-PH)

BERTRAND Baptiste (MCU-PH)
 HAUTIER/KRAHN Aurélie (MCU-PH)

GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201

BARTHET Marc (PU-PH)
 BERNARD Jean-Paul (PU-PH)
BOTTA-FRIDLUND Danielle (PU-PH) Surnombre
 DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)
 GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)
 GRANDVAL Philippe (PU-PH)
 GRIMAUD Jean-Charles (PU-PH)
 SEITZ Jean-François (PU-PH)
 VITTON Véronique (PU-PH)

GONZALEZ Jean-Michel (MCU-PH)

GENETIQUE 4704

BEROUD Christophe (PU-PH)
 KRAHN Martin (PU-PH)
 LEVY Nicolas (PU-PH)
 MONCLA Anne (PU-PH)
 SARLES/PHILIP Nicole (PU-PH)

NGYUEN Karine (MCU-PH)
 TOGA Caroline (MCU-PH)
 ZATTARA/CANNONI Héléne (MCU-PH)

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403

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

IMMUNOLOGIE 4703

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

FERON François (PR) (69ème section)

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

BOUCAULT/GARROUSTE Françoise (MCF) 65ème section)

MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503

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

MILLION Matthieu (MCU-PH)

MEDECINE D'URGENCE 4805

KERBAUL François (PU-PH)
 MICHELET Pierre (PU-PH)

**MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU
 VEILLISSEMENT ; MEDECINE GENERALE ; ADDICTOLOGIE 5301**

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)
 DISDIER Patrick (PU-PH)
 DURAND Jean-Marc (PU-PH)
FRANCES Yves (PU-PH) Surnombre
 GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)
 HARLE Jean-Robert (PU-PH)
 ROSSI Pascal (PU-PH)
 SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

EBBO Mikael (MCU-PH)

GENTILE Gaëtan (MCF Méd. Gén. Temps plein)

ADNOT Sébastien (PR associé Méd. Gén. à mi-temps)
 FILIPPI Simon (PR associé Méd. Gén. à mi-temps)

BARGIER Jacques (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)
 BONNET Pierre-André (MCF associé Méd. Gén à mi-temps)
 CALVET-MONTREDON Céline (MCF associé Méd. Gén. à temps plein)
 GUIDA Pierre (MCF associé Méd. Gén. à mi-temps)
 JANCZEWSKI Aurélie (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

NUTRITION 4404

DARMON Patrice (PU-PH)
 RACCAH Denis (PU-PH)
 VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité
 BELIARD Sophie (MCU-PH)

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)
 SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

IMMUNOLOGIE ; TRANSFUSION 4701

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

DEVILLIER Raynier (MCU PH)
 GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)
 LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)
 LOOSVELD Marie (MCU-PH)
 SUCHON Pierre (MCU-PH)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4603

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

TUCHTAN-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BERLAND/BENHAIM Caroline (MCF) (1ère section)

MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905

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

MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

BERGE-LEFRANC Jean-Louis (MCU-PH)
 SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

NEPHROLOGIE 5203

BERLAND Yvon (PU-PH) Surnombre
 BRUNET Philippe (PU-PH)
 BURTEY Stéphanne (PU-PH)
 DUSSOL Bertrand (PU-PH)
 JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)
 MOAL Valérie (PU-PH)

NEUROCHIRURGIE 4902

DUFOUR Henry (PU-PH)
 FUENTES Stéphane (PU-PH)
 REGIS Jean (PU-PH)
 ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)
 SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)
 GRAILLON Thomas (MCU PH)

NEUROLOGIE 4901

ATTARIAN Sharham (PU PH)
 AUDOIN Bertrand (PU-PH)
 AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)
 CECCALDI Mathieu (PU-PH)
 EUSEBIO Alexandre (PU-PH)
 FELICIAN Olivier (PU-PH)
 PELLETIER Jean (PU-PH)

OPHTALMOLOGIE 5502

DENIS Danièle (PU-PH)
 HOFFART Louis (PU-PH) *Disponibilité*
 MATONTI Frédéric (PU-PH) *Disponibilité*

PEDEPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE 4904

DA FONSECA David (PU-PH)
 POINSO François (PU-PH)

OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501

DESSI Patrick (PU-PH)
 FAKHRY Nicolas (PU-PH)
 GIOVANNI Antoine (PU-PH)
 LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)
 MICHEL Justin (PU-PH)
 NICOLLAS Richard (PU-PH)
 TRIGLIA Jean-Michel (PU-PH)
 DEVEZE Arnaud (MCU-PH) *Disponibilité*
 REVIS Joana (MAST) (Orthophonie) (7ème Section)

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

BLIN Olivier (PU-PH)
 FAUGERE Gérard (PU-PH) *Surnombre*
 MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)
 SIMON Nicolas (PU-PH)
 BOULAMERY Audrey (MCU-PH)

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE 4502

RANQUE Stéphane (PU-PH)
 CASSAGNE Carole (MCU-PH)
 L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)
 MARY Charles (MCU-PH)
 TOGA Isabelle (MCU-PH)

PHILOSOPHIE 17

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)
 MATHIEU Marion (MAST)

PEDIATRIE 5401

ANDRE Nicolas (PU-PH)
 CHAMBOST Hervé (PU-PH)
 DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)
 GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)
 MICHEL Gérard (PU-PH)
 MILH Mathieu (PU-PH)
 REYNAUD Rachel (PU-PH)
 SARLES Jacques (PU-PH)
 TSIMARATOS Michel (PU-PH)
 COZE Carole (MCU-PH)
 FABRE Alexandre (MCU-PH)
 OVAERT Caroline (MCU-PH)
 TOSELLO Barthélémy (MCU-PH)

PHYSIOLOGIE 4402

BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)
 BREGEON Fabienne (PU-PH)
 GABORIT Bénédicte (PU-PH)
 MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)
 TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)

BARTHELEMY Pierre (MCU-PH)
 BONINI Francesca (MCU-PH)
 BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)
 DADOUN Frédéric (MCU-PH) (*disponibilité*)
 DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)
 REY Marc (MCU-PH)

PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE 4903

BAILLY Daniel (PU-PH)
 LANCON Christophe (PU-PH)
 NAUDIN Jean (PU-PH)

RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)
 THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)

PSYCHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PCYCHOLOGIE SOCIALE 16

AGHABABIAN Valérie (PR)

PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE 5101**RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302**

BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)
 CHAGNAUD Christophe (PU-PH)
 CHAMOITRE Kathia (PU-PH)
 GIRARD Nadine (PU-PH)
 GORINCOUR Guillaume (PU-PH)
 JACQUIER Alexis (PU-PH)
 MOULIN Guy (PU-PH)
 PANUEL Michel (PU-PH)
 PETIT Philippe (PU-PH)
 VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)
 VIDAL Vincent (PU-PH)

ASTOUL Philippe (PU-PH)
 BARLESI Fabrice (PU-PH)
 CHANEZ Pascal (PU-PH)
 CHARPIN Denis (PU-PH) *Surnombre*
 GREILLIER Laurent (PU PH)
 REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)

MASCAUX Céline (MCU-PH)
 TOMASINI Pascale (MCU-PH)

REANIMATION MEDICALE ; MEDECINE URGENCE 4802

GAINNIER Marc (PU-PH)
 GERBEAUX Patrick (PU-PH)
 PAPAIZIAN Laurent (PU-PH)
 ROCH Antoine (PU-PH)

THERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE 4804

AMBROSI Pierre (PU-PH)
 VILLANI Patrick (PU-PH)

DAUMAS Aurélie (MCU-PH)

RHUMATOLOGIE 5001

GUIS Sandrine (PU-PH)
 LAFFORGUE Pierre (PU-PH)
 PHAM Thao (PU-PH)
 ROUDIER Jean (PU-PH)

UROLOGIE 5204

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

REMERCIEMENTS

A mon jury :

Au **Docteur Audrey Benyamine**, pour avoir entamé le recueil de donnée avec Pauline il y a 4 ans et avoir déjà pu compiler les données de presque la moitié de la cohorte. A cette base de travail que tu m'as fourni, tu as été présente pour diriger mon travail pendant cet été caniculaire et surtout pendant ta maternité. Merci pour tes conseils et ta disponibilité, c'est un honneur de te présenter la première thèse que tu as su diriger.

Au **Professeur Gilles Kaplanski**, pour avoir m'avoir fait confiance en acceptant de me donner ce travail et de présider le jury de ma thèse. Vous avez grandement participé à satisfaire ma soif de connaissance ainsi qu'à mon épanouissement professionnel au travers des enseignements que j'ai reçu dans votre service. Je suis convaincu de votre engagement envers les nouvelles générations d'internistes et m'associerai toujours à cet esprit bienveillant.

Au **Professeur Jean Gabert**, pour avoir soutenu et participé à la réalisation du projet « CloB BGSA » au sein de votre laboratoire, depuis ses débuts fin 2011. Vous m'avez permis d'entrouvrir « les portes la biologie moléculaire » et avez ainsi participé à enrichir mon cursus. C'est pour moi un honneur de vous faire juger ce travail aujourd'hui.

Au **Professeur Laurent Daniel**, pour vos conseils histologiques, votre disponibilité au cours de ce travail. En ouvrant votre laboratoire aux jeunes internistes, vous m'avez permis - au tout début du DES - de découvrir ce qu'il advenait d'une glande salivaire après avoir été mise dans son formol. A l'époque je ne me doutais pas que cela toucherait de si près mon travail de thèse. La boucle est donc bouclée et c'est un honneur de vous compter parmi les membres de mon jury.

Au **Professeur Régis Costello**, hématologue passionné, vous avez accepté sans hésiter une seule seconde lorsque je vous ai demandé de juger cette thèse, sans en connaître la date exacte. C'est donc un grand honneur pour moi de vous souhaiter un « Joyeux Anniversaire » aujourd'hui.

Aux protagonistes de mon internat (par ordre presque chronologique) :

Au Service de Médecine Interne de l'HIA de Toulon, en couple avec la Dermatologie et notamment à mes premières co-internes **Jessica** et **Carole** avec qui j'ai fait mes armes. A David Delabranche (pour m'avoir enseigné sa recette « confiture de myélogramme » et son ouvrage « BOM pour les nuls ». A **Elodie** pour m'avoir pris sous son aile (où j'ai trouvé de quoi faire des mojitos). Au Pr **Gilles Defuentes** évidemment pour avoir participé à mon « ralliement ». Je vous serai éternellement reconnaissants.

A **Thomas, Dara, Ludivine** en souvenir de nos débuts difficiles dans le Pavillon des Infirmières et ensuite pour avoir mis 6 mois de fun dans cet EPPA.

Aux co-internes de Rhumatologie, notamment **Caroline** et **Emmanuel** qui ne m'ont pas dénigré malgré mon changement de cap 😊.

Au MIA, notamment au Pr **Philippe Parola** pour son soutien régulier au cours de mon internat et pour m'avoir poussé dans le monde de la publication. A **Camille** et à **Marion** pour m'avoir transmis leur savoir et leur rigueur en même temps que leur passion, avec énergie et surtout avec bonne humeur.

Aux co-internes du 7^{ème} Unité 2, pour six mois de médecine interne de haut vol avec les 2 vedettes **Robin** (dans le rôle de El Professor) et **Laura** (dans le rôle de la Psychiatre Candide mais pas tant) *versus* les 3 humoristes douteux **Thibaut, Guillaume** et **Dalia**. Aux secrétaires et notamment à **Béatrice** pour m'avoir sorti toutes les vieux CRH avec une efficacité redoutable.

Aux co-internes du 9^{ème}, **Emilie, Bérang', Robin** (encore), **Etienne, Tanguy** et **Alexandre** (Azulay) avec qui j'ai gardé des liens fort. Soudés dans l'adversité et la rigueur de l'électroneuromyogramme, des réflexes ostéotendineux, du BREF et du MMSE. Sans oublier nos assistant.e.s **Amandine** et **Jojo**. Soyez pour toujours assurés de mon amitié et de ma fidélité.

Aux co-internes du Bâtiment de Néphro, qui ont vu et supporté mes cheveux, grandissants proportionnellement à mon savoir ionique, jusqu'à l'état ultime de « nuque longue ». A **Bobo** et **Giot** (le petit épieu), en souvenir de tous les points noirs qu'on a mis au tableau et du rein que j'aurai dû accepter. A **Marion** pour ses troubles de l'élocution (Perpignan oblige) et **Clarisse** pour l'avoir remplacé au pied levé. Au désormais Professeur : **NJC**, ravi d'avoir pu assister à ce moment charnière de ta carrière, tu as un talent d'enseignement certain et tu es incroyablement captivante lorsque tu parles de ces adorables petits glomérules.

Aux co-internes de la RUM, **Audrey** (duck face), **Alice** (le petit démon), **Charlène** (cardio top), **Sonia** (pour ta démo de pôle dance qu'on aura jamais vu), **Mathilde** (pour m'avoir prêté tes robes), **Marion** (la réconciliation), **Tom** (pour avoir bien tripé et pour tes conversations orientées botanique), **Alban** (pour être devenu « blanc », à ce qu'il paraît), **Thibaut** (~~mon maître~~, pour toutes les gardes que tu n'as pas choisi de partager avec moi et en souvenir du syndrome de l'aubergine qui a inspiré ta thèse de science sur les nouveaux ACSOS) et à toute l'équipe de la Réa des Urgences IDE, IADE, AS et Cie. Aux assistants Julien

(Mr Macrophage) et Sam (Le Brave) au chefs, Jérémy (aucun jeu de mot ne suffirai) et Fouad. C'est 6 mois d'intégration réussis pour ma part et vous en avez tous été les acteurs, un grand et sincère merci !

Aux co-internes de médecine interne à Nord ou à la Conception, **Marion, Clémence, Romain** (félicitation pour ta paternité de nudiste), **Vincent** (socialo-communiste), **Auriane** (Jacqueline ou Jackie pour les intimes), **Manon** (je t'ai mis avec les internes parce que tu restes jeune mais tu as tout mon respect 😊), **Thomas** (bouquet garni de connerie), **David** (l'homme qui avait bcp trop d'idée à la fois pour un seul cerveau), **Anna** (atchoum), **Carole** (encore et toujours), **Caroline** (Soubsub), **Olivier** (trip advisor), vous êtes tous formidables, la médecine interne vous transcende et vous révèle sous votre meilleur jour. **Raphael**, même si on t'a surtout vu ~~très occupé~~ planqué à l'hémaphérèse. Mention spéciale également aux jeunes PH du 7^{ème} B **Anne-Laurence, Denis et Nabil**. Je garderai un souvenir impérissable de tous ces moments internistes passés ensembles. La bonne nouvelle c'est que même après l'internat, le RDV biennuel dans les piscines officielles de la SNMFI (Piscines du Rhône et Flotti©) nous réunira (après la plénière évidemment !).

A toute l'équipe du 3^{ème} Nord de la Conception **Karin, Rodolphe, Pierre André** pour leur enseignement, leurs conseils et leur humour au quotidien. A l'équipe IDE de CHOC : **Khardiata, Bérénice, Angèle** les 3 piliers du service, **Anne** l'outsideuse, **Sherazade** l'upgradeuse, et au fleuron de l'APHM : **Maelys et Marine**. A **Sylvie** pour tout organiser « carré ». A la dream team aides soignant.e.s **Frédérique, Rosanna, Sarra, Sébastien, Fabienne** vous êtes imbattables et c'est grâce à tout le travail que vous faites en amont (envers les patients surtout mais aussi envers les internes) que nous pouvons offrir un service de cette qualité. Aux secrétaires **Evelyne et Nicole** qui ne travaillent pas dans l'ombre mais sont à mes yeux sous les feux de la rampe, vous m'avez bien facilité la vie avec tous les services que je vous ai demandé.

Vous m'avez tous marqué d'un souvenir inébranlable et sachez que je serai toujours disponible si vous avez un jour besoin de moi, ça sera l'occasion de vous rendre la pareille.

Aux amis d'externat

En commençant par le peuple de La Salle : **Sarah** (Babe), **Benoit** (Aymoz), **Nico** (Gravabo), **Eva** (gin), **Elisa** (legging), **Marj'** (fraicheur), **Dona** (la fausse innocente), **Laurie** (Bolo), **Lucas** (Molo et son zombie Sjögren que j'aurai bien voulu mettre en annexe), **Cha** (Mich), **Vera** (la rigueur), **Ariane** (Bell x2), **Léna** (laboss), parce que c'est avec vous que l'externat a débuté, s'est déroulé puis s'est conclu. Vous êtes toujours là, à mes côtés, vous ne faites pas uniquement partie du décor. Même si les retrouvailles c'est seulement deux fois par an et toujours trop court, c'est une bouffée d'oxygène et une source motivation qui a été essentielle cette année. Je compte sur vous et vous pouvez compter sur moi, AaaaAaaaAaaah !!!!!

Les Bratislaboys, mais de Prague, **Adridri et Jules de la casa**, pour avoir fait les 400 coups là-bas (quand Jules ne travaillai pas) et autant de souvenirs qu'on oubliera pas, Bernard Pivo, Goldfinger, « make the dog », Roxy, le train pour Plzeň, Radio Tower,

Metronomy, chiottes de la Meet Factory , soirée champêtre avec Bassem (on remerciera la Film and TV school pour les photocopies), Chapeau rouge, Pont Charles, Radost FX, Bunker introuvable, Kafka (?), Crossclub, Peres Noël bikraveurs de la rue Karlova, la gale, le tour du château en 15 exemplaires, Krásný Ztráty, Hany Bany, les amendes dans le métro en guise de bienvenue... C'est aussi grâce à tous ces bons souvenirs que j'ai pu tenir sur la dernière ligne droite !

Lukas Michon, pour votre individualité et avoir si bien su vous trouver. **Lukas** pour l'Argentine (souvenir indémodable), les plans Bastille, la Demeure du Chaos. Pour être plus qu'un bon confident : un bon conseiller. **Charlotte** pour ton acidité qui met toujours un coup de fouet, tu es une personne juste et sincère, pétillante et rayonnante. C'est une amitié indéfectible et je ferai tout pour qu'elle se poursuive le plus longtemps possible.

A ceux qui ont réussi la P1 l'année d'après, **Juline, Justine, Hélène, Yohan, Etienne, Arthur, Edouard, Poupot, Le Sylv** (last but not least), pour avoir su tisser ce lien inter promo qui a rendu si intenses toutes ces années d'externat (et au-delà !). Vous êtes des sacrés c### et ça n'aurait pas été aussi transversal sans vous !

A mon aîné **Rodolphe** l'Artisien, le prince du guêpier, Roro, le Saint Martinois qui sent le miel, Rodo et maintenant Mister Lancet... pour m'avoir attendu devant la liste le jour des résultats de la P1 (« t'inquiète mon gars, t'es là !»), pour ne pas avoir été mon grand chamb' pendant l'externat mais quand même un peu, pour tes coups de fils durant cette dernière année d'internat et parce que je sais que tu ne déconnes pas avec l'honneur (rital...), je te devais bien un paragraphe dédié.

A **Jojo et Margot** les plus beaux, amis philosophe-psychiatre ou généraliste-gastropode, ainsi que leur mini tube digestif à haut-parleur, vous m'avez soutenu par la pensée. Je n'ai pas beaucoup profité de vous cette année mais je compte bien y remédier.

A **Ben-ton**, toi qui appartiens à plusieurs catégories à la fois, tu es une racine précieuse qui fait le lien entre le Sud et les Alpes. Merci pour toute cette (Haute) Savoie que tu portes en toi, pour partager non seulement ta passion pour la médecine mais aussi tous les à-côtés (ski, tartiflette, escalade, moto et cie) qui ont été d'un grand soutien. Prochaine Fouinade de Montvalezan, j'en suis !

Aux potos inclassables

A **Carmeeeeeen** (avec l'accent), pour ta fraîcheur alternative qui nous amène parfois à la confrontation mais aussi vers d'autres horizons, ton franc parlé, ton beaucoup parlé, ton attention, tes petits bobos, tes savons qui font que ça pue pas là où ça devrait... ¡ Buena Onda !

A **Johanna et Jérôme**, la découverte marseillaise, culinaire et bien vinifiée, des personnalités complémentaires avec qui on a l'assurance d'être *Troooooo biieeennnnnn*, Hoy te Visto bien sûr, le lama. Et surtout merci pour les courges !

Aux amis avec qui j'ai grandi :

A mes trois Corses **Clémentine, Delphine et Sébastien** pour votre humour à moitié pince sans rire, pour votre charcuterie, pour les souvenir au ski et dans le chalet avec le « gruyère de la table » tout droit sorti des années 90 à Val d'Isère... Enfin, pour être devenus ce que vous êtes, une deuxième famille.

A **Marc**, mon camarade de chantier, le plus grand complice de mon adolescence, pour avoir continué, même à distance de m'envoyer des bonnes ondes. Ce qui nous lie est indescriptible, invisible mais bien réel ! Tu sais que tu trouveras toujours du soutien si un jour tu viens toquer à la ma porte.

A ma famille :

Etienne, Vinciane, Eliane et Hervé pour vos encouragements répétés. Aux parents, pour m'avoir stimulé, supporté, poussé, influencé, donné envie de faire ce que je fais aujourd'hui, malgré ma relative indisponibilité je pense souvent à vous, avec plein de reconnaissance. Mon frère, ma sœur, je suis fier de voir à quelle place vous êtes aujourd'hui Plasticien et Politicien : un cocktail détonnant, vous êtes des chicken winners, heureusement qu'on ne choisit pas sa famille, le hasard est bien tombé. A tous les cousins-cousines **Adrien, Florian, Laura, Cédric, Julie, Camille, Alexis, Joséphine**, pour avoir retourné le dortoir de la grange et inventé les meilleurs jeux (le fantôme, le cuistot, le sumo et le SID*) ... à quand la prochaine cousinade ?

A la coloc du Royal :

Par ordre d'apparition **Coco, Manu, Marie, Mika, Marwan, Delphine** et enfin **Motus-Laura**, pour simplement faire partie de mon multivers, vous êtes à la fois une source d'inspiration, un prisme qui décompose une réalité différente de celle du quotidien d'un médecin et pour certains des compagnons de grimpe. Pardon pour toutes les petites complications, les quelques effets indésirables et autres plâtres que vous avez pu essuyer, je ne vous remercierai jamais assez pour votre bonne composition et votre facilité à vivre.

A Daphné :

Mon amour, mon binôme, pour m'accompagner tous les jours dans mon parcours et l'enrichir de ta curiosité, de ton ouverture d'esprit, de ton espièglerie. Ces derniers mois n'auront certes pas été les plus exaltants de notre équipée bienheureuse mais force est de reconnaître qu'ils sont le témoin de notre résilience. Je suis fier de clore le dernier chapitre de mon internat et d'entamer le premier de celui de ma vie de docteur à tes côtés. Sois persuadée que les chemins qui s'ouvrent à nous seront toujours plus enivrants et que chaque détour sera l'occasion d'une belle aventure à vivre ensemble. Je t'aime profondément.

Intérêt de la détection d'une clonalité B au sein des glandes salivaires accessoires dans l'évaluation du risque de lymphome au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren

Table des matières

RESUME	2
MOTS CLES	3
MESSAGES CLES	3
A) INTRODUCTION	4
1) LYMPHOME NON HODGKINIEN ET SYNDROME DE GOUGEROT-SJÖGREN (SGS)	4
2) IMPORTANCE DES FACTEURS DE RISQUE DE LYMPHOME AU COURS DU SGS.....	4
2) INTERET DE LA RECHERCHE DE CLONALITE B AU SEIN DES GLANDES SALIVAIRES ACCESSOIRES (GSA)	6
3) SYNOPSIS DE L'ETUDE.....	6
B) PATIENTS ET METHODE	7
1) POPULATION ETUDIEE	7
2) ANALYSES BIOLOGIQUES	7
3) ÉCHANTILLONS DE GLANDES SALIVAIRES ACCESSOIRES.....	8
4) PROTOCOLE EN BIOLOGIE MOLECULAIRE	8
5) ANALYSES STATISTIQUES	12
6) ÉTHIQUE ET APPROBATION.....	12
C) RESULTATS	12
1) CARACTERISTIQUES DEMOGRAPHIQUES, CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DES PATIENTS AVEC ET SANS SGS.....	12
2) ASSOCIATION ENTRE CLONALITE B SUR GSA ET LYMPHOME AU COURS DU SGS	17
3) ASSOCIATION ENTRE LA CLONALITE B SUR GSA ET LES FACTEURS DE RISQUE DE LYMPHOME	18
D) DISCUSSION	20
CONCLUSION	23
REMERCIEMENTS	25
LISTE DES ABREVIATIONS	25
REFERENCES	26
ANNEXES	31

Résumé

Objectifs. Savoir évaluer le risque de lymphome non hodgkinien (LNH) au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est crucial. Actuellement, les principaux facteurs prédictifs de survenue de lymphome employés sont les manifestations évoquant indirectement un syndrome lymphoprolifératif. Nous avons recherché, la présence d'une clonalité B au sein des glandes salivaires accessoires (GSA), et étudié son association avec le LNH ou les facteurs prédictifs de LNH déjà établis.

Méthodes. Nous avons étudié l'infiltration lymphocytaire B des GSA de 207 patients à partir de tissu frais congelé. Pour cela nous avons recherché les réarrangements clonaux des gènes codants pour les immunoglobulines à l'aide d'une technique de PCR multiplexe utilisant des amorces standardisées suivie d'une étape permettant la formation d'homo-hétéroduplexes couplées à une électrophorèse microcapillaire pour l'analyse des produits de PCR. Il s'agissait de patients présentant soit une suspicion diagnostique de SGS soit une suspicion de transformation lymphomateuse au cours de la maladie. La détermination de la clonalité par analyse des électrophérogrammes était basée sur les recommandations de l'EuroClonality consortium.

Résultats. Nous avons trouvé un contingent lymphocytaire B monoclonal dans les GSA de 31/207 (15%) des patients. Cette fréquence était significativement plus élevée chez les patients présentant un SGS confirmé (28/123, 22,8 %) comparés aux patients sans SGS (3/84, 3,6 %, $P < 0,001$). L'expansion clonale B au sein des GSA des patients atteints de SGS était corrélée de façon significative à la présence d'un LNH de type MALT salivaire, à la présence d'un gonflement permanent ou récurrent des glandes salivaires, à la lymphopénie globale et portant sur les lymphocytes T CD4⁺, à l'activité facteur rhumatoïde, à l'hypocomplémentémie, à la présence d'une cryoglobulinémie mixte et à l'élévation du taux sérique de β 2-microglobuline.

Conclusion. Cette étude suggère qu'une expansion clonale B au sein des GSA est associée à un sous-groupe de patients atteints de SGS présentant soit un lymphome évolutif, soit un haut risque de lymphome selon les facteurs prédictifs connus. Ces résultats soulignent l'intérêt de la recherche de clonalité en biologie moléculaire pour la détection d'une prolifération B monoclonale au sein des GSA.

Mots clés

Syndrome de Gougerot-Sjögren, clonalité lymphocytaire B, PCR, glandes salivaires, lymphome

Messages clés

- La détection en biologie moléculaire d'une clonalité lymphocytaire B au sein des GSA est associée à la présence de LNH dans le tissu cible du SGS
- La détection en biologie moléculaire d'une clonalité lymphocytaire B au sein des GSA des patients ayant un SGS est plus fréquemment retrouvée chez les patients ayant d'autres facteurs prédictifs de lymphome
- Parmi les patients atteints du SGS, seulement un quart est porteur de clonalité B qui justifierait d'un suivi rapproché. Cet examen pourrait permettre de personnaliser le suivi des patients atteints du SGS et d'éviter une surmédicalisation de ceux ayant une infiltration polyclonale.

A) Introduction

1) Lymphome non Hodgkinien et syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS)

a) Fréquence du lymphome et mortalité associée

L'apparition d'un lymphome B non hodgkinien (LNH) émaillant l'évolution d'un syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une complication connue depuis plus de trente ans (1). Une étude suédoise récente a confirmé que chez les patients atteints d'un SGS, le taux d'incidence standardisé global (soit le nombre de cas observés rapporté au nombre de cas attendus) pour le LNH était de 4,9 (2). Notamment, une récente analyse incluant huit études cas-témoins menées en Europe, en Amérique du Nord et en Australie, a montré que les patients atteints de SGS présentaient un risque 30 fois plus élevé de lymphome de la zone marginale (LZM) de type MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*) et un risque 9 fois supérieur de lymphome B diffus à grandes cellules (3). Le développement d'un syndrome lymphoprolifératif au cours du SGS reste une complication majeure puisque qu'il est associé à une mortalité de 3 à 8 fois supérieure chez ces patients (4,5). Les lymphomes du MALT représentent 7 % de l'ensemble des LNH et un tiers sont des lymphomes primitifs du MALT gastrique (6). Au sein des lymphomes du MALT non gastriques les glandes salivaires parotides et sous-mandibulaires sont les sites les plus fréquemment atteints (7).

b) Critères diagnostiques du lymphome de MALT

Les critères de classification d'un LZM en lymphome du MALT ont été publiés par l'OMS en 2008 (8) et n'ont pas fait l'objet de modifications majeures lors de la mise à jour des critères de classification des hémopathies lymphoïdes en 2016 (9). Ils sont basés sur une combinaison de caractéristiques morphologiques et immunophénotypiques permettant de différencier cette entité des autres lymphomes B de bas grade (10). Cependant en l'absence de critère spécifique, la distinction entre des lésions lymphoépithéliales correspondant aux premiers stades du lymphome du MALT, et un infiltrat lymphoïde réactionnel banal au cours du SGS peut également être difficile (11).

2) Importance des facteurs de risque de lymphome au cours du SGS

a) Facteurs de risque connus

Le syndrome de Gougerot-Sjögren est une maladie hétérogène et seulement 20 à 40% des patients présenteront des manifestations systémiques (12). Chez ces patients, le score ESSDAI

(*European League Against Rheumatism Sjögren's Syndrome Disease Activity Index*) est plus élevé, ce qui est corrélé à l'apparition ultérieure d'un lymphome (13). Pour évaluer le risque de transformation lymphomateuse, des marqueurs indirects sont actuellement utilisés, à savoir la présence d'une parotidomégalie ou d'épisodes répétés de gonflements parotidiens, la présence d'adénopathies, d'un purpura vasculaire, d'une lymphopénie portant notamment sur les T CD4⁺, d'un composant monoclonal sérique, d'une cryoglobulinémie mixte (de type II), d'une consommation du complément ou d'une IgM à activité facteur rhumatoïde (FR) (5,13–16). Tous ces marqueurs évoquent fortement la production, par des cellules B mono ou oligoclonales, d'une immunoglobuline ayant une réactivité croisée de type FR (17).

Cependant, l'identification de nouveaux biomarqueurs permettant d'évaluer de façon précise, précoce et plus directe la présence d'une population lymphomateuse ou pré lymphomateuse chez ces patients reste un enjeu majeur. A l'ère de la médecine de précision, cela permettrait de personnaliser la fréquence du suivi et de guider le traitement des patients atteints du SGS.

b) Rôle du microenvironnement local dans la lymphomagenèse

La sialadénite lymphocytaire caractéristique du SGS correspond à une infiltration lymphoïde focale des glandes salivaires accessoires (GSA) par des cellules B auto-réactives polyclonales. La lymphomagenèse au cours du SGS repose ensuite sur un continuum entraînant progressivement l'évolution d'un infiltrat lymphoïde polyclonal vers une population oligo puis monoclonale pouvant aboutir à une authentique hémopathie maligne. Récemment, de nouveaux éléments dans la physiopathologie de l'échappement lymphomateux ont été identifiés au sein des GSA. Ces travaux ont mis en exergue l'existence de conditions micro-environnementales, c'est à dire intra-glandulaires, particulièrement favorables à la mise en place et à l'entretien de la stimulation antigénique chronique, conduisant à la production d'autoanticorps et de complexes immuns stimulant de façon continue les cellules B exprimant le facteur rhumatoïde. La mise en évidence au sein des GSA de foci lymphocytaires prenant la forme de centre germinatifs (CG) ectopiques, la dysrégulation des voies de signalisation NF- κ B (*nuclear factor kappa B*), la production élevée de la cytokine BAFF (*B-cell activating factor*) ainsi que la diminution des taux de protéine A20, confèrent un avantage de survie à ces cellules B et reflètent une situation locale propice à la transformation maligne (18).

2) Intérêt de la recherche de clonalité B au sein des glandes salivaires accessoires (GSA)

Le lymphome du MALT associé au SGS touche principalement les glandes salivaires qui sont l'organe cible de l'exocrinopathie auto-immune (19). Cependant, le diagnostic du lymphome au stade où la maladie est déjà disséminée reste une situation fréquente (20). La biopsie des GSA apparaît donc comme une procédure peu invasive, peu coûteuse et facile à réaliser au lit du malade, surtout lorsque le lymphome du MALT implique des sites plus difficiles d'accès tels que la glande parotidienne (risque de lésion du nerf facial, cicatrices) mais aussi le poumon ou l'estomac. Dans le cadre du SGS où les patients sont à risque de développer un lymphome, la documentation d'une infiltration lymphocytaire B monoclonale dans les GSA, avant l'apparition de manifestations cliniques néoplasiques dans d'autres organes, pourrait être pertinente pour le diagnostic et la stadification du lymphome.

La fiabilité de la PCR pour le diagnostic de lymphome du MALT parotidien a déjà démontrée (21). Par ailleurs la population clonale B ayant tendance à se propager d'un site glandulaire à l'autre (22), l'analyse en biologie moléculaire de la clonalité B au sein des GSA pourrait donc être une approche simple pour le dépistage précoce de cette complication au cours du SGS.

Certains travaux ont déjà suggéré que l'évaluation par PCR des réarrangements clonaux des gènes d'immunoglobulines pouvait être une méthode intéressante dans la prédiction du risque de développement d'un lymphome au cours du SGS (23). Cependant les progrès importants réalisés dans l'uniformisation et l'optimisation des techniques pour la détection d'une monoclonalité rendent aujourd'hui ces résultats critiquables et difficilement extrapolables à posteriori.

3) Synopsis de l'étude

Notre hypothèse est que la présence d'une monoclonalité B au sein des GSA est liée au risque de lymphome chez les patients atteints du SGS. Pour étudier cela, nous avons évalué les réarrangements des gènes de la chaîne lourde des immunoglobulines (IGH) et des gènes de la chaîne légère kappa des immunoglobulines (IGκ) à partir de GSA congelées mais non fixées, en utilisant un protocole de PCR standardisé issu des recommandations émises par l'EuroClonality consortium (BIOMED-2). Ensuite, nous avons analysé les résultats de biologie

moléculaire en parallèle que les données cliniques, biologiques et histologiques dans notre série de patients atteints du SGS.

B) Patients et méthode

1) Population étudiée

Nous avons analysé rétrospectivement les dossiers médicaux de 222 patients pris en charge dans les différents services de médecine interne (Conception, Nord, Timone) de l'Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille (AP-HM) entre octobre 2011 et mars 2019. Tous ces patients avaient bénéficié d'une biopsie des GSA avec une recherche de clonalité lymphocytaire B. La biopsie était réalisée dans le cadre d'un SGS primaire ou secondaire, pour le diagnostic ou lors du suivi si une transformation lymphomateuse était soupçonnée. Le diagnostic retenu après la biopsie des GSA reposait sur les critères de classification ACR/EULAR de 2016 (24). Les patients ne répondant pas aux critères diagnostiques ont été utilisés comme population contrôle. La définition des manifestations extra-glandulaires était basée sur les critères du score d'activité de la maladie ESSDAI (25). Les paramètres pertinents concernant l'activité de la maladie, les facteurs de risque cliniques et biologiques de lymphome et les symptômes B traditionnels tels que la fièvre, la perte de poids involontaire et les sueurs nocturnes ont été extraits des dossiers médicaux (**Tableau 1**).

2) Analyses biologiques

La détection et le dosage des anticorps anti-SSA/Ro ont été réalisés par une technique immuno-enzymatique automatisée, à l'aide de réactifs EliA™ et d'un automate UniCAP 250 (Phadia AB/Thermo Fisher Scientific, Inc., Freiburg, Allemagne) avec un seuil de positivité à 10 UI/ml. La lymphopénie était définie à un seuil de 1000 lymphocytes/mm³, la lymphopénie T CD4⁺ inférieure à un seuil de 500 /mm³, la présence de lymphocytes T activés HLADR⁺/CD8⁺ au-dessus de 6 % et l'hypergammaglobulinémie polyclonale au-dessus de 16 g/l. L'inversion du rapport lymphocytaire CD4⁺/CD8⁺ était retenue si le rapport était inférieur à 1. L'hypocomplémentémie était définie comme un niveau de C3 inférieur à 0,81 g/l ou de C4 inférieur à 0,13 g/l ou de CH50 inférieur à 70%. Un titre de FR supérieur à 20 UI/l était considéré comme significatif. Le rapport de chaîne légère libre κ/λ sériques était considéré comme anormal en dehors de la fourchette 0,26-1,65 et la β 2-microglobuline était considérée comme élevée si >2,2 mg/l.

3) Échantillons de glandes salivaires accessoires

a) Intérêt diagnostique

Les GSA ont été prélevées à partir de la muqueuse labiale inférieure chez 222 patients. Deux à quatre glandes pour chaque sujet ont été fixées dans du formol puis incluses en paraffine pour le diagnostic anatomopathologique. Des sections de trois μm d'épaisseur ont été colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E) et examinées en microscopie optique. Les patients présentant une sialadénite lymphocytaire focale de grade 3 ou 4 de la classification de Chisholm et Mason (correspondant à au moins un foyer lymphocytaire par 4 mm^2 de tissu glandulaire) étaient considérés comme ayant un critère majeur du diagnostic du SGS (26).

b) Intérêt pronostique

Toutes les GSA disponibles dont le compte rendu histologique mentionnait la présence de fibrose ou un score de Chisholm et Mason ≥ 2 (96/109), ont été relues pour rechercher la présence de CG ectopiques. Les lames ont été centralisées puis scorées par un anatomopathologiste indépendamment des données cliniques en utilisant la définition donnée par Theander *et al* (27). Un CG était défini par la présence d'un agrégat de cellules mononuclées, formant une couronne de plus de 50 éléments appelée zone sombre. Cette zone contient des centroblastes très compacts entourant une zone plus claire composée d'un réseau lâche de cellules dendritiques folliculaires et de centrocytes.

Lors du prélèvement, deux glandes n'ont pas été fixées mais congelées dans de la glace carbonique puis stockées à -80°C jusqu'à l'analyse de clonalité.

4) Protocole en biologie moléculaire

a) Extraction de l'ADN

L'ADN génomique a été extrait manuellement à partir des tissus frais congelés, à l'aide du kit DNA E.Z.N.A[®] selon les recommandations du fabricant (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA). L'ADN extrait a été élué dans 100 μL de tampon d'éluion et quantifié à l'aide du spectrophotomètre NanoDrop[™] 8000 (Thermo Electron, Vantaa, Finlande).

b) Amplification par PCR en point final et formation d'homo/hétéroduplexes

Pour l'amplification des réarrangements des gènes d'immunoglobuline, nous avons utilisé une combinaison de quatre amorces multiplexes : IGH(VHJH) FR1, -2, -3 et IGk V κ -Kde/intron-Kde (Invitrogen[™]) placées dans quatre tubes séparés (tube FR1, tube FR2, tube FR3, tube Kde)

selon le protocole de PCR multiplexe BIOMED-2 (28). Les produits de PCR, d'un volume de 50 μ L, comprenaient 100 ng d'ADN, 10 pmol d'amorces oligonucléotidiques 5' et 3', 0,2 mM de dXTP, 5 μ L de tampon Taq Gold 10 \times , 1,5 mM de MgCl₂ et 1 U d'AmpliTaq Gold polymérase (Applied Biosystems™). Toutes les réactions d'amplification ont été réalisées dans un thermocycleur automatisé (TProfessional thermocycler, Biometra, Allemagne). Les paramètres de cycle et de fonctionnement ont été définis selon la méthode précédemment décrite par le laboratoire du Pr Jean Gabert (29) : préactivation pendant 7 minutes à 94°C, suivi de 35 cycles de dénaturation de 45 secondes à 95°C, hybridation 45 secondes à 60°C, et élongation de 90 secondes à 72°C. Après le dernier cycle, nous avons effectué une dernière étape d'élongation pendant au moins 10 minutes à 72°C. 20 μ L de produits PCR ont été dénaturés à 95°C pendant 5 minutes, puis renaturés à 4°C pendant 60 minutes pour induire la formation de duplexes. Les produits de PCR contenant des homo/hétéroduplexes (1 μ L) ont été détectés par électrophorèse microcapillaire de haute résolution à l'aide du Bioanalyseur Agilent 2100 sur une puce ADN 1000 LabChip (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). Le détail des réarrangements des gènes d'immunoglobuline en fonctions des différentes amorces utilisées sont présentés dans le **Tableau S1**.

Amorces	Contrôles (n=84)	SGS (n=123)	P value
FR1, n (%)	1 (1.2)	18 (14.6)	0.001
FR2, n (%)	3 (3.6)	21 (17.1)	0.003
FR3, n (%)	2 (2.4)	18 (14.6)	0.003
FR1-FR2, n (%)	1 (1.2)	15 (12.2)	0.004
FR2-FR3, n (%)	2 (2.4)	14 (11.4)	0.017
FR1-FR3, n (%)	1 (1.2)	12 (9.8)	0.013
FR1-FR2-FR3, n (%)	1 (1.2)	11 (8.9)	0.030
Kde, n (%)	0 (0.0)	11 (8.9)	0.003

TABLEAU S1 Profils génotypiques des glandes salivaires accessoires des patients du groupe SGS comparés au groupe contrôle.

FR: région framework; Kde: kappa-deleting element; SGS: Syndrome de Gougerot-Sjögren

c) Détermination de la clonalité B

Les électrophérogrammes, la détermination de la taille et la quantification des produits de PCR ont été effectués automatiquement par le logiciel 2100 Expert software. La qualité de l'ADN amplifié a été vérifiée pour tous les échantillons en utilisant l'amplification du gène de l'albumine comme contrôle. Pour établir la présence ou l'absence d'une clonalité B, tous les électrophérogrammes ont fait l'objet d'une évaluation indépendante des données cliniques par Jean Gabert et Nathalie Beauvils, et un consensus a été établi selon les règles précédemment décrites (29). Les échantillons analysés étaient considérés comme clonaux si on observait sur le tracé un ou deux pics, conservés après la formation des duplexes. Pour être validés sur l'électrophérogramme, la hauteur de ces pics devait être au moins deux fois supérieure à la hauteur maximale de la courbe de fond polyclonale et se situer dans la plage de tailles (en paires de bases) attendue en fonction du set d'amorce utilisé. Les produits de PCR issus d'échantillons polyclonaux se présentaient sous la forme de pics multiples, non conservés après formation des duplexes, donnant une courbe de fond gaussienne. Des profils représentatifs de l'analyse des homo/hétéroduplexes des gènes d'immunoglobulines sont présentés sur la **Figure 1**.

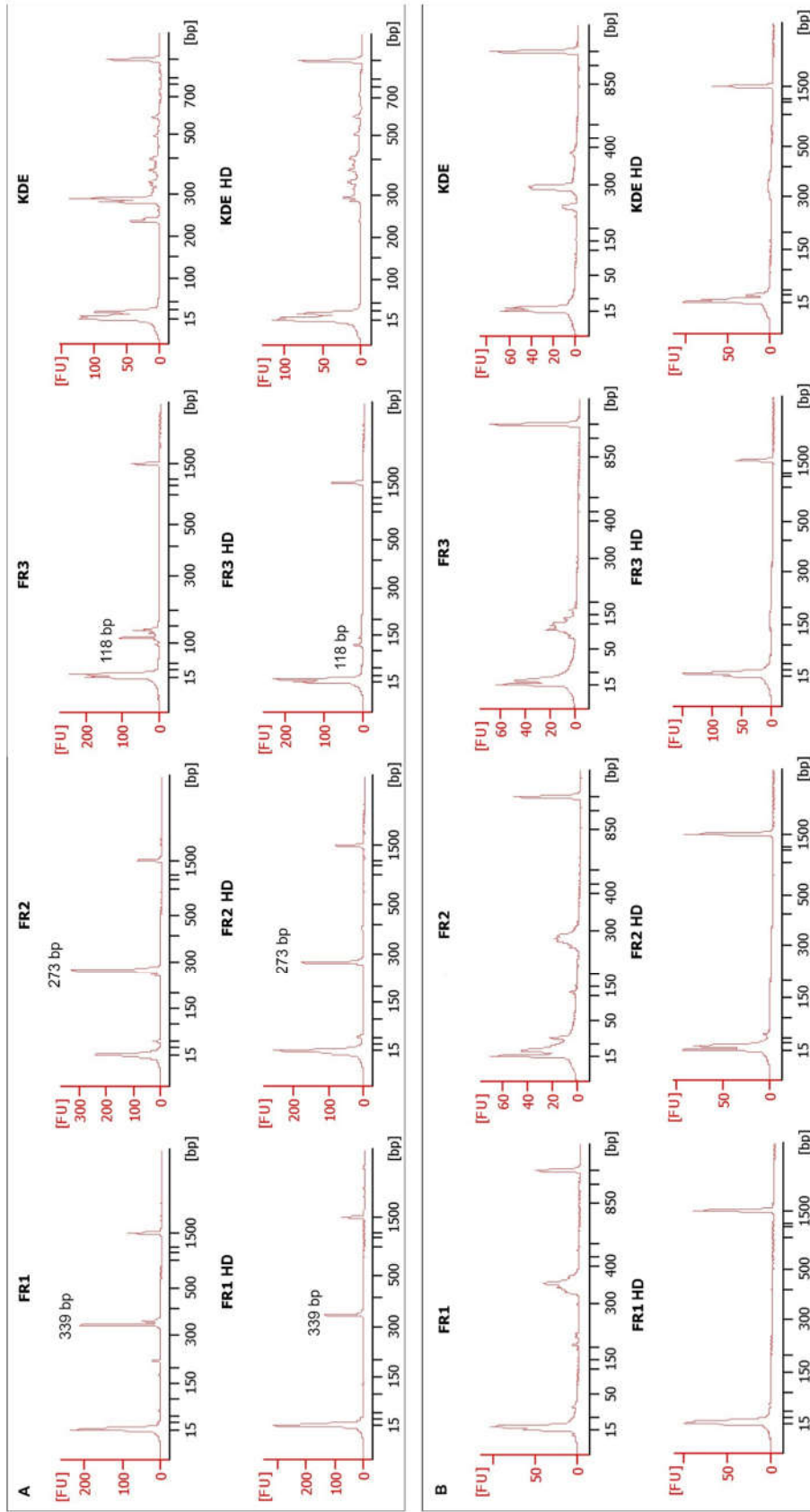


FIGURE 1. Exemples de tracés représentatifs pour l'étude des réarrangements des gènes de la chaîne lourde et légère des immunoglobulines dans les glandes salivaires accessoires observés par analyse des homo/hétéroduplexes obtenus par PCR.

(A) Résultats positifs (monoclonal) pour les cibles FR1, FR2 et FR3 dont les produits de PCR apparaissent comme des pics uniques, persistants après analyse HD.

(B) Résultats négatifs (polyclonal) pour les cibles FR1, FR2, FR3 et Kde dont les produits de PCR apparaissent sous forme de courbes gaussiennes irrégulières, sans pic persistant après analyse HD. bp : paire de bases ; FR : région framework ; HD : hétéroduplexe

5) Analyses statistiques

Les variables continues ont été exprimées en moyenne (\pm S.D.) et/ou médiane (intervalle). Elles ont été comparées à l'aide du test ANOVA (comparaisons à 3 groupes) et des tests de Student ou de Mann-Whitney (comparaisons à 2 groupes), selon les cas. Les variables catégorielles ont été exprimées en nombre (%) et comparées à l'aide du test du χ^2 ou du test exact de Fisher. Tous les tests statistiques ont été effectués de façon bilatérale en utilisant un seuil de 0,05 pour la *P*-value. Les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS Statistics® 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

6) Éthique et approbation

Le comité local de protection des données personnelles (DPO) a approuvé notre étude (RGPD/APHM 2019-50) conformément au Règlement général sur la protection des données (UE) 2016/679 en vigueur.

C) Résultats

1) Caractéristiques démographiques, cliniques et biologiques des patients avec et sans SGS

Deux cent vingt-deux patients ont fait l'objet d'une recherche de clonalité lymphocytaire B sur GSA. Dix patients ont été exclus en raison de problèmes techniques lors de l'étape pré analytique (échantillon non exploitable en raison de conditions de transport et de stockage inappropriées), quatre patients ont été exclus en raison d'une quantité d'ADN insuffisante et un en raison d'un nombre trop important de données manquantes ce qui réduisait le nombre total de résultats de clonalités sur biopsies des GSA analysables à 207.

Les patients ont été classés en deux groupes distincts selon le diagnostic final : le groupe SGS (n=123) et le groupe contrôle (n=84) (**Tableau 1**). Ce dernier a ensuite été divisé en deux sous-groupes, i) maladies auto-immunes autres que le SGS (n=41) et ii) maladies non auto-immunes (n=43). Les diagnostics les plus fréquents parmi les patients contrôles atteints de maladies auto-immunes autres que le SGS étaient : le lupus érythémateux disséminé (7/41, 17 %), le groupe des spondyloarthropathie (6/41, 15 %), la thyroïdite de Hashimoto (6/41, 15 %). Les trois groupes étaient comparables en ce qui concerne l'âge lors de la biopsie, le sexe et la durée de suivi (données non montrées). Il y avait plus de syndrome sec oculaire et/ou buccal dans le groupe SGS ($P < 0,001$).

La durée médiane du suivi était de 43 mois dans le groupe SGS (intervalle 2-105 mois). Au cours de ce suivi, deux patients appartenant au groupe SGS sont décédés, le premier d'une mort subite et le second d'une défaillance multiviscérale au cours d'une vascularite cryoglobulinémique.

	Contrôles (n=84)	SGS (n =123)	P value
Caractéristiques cliniques et démographiques : n (%) sauf indication contraire			
Age lors de la BGSA (ans) [moyenne (S.D.), médiane (range)]	53,2 (15,4) ; 55 (20-87)	55,6 (14,8) ; 58 (18-86)	NS
Sexe féminin	72 (85,7)	108 (87,8)	NS
Antécédent de lymphome	1 (1,2)	3 (2,4)	NS
Durée de suivi (mois) [moyenne (S.D.), médiane (intervalle)]	40,0 (27,5) ; 28 (3-84)	46,4 (30,4) ; 43 (2-105)	NS
Syndrome sec	60 (71,4)	120 (97,6)	<0,001
Signes B	4 (4,8)	8 (6,5)	NS
Polyadénopathie	1 (1,2)	18 (14,6)	0,001
Splénomégalie	2 (2,4)	1 (0,8)	NS
Gonflement des glandes salivaires	5 (6,0)	23 (18,7)	0,008
Atteinte extra-glandulaire	52 (61,9)	92 (74,8)	0,048
Purpura vasculaire	2 (2,4)	7 (5,7)	NS
Traitement avant la BGSA	9 (10,7)	28 (22,8)	0,026
Caractéristiques biologiques : n/total (%) sauf indication contraire			
Lymphopénie	5/84 (6,0)	34/123 (27,6)	<0,001
Lymphopénie T CD4 ⁺	8/66 (12,1)	31/101 (30,7)	0,006
Inversion du ratio CD4 ⁺ /CD8 ⁺	5/66 (7,6)	10/101 (9,9)	NS
Lymphocytes activés HLADR ⁺ /CD8 ⁺	13/66 (19,7)	40/101 (39,6)	0,007
Hypergammaglobulinémie polyclonale	8/83 (9,6)	47/123 (38,2)	<0,001
Gammopathie monoclonale	8/83 (9,6)	12/123 (9,8)	NS
Ratio des chaînes légères anormal	1/39 (2,6)	12/74 (16,2)	0,033
Élévation de la β2-microglobuline	5/25 (20,0)	46/71 (64,8)	<0,001
β2-microglobuline [moyenne (S.D.), médiane (intervalle)], mg/l	2,0 (0,8), 1,8 (1,2-4,6)	2,9 (1,4), 2,5 (1,3-7,1)	<0,001
Cryoglobulinémie de type 2 (mixte)	20/70 (28,6)	35/113 (31,0)	NS
Hypocomplémentémie	2/81 (2,5)	21/119 (17,6)	0,001
FR positif	6/46 (13,0)	45/76 (59,2)	<0,001
Titre du FR, moyenne (S.D.), UI/l	12,2 (51,3)	111,5 (139,2)	<0,001
ACAN positifs	33/82 (40,2)	95/123 (77,2)	<0,001
Titre des ACAN, médiane (intervalle)	160 (0-1280)	800 (0-1280)	<0,001
Anti-Ro (SSA)	7/82 (8,5)	85/123 (69,1)	<0,001
Anti-La (SSB)	3/82 (3,7)	44/123 (35,8)	<0,001
Grade de Chisholm, médiane (intervalle)	1 (0-3)	3 (0-4)	<0,001
Focus score, moyenne (S.D.)	0,0 (0,0)	3,0 (3,7)	<0,001
Focus score ≥3 dans les GSA	0/80 (0,0)	39/110 (35,5)	<0,001
CG ectopiques dans les GSA	0/80 (0,0)	16/109 (14,7)	<0,001
Clonalité B circulante	0/33	4/63 (6,3)	NS
Clonalité B au sein des GSA	3/84 (3,6)	28/123 (22,8)	<0,001

TABLEAU 1 Caractéristiques des 207 patients ayant eu une recherche de clonalité B sur glandes

salivaires accessoires. ACAN: anticorps antinucléaires; CG: centre germinatif; BGSA: biopsie des glandes salivaires accessoires; FR : facteur rhumatoïde; SGS: syndrome de Gougerot-Sjögren

Dans le groupe SGS, 3 patients (3/123, 2,4 %) avaient des antécédents de lymphome du MALT. Au vu des résultats histologiques des GSA, un patient était toujours considéré en rémission d'un lymphome du MALT pulmonaire, en revanche la biopsie a permis d'établir le diagnostic de rechute de lymphome du MALT salivaire chez les deux autres patients. Dans le groupe contrôle, un patient avait pour antécédent un LNH ganglionnaire. Aucun autre cas de lymphome n'a été détecté au cours du suivi. La durée médiane entre le premier diagnostic de lymphome et la biopsie des GSA était de 84 mois (intervalle 12-192 mois). Les données cliniques des patients du groupe SGS ayant un antécédent de lymphome sont résumées dans le **Tableau 2**. Dans le groupe SGS, six patients présentaient d'autres syndromes lymphoprolifératifs que le lymphome, à savoir : leucémie lymphoïde chronique (LLC) (n = 2), lymphocytose B monoclonale (LBM) (n = 3) et myélome indolent (n = 1). Dans le groupe contrôle, un patient faisait l'objet d'une surveillance pour une LBM.

Patient	Sexe	Age au diagnostic de lymphome (ans)		Localisation	Traitement	Age lors de la BGSA (ans)	Facteurs de risque de lymphome	Clonalité B sur GSA	Durée de suivi (mois)	Rechute
		lymphome	Lymphome							
1	F	57	MALT	Parotide	CLB: rechute, puis RTX-bendamustine: rémission complète	65	Polyadénopathie Parotidomégalie β2MG 4,8 mg/l Lymphopénie T CD4 ⁺ Inversion du ratio T CD4 ⁺ /CD8 ⁺ Ratio des chaînes légères anormal HLADR ⁺ /CD8 ⁺ > 10% FS=12	oui	81	non
2	F	49	MALT	Parotide	Chirurgie puis surveillance	50	Clonalité B circulante β2MG 4.0mg/l Hypocomplémentémie Pic monoclonal IgM kappa Ratio des chaînes légères anormal Cryoglobulinémie mixte FR positif (242 UI/l) FS=12	oui	105	N/A
3	F	68	MALT	Poumon	Lobectomie gauche et CLB-RTX: rémission complète	74	β2MG 2.5mg/l Lymphopénie	non	78	non

TABLEAU 2 Résumé des caractéristiques hématologiques chez les 3 patients du groupe SGS ayant un antécédent de lymphome

β2MG: β2 microglobuline; CLB: chlorambucil; F: féminin; FS: focus score; GSA: glandes salivaires accessoires; MALT: mucosa-associated lymphoid tissue;

N/A: non approprié; FR: facteur rhumatoïde; RTX: rituximab; SGS: Syndrome de Gougerot-Sjögren

2) Association entre clonalité B sur GSA et lymphome au cours du SGS

Nous avons trouvé un composant monoclonal B au sein des GSA chez 31/207 (15%) des patients. Cette fréquence était significativement plus élevée chez les patients atteints du SGS que chez les patients contrôles [28/123 (22,8 %) vs 3/84 (3,6 %), $P < 0,001$, **Tableau 1**]. La différence demeurait statistiquement significative lorsque l'on comparait les patients atteints de SGS aux 2 sous-groupes de témoins avec ou sans autre maladie auto-immune [3/41 (7,3 %) et 0/43 (0 %) respectivement, $P < 0,001$].

Dans le groupe SGS en analyse univariée, la présence d'un lymphome évolutif au moment de la biopsie était associée de façon statistiquement significative à la présence d'une clonalité B dans les GSA ($P = 0,05$, **Tableau 3**). En effet, le diagnostic de récurrence de lymphome du MALT salivaire a été retenu selon les résultats histologiques et immuno-histochimiques issus des GSA de 2 patients (patient 1 et patient 2) et confirmé ensuite par la mise en évidence d'une clonalité lymphocytaire B au sein des GSA de ces mêmes patients (100%). De plus, chez l'un d'entre eux (patient 1), nous avons pu mettre en évidence des produits de PCR de même taille (même nombre de paires de bases) dans les tissus glandulaires et dans le sang périphérique, suggérant une dissémination systémique de la maladie.

Une recherche de clonalité lymphocytaire B a été réalisée à la fois dans le sang périphérique et les tissus glandulaires chez 63/123 patients ayant un SGS. Une monoclonalité B a été détectée dans le compartiment sanguin et tissulaire chez 3 d'entre eux (3/63, 5 %). Le clone B était identique chez deux de ces patients, le premier était atteint d'un lymphome du MALT salivaire disséminé (patient 1) et le second porteur d'une LLC. Le troisième patient avait également une LLC mais présentait des clones distincts dans le sang et les GSA. Quatorze des patients ayant bénéficié de cette double recherche (14/63, 22 %) présentaient un réarrangement clonal soit dans le sang soit dans les GSA : un patient atteint de LBM était positif dans le sang uniquement et les 13 autres étaient positifs dans les GSA uniquement. Ces 13 patients n'ont pas présenté de lymphome, ni au moment de la biopsie ni pendant le suivi [durée médiane du suivi 83 mois (intervalle 30-105 mois), moyenne 79,5 (S.D. \pm 17,6 mois)]. Chez les 46 autres patients (73 %), aucune clonalité B n'a été observée dans le sang ou dans les tissus et aucun d'eux n'avait de lymphome au moment de la biopsie ou pendant le suivi.

3) Association entre la clonalité B sur GSA et les facteurs de risque de lymphome

Nous avons d'abord comparé la fréquence des facteurs de risque de lymphome entre le groupe SGS et le groupe contrôle. Nous avons constaté que la présence de polyadénopathie, l'augmentation de volume permanente ou récurrente des glandes salivaires, l'hypocomplémentémie, la lymphopénie portant notamment sur les T CD4⁺, la présence d'un contingent de lymphocytes T activés HLADR⁺/CD8⁺, l'activité FR, les taux sériques de β2-microglobuline, le focus score ≥3 et la présence de CG ectopiques étaient statistiquement beaucoup plus fréquents dans le groupe SGS (**Tableau 1**). Nous n'avons observé aucune différence statistique entre les deux groupes en ce qui concerne les signes B, la splénomégalie, le purpura vasculaire, la cryoglobulinémie et la présence d'un pic monoclonal sérique. La proportion de patients déjà traités pour une maladie auto-immune au moment de la biopsie était significativement plus élevée dans le groupe SGS. Le traitement antérieur consistait en des corticostéroïdes par voie orale et/ou de l'hydroxychloroquine chez 23/28 (72 %) des patients du groupe SGS.

Pour déterminer si l'infiltration monoclonale B dans les GSA des patients SGS était associée aux facteurs de risque prédictifs de lymphome déjà établis, nous avons comparé les 28 patients du groupe SGS présentant une clonalité B dans les GSA aux 95 patients du groupe SGS sans clonalité B (**Tableau 3**). Concernant les facteurs de risque cliniques, seul le gonflement permanent ou récurrent des glandes salivaires était significativement associé à la présence d'une clonalité B dans les GSA. En ce qui concerne les facteurs de risque biologiques, la lymphopénie, notamment la lymphopénie T CD4⁺, l'activité FR, l'hypocomplémentémie, la cryoglobulinémie mixte (type 2) et les concentrations élevées de β2-microglobuline étaient significativement associées à la présence d'une clonalité dans les GSA. La proportion de patients ayant déjà reçu un traitement immunomodulateur était comparable dans les deux groupes avec et sans clonalité B dans les GSA (**Tableau 3**).

Facteurs prédictifs de lymphome proposés	Résultats de la recherche de clonalité B sur GSA chez les patients du groupe SGS		P value
	Infiltration B polyclonale (n=95)	Infiltration B monoclonale (n=28)	
Cliniques : n (%) sauf indication contraire			
Antécédent de lymphome	1 (1.1)	2 (7.1)	NS
Lymphome lors de la BGSA	0 (0.0)	2 (7.1)	0.05
Signes B	6 (6.3)	2 (7.1)	NS
Polyadénopathie	11 (11.6)	7 (25)	NS
Splénomégalie	0 (0)	1 (3.6)	NS
Gonflement des glandes salivaires	13 (13.7)	10 (35.7)	0.009
Atteinte extra-glandulaire	72 (75.8)	20 (71.4)	NS
Purpura vasculaire	5 (5.3)	2 (7.1)	NS
Traitement avant la BGSA	20 (21.1)	8 (28.6)	NS
Biologiques : n/total n (%): n (%) sauf indication contraire			
Lymphopénie	20 (21.1)	14/28 (50)	0.003
Lymphopénie T CD4+	18/75 (24)	13/26 (50)	0.013
Inversion du ratio CD4+/CD8+	7/75 (9.3)	3/26 (11.5)	NS
Lymphocytes activés HLADR+/CD8+	30/75 (40.0)	10/26 (38.5)	NS
Hypergammaglobulinémie polyclonale	33/95 (34.7)	14 (50.0)	NS
Gammopathie monoclonale	7 (7.4)	5 (17.9)	NS
Ratio des chaînes légères anormal	6/53 (11.3)	6/21 (28.6)	NS
Élévation de la β 2-microglobuline sérique	32/55 (58.2)	14/16 (87.5)	0.031
β 2-microglobuline sérique [moyenne (S.D.), médiane (range)], mg/l	2.74 (1.32)	3.60 (1.29)	0.024
Cryoglobulinémie de type 2 (mixte)	22/86 (25.6)	13/27 (48.1)	0.027
Hypocomplémentémie	10/92 (10.9)	11/27 (40.7)	0.001
FR positif	30/59 (50.8)	15/17 (88.2)	0.006
Titre du FR, moyenne (S.D.), UI/l	82.5 (121.0)	216.3 (153.8)	<0.001
ACAN positifs	70/95 (73.7)	25/28 (89.3)	NS
Titre des ACAN, médiane (range)	800 (0-1280)	800 (0-1280)	NS
Anti-Ro (SSA)	66/95 (69.5)	19/28 (67.9)	NS
Anti-La (SSB)	33/95 (34.7)	11/28 (39.3)	NS
Grade de Chisholm, médiane (range)	3 (0-4)	4 (0-4)	NS
Focus score, moyenne (S.D.)	2.6 (3.3)	4.1 (4.7)	NS
Focus score ≥ 3 dans les GSA	29/84 (34.5)	10/26 (38.5)	NS
CG ectopiques dans les GSA	12/84 (14.3)	4/25 (16.0)	NS
Clonalité B circulante	1/46 (2.2)	3/17 (17.6)	0.057

TABLEAU 3 L'infiltration des glandes salivaires accessoires par un contingent B monoclonal au cours du SGS est associée à la présence d'un lymphome et aux facteurs prédictifs de lymphome

ACAN: anticorps antinucléaires; CG: centre germinatif; BGSA: biopsie des glandes salivaires accessoires; FR : facteur rhumatoïde; SGS: syndrome de Gougerot Sjögren

D) Discussion

Le diagnostic précoce du lymphome de MALT au cours du SGS est un défi et soulève l'intérêt de développer de nouveaux outils diagnostiques et pronostiques.

À notre connaissance, notre travail portant sur une population de 207 patients, constitue la plus grande étude sur l'intérêt de la détection d'une clonalité lymphocytaire B au sein des GSA dans l'évaluation du risque de lymphome au cours du SGS (16,22,23,30–33).

D'un point de vue technique, nous avons employé un protocole de PCR optimisé amplifiant les gènes d'immunoglobulines grâce à des amorces standardisées (BIOMED-2), et nous nous sommes basés sur les recommandations d'EuroClonality pour l'analyse et l'interprétation des homo/hétéroduplexes (34). Cette technique a déjà fait sa preuve pour la détection des hémopathies lymphoïdes B. L'utilisation d'amorces amplifiant les recombinaisons des segments VH-JH de la chaîne lourde des immunoglobulines associées à des amorces amplifiant les recombinaisons du segment Kde de la chaîne légère des immunoglobulines (IGκ) permet la détection d'environ 95% des LZM extraganglionnaires, notamment grâce à l'utilisation des amorces Kde IGκ comme cible complémentaire (35). En effet, celle-ci est moins sujette à l'hypermutation somatique susceptible de se produire dans l'infiltrat lymphoïde réactionnel des GSA, en particulier chez les patients porteurs d'un SGS avec un niveau d'activité élevé de la maladie. Par conséquent, la mise en évidence d'un réarrangement monoclonal des gènes IGH et/ou IGκ en présence de lésions lymphoépithéliales *borderline* est d'une grande valeur diagnostique pour établir la présence de lymphomes (34,35).

Dans notre étude, la clonalité lymphocytaire B a été détectée chez les deux patients du groupe SGS atteints d'un lymphome du MALT en rechute au moment de la biopsie. Ceci confirme la fiabilité de l'amplification des gènes d'immunoglobuline par PCR, y compris au sein des GSA, pour le diagnostic de lymphome. Précédemment, Johnsen *et al.* n'ont pas détecté d'association statistiquement significative entre la présence d'une clonalité B au sein des GSA et le développement ultérieur d'un lymphome. Les auteurs ont testé et comparé des GSA incluses en paraffine chez 12 patients atteints de SGS primaire compliqués d'un lymphome avec celles de 28 patients SGS indemnes de lymphome (33). Deux aspects principaux permettent d'expliquer ces résultats contradictoires avec les nôtres. Tout d'abord, cette étude a utilisé une méthode de PCR en point finale conventionnelle, alors que nous avons complété cette technique par une étape de formation d'homo/hétéroduplexes avant l'électrophorèse microcapillaire. La technique des homo/hétéroduplexes présente une

spécificité plus élevée et sans élévation significative du risque de faux négatif par rapport aux autres techniques de PCR modernes comme démontré dans la littérature (29,36). De plus, nous avons utilisé du tissu frais congelé qui est un matériel biologique plus adapté pour l'étude du réarrangement des gènes des immunoglobulines par PCR, comparé aux échantillons inclus en paraffine (37).

L'infiltration monoclonale B au sein des GSA s'est avérée plus fréquente chez les patients atteints du SGS, y compris en l'absence de lymphome au moment de la biopsie, que chez les témoins avec ou sans maladie auto-immune. Ces résultats suggèrent que la présence d'une monoclonalité B dans les GSA pourrait être intéressante à la fois pour le diagnostic de SGS chez les patients ne répondant pas strictement aux critères ACR/EULAR mais également pour différencier le SGS d'autres autres maladies auto-immunes systémiques.

Nos résultats soulignent que cette technique peut être utile pour prédire le risque de transformation maligne, ce qui avait déjà été précédemment suggéré par une étude cas-témoin rétrospective (16). Nous avons détecté la présence d'une infiltration monoclonale B dans les GSA des deux patients présentant une rechute de lymphome du MALT salivaire. De plus, la présence d'une clonalité B au sein des GSA des patients atteints d'un SGS était fortement associée à plusieurs facteurs prédictifs de lymphome déjà décrits dans la littérature tels que le gonflement persistant ou récurrent de la glande parotide, la lymphopénie, la cryoglobulinémie mixte, la consommation de complément, l'activité FR ou les taux de β 2-microglobuline sérique. Ce test peut donc apporter la preuve directe d'un processus lymphoprolifératif pré-néoplasique au sein des GSA des patients atteints du SGS sans avoir besoin d'un prélèvement invasif supplémentaire. Cette information permet de sensibiliser le clinicien au risque de lymphome et devrait conduire à un niveau de surveillance plus étroit. Ce test semble donc être une procédure utile et peu invasive, adaptable en routine dans les centres de soins tertiaires.

La détection d'une population clonale B émergente au sein des GSA, première étape du développement du lymphome du MALT, peut être utile dans les cas où le diagnostic est difficile, tant au début que lors d'une rechute de la maladie. Par exemple, le patient 2 avait présenté un lymphome du MALT touchant la parotide droite, traité chirurgicalement (exérèse complète) un an auparavant. La clonalité lymphocytaire B dans les GSA était positive, concordant avec l'aspect lymphoprolifératif observé en histologie malgré un bilan d'extension négatif, ce qui a été d'une aide importante pour confirmer la dissémination de la maladie dans

deux sites distincts. Inversement, au cours du SGS, l'absence d'infiltration clonale B observée dans les glandes salivaires lors de la réévaluation d'un lymphome du MALT traité peut constituer un outil fiable pour exclure une dissémination ou une rechute de la maladie. Ceci est bien illustré par la rémission prolongée observée chez le patient 3.

La présence de foci organisés en CG ectopiques au sein des GSA avait précédemment été identifiée comme un facteur de risque important mais non consensuel de développement ultérieur d'un lymphome (38). Dans notre population de patients atteints du SGS, nous avons trouvé une prévalence des CG ectopiques plus faible que dans les études ayant employé des techniques immunohistochimiques basées sur un marquage CD21L colorant ces structures (33), et nous n'avons pas confirmé la corrélation entre la présence d'une clonalité B et l'existence de ces CG ectopiques. De plus, le lien entre la présence de CG ectopiques au sein du GSA et le développement ultérieur de lymphome du MALT semble sujet à caution. En effet, le clone B pourrait ne pas provenir de cellules du CG lui-même, mais plutôt de cellules B mémoire non/post-GC ayant la capacité de se différencier en cellules B de la zone marginale (39).

Nos résultats montrent qu'un composant monoclonal B dans les GSA n'est présent que chez un quart des patients porteurs d'un SGS. En fournissant une évaluation du risque de lymphome au cours du SGS, cet outil pourrait donc aider l'interniste à suivre de façon plus rapprochée les patients à haut risque tout en évitant la surmédicalisation des patients ayant un infiltrat polyclonal.

L'intérêt de répéter la biopsie des GSA avec recherche de clonalité B au cours du suivi demeure toutefois incertain. Une étude avait suggéré que le degré des lésions histologiques et le phénotype lymphocytaire des GSA étaient déjà établis au moment du diagnostic, et n'étaient pas modifiés au cours du temps, notamment par les thérapeutiques. Néanmoins, cinq patients de cette même étude ont développé un lymphome du MALT salivaire, comme l'attestait l'émergence d'un clone B lors d'une seconde biopsie des GSA (40). L'ensemble de ces résultats suggère que la clonalité lymphocytaire B tissulaire devrait être recherchée si une deuxième biopsie des GSA est effectuée dans le cadre d'une suspicion de lymphome du MALT, puisque qu'elle fournit des informations importantes, complémentaires des techniques histologiques standard.

Au cours du SGS, de nombreuses altérations ont été observées à l'échelle du lymphocyte, faisant de ce dernier une cible prometteuse (41). Cependant, les essais évaluant les

médicaments déplétant ou inactivant le lymphocyte B n'ont pas donné de résultats unanimes concernant le soulagement des principales plaintes du patient (asthénie, sécheresse, douleurs articulaires) ou l'amélioration de sa qualité de vie (42). En raison de l'hétérogénéité dans la présentation et dans l'évolution du SGS, il semble important de rationaliser l'utilisation des biothérapies, en se basant sur les avancées scientifiques améliorant la compréhension de sa pathogenèse (43). Il serait donc très intéressant d'évaluer la réponse clinique et la survenue d'un lymphome chez les patients présentant une clonalité lymphocytaire B dans les GSA et traités avec des médicaments ciblant cette cellule.

Les difficultés de recueil de données inhérentes à la méthodologie rétrospective de cette étude représentent une limite. De plus, nous n'avons observé aucun cas de lymphome supplémentaire au cours du suivi des patients atteints de SGS et présentant une clonalité B au moment du diagnostic. Nous supposons que la durée médiane de suivi de 4 ans dans notre étude est trop courte compte tenu du délai d'apparition du lymphome. En effet, dans une récente étude rétrospective portant sur 16 396 patients atteints de SGS, la durée moyenne avant l'apparition du LNH était de 4,5 ans, avec une augmentation marquée de l'incidence cumulée au-delà de 8 ans de suivi (44). Notre étude comprenait également un certain nombre de patient ayant reçu un traitement par corticostéroïdes avant la biopsie. Cela a probablement entraîné une moindre réactivité antigénique chronique et par conséquent, une diminution potentielle du nombre de cas de lymphome. Il est à noter qu'une clonalité B a pu être observée à l'intérieur des GSA de patients atteints de LBM ou de LLC. Ce type de patients soulève la question de distinguer les clones B associés au SGS et ceux associés à un syndrome lymphoprolifératif B indépendant de la maladie systémique. Un résultat de clonalité B positif chez un patient ne répondant pas aux critères ACR/EULAR doit donc être interprété avec prudence et doit amener le médecin à exclure toute autre maladie lymphoproliférative.

Conclusion

Nos données confirment que l'évaluation de la clonalité lymphocytaire B par PCR avec analyse des homo/hétéroduplexes pratiquée sur les tissus de GSA fraîches au cours du SGS est un outil simple et fiable. Elle permet de délimiter un sous-ensemble de patients présentant soit un lymphome B soit un haut risque de le développer selon les facteurs de risque préétablis.

La clonalité B, en association aux facteurs prédictifs du risque de lymphome déjà connus, est un élément d'intérêt majeur pour l'interniste prenant en charge des patients atteints du SGS, lui permettant d'adopter une stratégie de surveillance personnalisée pour détecter de manière précoce une transformation lymphomateuse. Ces résultats devront bien sûr être confirmés dans de futures études prospectives. Les données ainsi recueillies seraient intéressantes à intégrer dans de nouveaux scores prédictifs (16). Elles seraient aussi précieuses dans les modèles utilisant le *data mining* pour la création de réseaux neuronaux artificiels, censés permettre au clinicien de mieux distinguer les patients à haut risque de complication (45).

Remerciements

Nous tenons à remercier Christelle Taillandier et Norman Abbou pour l'extraction de l'ADN des GSA, la réalisation des PCR et pour nous avoir facilité l'accès aux données de clonalité ; le Dr Sophie Jegou-Desplat pour le dosage des ACAN ; Alan Barrow pour la révision linguistique du manuscrit.

Liste des abréviations

ACAN : anticorps antinucléaires

ESSDAI : European League Against Rheumatism Sjögren's Syndrome Disease Activity Index

CG : centre germinatif

FR : facteur rhumatoïde

GSA : glandes salivaires accessoires

Kde : kappa-deleting element

LBM : lymphocytose B monoclonale

LLC : leucémie lymphoïde chronique

LNH : lymphome non Hodgkinien

LZM : lymphome de la zone marginale

MALT : mucosa-associated lymphoid tissue

OMS : organisation mondiale pour la santé

SGS : syndrome de Gougerot Sjögren

Références

1. Kassan SS. Increased Risk of Lymphoma in Sicca Syndrome. *Annals of Internal Medicine*. 1 déc 1978;89(6):888.
2. Fallah M, Liu X, Ji J, Försti A, Sundquist K, Hemminki K. Autoimmune diseases associated with non-Hodgkin lymphoma: a nationwide cohort study. *Annals of Oncology*. 2014;25(10):6.
3. Ekström Smedby K, Vajdic CM, Falster M, Engels EA, Martínez-Maza O, Turner J, et al. Autoimmune disorders and risk of non-Hodgkin lymphoma subtypes: a pooled analysis within the InterLymph Consortium. *Blood*. 15 avr 2008;111(8):4029-38.
4. Voulgarelis M, Ziakas PD, Papageorgiou A, Baimpa E, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Prognosis and Outcome of Non-Hodgkin Lymphoma in Primary Sjögren Syndrome: *Medicine*. janv 2012;91(1):1-9.
5. Theander E, Manthorpe R, Jacobsson LTH. Mortality and causes of death in primary Sjögren's syndrome: A prospective cohort study. *Arthritis & Rheumatism*. 2004;50(4):1262-9.
6. Zucca E, Copie-Bergman C, Ricardi U, Thieblemont C, Raderer M, Ladetto M, et al. Gastric marginal zone lymphoma of MALT type: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 1 oct 2013;24(suppl 6):vi144-8.
7. Jackson AE, Mian M, Kalpadakis C, Pangalis GA, Stathis A, Porro E, et al. Extranodal Marginal Zone Lymphoma of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue of the Salivary Glands: A Multicenter, International Experience of 248 Patients (IELSG 41). *The Oncologist*. 10 janv 2015;20(10):1149-53.
8. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues [Internet]. [cité 15 sept 2019]. Disponible sur: <http://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Iarc-Classification-Of-Tumours/Who-Classification-Of-Tumours-Of-Haematopoietic-And-Lymphoid-Tissues-2017>
9. Quintanilla-Martinez L. The 2016 updated WHO classification of lymphoid neoplasias. *Hematological Oncology*. 2017;35(S1):37-45.

10. Dreyling M, Thieblemont C, Gallamini A, Arcaini L, Campo E, Hermine O, et al. ESMO Consensus conferences: guidelines on malignant lymphoma. part 2: marginal zone lymphoma, mantle cell lymphoma, peripheral T-cell lymphoma. *Annals of Oncology*. avr 2013;24(4):857-77.
11. Quintana PG, Kapadia SB, Bahler DW, Johnson JT, Swerdlow SH. Salivary gland lymphoid infiltrates associated with lymphoepithelial lesions: A clinicopathologic, immunophenotypic, and genotypic study. *Human Pathology*. 1 juill 1997;28(7):850-61.
12. Seror R, Rauz S, Gosset M, Bowman SJ. Disease activity and patient reported outcome measures in Sjögren's - what are the best tools to evaluate? *Rheumatology (Oxford)*. 24 juin 2019;
13. Nocturne G, Virone A, Ng W-F, Le Guern V, Hachulla E, Cornec D, et al. Rheumatoid Factor and Disease Activity Are Independent Predictors of Lymphoma in Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis & Rheumatology*. avr 2016;68(4):977-85.
14. Solans-Laqué R, López-Hernandez A, Angel Bosch-Gil J, Palacios A, Campillo M, Vilardell-Tarres M. Risk, Predictors, and Clinical Characteristics of Lymphoma Development in Primary Sjögren's Syndrome. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 1 déc 2011;41(3):415-23.
15. Horvath IF, Szanto A, Papp G, Zeher M. Clinical course, prognosis, and cause of death in primary Sjögren's syndrome. *J Immunol Res*. 2014;2014:647507.
16. Fragkioudaki S, Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Predicting the risk for lymphoma development in Sjogren syndrome: An easy tool for clinical use. *Medicine*. juin 2016;95(25):e3766.
17. Tzioufas AG, Boumba DS, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Mixed monoclonal cryoglobulinemia and monoclonal rheumatoid factor cross-reactive idiotypes as predictive factors for the development of lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis & Rheumatism*. 1996;39(5):767-72.
18. Nocturne G, Mariette X. Sjögren Syndrome-associated lymphomas: an update on pathogenesis and management. *British Journal of Haematology*. 2014;11.
19. Royer B, Cazals-Hatem D, Sibilia J, Agbalika F, Cayuela J-M, Soussi T, et al. Lymphomas in Patients With Sjögren's Syndrome Are Marginal Zone B-Cell Neoplasms, Arise in Diverse Extranodal and Nodal Sites, and Are Not Associated With Viruses. *Blood*. 15 juill 1997;90(2):766-75.

20. Thieblemont C, Berger F, Dumontet C, Moullet I, Bouafia F, Felman P, et al. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma is a disseminated disease in one third of 158 patients analyzed. *Blood*. 1 févr 2000;95(3):802-6.
21. Zhang Y, Yu D, Huang K, Huang C, Liu H, Sun X, et al. Evaluation of the diagnostic value of immunoglobulin clonal gene rearrangements in patients with parotid gland MALT lymphoma using BIOMED-2 protocol. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 1 août 2018;126(2):165-73.
22. Dong L, Masaki Y, Takegami T, Jin Z-X, Huang C-R, Fukushima T, et al. Clonality analysis of lymphoproliferative disorders in patients with Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol*. nov 2007;150(2):279-84.
23. Jordan R, Diss TC, Lench NJ, Isaacson PG, Speight PM. Immunoglobulin gene rearrangements in lymphoplasmacytic infiltrates of labial salivary glands in Sjögren's syndrome. A possible predictor of lymphoma development. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. juin 1995;79(6):723-9.
24. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: A consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. *Ann Rheum Dis*. janv 2017;76(1):9-16.
25. Seror R, Ravaud P, Bowman S, Baron G, Tzioufas A, Theander E, et al. EULAR Sjogren's syndrome disease activity index: development of a consensus systemic disease activity index for primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. juin 2010;69(6):1103-9.
26. Chisholm DM, Mason DK. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's disease. *Journal of Clinical Pathology*. 1 sept 1968;21(5):656-60.
27. Theander E, Vasaitis L, Baecklund E, Nordmark G, Warfvinge G, Liedholm R, et al. Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjogren's syndrome. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1 août 2011;70(8):1363-8.
28. van Dongen JJM, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PAS, Hummel M, Lavender FL, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect

- lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. déc 2003;17(12):2257-317.
29. Beaufils N, Ben Lassoued A, Essaydi A, Dales J-P, Formisano-Tréziny C, Bonnet N, et al. Analysis of T-cell receptor- γ gene rearrangements using heteroduplex analysis by high-resolution microcapillary electrophoresis. *Leukemia Research*. sept 2012;36(9):1119-23.
 30. Pablos JL, Carreira PE, Morillas L, Montalvo G, Ballestin C, Gomez-Reino JJ. Clonally expanded lymphocytes in the minor salivary glands of sjögren's syndrome patients without lymphoproliferative disease. *Arthritis & Rheumatism*. 1994;37(10):1441-4.
 31. Guzmán LM, Castillo D, Aguilera SO. Polymerase chain reaction (PCR) detection of B cell clonality in Sjögren's syndrome patients: a diagnostic tool of clonal expansion: Diagnosis of B cell clonality by PCR. *Clinical & Experimental Immunology*. juill 2010;161(1):57-64.
 32. Quartuccio L, Baldini C, Bartoloni E, Priori R, Carubbi F, Corazza L, et al. Anti-SSA/SSB-negative Sjögren's syndrome shows a lower prevalence of lymphoproliferative manifestations, and a lower risk of lymphoma evolution. *Autoimmunity Reviews*. nov 2015;14(11):1019-22.
 33. Johnsen SJ, Berget E, Jonsson MV, Helgeland L, Omdal R, Jonsson R. Evaluation of Germinal Center-like Structures and B Cell Clonality in Patients with Primary Sjögren Syndrome with and without Lymphoma. *The Journal of Rheumatology*. nov 2014;41(11):2214-22.
 34. Langerak AW, Groenen PJTA, Brüggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L, et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia*. oct 2012;26(10):2159-71.
 35. Evans P a. S, Pott C, Groenen PJTA, Salles G, Davi F, Berger F, et al. Significantly improved PCR-based clonality testing in B-cell malignancies by use of multiple immunoglobulin gene targets. Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. *Leukemia*. févr 2007;21(2):207-14.
 36. González M, González D, López-Pérez R, García-Sanz R, Chillón MC, Balanzategui A, et al. Heteroduplex analysis of VDJ amplified segments from rearranged IgH genes for clonality assessments in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. A comparison between different strategies. *Haematologica*. sept 1999;84(9):779-84.

37. Bagg A, Braziel RM, Arber DA, Bijwaard KE, Chu AY. Immunoglobulin heavy chain gene analysis in lymphomas: a multi-center study demonstrating the heterogeneity of performance of polymerase chain reaction assays. *J Mol Diagn.* mai 2002;4(2):81-9.
38. Haacke EA, van der Vegt B, Vissink A, Spijkervet FKL, Bootsma H, Kroese FGM. Germinal centres in diagnostic labial gland biopsies of patients with primary Sjögren's syndrome are not predictive for parotid MALT lymphoma development. *Ann Rheum Dis.* oct 2017;76(10):1781-4.
39. Novak U, Basso K, Pasqualucci L, Dalla-Favera R, Bhagat G. Genomic analysis of Non-Splenic Marginal Zone Lymphomas (MZL) indicates similarities between nodal and extranodal MZL and supports their derivation from Memory B-cells. *British Journal of Haematology.* 2011;155(3):362-5.
40. Kapsogeorgou EK, Christodoulou MI, Panagiotakos DB, Paikos S, Tassidou A, Tzioufas AG, et al. Minor Salivary Gland Inflammatory Lesions in Sjögren Syndrome: Do They Evolve? *The Journal of Rheumatology.* sept 2013;40(9):1566-71.
41. Mielle J, Tison A, Cornec D, Le Pottier L, Daien C, Pers J-O. B cells in Sjögren's syndrome: from pathophysiology to therapeutic target. *Rheumatology (Oxford).* 15 févr 2019;
42. Lackner A, Ficjan A, Stradner MH, Hermann J, Unger J, Stamm T, et al. It's more than dryness and fatigue: The patient perspective on health-related quality of life in Primary Sjögren's Syndrome - A qualitative study. *PLOS ONE.* 9 févr 2017;12(2):e0172056.
43. Felten R, Scher F, Sibilia J, Gottenberg J-E, Arnaud L. The pipeline of targeted therapies under clinical development for primary Sjögren's syndrome: A systematic review of trials. *Autoimmunity Reviews.* juin 2019;18(6):576-82.
44. Chiu Y-H, Chung C-H, Lin K-T, Lin C-S, Chen J-H, Chen H-C, et al. Predictable biomarkers of developing lymphoma in patients with Sjögren syndrome: a nationwide population-based cohort study. *Oncotarget.* 25 juill 2017;8(30):50098-108.
45. Baldini C, Ferro F, Luciano N, Bombardieri S, Grossi E. Artificial neural networks help to identify disease subsets and to predict lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* juin 2018;36 Suppl 112(3):137-44.

Annexes

Molecular B-cell clonality assay in minor salivary glands as a useful tool for the lymphoma risk assessment in Sjögren's syndrome

Antoine Poulet, MD^{1*}, Audrey Benyamine, MD, PhD^{2*}, Pauline Belenotti, MD³, Hugo Nihous, MD⁴, Nicoleta Ene, MD⁵, Pierre André Jarrot, MD, PhD¹, Laure Swiader, MD⁵, Julien Mancini, MD, PhD⁶, Nathalie Beaufils, MEng⁷, Arnaud Essaydi, MD⁸, Jean Gabert, MD, PhD⁷, Pierre Jean Weiller, MD⁹ and Gilles Kaplanski, MD, PhD¹

¹ Aix-Marseille Univ, APHM, Hôpital De La Conception, Service de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Marseille, France

² Aix-Marseille Univ, APHM, Hôpital Nord, Service de Médecine Interne, Marseille, France

³ Hôpital privé Clairval, Consultations de Médecine Interne, Marseille, France

⁴ Aix-Marseille Univ, APHM, Hôpital De La Timone, Laboratoire d'Anatomo-Cyto-Pathologie et de Neuropathologie, Marseille, France

⁵ Aix-Marseille Univ, APHM, Hôpital De La Timone, Département de Médecine Interne, Marseille, France

⁶ Aix-Marseille Univ, APHM, INSERM, IRD, SESSTIM, Hôpital De La Timone, Département de Biostatistique et technologies de l'information et de la communication (BioSTIC), Marseille, France

⁷ Aix-Marseille Univ, APHM, Hôpital Nord, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Marseille, France

⁸ Etablissement Français du Sang Grand Est, Laboratoire d'Histocompatibilité, Strasbourg, France

⁹ Institut Paoli-Calmettes, Département d'onco-hématologie, Marseille, France

* Dr Antoine Poulet and Dr Audrey Benyamine contributed equally to this paper

Corresponding author:

Pr Gilles KAPLANSKI

Department of Internal Medicine and Clinical Immunology

CHU Conception, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille

135 boulevard Baille

13005 Marseille

France

Gilles.Kaplanski@ap-hm.fr

Phone: +33 4 91 38 37 62

Funding: None

Disclosure statement: The authors declare no conflicts of interest.

Authorship: All the authors had full access to data and contributed to the writing of this manuscript.

Word count: 3512

Abstract

Objectives. Non-Hodgkin's lymphoma (NHL) risk assessment at the time of SS diagnosis and during follow-up is crucial. Current lymphoma predictive factors are based on indirect manifestations of lymphoproliferative disorder. We studied the correlation between the prevalence of clonal immunoglobulin gene rearrangements in minor salivary glands (MSG) and lymphoma as well as previously established NHL predictive factors.

Methods. Molecular B-cell expansion was studied in 207 fresh frozen MSG of patients with either suspected SS or with suspected lymphomatous transformation during SS, using a standardised multiplex PCR assay combined with heteroduplex analysis by microcapillary electrophoresis. The assignation of clonal cases was based on EuroClonality consortium guidelines.

Results. We found a B-cell monoclonal component in 31/207 (15%) MSG. This was significantly more frequent in patients with SS (28/123, 22.8%) compared with patients without SS (3/84, 3.6%, $P < 0.001$). Clonal B-cell expansion in MSG of SS patients correlated significantly with ongoing salivary gland NHL, permanent or recurrent salivary gland swelling, lymphopenia including CD4 T-cell lymphopenia, RF activity, hypocomplementemia, mixed cryoglobulinemia and elevated $\beta 2$ -microglobulin concentrations.

Conclusion. These findings demonstrate that this method is interesting for the detection of B-cell monoclonal proliferation within MSG, allowing for a direct insight of the local

microenvironment at the time of diagnosis or during the course of SS. Our study suggests that this clonal expansion is associated with a subset of SS patients presenting either ongoing lymphoma or other established lymphoma predictive factors.

Key words

Sjögren's syndrome, B-cell clonality, PCR, salivary glands, lymphoma

Rheumatology key messages

- Molecular B-cell monoclonality within MSG is associated with ongoing NHL in the target tissue of SS
- Molecular B-cell monoclonality within MSG correlates with a high risk of lymphoma according to existing predictors
- Monoclonal cases represent only one-quarter of SS patients requiring a closer follow up

Introduction

The occurrence of B-cell non-Hodgkin's lymphomas (NHL) complicating the course of Sjögren's syndrome (SS) has been known for more than thirty years(1). Since then, physicians have been trying to detect at an early stage those patients most at-risk of lymphoma in order to propose the most accurate level of care.

A recent study confirmed that the overall standardised incidence ratio for NHL in patients with SS was 4.9(2). Notably, SS patients have an increased risk of extranodal marginal zone lymphoma (MZL) of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT)(3), resulting in a 3 to 8-fold increased mortality(4,5). MZL of MALT type represent 7% of NHL. One third of MALT lymphomas consist in primary gastric lymphomas(6) but parotid and submandibular glands are the most frequently involved sites of non-gastric MALT lymphoma(7). The 2008 WHO Classification criteria of MALT lymphoma is based on a combination of morphologic and immunophenotypic features in order to differentiate this entity from other low-grade lymphomas(8,9). As borderline lymphoepithelial lesions may be present at the early stages of MALT lymphoma, the distinction with SS-associated reactive lymphoid infiltrate may also be challenging(10).

Sjögren's syndrome is a heterogenous disease with 20 to 40% of the patients harbouring systemic manifestations(11). In these patients, a higher European League Against

Rheumatism Sjögren's Syndrome Disease Activity Index (ESSDAI) score correlates with subsequent occurrence of lymphoma(12). Currently, physicians use indirect predictive factors of lymphoma transformation such as the enlargement of parotid gland, the presence of adenopathy, purpura, CD4 T-cell lymphopenia, monoclonal component in serum, cryoglobulinemia, low complement levels and RF activity(5,12–15). These markers are highly suggestive of mono/oligoclonal B-cell production of a RF-associated cross-reactive idiotype(16). However, identifying early and accurate direct biomarkers of lymphoma remains a crucial issue to personalise the frequency of follow-up and treatment of SS patients.

Focal lymphocytic infiltrate in labial minor salivary glands (MSG), containing polyclonal autoimmune B-cells, is the hallmark of SS. The continuum of lymphomagenesis in SS relies on pathogenic pathways that drive the evolution towards oligo- then monoclonal proliferation resulting in subsequent lymphomatous escape. Recently, new elements in this multi-step process have been identified, focusing on events occurring within the MSG. These advances brought to light a remarkable SS-associated intraglandular microenvironment favouring chronic autoantigen stimulation, production of autoreactive antibodies forming immune complexes that continuously activate RF-B cells. This premalignant condition is reflected by a neo-organisation of lymphoid foci into ectopic germinal centre (GC)-like structures, dysregulation of Nuclear Factor Kappa B (NF- κ B) pathways with enhanced level of B-cell activating factor (BAFF), and minute A20 protein levels conferring a survival advantage to these B-cells(17).

SS-associated MALT lymphoma primarily involves salivary glands which are the targets of autoimmune exocrinopathy(18). However monoclonal B-cell populations tend to spread from one glandular site to another(19) and disseminated disease at lymphoma diagnosis is a frequent situation(20). Thus, MSG biopsy seems to be a minimally invasive and easy to perform at the bed side procedure, especially when MALT lymphoma involves less accessible sites such as the parotid gland. Given the high reliability of the PCR technique for the diagnosis of MALT lymphoma in the parotid glands(21), the molecular B-cell clonality assay within MSG could be a straightforward approach for the prediction and early diagnosis of this complication in SS.

We aimed to determine whether the presence of a B-cell monoclonality was linked to the risk of lymphoma in a SS population. For that purpose, we evaluated the immunoglobulin heavy chain gene (IGH) and the immunoglobulin kappa light chain gene (IGK) rearrangements

within fresh frozen MSG of patients using the EuroClonality (BIOMED-2) protocol. Then, we analysed molecular biology results along with clinical, biological and histological data.

Patients and methods

Study population

We retrospectively analysed the medical records of 222 patients investigated in the internal medicine departments of Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille (AP-HM) between October 2011 and March 2019. All of them had undergone MSG biopsy with B-cell clonality screening. The biopsy was performed as part of the diagnostic procedure for primary or secondary SS, or during SS follow-up if lymphomatous transformation was suspected. Definitions of extraglandular manifestations relied on the ESSDAI and SS diagnosis was based on the 2016 ACR/EULAR classification criteria for primary SS(22). Patients not meeting these criteria were used as a control population. Relevant parameters of disease activity, clinical and biological lymphoma risk factors and traditional B symptoms such as fever, weight loss and night sweats were retrieved from the medical records (**Table 1**).

Laboratory assessment

Anti SSA/Ro antibodies were detected by quantitative automated fluoroenzyme immunoassay using EliA™ reagents and a UniCAP 250 instrument (Phadia AB/Thermo Fisher Scientific, Inc., Freiburg, Germany) with a positivity threshold at 10 IU/ml. Lymphopenia was considered under a threshold of 1000 lymphocytes/mm³, CD4 T-cell lymphopenia lower than 500/mm³, the presence of HLADR+/CD8+ activated T-cells above a level of 6% and polyclonal hypergammaglobulinemia above 16 g/l. Inversion of CD4/CD8 lymphocyte ratio was considered if lower than 1. Hypocomplementemia was defined as level of C3 lower than 0.81 g/l or C4 lower than 0.13 g/l or CH50 below 70%. A RF titre above 20 IU/l was considered significant. Serum κ/λ free light chain ratio was considered abnormal if outside 0.26-1.65 and β2 microglobulin was considered elevated if >2.2 mg/l.

Minor salivary gland samples

MSG were taken from 222 patient's inferior labial mucosae. Two to four glands for each subject were formalin-fixed then paraffin-embedded for histopathological diagnostic purposes. Sections of three μm in thickness were haematoxylin and eosin stained and evaluated using a light microscope. According to Chisholm and Mason, focal lymphocytic

sialadenitis grade 3 and 4 were considered consistent for SS diagnosis, corresponding to ≥ 1 lymphocytic focus per 4 mm² glandular tissue(23).

All available MSG with fibrosis or a Chisholm and Mason score ≥ 2 (96/109), were retrospectively assessed for the presence of ectopic GC-like formations. Slides were centralised then independently scored by a pathologist. Existence of GC-like structures were investigated, according to the definition used by *Theander et al*(24).

During the diagnostic procedure, two glands were not fixed but snap-frozen in dry ice and stored at -80°C until the clonality analysis.

DNA extraction

Genomic DNA was manually extracted from fresh-frozen tissue using the E.Z.N.A[®] Tissue DNA kit according to the manufacturer's recommendations (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA). DNA was eluted in 100 μ L of elution buffer and quantified on the NanoDrop[™] 8000 Spectrophotometer (Thermo Electron, Vantaa, Finland).

Endpoint PCR amplification and heteroduplex formation

For the amplification of immunoglobulin genes rearrangements of IGH(VH-JH) FR1, -2, -3 and *IGK* V κ -Kde/intron-Kde primers (Invitrogen[™]) were used in four multiplex combinations placed in four separated tubes (tube FR1, tube FR2, tube FR3, tube Kde) according to the BIOMED-2 multiplex PCR protocol(25). Each 50 μ L PCR included 100 ng of DNA, 10 pmol of 5 and 3 oligonucleotide primers, 0.2 mM dXTP, 5 μ L of 10 \times Taq Gold buffer, 1.5 mM of MgCl₂ and 1 U of AmpliTaq Gold polymerase (Applied Biosystems[™]). All amplification reactions were performed in an automated thermocycler (TProfessional thermocycler, Biometra, Germany). The cycling and running parameters were set out according to the previously described method(26). PCR and duplex products (1 μ L) were detected by high-resolution microcapillary electrophoresis with the Agilent 2100 Bioanalyzer on a DNA 1000 LabChip (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). The details of immunoglobulin gene rearrangement pattern according to the different primers used are depicted in Supplementary Data **Table S1**.

B-cell clonality assessment

Electropherograms, PCR product size determination, and quantification were automatically performed by 2100 expert software. DNA quality was checked for all samples using albumin gene amplification as a control. All electropherograms were independently assessed for

clonality by JG and NB, and a consensus was established as previously described(26). Representative profiles of distinct immunoglobulin heteroduplex analysis are shown on **Figure 1**.

Statistical analysis

Continuous variables were expressed as mean (\pm S.D.) and/or median (range). Differences were examined using ANOVA (3-group comparisons) and Student or Mann-Whitney tests (2-group comparisons) as appropriate. Categorical variables were expressed as counts (%) and compared using χ^2 or Fisher's exact tests. All statistical tests were two-sided using a threshold *P*-value of 0.05. Analyses were performed using SPSS Statistics® 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

Ethics and approval

The local Individuals Data Protection Committee approved our study (RGPD/AP-HM 2019-50) in accordance with current General Data Protection Regulation (EU) 2016/679.

Results

Demographic, clinical and laboratory features of SS and non-SS patients

Two hundred and twenty-two MSG were screened for B-cell clonality. Ten patients were excluded because of technical issues due to preanalytical errors, four patients were excluded because of poor DNA quantity and one because of missing data, leaving 207 biopsies available for analysis.

Patients were classified into two distinct groups according to the final diagnosis: the SS group (n=123) and the control group (n=84) (**Table 1**), which subsequently was divided into two subgroups, i) autoimmune diseases other than SS (n=41) and ii) non-autoimmune diseases (n=43). The most frequent diagnoses among controls with other autoimmune disease were systemic lupus erythematosus (7/41, 17%), spondyloarthritis (6/41, 15%), Hashimoto's thyroiditis (6/41, 15%). The three groups were comparable regarding age at biopsy, gender and follow up duration (data not shown). There was more sicca syndrome involving eyes and/or mouth in the SS group (*P* <0.001). The median duration of follow-up was 43 months in the SS group (range, 2-105 months). During the follow-up period, two patients belonging to the SS group died due to sudden cardiac arrest and multiple organ failure following cryoglobulinaemic vasculitis.

In the SS group, 3 patients (3/123, 2.4%) had a previous history of MALT lymphoma. After the MSG biopsy, one of them was still considered in remission of a pulmonary MALT lymphoma while the two others were diagnosed as having a relapsed salivary MALT lymphoma. In the control group, one patient had a nodal NHL history. No additional cases of lymphoma were detected during the follow-up. The median duration between first lymphoma diagnosis and the MSG biopsy was 84 months (range 12-192 months). Clinical data of SS patients with lymphoma history are summarised in **Table 2**.

In the SS group, six patients had other lymphoproliferative disorders than lymphoma consisting in chronic lymphocytic leukaemia (CLL) (n=2), monoclonal B-cell lymphocytosis (MBL) (n=3) and smouldering myeloma (n=1). In the control group, one patient was monitored for MBL.

Identification of B-cell clonality by PCR and association with lymphoma in SS patients

We found a B-cell monoclonal component in 31/207 (15%) MSG. This was significantly more frequent in patients with SS compared to patients without SS [28/123 (22.8%) vs 3/84 (3.6%), $P < 0.001$, **Table 1**]. The difference remained statistically significant when SS patients were compared with the 2 subgroups of controls with or without other autoimmune disease [3/41 (7.3%) and 0/43 (0%) respectively, $P < 0.001$].

After univariate analysis, ongoing lymphoma at the time of biopsy was significantly associated with MSG B-cell monoclonality in the SS group ($P = 0.05$, **Table 3**). Indeed, patient 1 and patient 2 were diagnosed with relapsed MALT lymphoma according to MSG immunohistochemical findings and subsequently confirmed through the molecular detection of B-cell monoclonality within their MSG (100%). Moreover, one of them (patient 1) exhibited same sized PCR products in tissue as in peripheral blood suggesting a systemic dissemination of the disease.

The B-cell clonality assay was available in both peripheral blood and MSG tissue for 63/123 SS patients. Among them, monoclonality was detected in both blood and tissue compartments in 3 patients (3/63, 5%), with identical B-cell clone in two patients who had either disseminated salivary MALT lymphoma (patient 1) or CLL. The third patient had CLL and exhibited distinct clones in blood and MSG. Fourteen patients (14/63, 22%) exhibited clonal rearrangement either in blood or in MSG: one patient with MBL was positive in blood only and the 13 others were positive in MSG only. These 13 patients did not present lymphoma neither at the time of biopsy or during the follow-up [median duration of follow-up 83 months

(range 30-105 months), mean 79.5 months (S.D. \pm 17.6 months)]. In the remaining 46/63 patients (73%), no B-cell clone was found at all, and none of them had lymphoma at the time of biopsy or during follow-up.

Association between MSG clonal B-cell infiltration and lymphoma predictive factors

We first compared the frequency of lymphoma risk factors in the SS group to that of the control group. We found that polyadenopathy, salivary gland swelling, hypocomplementemia, CD4 T-cell lymphopenia, HLADR+/CD8+ activated T lymphocytes, RF activity, levels of serum β 2-microglobulin, focus score \geq 3 and GC-like structures were significantly more frequent in the SS group (**Table 1**). We observed no statistical difference between the 2 groups regarding B-cell symptoms, splenomegaly, palpable purpura, cryoglobulinemia, serum monoclonal component. The proportion of patients already treated for autoimmune disease at the time of biopsy was significantly higher in the SS group. Prior therapy consisted of oral steroids and/or hydroxychloroquine in 23/28 (72%) of SS patients.

To determine whether clonal B-cell infiltration in MSG of SS patients was associated with previously established lymphoma predictive factors, we compared the 28 SS patients with B-cell monoclonality in MSG with the 95 SS patients without B-cell monoclonality (**Table 3**). Regarding clinical risk factors, only permanent or recurrent salivary gland swelling was significantly associated with MSG B-cell monoclonality. Regarding biological risk factors, lymphopenia including CD4 T-cell lymphopenia, RF activity, hypocomplementemia, type 2 mixed cryoglobulinemia and elevated β 2 microglobulin concentrations were significantly associated with MSG B-cell monoclonality. The proportion of patients with a prior treatment was comparable in the 2 groups with and without MSG B-cell monoclonality (**Table 3**).

Discussion

The early diagnosis of MALT lymphoma during the course of SS is challenging and raises the issue of developing new prognostic and diagnostic tools.

To our knowledge, the current study, with a population of 207 patients, is the largest available report of B-cell clonality assays within MSG biopsy evaluating its relevance for the lymphoma risk assessment in SS(15,19,27–31). We used optimized PCR run protocols with standardised primers together with EuroClonality (BIOMED-2) guidelines for IG heteroduplex analysis and interpretation(32). This technique was shown to provide excellent performance rates in the detection of B-cell malignancies. Combining IGH VH-JH and IGk allows for the

detection of approximately 95% of extranodal MZL(33) due to the use of IGκ Kde primers as a complementary target. Indeed, the latter is less prone to somatic hypermutation that may occur in the reactive lymphoid infiltrate of MSG in SS patients with high disease activity. Therefore, a monoclonal IGH and/or IGκ gene rearrangement in borderline cases of lymphoepithelial lesion is of great diagnostic value to establish evidence of lymphoma(32,33). In our study, B-cell monoclonality was detected in the two SS patients with relapsed MALT lymphoma at the time of biopsy, confirming the potency of PCR-based IG gene clonality testing in MSG for the assessment of lymphoma. Previously, Johnsen *et al.* did not detect any significant association between B-cell monoclonality in MSG and lymphoma development after testing paraffin-embedded MSG from 12 SS patients and lymphoma compared with 28 SS patients without lymphoma(31). Two main aspects may explain these contradictory data. First, this study used a conventional endpoint PCR method, whereas we added a heteroduplex formation step before microcapillary electrophoresis. As previously described(34), heteroduplex analysis results in a higher specificity and a very low risk of false-negative results compared with other techniques. In addition, we used fresh frozen tissue, which is a material more suitable for immunoglobulin gene rearrangement detection than paraffin-embedded samples(35).

Monoclonal B-cell infiltration was found to occur more frequently in SS patients, including those without lymphoma at the time of biopsy, than in controls with or without autoimmune diseases. This finding suggests that the presence of B-cell monoclonality in MSG could be of interest for the diagnosis of SS in patients who do not meet the ACR/EULAR criteria and helpful to differentiate SS from other systemic auto-immune diseases.

Our report underscore that this technique may be useful to predict the risk of malignant transformation, as previously suggested in a retrospective cohort study(15). We successfully detected the clonal B-cell infiltration in MSG of the two patients with relapsed salivary MALT lymphoma. Moreover, clonal B-cell infiltration in the MSG of SS patients was strongly associated with several previously established lymphoma predictive factors such as persistent or recurrent swelling of parotid gland, lymphopenia, cryoglobulinemia with monoclonal component, complement consumption, RF activity and elevated β₂ microglobulin. Without additional sampling, this test can thus provide direct proof of a premalignant lymphoproliferative process occurring in the MSG of SS patients, which should

lead to closer monitoring. Therefore, this assay seems a useful and minimally invasive routine procedure to perform in a tertiary care centre.

The detection of an emerging B-cell clone within MSG, constituting the first step of MALT lymphoma development, can be helpful in challenging diagnoses both at the onset or relapse of the malignancy. For example, patient 2 was treated for a unilateral parotid gland MALT lymphoma by complete surgical removal one year before. Despite a negative extension screening for lymphoma, the B-cell monoclonality in MSG was suggestive of lymphoma infiltration; thus, a precious clue to confirming the mucosal involvement in two distinct sites. Conversely, the absence of salivary gland clonal B-cell infiltration in the reassessment of previously treated SS-associated MALT lymphoma, may constitute a reliable tool to exclude a dissemination or a relapse of the haematological disease, as shown by the long-term remission observed in patient 3.

GC-like structures within MSG had previously been identified as a strong but not consensual predictor of lymphoma development(36). Here, we found a lower prevalence of GCs than in immunochemistry-based studies where CD21L labelling was used to stain GCs(31), and did not confirm the correlation between B-cell monoclonality and the existence of GCs. Besides, a causal link between the presence of GC-like structures within MSG and MALT lymphoma development seems to be unsure as the B-cell clone may not arise from GC cells but rather from non/post-GC memory B-cells with the capacity to differentiate into marginal zone cells(37).

Our results show that a B-cell monoclonal component within MSG is present in only one quarter of SS patients. By providing accurate lymphoma risk assessment, this tool could therefore help the physician to spare the majority of SS patients from unnecessary care and to keep focus on high-risk ones. The interest of repeating the biopsy and MSG B-cell clonality assay during follow-up remains uncertain. A previous study suggested that the degree of histological lesions and the percentage of B-cells are rather fully established at diagnosis, not modified by time neither by therapeutics. Nevertheless, five patients of this same study developed salivary MALT lymphoma as shown by the emergence of a B-cell monoclonality on a second MSG biopsy(38). Altogether these findings indicate that, if a second MSG is performed for suspicion of MALT lymphoma, B-cell clonality should be assessed since it may provide important complementarity information to standard techniques.

Given the B-cell alterations observed during SS, this lymphocyte seems to be an interesting candidate to target(39). However, trials evaluating B-cell targeted drugs failed to yield conclusive results in the relief of patient complaints or improving their quality of life(40). Because of the heterogeneity in the SS presentation, course and outcome, it is important to rationalise the use of this type of therapy, based on scientific advances promoting the comprehension of its pathogenesis(41). Hence, it would be of great interest to assess whether patients with B-cell monoclonality in MSG and treated with B-cell targeted drugs have a better outcome, including the development of lymphoma.

The retrospective design of this study, resulting in data collection difficulties, represents a limitation. In addition, we did not diagnose any additional cases of lymphoma during the follow-up of SS patients with B-cell monoclonality at diagnosis. We can assume that the median follow-up duration of 4 years in our study is too short given the delay in the onset of lymphoma. Indeed, a recent retrospective study of 16,396 SS patients revealed a mean duration of 4.5 years before NHL development, with a striking increase of cumulative incidence beyond 8 years of follow-up(42). Our study also included patients who received steroid treatment before the time of the biopsy. This may have led to less chronic antigenic reactivity, and subsequent lower cases of lymphoma. Of note, MSG B-cell monoclonality was found in SS patients with MBL or CLL. This subset of patients raises the issue of distinguishing SS-associated clones versus MBL/CLL-associated ones. A positive MSG B-cell clonality result in a patient not meeting SS ACR/EULAR criteria should be taken with caution and must lead the physician to rule out other lymphoproliferative diseases.

Conclusion

Our data support that B-cell clonality assessment using PCR with heteroduplex analysis on fresh MSG of SS patients, is a simple and reliable tool that allows the delineation of a subset of patients presenting either ongoing lymphoma or other established lymphoma risk factors. MSG B-cell clonality together with lymphoma predictive factors are of interest to the rheumatologist, enabling him to adopt a personalised monitoring strategy and therefore to early detect lymphoma transformation. These results should be confirmed in future prospective studies. If so, data collected would be interesting to integrate into new predictive scores(15) and particularly in data mining models using artificial neural networks, to better distinguish patients at high risk of lymphoproliferative disease(43).

Acknowledgments

We would like to thank Christelle Taillandier and Norman Abbou for extracting DNA from MSG, running the PCR and facilitating access to clonality data; Dr Sophie Jego-Desplat for laboratory assessment of ANA; Alan Barrow for linguistic revision of the manuscript.

	Controls (n=84)	SS patients (n =123)	P value
Demographic and clinical features, n (%) unless specified otherwise			
Age at MSG biopsy (years) [mean (S.D.), median (range)]	53.2 (15.4), 55 (20-87)	55.6 (14.8), 58 (18-86)	0.265
Female gender	72 (85.7)	108 (87.8)	0.661
Lymphoma history	1 (1.2)	3 (2.4)	0.648
Follow up duration (month) [mean (S.D.), median (range)]	40.0 (27.5), 28 (3-84)	46.4 (30.4), 43 (2-105)	0.188
Dry eyes or mouth	60 (71.4)	120 (97.6)	<0.001
B-cell symptoms ^a	4 (4.8)	8 (6.5)	0.765
Polyadenopathy	1 (1.2)	18 (14.6)	0.001
Splenomegaly	2 (2.4)	1 (0.8)	0.567
Salivary gland swelling	5 (6.0)	23 (18.7)	0.008
Extraglandular involvement ^b	52 (61.9)	92 (74.8)	0.048
Palpable purpura	2 (2.4)	7 (5.7)	0.316
Therapy prior MSG biopsy ^c	9 (10.7)	28 (22.8)	0.026
Laboratory features, n/total (%) unless specified otherwise			
Lymphopenia	5/84 (6.0)	34/123 (27.6)	<0.001
CD4 T-cell lymphopenia	8/66 (12.1)	31/101 (30.7)	0.006
Inversion of CD4/CD8 T-cells ratio	5/66 (7.6)	10/101 (9.9)	0.607
HLADR+/CD8+ activated lymphocytes	13/66 (19.7)	40/101 (39.6)	0.007
Polyclonal hypergammaglobulinemia	8/83 (9.6)	47/123 (38.2)	<0.001
Monoclonal gammopathy	8/83 (9.6)	12/123 (9.8)	0.978
Abnormal light chain ratio	1/39 (2.6)	12/74 (16.2)	0.033
Elevated serum β 2-microglobulin	5/25 (20.0)	46/71 (64.8)	<0.001
Levels of serum β 2-microglobulin [mean (S.D), median (range)], mg/l	2.0 (0.8), 1.8 (1.2-4.6)	2.9 (1.4), 2.5 (1.3-7.1)	<0.001
Cryoglobulinemia type 2 (mixed)	20/70 (28.6)	35/113 (31.0)	0.731
Hypocomplementemia	2/81 (2.5)	21/119 (17.6)	0.001
RF positive	6/46 (13.0)	45/76 (59.2)	<0.001
RF titre, mean (S.D.), IU/l	12.2 (51.3)	111.5 (139.2)	<0.001
ANA positive	33/82 (40.2)	95/123 (77.2)	<0.001
ANA titre, median (range)	160 (0-1280)	800 (0-1280)	<0.001
Anti-Ro (SSA)	7/82 (8.5)	85/123 (69.1)	<0.001
Anti-La (SSB)	3/82 (3.7)	44/123 (35.8)	<0.001
Chisholm grade, median (range)	1 (0-3)	3 (0-4)	<0.001
Focus score, mean (S.D.)	0.0 (0.0)	3.0 (3.7)	<0.001
Focus score \geq 3 in MSG	0/80 (0.0)	39/110 (35.5)	<0.001
GC-like structures in MSG	0/80 (0.0)	16/109 (14.7)	<0.001
B-cell monoclonality in serum	0/33	4/63 (6.3)	0.295
B-cell monoclonality in MSG	3/84 (3.6)	28/123 (22.8)	<0.001

TABLE 1 Characteristics of the 207 patients with B-cell clonality analysis from minor salivary glands

ANA: antinuclear antibodies; GC: germinal centre; MSG: minor salivary glands; RF: rheumatoid factor; SS:

Sjögren's syndrome

^a Fever, involuntary weight loss, night sweats

^b Articular involvement (synovitis, arthralgias) and/or skin involvement (cutaneous vasculitis, subacute cutaneous lupus, purpura) and/or pulmonary involvement (abnormal DLCO, interstitial lung disease) and/or renal involvement (tubular acidosis, proteinuria, haematuria, glomerulonephritis, interstitial nephritis) and/or myositis (elevated creatine kinase, abnormal electromyogram, MRI or biopsy) and/or peripheral neuropathy (abnormal nerve conduction study, trigeminal (V) neuralgia, proven small fibre neuropathy), and/or central nervous system involvement (cranial nerve involvement, optic neuritis, multiple sclerosis-like syndrome, cerebral vasculitis, transverse myelitis, lymphocytic meningitis)

^c Hydroxychloroquine and/or corticosteroids and/or methotrexate and/or azathioprine and/or mycophenolate mofetil and/or cyclophosphamide and/or rituximab and/or anti IL17 mAb and/or anti IL1 mAb and/or anti-TNF biological

Patient	Group	Gender	Age at time of lymphoma diagnosis (years)	Lymphoma type	Localisation	Treatment	Age at time of MSG biopsy (years)	Lymphoma predictors	B-cell clonality in MSG	Follow-up duration (months)	Relapse
1	SS	F	57	MALT	Parotid	CLB: relapse, then RTX plus bendamustine: complete remission	65	Polyadenopathy Parotidomegaly β2MG 4.8mg/l CD4 T-cell lymphopenia inversion of CD4/CD8 T-cells ratio abnormal light chain ratio HLADR+/CD8 > 10% FS=12 B-cell monoclonality in blood	yes	81	no
2	SS	F	49	MALT	Parotid	Surgery then watch and wait attitude	50	β2MG 4.0mg/l hypocomplementemia serum monoclonal IgM kappa component abnormal light chain ratio mixed cryoglobulinemia RF positive (242 IU/l) FS=12	yes	105	N/A
3	SS	F	68	MALT	Lung	Left lobectomy and CLB plus RTX: complete remission	74	β2MG 2.5mg/l lymphopenia	no	78	no

TABLE 2 Summary of the lymphoproliferative features in the 3 SS patients with lymphoma history

β2MG: β2 microglobulin; CLB: chlorambucil; F: female; FS: focus score; MSG: minor salivary glands; MALT: mucosa-associated lymphoid tissue; NHL: non-Hodgkin's lymphomas; N/A: not appropriate; RF: rheumatoid factor; RTX: rituximab; SS: Sjögren syndrome

Potential lymphoma predictive factors	Immunoglobulin gene rearrangement analysis in MSG of SS patients		P value
	Polyclonal B-cells (n=95)	Monoclonal B-cells (n=28)	
Clinical, n (%) unless specified otherwise			
Lymphoma history	1 (1.1)	2 (7.1)	0.129
Ongoing lymphoma	0 (0.0)	2 (7.1)	0.05
B-cell symptoms ^a	6 (6.3)	2 (7.1)	1.000
Polyadenopathy	11 (11.6)	7 (25)	0.124
Splenomegaly	0 (0)	1 (3.6)	0.228
Salivary gland swelling	13 (13.7)	10 (35.7)	0.009
Extraglandular involvement ^b	72 (75.8)	20 (71.4)	0.640
Palpable purpura	5 (5.3)	2 (7.1)	0.657
Therapy prior MSG biopsy ^c	20 (21.1)	8 (28.6)	0.404
Laboratory, n/total n (%) unless specified otherwise			
Lymphopenia	20 (21.1)	14/28 (50)	0.003
CD4 T-cell lymphopenia	18/75 (24)	13/26 (50)	0.013
Inversion of CD4/CD8 T-cells ratio	7/75 (9.3)	3/26 (11.5)	0.715
HLADR+/CD8+ activated lymphocytes	30/75 (40.0)	10/26 (38.5)	0.890
Polyclonal hypergammaglobulinemia	33/95 (34.7)	14 (50.0)	0.144
Monoclonal gammopathy	7 (7.4)	5 (17.9)	0.142
Abnormal light chain ratio	6/53 (11.3)	6/21 (28.6)	0.087
Elevated serum β 2-microglobulin	32/55 (58.2)	14/16 (87.5)	0.031
Levels of serum β 2-microglobulin, mean (S.D.), mg/l	2.74 (1.32)	3.60 (1.29)	0.024
Cryoglobulinemia: type 2 (mixed)	22/86 (25.6)	13/27 (48.1)	0.027
Hypocomplementemia	10/92 (10.9)	11/27 (40.7)	0.001
RF positive	30/59 (50.8)	15/17 (88.2)	0.006
RF titre, mean (S.D.), IU/l	82.5 (121.0)	216.3 (153.8)	<0.001
ANA positive	70/95 (73.7)	25/28 (89.3)	0.084
ANA titre, median (range)	800 (0-1280)	800 (0-1280)	0.188
Anti-Ro (SSA)	66/95 (69.5)	19/28 (67.9)	0.871
Anti-La (SSB)	33/95 (34.7)	11/28 (39.3)	0.659
Chisholm grade, median (range)	3 (0-4)	4 (0-4)	0.576
Focus score, mean (S.D.)	2.6 (3.3)	4.1 (4.7)	0.129
Focus score \geq 3 in MSG	29/84 (34.5)	10/26 (38.5)	0.714
GC-like structures in MSG	12/84 (14.3)	4/25 (16.0)	0.759
B-cell monoclonality in serum	1/46 (2.2)	3/17 (17.6)	0.057

TABLE 3 B-cell monoclonal infiltration of MSG during SS is associated with ongoing lymphoma and other lymphoma predictive factors

ANA: antinuclear antibodies; GC: germinal centre; MSG: minor salivary glands; RF: rheumatoid factor; SS: Sjögren's syndrome

^a Fever, involuntary weight loss, night sweats

^b Articular involvement (synovitis, arthralgias) and/or skin involvement (cutaneous vasculitis, subacute cutaneous lupus, purpura) and/or pulmonary involvement (abnormal DLCO, interstitial lung disease) and/or renal involvement (tubular acidosis, proteinuria, haematuria, glomerulonephritis, interstitial nephritis) and/or

myositis (elevated creatine kinase, abnormal electromyogram, MRI or biopsy) and/or peripheral neuropathy (abnormal nerve conduction study, trigeminal (V) neuralgia, proven small fibre neuropathy), and/or central nervous system involvement (cranial nerve involvement, optic neuritis, multiple sclerosis-like syndrome, cerebral vasculitis, transverse myelitis, lymphocytic meningitis)

^cHydroxychloroquine and/or corticosteroids and/or methotrexate and/or azathioprine and/or mycophenolate mofetil and/or cyclophosphamide and/or rituximab and/or anti IL17 mAb and/or anti IL1 mAb and/or anti-TNF biological

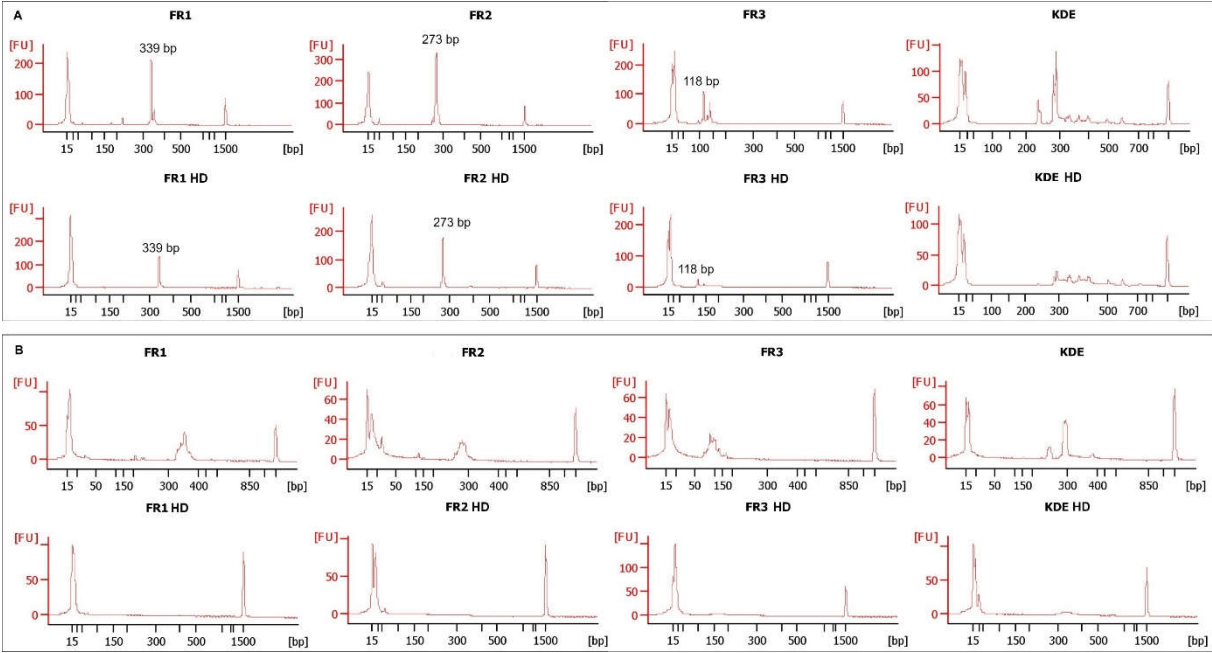
Primer	Controls (n=84)	SS (n=123)	P value
FR1, n (%)	1 (1.2)	18 (14.6)	0.001
FR2, n (%)	3 (3.6)	21 (17.1)	0.003
FR3, n (%)	2 (2.4)	18 (14.6)	0.003
FR1-FR2, n (%)	1 (1.2)	15 (12.2)	0.004
FR2-FR3, n (%)	2 (2.4)	14 (11.4)	0.017
FR1-FR3, n (%)	1 (1.2)	12 (9.8)	0.013
FR1-FR2-FR3, n (%)	1 (1.2)	11 (8.9)	0.030
Kde, n (%)	0 (0.0)	11 (8.9)	0.003

TABLE 3 Genotypic profiles in minor salivary glands of patients with SS compared to controls

FR: framework; Kde: kappa-deleting element; SS: Sjögren's syndrome

Figure legend

FIG. 1. Representative examples of clonality assessment using HD analysis of immunoglobulin heavy and light chain from minor salivary glands. (A) Positive results for FR1, FR2 and FR3 targets give PCR products observed as single peaks, persisting after HD analysis. (B) Negative results for FR1, FR2, FR3 and Kde targets give PCR products observed as irregular Gaussian curves, with no peaks persisting after HD analysis. bp: base pair; FR: framework region; HD: heteroduplex



References

1. Kassan SS. Increased Risk of Lymphoma in Sicca Syndrome. *Annals of Internal Medicine*. 1978 Dec 1;89(6):888.
2. Fallah M, Liu X, Ji J, Försti A, Sundquist K, Hemminki K. Autoimmune diseases associated with non-Hodgkin lymphoma: a nationwide cohort study. *Annals of Oncology*. 2014;25(10):6.
3. Ekström Smedby K, Vajdic CM, Falster M, Engels EA, Martínez-Maza O, Turner J, et al. Autoimmune disorders and risk of non-Hodgkin lymphoma subtypes: a pooled analysis within the InterLymph Consortium. *Blood*. 2008 Apr 15;111(8):4029–38.
4. Voulgarelis M, Ziakas PD, Papageorgiou A, Baimpa E, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Prognosis and Outcome of Non-Hodgkin Lymphoma in Primary Sjögren Syndrome: *Medicine*. 2012 Jan;91(1):1–9.
5. Theander E, Manthorpe R, Jacobsson LTH. Mortality and causes of death in primary Sjögren's syndrome: A prospective cohort study. *Arthritis & Rheumatism*. 2004;50(4):1262–9.
6. Zucca E, Copie-Bergman C, Ricardi U, Thieblemont C, Raderer M, Ladetto M, et al. Gastric marginal zone lymphoma of MALT type: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2013 Oct 1;24(suppl 6):vi144–8.
7. Jackson AE, Mian M, Kalpadakis C, Pangalis GA, Stathis A, Porro E, et al. Extranodal Marginal Zone Lymphoma of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue of the Salivary Glands: A Multicenter, International Experience of 248 Patients (IELSG 41). *The Oncologist*. 2015 Jan 10;20(10):1149–53.
8. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues [Internet]. [cited 2019 Sep 15]. Available from: <http://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Iarc-Classification-Of-Tumours/Who-Classification-Of-Tumours-Of-Haematopoietic-And-Lymphoid-Tissues-2017>
9. Dreyling M, Thieblemont C, Gallamini A, Arcaini L, Campo E, Hermine O, et al. ESMO Consensus conferences: guidelines on malignant lymphoma. part 2: marginal zone lymphoma, mantle cell lymphoma, peripheral T-cell lymphoma. *Annals of Oncology*. 2013 Apr;24(4):857–77.

10. Quintana PG, Kapadia SB, Bahler DW, Johnson JT, Swerdlow SH. Salivary gland lymphoid infiltrates associated with lymphoepithelial lesions: A clinicopathologic, immunophenotypic, and genotypic study. *Human Pathology*. 1997 Jul 1;28(7):850–61.
11. Seror R, Rauz S, Gosset M, Bowman SJ. Disease activity and patient reported outcome measures in Sjögren's - what are the best tools to evaluate? *Rheumatology (Oxford)*. 2019 Jun 24;
12. Nocturne G, Virone A, Ng W-F, Le Guern V, Hachulla E, Cornec D, et al. Rheumatoid Factor and Disease Activity Are Independent Predictors of Lymphoma in Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis & Rheumatology*. 2016 Apr;68(4):977–85.
13. Solans-Laqué R, López-Hernandez A, Angel Bosch-Gil J, Palacios A, Campillo M, Vilardell-Tarres M. Risk, Predictors, and Clinical Characteristics of Lymphoma Development in Primary Sjögren's Syndrome. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2011 Dec 1;41(3):415–23.
14. Horvath IF, Szanto A, Papp G, Zeher M. Clinical course, prognosis, and cause of death in primary Sjögren's syndrome. *J Immunol Res*. 2014;2014:647507.
15. Fragkioudaki S, Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Predicting the risk for lymphoma development in Sjogren syndrome: An easy tool for clinical use. *Medicine*. 2016 Jun;95(25):e3766.
16. Tzioufas AG, Boumba DS, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Mixed monoclonal cryoglobulinemia and monoclonal rheumatoid factor cross-reactive idiotypes as predictive factors for the development of lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis & Rheumatism*. 1996;39(5):767–72.
17. Nocturne G, Mariette X. Sjögren Syndrome-associated lymphomas: an update on pathogenesis and management. *British Journal of Haematology*. 2014;11.
18. Royer B, Cazals-Hatem D, Sibilia J, Agbalika F, Cayuela J-M, Soussi T, et al. Lymphomas in Patients With Sjögren's Syndrome Are Marginal Zone B-Cell Neoplasms, Arise in Diverse Extranodal and Nodal Sites, and Are Not Associated With Viruses. *Blood*. 1997 Jul 15;90(2):766–75.
19. Dong L, Masaki Y, Takegami T, Jin Z-X, Huang C-R, Fukushima T, et al. Clonality analysis of lymphoproliferative disorders in patients with Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol*. 2007 Nov;150(2):279–84.

20. Thieblemont C, Berger F, Dumontet C, Moullet I, Bouafia F, Felman P, et al. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma is a disseminated disease in one third of 158 patients analyzed. *Blood*. 2000 Feb 1;95(3):802–6.
21. Zhang Y, Yu D, Huang K, Huang C, Liu H, Sun X, et al. Evaluation of the diagnostic value of immunoglobulin clonal gene rearrangements in patients with parotid gland MALT lymphoma using BIOMED-2 protocol. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2018 Aug 1;126(2):165–73.
22. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren’s syndrome: A consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. *Ann Rheum Dis*. 2017 Jan;76(1):9–16.
23. Chisholm DM, Mason DK. Labial salivary gland biopsy in Sjögren’s disease. *Journal of Clinical Pathology*. 1968 Sep 1;21(5):656–60.
24. Theander E, Vasaitis L, Baecklund E, Nordmark G, Warfvinge G, Liedholm R, et al. Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjogren’s syndrome. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2011 Aug 1;70(8):1363–8.
25. van Dongen JJM, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PAS, Hummel M, Lavender FL, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003 Dec;17(12):2257–317.
26. Beaufils N, Ben Lassoued A, Essaydi A, Dales J-P, Formisano-Tréziny C, Bonnet N, et al. Analysis of T-cell receptor- γ gene rearrangements using heteroduplex analysis by high-resolution microcapillary electrophoresis. *Leukemia Research*. 2012 Sep;36(9):1119–23.
27. Jordan R, Diss TC, Lench NJ, Isaacson PG, Speight PM. Immunoglobulin gene rearrangements in lymphoplasmacytic infiltrates of labial salivary glands in Sjögren’s syndrome. A possible predictor of lymphoma development. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1995 Jun;79(6):723–9.

28. Pablos JL, Carreira PE, Morillas L, Montalvo G, Ballestin C, Gomez-Reino JJ. Clonally expanded lymphocytes in the minor salivary glands of sjögren's syndrome patients without lymphoproliferative disease. *Arthritis & Rheumatism*. 1994;37(10):1441–4.
29. Guzmán LM, Castillo D, Aguilera SO. Polymerase chain reaction (PCR) detection of B cell clonality in Sjögren's syndrome patients: a diagnostic tool of clonal expansion: Diagnosis of B cell clonality by PCR. *Clinical & Experimental Immunology*. 2010 Jul;161(1):57–64.
30. Quartuccio L, Salvin S, Fabris M, Maset M, Pontarini E, Isola M, et al. BlyS upregulation in Sjogren's syndrome associated with lymphoproliferative disorders, higher ESSDAI score and B-cell clonal expansion in the salivary glands. *Rheumatology (Oxford)*. 2013 Feb 1;52(2):276–81.
31. Johnsen SJ, Berget E, Jonsson MV, Helgeland L, Omdal R, Jonsson R. Evaluation of Germinal Center-like Structures and B Cell Clonality in Patients with Primary Sjögren Syndrome with and without Lymphoma. *The Journal of Rheumatology*. 2014 Nov;41(11):2214–22.
32. Langerak AW, Groenen PJTA, Brüggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L, et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia*. 2012 Oct;26(10):2159–71.
33. Evans P a. S, Pott C, Groenen PJTA, Salles G, Davi F, Berger F, et al. Significantly improved PCR-based clonality testing in B-cell malignancies by use of multiple immunoglobulin gene targets. Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. *Leukemia*. 2007 Feb;21(2):207–14.
34. González M, González D, López-Pérez R, García-Sanz R, Chillón MC, Balanzategui A, et al. Heteroduplex analysis of VDJ amplified segments from rearranged IgH genes for clonality assessments in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. A comparison between different strategies. *Haematologica*. 1999 Sep;84(9):779–84.
35. Bagg A, Brazier RM, Arber DA, Bijwaard KE, Chu AY. Immunoglobulin heavy chain gene analysis in lymphomas: a multi-center study demonstrating the heterogeneity of performance of polymerase chain reaction assays. *J Mol Diagn*. 2002 May;4(2):81–9.
36. Haacke EA, van der Vegt B, Vissink A, Spijkervet FKL, Bootsma H, Kroese FGM. Germinal centres in diagnostic labial gland biopsies of patients with primary Sjögren's syndrome

- are not predictive for parotid MALT lymphoma development. *Ann Rheum Dis*. 2017 Oct;76(10):1781–4.
37. Novak U, Basso K, Pasqualucci L, Dalla-Favera R, Bhagat G. Genomic analysis of Non-Splenic Marginal Zone Lymphomas (MZL) indicates similarities between nodal and extranodal MZL and supports their derivation from Memory B-cells. *British Journal of Haematology*. 2011;155(3):362–5.
 38. Kapsogeorgou EK, Christodoulou MI, Panagiotakos DB, Paikos S, Tassidou A, Tzioufas AG, et al. Minor Salivary Gland Inflammatory Lesions in Sjögren Syndrome: Do They Evolve? *The Journal of Rheumatology*. 2013 Sep;40(9):1566–71.
 39. Mielle J, Tison A, Cornec D, Le Pottier L, Daien C, Pers J-O. B cells in Sjögren’s syndrome: from pathophysiology to therapeutic target. *Rheumatology (Oxford)*. 2019 Feb 15;
 40. Lackner A, Ficjan A, Stradner MH, Hermann J, Unger J, Stamm T, et al. It’s more than dryness and fatigue: The patient perspective on health-related quality of life in Primary Sjögren’s Syndrome - A qualitative study. *PLOS ONE*. 2017 Feb 9;12(2):e0172056.
 41. Felten R, Scher F, Sibilia J, Gottenberg J-E, Arnaud L. The pipeline of targeted therapies under clinical development for primary Sjögren’s syndrome: A systematic review of trials. *Autoimmunity Reviews*. 2019 Jun;18(6):576–82.
 42. Chiu Y-H, Chung C-H, Lin K-T, Lin C-S, Chen J-H, Chen H-C, et al. Predictable biomarkers of developing lymphoma in patients with Sjögren syndrome: a nationwide population-based cohort study. *Oncotarget*. 2017 Jul 25;8(30):50098–108.
 43. Baldini C, Ferro F, Luciano N, Bombardieri S, Grossi E. Artificial neural networks help to identify disease subsets and to predict lymphoma in primary Sjögren’s syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2018 Jun;36 Suppl 112(3):137–44.

SERMENT D'HIPPOCRATE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.