

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ

TEZA DOCTORAT

VALOAREA DIAGNOSTICĂ A ULTRASONOGRAFIEI DE GLANDE
SALIVARE ÎN CONTEXT CLINICO-PARACLINIC LA PACIENȚI CU
SINDROM SJÖGREN

- REZUMAT –

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

Prof. Univ. Dr. Ciurea Paulina Lucia

STUDENT-DOCTORAND:

Dinescu Ștefan-Cristian

CRAIOVA

2017

Cuprins

INTRODUCERE	3
Obiective	4
Loturi pacienți.....	5
Metodologie.....	5
Stabilirea profilului clinico-biologic.....	5
Protocol de evaluare ultrasonografică a glandelor parotide	5
Examinarea în modul gray scale și doppler color.....	5
Aprecierea modificărilor structurale prin metode elastografice	6
Evaluarea anatomopatologică.....	6
Biopsia de glanda salivara minoră. Scor focusat	6
Examen imunohistochimic	6
REZULTATE.....	6
Profil clinico-paraclinic și imagistic al pacienților cu sindrom Sjogren primar	6
Studiul histopatologic și imunohistochimic	7
Studiu descriptiv al loturilor de pacienți cu sindrom Sjogren secundar și al pacienților cu fenomene sicca asociate infecției cu virus hepatitic C	7
Studiu analitic al parametrilor clinici, paraclinici și imagistici	8
Analiza comparativă a profilului clinic și bio-chimic între lotul I și lotul II	8
Studiul evaluării ultrasonografice de glandă parotidă	9
CONCLUZII	10
BIBLIOGRAFIE.....	11
<i>Cuvinte-cheie: sindrom Sjogren, sialadenita, ultrasonografie, elastografie</i>	

INTRODUCERE

Sindromul Sjogren (SS) reprezintă o boală cronică autoimună, ce afectează în special glandele exocrine, fiind definit ca și epitelită autoimună. Hipofuncția exocrină produce o desicație generalizată, marea majoritate a pacienților prezentând xerostomie și xeroftalmie. Spectrul cunoștințelor legate de SS s-a extins în ultimele decenii în aproape toate domeniile, de la încercările de standardizare a încadrării diagnostice [1, 2, 3], eforturile continue de stabilire a factorilor etiopatogenetici implicați, până la introducerea noilor agenți terapeutici biologici [4]. Prevalența relativ crescută a simptomelor sicca la pacienții diagnosticați cu alte afecțiuni autoimune, ce ajunge după unii autori până la 30% [5], cu posibilitatea suprapunerii și unor markeri serologici, respectiv autoanticorpilor specifi SS, a necesitat diferențierea formei primare de SS de forma secundară.

În general, SS este considerat o afecțiune cronică, fără risc vital, dominată de prezența xerozelor, fatigabilității și simptomatologiei algice. Totuși, spectrul clinic al SS poate fi deosebit de complex, prevalența interesării sistemice la momentul diagnosticului fiind descrisă după unii autori la 70-80% din cazuri [6]. Algoritmul actual de diagnostic cuprinde atât criterii subiective oculare și orale, cât și teste clinice pentru hiposecreția salivară și lacrimală, prezența autoanticorpilor specifici și demonstrarea histopatologică a sialadenitei limfocitare. Biopsia de glandă salivară (GS) este o procedură frecvent utilizată în explorarea SS, ce oferă avantajele examinării directe a țesutului afectat. Aspectul histopatologic caracteristic al GS labiale în SS este prezența sialadenitei limfocitare focale, ce poate fi stadializat prin cuantificarea numărului de foci limfocitari. Studiul imunohistochimic (IHC), deși nu este inclus în criteriile de diagnostic pentru SS, poate oferi informații adiționale, prin evidențierea profilului imunofenotipic al infiltratului limfocitar. Astfel, numeroase studii au încercat să stabilească fie corelații între imunofenotip și severitatea bolii, fie anumiți factori de prognostic pentru riscul de limfoproliferare malignă.

Ultrasonografia (US) de GS majore este o investigație accesibilă, non-invazivă, folosită tot mai frecvent pentru evaluarea modificărilor morfologice, dar și funcționale prezente în SS. Studii efectuate în ultimele decenii au oferit rezultate promițătoare, demonstrând potențialul diagnostic al US, dar și aplicabilitatea sa în strategiile de monitorizare terapeutică. În plus, poate facilita punția-biopsie de GS majoră prin eco-ghidare în timp real. Sensibilitatea globală a US în diagnosticul SS variază în studii între 40% și 90% [7, 8]. Modul Doppler poate oferi informații asupra vascularizației parotidiene, atât din punct de vedere morfologic, cât și prin analiza funcției de secreție, folosind parametrii ai fluxului pre- și post-stimulare.

Elastografia în timp real (RTE – engl. *Real-Time Elastography*) este o tehnică US utilizată pentru a investiga elasticitatea țesuturilor moi. Principiul ce stă la baza acestei tehnici constă în capacitatea de deformare (din engl. *tissue displacement sau tissue strain*) a țesutului examinat, testată prin exercitarea unei compresiuni externe prin intermediul sondei ecografice [9]. Astfel, țesuturile cu o duritate crescută (din engl. *tissue stiffness*) vor prezenta, prin gradul de elasticitate redus, un *strain* mai puțin pronunțat în comparație cu țesuturile moi. ARFI (din engl. *Acoustic Radiation Force Imaging*) este o altă tehnică elastografică ce constă în emiterea unui impuls acustic la nivelul zonei tisulare de interes, prin care se măsoară, similar tehnicii RTE, gradul de *strain* tisular. Avantajul ARFI față de RTE constă în faptul că impulsul emis de transductor elimină necesitatea compresiunii mecanice externe, reducând teoretic, variațiile examiner-dependente.

Propunerea de introducerea a evaluării US în criteriile de diagnostic a fost susținută în multiple studii [10, 11], ceea ce a dus la formarea unor grupuri internaționale de experți ce își propun stabilirea unui consens asupra definirii unui sistem de cuantificare a modificărilor US și standardizarea procedurii [12]. Pornind de la aceste provocări, mi-am formulat o serie de obiective de cercetare, ce au permis consolidarea unor concepte, stabilirea unor corelații clinico-paraclinice și studierea unor aspecte legate de imagistică, centrate pe explorarea ultrasonografică.

OBIECTIVE

Sintetizând ipotezele de cercetare formulate în cadrul domeniilor de studiu mai sus menționate, am delimitat următoarele obiective principale:

- Studiul profilului clinic, bio-chimic și imagistic în SS primar și analiza comparativă în raport cu rezultatele obținute pentru forma secundară de SS;
- Analiza semicantitativă US în modul gray scale folosind ca și parametru gradul de inomogenitate parenchimotoasă și studiului corelațiilor obținute în raport cu profilul clinic și anatomopatologic;
- Testarea metodelor RTE și ARFI comparativ cu lotul martor și studierea corelațiilor cu rezultatele obținute prin metodele US convenționale.

Am stabilit ca și obiective secundare:

- Descrierea unui profil IHC al sialdenitei prezente la pacienții cu SSp;
- Evaluarea US de GP a unui lot restrâns de pacienți diagnosticați cu hepatita cronică virală C, cu simptome sicca prezente.

LOTURI DE PACIENȚI

Studiul a cuprins un număr total de 62 de subiecți grupați în patru loturi. Primul lot este format din 22 de pacienți diagnosticați cu SS primar conform criteriilor de diagnostic AECG 2002 [1]. Lotul al doilea este format din 20 de pacienți diagnosticați cu SS secundar. Explorarea US a fost extinsă, ca și obiectiv secundar de cercetare, asupra unui lot restrâns de 10 pacienți, ce au format lotul III de studiu, diagnosticați cu hepatita cronică virală C, cu simptome sicca prezente. Lotul IV reprezintă lotul martor și este format din 10 subiecți sănătoși, nefumători.

METODOLOGIE

Întocmirea profilului clinic a constat în acumularea unui set de date subiective, cât și obiective, fiind apoi completat cu bilanțul investigațiilor de laborator. Astfel, o primă etapă a constat în efectuarea unei anamneze detaliate ce a permis încadrarea demografică, caracterizarea aspectelor legate de debutul bolii, severitate, evoluție sau asocierea altor manifestări extraglandulare sau a altor afecțiuni autoimune. Pentru evaluarea secreției lacrimale am optat pentru testul Schirmer și chestionarul OSDI, iar pentru aprecierea xerostomiei, chestionarul Xerostomia inventory. Panoul biochimic a inclus hemoleucograma, inclusiv formula leucocitară, reacții de fază acută ai inflamației, respectiv VSH, fibrinogenul și CRP. Funcția renală a fost evaluată prin dozarea ureei, creatininei și efectuarea examenului sumar de urină, inclusiv Ph-ul urinar. Testele hepatice au inclus dozarea transaminazelor, respectiv aspartataminotransferaza și alaninaminotransferaza, gama-glutamilttransferaza, fosfataza alcalină și anticorpii anti-VHC. Explorarea imunologică a constat în dozarea factorului reumatoid, a electroforezei proteinelor serice, a fracțiunilor C3 și C4 ale complementului și efectuarea unui screening pentru prezența autoanticorpilor. S-a optat în acest sens pentru investigarea unui grup extins de anticorpi antinucleari prin testul ANA extins-Blot.

Examinarea US a inclus toți pacienții diagnosticați cu SSp și SSs. Evaluarea în modul grey-scale și Doppler a fost realizată pe un aparat ecografic MyLab25Gold. S-a utilizat un transductor liniar, cu o frecvență de lucru de 12 MHz. Pentru fiecare evaluare US pacientul a fost poziționat în decubit dorsal, cu ușoară extensie a capului și rotație contralaterală față de glanda parotidă (GP) examinată. Parenchimul glandular a fost examinat atât în secțiuni longitudinale, cât și transversale, analizându-se omogenitatea globală, ecogenitatea, conturul, dimensiunile GP, prezența benzilor de fibroză, sialectaziei sau sialolitiazei. Ulterior, modificările morfologice, respectiv gradul de inomogenitate parenchimotoasă (PIH) glandulară au fost apreciat semicantitativ și stadializat

conform criteriilor descrise de Salaffi et al. [13] în patru stadii. Examinarea prin elastografie în timp real a fost realizată cu un aparat ultrasonografic Hitachi Preirus, iar fiecare imagine înregistrată a fost procesată prin intermediul software-ului Elasto_ver 1.5.1 incorporat. Folosind un scor semicantitativ descris de DeJaco et al. [14], am putut stadializa gradul de *stiffness* glandular astfel: 0= absența ariilor albastre, 1= ≤25%, 2= 26%-50%, 3= 51%-75%, 4= ariile albastre ocupă >75% din secțiunea examinată. Examinarea US folosind tehnica ARFI a fost realizată pe un aparat ecografic Siemens Acuson, folosind sonda liniară 9L4, cu o frecvență de lucru de 8 MHz. Evaluarea și RTE ARFI a fost realizată pe 10 pacienți diagnosticați cu SSp și pe lotul martor.

Biopsia de GS minoră a fost efectuată de către un medic specialist în Chirurgie oro-maxilo-facială. S-a optat pentru tehnica Daniel [15] pentru fiecare biopsie efectuată. Astfel, piesele bioptice au fost obținute de la nivelul buzei inferioare, dintr-o zonă de mucoasă sănătoasă, conținând cel puțin cinci GS minore. Ulterior, piesele bioptice au fost analizate de către medicul anatompatolog, în vederea stabilirii profilului histopatologic. Pentru studiul IHC au fost folosiți următorii markeri CD3, CD4, CD8, CD20, CD68, Matrix metalloproteinases (MMP) 2, MMP8 și triptază.

REZULTATE

Profil clinico-paraclinic și imagistic al pacienților cu sindrom Sjogren primar

Analiza demografică a primului lot a evidențiat o predominanță netă a sexului feminin, cu un procent de 90.9%, comparativ cu doar 9.1% reprezentând sexul masculin, respectiv un raport femei:bărbați de 10:1. Vârsta medie a pacienților a fost de 52.36 ani (\pm 11,27 ani). Simptomatologia specifică sindromului Sjogren a avut o prevalență ridicată la pacienții din lotul I, cu un procent superior al xeroftalmiei, de 90.9%, comparativ cu xerostomia, de 68.2%. Parotidomegalia a fost prezentă de asemenea la un procent semnificativ de pacienți, iar keratoconjunctivita a fost confirmată în aproape jumătate din cazuri (45.5%). Prevalența importantă a xeroftalmiei este reflectată și în procentul crescut de pacienți cu test Schirmer pozitiv. Manifestările extraglandulare au fost prezente la peste jumătate din pacienți, cu o predominanță a artritei, fenomenelor cutanate și manifestărilor neurologice, cu prevalențe de 40.9%, 36.4%, respectiv 31.8%.

Studiul US în cadrul lotului I a cuprins toate cele 4 metode, cu mențiunea că studiul ARFI și RTE a fost efectuat pe un subgrup de 10 pacienți. Analizând datele obținute prin aprecierea gradului PIH evaluat în modul gray-scale se observă o distribuție uniformă a rezultatelor, de la aspect normal până la modificări avansate ce corespund unui scor PIH 4, cu o frecvență maximă corespunzând

scorului PIH 2. Datele obținute prin aprecierea scorului Doppler relevă în schimb o distribuție majoritară a modificărilor minime și a aspectelor normale. Prin examinarea subgrupului de 10 pacienți prin metodele RTE și ARFI am obținut date suplimentare legate de afectarea structurală a GP, respectiv *stiffness*-ul glandular. Rezultatele obținute prin metoda RTE au evidențiat valori similare între GP dreaptă și GP stânga, cu o medie globală de 41.40% ($\pm 14,56$). De asemenea, am observat rezultate uniforme și prin examinarea în modul ARFI, având o medie globală de 2,01 ($\pm 0,15$) m/s.

Studiul histopatologic și imunohistochimic

Analiza histopatologică ce a permis cuantificarea gradului de infiltrat mononuclear la nivelul glandelor salivare minore a fost completată și cu studiul IHC la un subgrup de 10 pacienți din cadrul lotului I. Principalele aspecte histopatologice observate au fost reprezentate de sialadenita limfocitară focală, modificări structurale ale sistemului ductal, exprimate în principal prin sialectazii, reacție desmoplastică secundară procesului inflamator cronic. Populațiile celulare identificate prin studiul IHC au fost reprezentate de subpopulațiile de LyB CD20+ și LyT CD3+, macrofage CD68+. Prevalența subpopulațiilor limfocitare a variat în funcție de gradul de infiltrat celular. Astfel, o predominanță a LyT CD3+ a putut fi observată la cazuri cu un scor focusat minim. În cazul pieselor bioptice glandulare ce au prezentat un grad avansat de infiltrat limfocitar, respectiv scor focusat 2+, s-au obținut reacții IHC mai intense pentru subpopulațiile de LyB CD20+. Astfel, au putut fi stabilite și corelații între proliferarea importantă intraglandulară a LyB și stadiul avansat de boală, hipofuncție secretorie importantă și serologie pozitivă.

Studiu descriptiv al loturilor de pacienți cu sindrom Sjogren secundar și al pacienților cu fenomene sicca asociate infecției cu virus hepatitic C

Lotul de studiu atribuit pacienților diagnosticați cu sindrom Sjogren secundar a cuprins 20 de subiecți. Încadrarea în lotul II a necesitat existența unei afecțiuni autoimune asociate. Toți cei 20 de pacienți au fost diagnosticați cu una din următoarele boli autoimune: poliartrita reumatoidă, lupus eritematos sistemic sau sclerodemie sistemică. Dintre cele 3 afecțiuni autoimune, poliartrita reumatoidă a fost cea mai des asociată, fiind prezentă la mai mult de jumătate din pacienții incluși în lot. Simptomele sicca au fost întâlnite în majoritatea cazurilor, cu frecvențe similare ale xerostomiei și xeroftalmiei. Parotidomegalia nu a fost observată la acești pacienți, iar conjunctivita sicca a putut fi obiectivată doar în două cazuri. Profilul serologic a evidențiat atât markeri autoimuni specifici SS, cât și markeri nespecifici, respectiv factorul reumatoid. Aprecierea afectării structurale glandulare a

putut fi evidențiată prin examinarea US a GP. În modul gray scale, nu au fost observate modificări structurale semnificative (PIH III-IV), majoritatea evaluărilor fiind cuantificate ca și grad PIH I, iar numai la un sfert din examinări fiind descris un grad PIH II. Modificările structurale vasculare evaluate prin modul Doppler au fost observate la mai puțin de jumătate din pacienți, acestea fiind apreciate ca și grad minim, respectiv scor Doppler I.

Studiul US extins și asupra lotului de pacienți diagnosticați cu infecție cu virus hepatitic C a cuprins doar evaluarea în modul gray scale și doppler. Deși gradul de afectare structurală glandulară apreciat prin US gray scale a evidențiat o predominanță a cazurilor cu modificări absente sau minime, au existat 2 cazuri izolate de pacienți cu hepatită cronică virală C ce au dezvoltat distrucție importantă a parenchimului glandular.

Lotul IV reprezintă eșantionul martor compus din 10 subiecți sănătoși, ce au fost investigați prin US de GP prin toate cele 4 metode, respectiv gray scale, Doppler, RTE și ARFI. În majoritatea cazurilor, imaginile înregistrate în modul gray scale și Doppler nu au evidențiat modificări structurale. Un grad minim de PIH a fost observat la două cazuri. De asemenea, înregistrarea unui semnal Doppler minim, sub aspect de spoturi izolate, a fost observat la doi subiecți. Media scorurilor obținute în modul RTE a fost similară între cele două GP, cu o medie globală de 8,30% arie albastră. Parametrii măsurați în modul ARFI au evidențiat mici diferențe între GP, cu o medie de 1.93 m/s pentru GP stânga, comparativ cu 1.81 m/s pentru GP dreaptă, însă cu o medie globală de 1.85 m/s.

Studiu analitic al parametrilor clinici, paraclinici și imagistici

Analiza comparativă a profilului clinic și bio-chimic între lotul I și lotul II

Caracteristici demografice, prevalența unor aspecte clinice și bio-chimice specifice SS au fost comparate între lotul de pacienți cu SS primar și lotul alcătuit din pacienți cu SS secundar. Rezultatele semnificative statistic au permis stabilirea unor asocieri între elementele clinice menționate anterior și apartenența la una dintre cele două forme de boală. O analiză inițială menită să expună componența similară a celor două loturi, din perspectiva numărului de pacienți, a distribuției pe sexe, cât și media vârstei la includere, nu a evidențiat diferențe semnificative statistic. Acest lucru susține caracterul de compatibilitate a celor două loturi și conferă validitate a testelor efectuate în etapele următoare. Un aspect clinic relevant ce diferențiază cele două grupuri este reprezentat de media în ani a istoricului simptomelor sicca. Observăm un istoric mai îndelungat

pentru lotul I, cu o diferență semnificativ statistică ($p=0.034$), ceea ce poate influența atât gradul de afectare glandulară la pacienții cu SS primar atât sub expresie clinică, cât și imagistică.

Profilele clinice ale celor două loturi au prezentat caractere similare, în special în ceea ce privește prevalența simptomelor sicca, respectiv xerostomia, xeroftalmia sau fenomenele sicca globale. Prezența fenomenelor sicca a reprezentat un factor esențial pentru investigarea ulterioară a pacienților cu alte afecțiuni autoimune în studiu, acesta fiind un factor important care a determinat obținerea unei prevalențe mari, similare cu cea observată la pacienții cu SS primar. Aspecte clinice ce au permis o diferențiere semnificativă au fost reprezentate de parotidomegali (p<0.001), keratoconjunctivita sicca (p=0.011) și media scorurilor obținute prin chestionarul OSDI (p=0.002). Prin analiza profilului bio-chimic s-au putut observa o serie de diferențe semnificative statistic între principalii markeri imunologici specifici SS, respectiv autoanticorpii anti-Ro și anti-La, hipergamaglobulinemia și hipocomplementemia. Aceste rezultate susțin specificitatea superioară a acestor markeri serologici pentru forma primară de boală. Factorul reumatoid deși a fost crescut la un procent mai mare de pacienți în lotul II (55% vs 31%), atribuit în principal prin prevalența crescută a pacienților cu PR în cadrul acestui lot, nu a prezentat diferențe semnificative statistic față de lotul I.

Studiul evaluării ultrasonografice de glandă parotidă

Pentru a analiza aportul evaluării US de GP la pacienții cu SS primar au fost cercetată inițial existența unor corelații între aspectele imagistice în modul gray scale și elemente clinice și bio-chimice ale pacienților din lotul I. Rezultate obținute au oferit o serie de corelații semnificative statistic între aprecierea US prin gradul PIH și prevalența xerostomiei (p=0.045), keratoconjunctivita sicca (p=0.050), hipergamaglobulinemie (p=0.039), hipocomplementemie (p=0.049) și o corelație pozitivă semnificativă statistic cu scorurile obținute la chestionarul OSDI ($r=0.565$, p=0.006). Aprecierea gradul de afectare structurală a GP în modul gray scale, cuantificată prin parametrul PIH, la pacienții cu SS primar a fost puternic corelată cu scorurile ce reflectă indicele de vascularizație evaluat prin US în modul Doppler color ($r = 0.902$, p<0.001). Media scorurilor PIH și Doppler obținute la pacienții din lotul I au fost comparate cu cele obținute în lotul II, iar mediile unui subgrup de 10 pacienți din lotul I a fost apoi comparată scorurile obținute în loturile III și IV, fiind astfel compatibile ca și număr de subiecți. Diferențe semnificative din perspectiva ambelor metode US au fost observate între pacienții cu formă primară de boală, cei cu formă secundară (p=0.007, respectiv p=0.002) și lotul martor (p<0.001, respectiv p=0.005). Subgrupul de 10 pacienți din lotul I

la care s-a efectuat US în modul RTE și ARFI a fost comparat cu lotul martor și pentru parametrii obținuți prin aceste metode. Atât pentru RTE, cât și pentru ARFI s-au obținut diferențe semnificative față de lotul martor. O ultimă analiză a rezultatelor obținute prin evaluările US a stabilit existența unor corelații între parametrii obținuți prin metoda RTE, ARFI și metoda convențională gray scale. S-au observat corelații pozitive între toate cele trei metode, cu rezultate semnificative statistic între GS-RTE ($r = 0.846$, $p=0.002$) și RTE-ARFI ($r = 0.782$, $p=0.008$).

CONCLUZII

- Sindromul Sjogren reprezintă o afecțiune autoimună sistemică ce poate fi diagnosticată fie ca formă primară de boală, fie secundară prin asocierea altei boli autoimune;
- Există o serie de aspecte clinice, imunologice, cât și morfologice ce contribuie la diferențierea între cele două forme clinice principale, atât din punctul de vedere al modalităților evolutive, cât și al formei de prezentare; astfel, în general factorii de prognostic negativ au o prevalență mai crescută în SS primar;
- Abordarea diagnostică a pacientului cu sindrom Sjogren, poate fi dificilă în prezența unui tablou clinic dominat de simptome sicca, fără asocierea profilului serologic specific și vice-versa, însă decizia efectuării examenului anatomopatologic, ce comportă o procedură minim invazivă, este salutară;
- Ultrasonografia de glande salivare este o investigație accesibilă, non-invazivă, ce a căpătat un interes semnificativ în ultimii ani, în încercarea de îmbunătățire a algoritmului diagnostic. Astfel, identificarea unui pattern imagistic specific sindromului Sjogren, cât și stadializarea modificărilor ecografice oferă clinicianului argumente suplimentare pentru recomandarea investigațiilor ulterioare, în special a biopsiei de glandă salivară minoră.
- Un element principal, cu interes deosebit pentru cercetarea validității ultrasonografiei de glande salivare este performanța diagnostică și, în special, corelația cu actualul “standard de aur”, respectiv examenul histopatologic. Această corelație a fost studiată în cadrul lotului de pacienți cu sindrom Sjogren primar. Între gradul PIH și scorul focusat cuantificat la pacienții din lotul I s-a evidențiat o corelație pozitivă slabă, fără semnificație statistică. Rezultatele sunt în concordanță cu o serie de studii revizuite, ceea ce explică lipsa unei baze științifice ce ar permite susținerea includerii ultrasonografiei ca și criteriu diagnostic.
- Rezultatele obținute au susținut datele din literatură ce apreciază potențialul ultrasonografiei în diagnosticul și monitorizarea pacienților cu SS. Principala utilitate se regăsește, atât în evaluarea unui pacient cu diagnostic cert de sindrom Sjogren, cât și în formularea unei suspiciuni clinice și stabilirea indicației de biopsie salivară, în fața unui context clinico-biologic deficitar.

Bibliografie

- [1] Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis*, 2002;61:554–558.
- [2] Vitali C., et al., Preliminary criteria for the classification of Sjogren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum*, 1993;36(3):340-7.
- [3] Shiboski S., et al., American College of Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome: A Data-Driven, Expert Consensus Approach in the SICCA Cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2012;64(4):475-87.
- [4] Saraux A. The point on the ongoing B cell depleting trials. *Autoimmunity Reviews*, 2010, 9(9):609–14.
- [5] Peri Y1, Agmon-Levin N, Theodor E, Shoenfeld Y. Sjogren's syndrome, the old and the new. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2012, 26(1):105-17.
- [6] Brito-Zeron P, Kostov B, Solans R, Fraile G, Suarez-Cuervo C, Casanovas A. et al. Systemic activity and mortality in primary Sjogren syndrome: predicting survival using the EULAR-SS Disease Activity Index (ESSDAI) in 1045 patients. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75:348–55.
- [7] Makula E., et al., Parotid gland ultrasonography as a diagnostic tool in primary Sjogren's syndrome. *Br J Rheumatol*, 1996;35(10):972-7.
- [8] Wernicke D., et al., Ultrasonography of salivary glands -- a highly specific imaging procedure for diagnosis of Sjogren's syndrome. *J Rheumatol*, 2008;35(2):285-93.
- [9] Ophir J., et al., Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason Imaging*, 1991;13(2):111-34.
- [10] Cornec D, Jousse-Joulin S, Marhadour T et al. Salivary gland ultrasonography improves the diagnostic performance of the 2012 American College of Rheumatology classification criteria for Sjogren's syndrome. *Rheumatology*, 2014,53:1604-7.
- [11] Cornec D, Jousse-Joulin S, Saraux A et al. Contribution of salivary gland ultrasonography to the diagnosis of Sjogren's syndrome: towards new diagnostic criteria?. *Arthritis Rheum*, 2013, 65:216-25.
- [12] Jousse-Joulin S, Milic V, Jonsson MV, Plagou A, Theander E, Luciano N et al. Is salivary gland ultrasonography a useful tool in Sjogren's syndrome? A systematic review. *Rheumatology (Oxford)*, 2016, 55:789–800.
- [13] Salaffi F., et al., Salivary gland ultrasonography in the evaluation of primary Sjogren's syndrome. Comparison with minor salivary gland biopsy. *J Rheumatol*, 2000; 27(5):1229-36.
- [14] Dejaco C., et al., Real-time sonoelastography of salivary glands for diagnosis and functional assessment of primary Sjogren's syndrome. *Ultrasound Med Biol*, 2014;40(12): 2759-67.
- [15] Guevara-Gutierrez E., A. Tlacuilo-Parra, and L.M. Minjares-Padilla, Minor salivary gland punch biopsy for evaluation of Sjogren's syndrome. *J Clin Rheumatol*, 2001;7(6):401-2.