



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL
MEDICINA

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. IONESCU RUXANDRA

Student-doctorand:
IORGOVEANU-STOIAN
VASILIA-CRISTINA



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „CAROL DAVILA”,
BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
MEDICINĂ

Ultrasonografia glandelor salivare în sindromul Sjögren.
Optimizarea scorurilor semicantitative și evaluarea
răspunsului la tratament

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat: PROF. UNIV. DR. IONESCU RUXANDRA

Student-doctorand:
IORGOVEANU-STOIAN VASILIA- CRISTINA

BUCUREȘTI
2019

Introducere

Sindromul Sjögren (SS) este boală autoimună care afectează preponderent glandele salivare. Toate criteriile de diagnostic includ evaluarea afectării glandelor salivare ca semn major pentru diagnostic. Această evaluare poate fi făcută cu detectarea anomaliilor histopatologice, raportând scorul de focus, dar și prin proceduri imagistice precum scintigrafia și sialografia. Totuși, aceste tehnici imagistice sunt invazive, iradiante și rar utilizate în practica clinică. Rezonanța magnetică și ultrasonografia dau oportunitatea de evaluare a modificărilor parenchimotoase specifice, și în contrast cu rezonanța magnetică, ecografia glandelor salivare (1) este mai accesibilă, mai rapidă și ușor de utilizat.

În momentul în care am decis să aleg subiectul evaluării ultrasonografice în glandele salivare din SS erau puține date despre evaluarea modificărilor patologice. Ecografia glandelor salivare era una din investigațiile suplimentare efectuate în centre de cercetare sau universitare care aveau un echipament de înaltă performanță. Cuantificarea gradului de afectare parenchimotoasă era dificilă, se utilizau algoritmi matematici.

Unii din pioneri este Salaffi et al (2) și au urmat mulți alții în căutarea celui mai potrivit scor de evaluare al alterărilor glandelor salivare. Dorința a fost de a căuta un scor simplu de aplicat, reproductibil, să poată depinde cât mai puțin de performanța aparaturii existente și să aducă valoare diagnostică.

SGUS a îmbunătățit valoarea diagnostică a criteriilor AECG și ACR. SGUS nu a fost inclusă în criteriile AECG din 2002 elaborate cu scopul de a uniformiza loturile pentru studiile clinice și epidemiologice, deși demonstrase proprietăți bune de diagnostic (specificitate și sensibilitate înaltă). Acest fapt poate fi justificat prin absența unui consens asupra metodei de scanare și definire a leziunilor specifice, cât și prin operator-dependență.

Apariția unor noi opțiuni terapeutice pentru managementul SS a crescut nevoia pentru depistarea unor metode fezabile și valide pentru diagnosticul modificărilor din glandele salivare. SGUS arată rezultate promițătoare în detectarea modificărilor de structură ecografică, cu o sensibilitate înaltă comparativ cu metodele imagistice existente.

În multe studii este descrisă procedura de scanare, dar puține dau detalii despre poziția sondei sau detaliul imaginii ecografice obținute.

În această direcție, grupul OMERACT pentru studiul SGUS în SS a elaborat un model de scanare în care este descrisă poziția pacientului, setarea optimă pentru imaginea ecografică și regiunea de interes. Scanarea glandelor salivare se face cu ajutorul sondelor liniare, cu

frecvență înaltă. Scanarea sistematică include evaluarea glandelor salivare majore (sublinguale, submandibulare și parotidiene) în două planuri perpendiculare.

Cuantificarea evaluării SGUS a arătat o variabilitate mare, iar majoritatea scorurilor propuse sunt semicantitative. Heterogenitatea sistemelor de cuantificare și permanența lor îmbunătățire a dus la rezultate bune de specificitate și sensibilitate, însă în literatura de specialitate rămân câteva neclarități.

Aplicarea unui scor ideal trebuie să fie facilă, să ofere informații suficiente pentru diagnostic și să depindă cât mai puțin de echipamentul ecografic sau pregătirea și experiența operatorului. În demersul științific pentru căutarea scorului optim, a apărut o nouă întrebare al cărui răspuns încă se caută- dacă putem identifica un semn precoce ecografic suficient de specific și de sensibil pentru a ajuta în diagnosticul SS.

Standardul de aur rămâne biopsia de glandă salivară, însă SGUS poate aduce informații suplimentare. În literatura actuală a fost demonstrat că SGUS cu modificări specifice pentru SS și prezența anticorpilor anti-Ro se corelează cu un rezultat anatomo-patologic pozitiv.

Încă nu sunt date suficiente dacă SGUS poate contribui la monitorizarea evoluției SS sau dacă poate prezice răspunsul la tratament. Până în prezent sunt două mari studii pentru evaluarea răspunsului la tratament cu Rituximab în SS primar. Nu avem date despre evaluarea răspunsului la tratament în cazul pacienților diagnosticați cu SS secundar.

Acestea sunt câteva din problemele la care vom încerca să răspundem. Am înregistrat pacienții din clinică diagnosticați cu SS primar, respectiv SS secundar și un lot control de pacienți.

Lucrarea de față cuprinde 3 stadii:

1. Evaluarea scorurilor semicantitative în ecografia de glande salivare din Sindromul Sjögren
2. Evaluarea răspunsului la tratament cu Rituximab în Sindromul Sjögren secundar cu ajutorul scorurilor ultrasonografice
3. Evaluarea neomogenității parenchimotoase în ecografia glandelor salivare ca semn precoce în Sindromul Sjögren

Metodologie

Criterii de clasificare

Nici unul dintre cele trei criterii ACR nu reflectă funcția și morfologia glandelor salivare, care sunt modificate în SS. Pe lângă biopsia glandelor salivare minore, sialografia

parotidiană, scintigrafia și examinarea fluxului salivar nestimulat au fost acceptate în 2002 de Grupul Consensului American-European (AECG) ca criterii pentru implicarea glandelor salivare în SS (3). Sialografia este considerată cea mai fiabilă tehnică, însă natura ei invazivă restrânge utilizarea (4).

Recent, au fost elaborat un nou set de criterii (5) care exclude cele mai comune diagnostice diferențiale pentru SS. Este diferit de cel precedent prin considerarea manifestărilor sistemice (evaluate cu ajutor ESSDAI $\geq$ 1) (6) și a simptomelor de uscăciunea ca criterii esențiale.

Date clinico-biologice

Toate cele trei studii au fost efectuate în cadrul centrului de cercetare al bolilor reumatismale RCRD din clinica de Reumatologie din Spitalul Sfânta Maria, București, România în perioada 2015-2018.

Pacienții incluși în toate cele trei studii au fost anterior diagnosticați cu SS primar sau și SS secundar PR conform criteriilor American-European Consensus Group (AECG) pentru SS(7).

Datele din istoricul medical au fost înregistrate înaintea examinării clinice și ecografice. Evaluarea clinică (prezența de tumefacție parotidiană, evidența de tumefacții și dureri articulare cu efectuarea scorului de activitate în cele 28 de articulații) a fost efectuată la toți pacienții în ziua examinării. A fost înregistrat Sjögren's Syndrome Disease Activity Index (ESSDAI) (8) cu toți parametrii.

Fiecare pacient a apreciat subiectiv prezența xerostomiei precum și a xeroftalmiei și aceasta a fost înregistrată binar. Tumefacția clinică a fost apreciată de medicul curant.

Obiectiv, evaluarea xeroftalmiei s-a efectuat la toți pacienții cu testul Schirmer în perioada apropiată scanării ecografice. Diagnosticul de SS s-a efectuat după criteriile AECG 2012, iar componenta obiectivă a fost mai frecvent prezența anticorpilor anti Ro/SSA decât efectuarea biopsiei de glande salivare. Valoarea complementului seric a fost apreciată ca ,normal', ,crescut' sau ,scăzut'.

Prezența sindromului inflamator (prin VSH și CRP) și anticorpilor anti SSA au fost evaluate prin ELISA după protocoalele laboratorului din cadrul clinicii. Anticorpilor anti-peptid citrulinat (ACPA) au fost considerați pozitivi când valoarea titrului era mai înaltă decât cut-off-ul kitului (20U/ml). FR a fost analizat utilizând un test cantitativ de imunofelometrie. FR e considerat pozitiv când concentrația e mai ridicată decât cut-off kitului (15U/ml).

Din istoricul pacienților, s-a înregistrat medicația actuală. În cazul pacienților aflați în tratament cu Rituximab s-a înregistrat durata terapiei. Date binare s-au înscris pentru terapia cu Prednison, Hidroxiclorochina, Metotrexat sau alte DMARDs.

Evaluarea SGUS

Aparatura folosită a fost un dispozitiv Esaote Mylab 75 sau MyLab 25 Gold echipat cu o sondă liniară cu o frecvență derivată de la 10-15 MHz. Am examinat toate cele patru glande salivare majore cu gray scale. Poziția pacientului este în sus, gâtul fiind ușor extins și capul orientat spre locul opus părții scanate. Glandele parotide au fost examinate în ambele planuri perpendiculare. Glandele submandibulare au fost evaluate numai longitudinal.

Pe fiecare parte, glanda parotidă a fost scanată în fosa retromandibulară, anterioară mușchiului urechii și sternocleidomastoidului; glanda submandibulară a fost evaluată în partea posterioară a triunghiului submandibular.

S-au înregistrat modificările parenchimotoase precum ecogenitatea, neomogenitate glandulară, prezența de zone hipoecogene, densitatea și mărimea lor, prezența de chisturi sau septuri fibroase, definiția marginilor glandulare și dimensiunea glandelor parotide sau submandibulare.

Studiul 1: Evaluarea scorurilor semicantitative în ecografia glandelor salivare din sindromul Sjögren.

Glandele salivare sunt frecvent afectate în sindromul Sjögren (SS). Datorită localizării lor anatomice și a identificării facile, criteriile de clasificare includ evaluarea acestor glande (9). Sialografia și biopsia de glande salivare sunt stabilite ca examinări obiective în diagnosticul SS. Totuși, invazivitatea și complicațiile acestor proceduri le limitează practica clinică.

Recent, ecografia glandelor salivare majore (SGUS) este folosită extensiv în evaluarea implicării glandulare în SS și evaluarea răspunsului la tratament. Multe studii au demonstrat sensibilitatea și specificitatea SGUS în SS primar și este propusă ca unealtă de diagnostic. Cu toate acestea, variabilitatea scorurilor ecografice propuse și inconsistența designului studiilor ce a dus la rezultate diferite în termeni de specificitate și sensibilitate, nu a dus la un consens în privința standardizării evaluării glandelor salivare cu SGUS în SS.

Obiectivul principal în acest studiu a fost evaluarea scorurilor semicantitative existente în literatura de specialitate pentru căutarea celui mai performant scor de diagnostic ecografic în SS. În acest scop, s-au urmărit doi pași: identificare acelor scoruri semicantitative care au cea mai ridicată specificitate și sensibilitate și testarea aplicabilității lor în practica clinică într-un lot de pacienți cu SS primar și SS secundar.

Inițial s-a efectuat o revizie a literaturii în bazele de date Pubmed/Medline și Embase, utilizând sinonime ale termenilor “glande salivare”, “ultrasonografie”, “Sindrom Sjögren”, “scor semicantitativ” Căutarea a fost limitată la articole în limba engleză și despre populația umană adultă, fără a condiționa anul publicării. Articolele au mai fost căutate și printre referințele articolelor incluse în revizia. Strategia de căutare detaliată, incluzând termenii de căutare în cele două baze de date, este descris în tabelul I.1.

Tabel I.1. Strategia de căutare în cadrul reviziei literaturii de specialitate

Termenii căutați în Pubmed/Medline	("salivary, glands"[MeSH Terms] OR ("salivary"[All Fields] AND "Sjögren's Syndrome"[All Fields]) OR "Sjögren"[All Fields] AND "score"[All Fields])) AND (("semicantitative"[MeSH Terms] OR ("scoring system"[All Fields] AND "quantitative"[All Fields])) Limitations: Humans, Adults, English language
------------------------------------	--

Termenii căutați în Embase	' Sjögren's Syndrome /exp OR ' Sjögren's Syndrome AND ('semicantitative'/exp OR 'semicantitative' OR 'score') AND [english]/lim AND [adult]/lim
----------------------------------	---

În total au fost identificate 93 publicații: 47 în Pubmed/Medline și 46 în Embase. După eliminarea duplicatelor, au fost reținute și analizate 61 de publicații. Dintre acestea, u fost îndepărtate pe baza criteriilor de excludere abstracte.

Ulterior, au fost păstrate 38 articole originale . După citirea integrală a acestor articole, au fost incluse în analiza finală 10 publicații, raportând rezultate din 7 studii. Din aceste 10 publicații, 8 au inclus doar pacienți cu SS primar, în timp doar două au inclus și pacienți cu SS secundar.

În final, am selectat 7 scoruri ecografice semicantitative pe care le-am aplicat lotului de studiu. (tabel I.2).

Tabel I.2. Elementele luate în considerare în evaluarea scorurilor ecografice semicantitative

Autor an	Criterii	Scor total	Omogen	Ecogen	Hipoecogen	Hiperecogen	Margini	Mărime
DeVita, 1992	Copenh aga	0-6	0-3					
Salaffi, 2008	ECSG	0-16	0-4				0	
Hocevar, 2005	AECG	0-48	0-3	*	0-3	0-3	- 3	
Milic, 2009	AECG	0-48	0-3	*	*	*	*	
Cornec, 2012	AECG	0-4	0-4	*	*	*	*	*
Theander, 2014	AECG	0-3	0-3					
TRACTI SS 2018	AECG	0-11	0-3	*	0-3	*	*	

În cadrul centrului de cercetare al bolilor reumatismale RCRD aparținând clinicii de Reumatologie din spitalul Clinic Sfânta Maria, București, România, în perioada 2015-2017 au fost urmăriți 71 de pacienți, 71.83% diagnosticați conform criteriilor AECG cu SS primar și SS secundar (28.17%).

Lotul control este alcătuit din 29 pacienți cu simptome sica care nu întrunesc criteriile

pentru SS cu vârstă medie $\pm$ SD de 49.65 ± 14.41 ani. Vârstă medie $\pm$ SD pentru SS primar este 56.25 ± 12.73 , iar pentru SS secundar 62.15 ± 10.6 ani. Durata bolii $\pm$ SD a fost în medie 6 ani (± 5.33), cu o durată medie mai mică a bolii la pacienții cu SS primar 4.41 ± 3.89 (tabel I.3).

Tabel I.3. Caracteristici ale lotului studiat.

Caracteristici	SS primar	SS secundar	Total	Durata boala <3 ani
Pacienți n/total	51/71	20/71	71/71	39/71
Vârstă (ani) medie, SD	56.25 ± 12.7	62.15 ± 10.6	58 ± 12.33	56.21 ± 11.91
Durata bolii (ani) medie, SD	4.41 ± 3.89	8.5 ± 6.16	6.08 ± 5.33	2.38 ± 1.26
DAS28	1.39 ± 0.96	3.35 ± 1.1	2.94 ± 1.27	2.31 ± 1.22
ESSDAI	5.63 ± 7.67	4.45 ± 5.57	5.28 ± 6.90	4.05 ± 4.32
Schirmer	5.82 ± 4.06	7.30 ± 3.49	6.3 ± 3.86	6.79 ± 4.3
FR	34.98 ± 45.12	67.52 ± 73.5	51.25 ± 59.31	40.56 ± 44.71
CRP	9.63 ± 41.63	13.12 ± 22.5	11.21 ± 35.9	5.66 ± 14.95
VSH	24.18 ± 34	22.26 ± 23.86	28.1 ± 23.35	22.54 ± 17.01

Toate scorurile ecografice s-au corelat cu prezența de tumefacție parotidiană ($p < 0.05$). Modificările inițiale cu prezența de zone hipoecogene la nivelul glandei submandibulare stângi ($r = 0.843$, $p < 0.00$), glandelor parotide ($r = 0.781$, $p < 0.00$) cu septurile hiperecogene la nivel parotidian bilateral (0.722 , $p < 0.00$), iar prezența de chisturi la nivel submandibular drept ($r = 0.699$, $p < 0.00$) au arătat corelații semnificative în cazul scorului DeVita(10).

Toate scorurile descrise s-au corelat negativ cu prezența de anticorpi anti-ccp ($r = 0.354$, $p < 0.00$). Frecvent prezența de chisturi și septuri hiperecogene s-a corelat pozitiv cu valorile avansate ale scorurilor ecografice (Cornec $r = 0.689$, $p < 0.00$; TRACTISS $r = 0.696$, $p < 0.00$; Milic $r = 0.710$, $p < 0.00$; Theander $r = 0.746$, $p < 0.00$).

În majoritate scorurilor, corelațiile la nivelul septurilor hiperecogene s-au remarcat preponderent la nivelul glandelor parotide, simetric, însă în scorul Theander(11) glandele submandibulare s-au corelat mai puternic ($r = 0.71$, $p < 0.00$). Performanța diagnostică a scorurilor evaluate se poate observa în figura 1.1 .

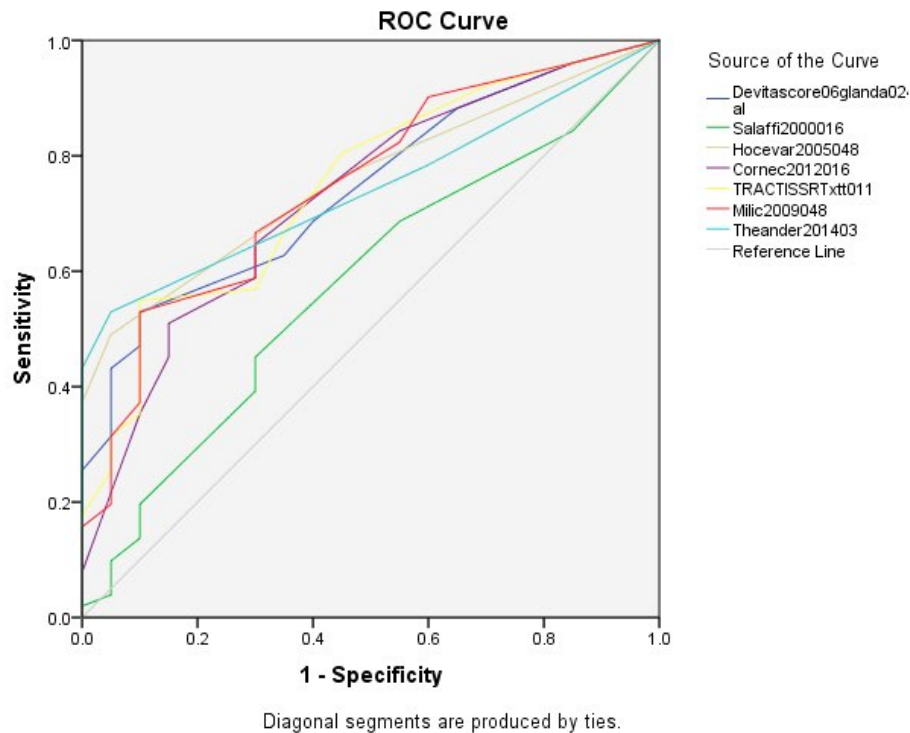


Figura 1.1. Acuratețea diagnostică a scorurilor ecografice evaluate

Deși au arătat rezultate similare, cea mai apropiată de ideal performanță în termeni de specificitate și sensibilitate a atins scorul Salaffi(12) (reprezentat în figură prin culoarea verde) urmat de scorul Theander. Pentru efectuarea curbei ROC s-au luat în considerare scorurile ecografice pentru SS și lotul control de SICCA fără SS (figura 1.1).

În cazul SS primar, majoritatea prezenței de zone hipoecogene s-a remarcat la nivelul glandei parotide drepte (41.17%), însă modificările cele mai avansate au apărut la 23.8% din pacienți la nivelul glandei parotide stângi. Ambele glande submandibulare a arătat modificări incipiente cu prezenta de zone hipoecogene de mici dimensiuni în peste o treime din cazuri

Modificările ecografice în cadrul SS secundar au fost minime, însă predomină componența zonelor hipoecogene în aproape jumătate din cazuri, în jur de 40% din cazuri având structura glandulară parotidiană fără modificări decelabile ecografic.

Aplicarea scorurilor ecografice existente la lotul studiat a arătat o similitudine între ele, însă cea mai bună performanță pare să o arate scorul Salaffi(12), urmat de scorul Theander.. Scorurile care includ un număr ridicat de elemente ecografice de identificat cum este scorul Milic sau Hocevar nu au arătat o bună performanță în studiul nostru.

Aceste date arată că SGUS oferă informații asupra parenchimului glandular, însă nu am dovedit superioritatea acestei tehnici peste gold standard- biopsia de glandă salivară. Acest lucru nu a fost posibil datorită numărului redus de pacienți care au efectuat biopsia de glandă salivară, majoritatea fiind diagnosticați prin prezenta anticorpilor specifici.

Deoarece nu există un singur test cu o valoare suficientă, diagnosticul de SS este în prezent stabilit pe baza combinației de semne și simptome caracteristice. În comparație cu alte instrumente imagistice, cum ar fi sialografia, scintigrafia și tehnicile de rezonanță magnetică, US glandelor salivare promite să adauge valoare de diagnostic, deși în fazele timpurii ale bolii detectează anomalii minime.

Neomogenitatea parenchimotoasă este cea mai importantă caracteristică a evaluării din US, fiind propusă în majoritatea sistemelor de punctare. O anumită importanță a fost acordată și marginii glandulare și a dimensiunii glandei. Toate scorurile evaluate au arătat o acuratețe similară. Nu s-au găsit diferențe semnificativ statistic între acestea.

Studiul 2: Evaluarea răspunsului la terapia cu Rituximab în Sindromul Sjögren secundar cu ajutorul ecografiei glandelor salivare majore

Sindromul Sjögren (SS) este identificat prin infiltratul limfocitar al glandelor exocrine care are corespondent manifestarea simptomatică, uscăciunea. Pacienții descriu adeseori manifestări sistemice și un nivel înalt de fatigabilitate. Limfocitele B sunt considerate a avea un rol important în patogeneză(13), iar două studii randomizate controlate cu molecula anti-receptor CD20 pentru depleția limfocitelor B- Rituximab, sugerează beneficii în SS primar(14).

Rolul proeminent al hiperactivității celulelor B în patogeneza SS primar oferă o rațiune pentru utilizarea Rituximabului, un anticorp monoclonal anti-CD20 chimeric pentru a trata această boală. În prezent, nu s-a ajuns la consensul privind eficacitatea Rituximabului în SS, dar tratamentul are ca rezultat câteva îmbunătățiri clinice, biologice și histologice.

Obiectivul principal al studiului este utilizarea ecografiei glandelor salivare pentru evaluarea răspunsului la tratamentul cu Rituximab în sindromul secundar Sjögren (SS secundar).

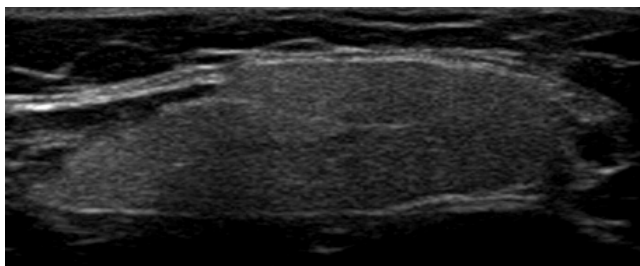
Un număr de 32 de pacienți au fost evaluați în cadrul centrului de cercetare RCRD din clinica de Reumatologie din spitalul Clinic Sfânta Maria, București, România, în perioada 2017-2018. Pacienții incluși în studiu fuseseră anterior diagnosticați cu SS secundar poliartritei reumatoide (PR) și se aflau în tratament cu Rituximab. Lotul de studiu include pacienți diagnosticați cu SS secundar PR (32 pacienți) și un lot control (32 pacienți) alcătuit din pacienți diagnosticați cu PR fără simptome sicca. Activitatea clinico-biologică a poliartritei reumatoide (fiind afecțiunea cea mai frecvent asociată la pacienții cu SS secundar) și afectarea articulară a fost evaluată utilizând scorul DAS28.

Scorul ESSDAI a fost utilizat pentru a măsura activitatea SS. Acesta este utilizat ca gold standard în măsurarea activității SS în studiile clinice cât și în practica clinică pentru a crește abilitatea de a detecta schimbările în cursul evoluției bolii. Deși acesta a fost conceput pentru pacienții cu SS primar, în acest studiu am decis să îl utilizăm pentru SS evaluarea SS secundar. Clasificarea pentru SS secundar s-a efectuat conform criteriilor revizuite AUCG(3).

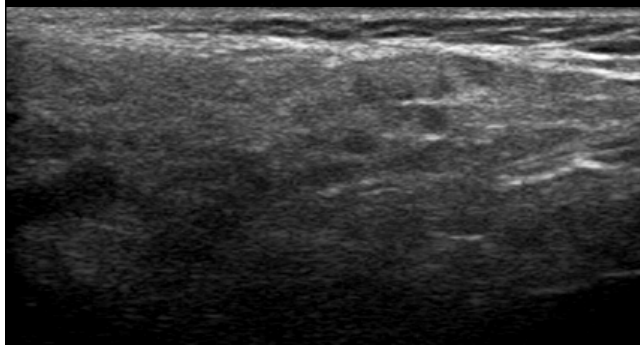
Examinarea ecografică s-a efectuat în gray-scale B-mode. SGUS a fost efectuată înainte ca pacienții să primească perfuzia cu Rituximab, ulterior după 6 luni. Am folosit un scor semicantitativ derivat de la 0 la 4 (12) (tabel I.4)

Tabel I.4. Modificările ecografice la nivelul glandelor parotide cuantificate conform scorului Salaffi

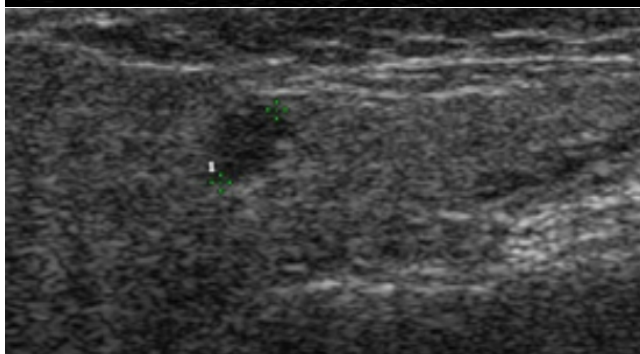
Grad 0



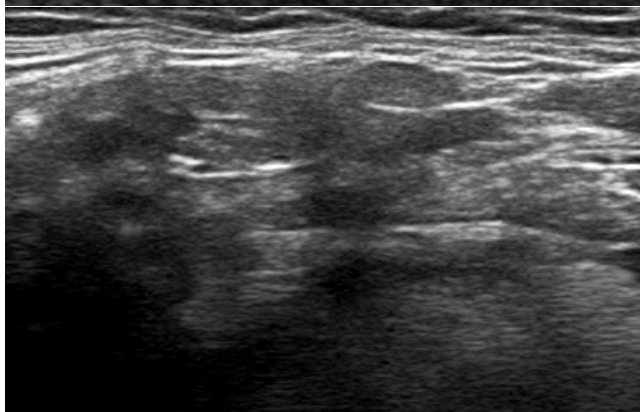
Grad 1



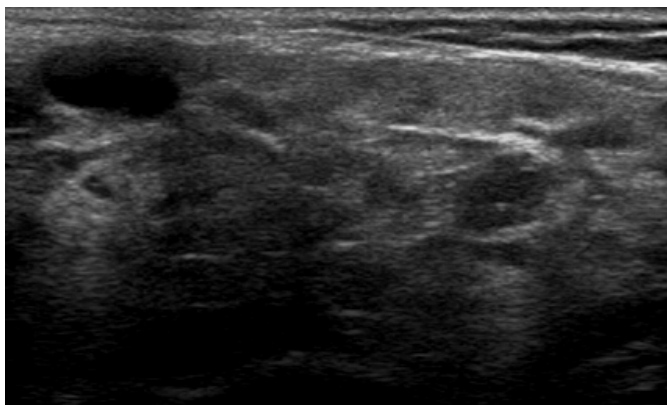
Grad 2



Grad 3



Grad 4



Toți pacienții au fost diagnosticați anterior cu poliartrită reumatoidă (PR) și au fost tratați cu Rituximab timp de 1,71 ani $\pm$ 1,81 (maxim 7 ani). Durata SS din momentul diagnosticului are o medie 12.29 ani (min 1 an, max 20 ani) (tabel I.5).

Tabelul I.5 . Date generale despre lotul pacienților diagnosticați cu SS secundar PR

Date descriptive

Parametru	Medie ($\pm$ SD)	Min-max
Vârsta (ani)	64.86 ($\pm$ 10.9)	52-84
Durata SS secundar (ani)	12.29 ($\pm$ 5.91)	1-20
RTX durata tratament	1.71($\pm$ 1.81)	0-5
Scorul SGUS	1.57 ($\pm$ 1.01)	0-4

SGUS nu s-a modificat semnificativ în timpul monitorizării la majoritatea pacienților, doar 2/32 (6.25%) din pacienți arătând o îmbunătățire a scorului ecografic, iar unul din ei 1/32 (3.12%) o agravare a leziunilor parenchimotoase existente. Dacă nu s-au înregistrat modificări semnificative la nivel global al scorului ecografic dimensiunile glandulare au arătat o minimă reducere (p 0.05) mai ales la nivel parotidian și o reducere a alterărilor structurale la nivelul glandei submandibulare stângi (r 0.694, p<0.05). Modificările ecografice depistate sunt similare la nivelul glandei submandibulare stângi și a parotidei stângi (r 0.926, p<0.05).

Atât în lotul control cât în cel de studiu nu s-au detectat în timpul monitorizării modificări în parenchimul glandei parotide și submandibulare stângi și drepte în termeni binari (tabel II.6). În ceea ce privește modificările scorului ecografic, acesta suferit modificări la nivel glandular parotidian.

La momentul inițial, modificarea cea mai frecventă a fost în glanda parotidă stângă și submandibulară stângă, cu prezența ariilor hipoeogene sub diametrul de 2 mm (14/32; 43,75%), în timp ce în glandele submandibulare ambele glande au prezentat modificări minime 16/32 (50%) în glanda submandibulară dreaptă, 15/32 (46.87%) în glanda submandibulară stângă). În timpul urmăririi, s-au observat schimbări în glanda submandibulară stângă și glanda parotidă stângă în ceea ce privește prezența zonelor hipoeogene ($p < 0.05$). 4/32 (12.5%) pacienții au prezentat tumefacție parotidă clinic, iar 8/32 (25%) au arătat o dimensiuni crescute glandulare la nivel parotidian bilateral ecografic. La 6 luni distanță, dimensiunile glandulare s-au redus la 2/32 (6.25%) din pacienți ($p < 0.05$). Granițele glandulare au fost conservate la momentul inițial și la urmărire.

În investigația noastră cu ajutorul ecografiei glandelor salivare, au existat mici diferențe în modificarea parenchimului la momentul inițial și după 6 luni de tratament cu Rituximab, însă nu au dovedit semnificație statistică.

Acest studiu oferă prima dovadă a modificărilor SGUS în timpul tratamentului cu Rituximab în SS secundar. În majoritatea cazurilor au fost definite prezența ariilor hipoeogene sub 2mm și între 2-6mm, rezultate compatibile cu modificări minime fără distrucția parenchimului glandular.

În cursul monitorizării, aspectul ecografic al glandelor salivare nu s-a modificat semnificativ, mărimile glandulare fiind ușor diminuate comparativ cu momentul inițial. În cazul dimensiunilor glandulare reduse datorită modificărilor fibrotice, acestea nu s-au îmbunătățit de-a lungul timpului.

Faptul că modificările ecografice nu s-au modificat semnificativ poate fi explicat prin durata scurtă a monitorizării, absența unor semne clinico-biologice de activitate a SS și includerea în grupul de studiu a pacienților cu durată variabilă a bolii.

Până în momentul actual, eficacitatea tratamentului cu Rituximab nu a fost dovedită la toți pacienții cu SS primar și nu există studii privind SS secundar. Avem nevoie de mai multe cercetări pentru o mai bună definire în punctele primare și criterii mai bune de includere înainte de a elimina această opțiune de tratament.

Studiul 3: Este neomogenitatea parenchimatoasă în ecografia glandelor salivare un semn precoce în Sindromul Sjögren ?

SGUS a demonstrat specificitate și sensibilitate în evaluarea glandelor salivare majore și permite detectarea anomaliilor ecostructurale atât în SS primar cât și SS secundar (15, 16). Pacienții sunt complianți să repete efectuarea ei care se poate repeta de un număr nelimitat de ori. Date recente confirmă ca US poate fi utilizată ca tehnică de prima intenție pentru capacitatea sa de a detecta anomalii structurale. Au fost propuse diferite sisteme de cuantificare folosind caracteristici precum: dimensiunea glandelor, neomogenitatea parenchimatoasă, ecogenitatea, marginile glandulare sau vascularizația. Evaluarea ecografică în SS a fost definită după multiple analize de discriminare a posibilelor anomalii ecografice detectate, nu pe baza unor definiții existente anterior. Prin această metodologie, neomogenitatea glandulară a fost selectată ca fiind cea mai utilă anomalie capabilă să distingă pacienții cu SS primar comparativ cu lotul control(10).

Acest studiu a avut drept obiectiv identificarea neomogenității ecostructurale de la nivelul glandelor salivare majore la pacienți deja diagnosticați cu SS primar și secundar și corelarea acestor date cu cele clinice și serologice precum și depistarea unui pattern precoce în diagnostic.

Am efectuat un studiu cross secțional în departamentul de Reumatologie și Medicina Interna din cadrul spitalului clinic “Sfânta Maria” București. Studiul a inclus un număr de 81 pacienți urmăriți în perioada 2015-2016. Pacienții au fost diagnosticați cu SS primar sau SS secundar conform criteriilor AECG modificate (3).

SGUS a fost efectuată de un medic reumatolog antrenat în ecografie musculoscheletală, fără a avea cunoștințe de datele clinice, folosind un aparat Esaote MyLab25Gold echipat cu sonda lineară cu frecvență 7.5 până la 12.5Mhz. Omogenitatea parenchimatoasă a fost cuantificată utilizând un scor simplificat de la 0 la 3 descris anterior de Theander(17)- gradul 0 indică omogenitate completă și gradul 3 neomogenitate severă cu chisturi și regiuni confluențe hipoeogene. Gradul 1 este considerat ca discret neomogen cu câteva zone izolate hipoeogene, în timp ce gradul 2 reprezintă neomogenitate evidentă cu multiple regiuni hipoeogene de mărimi variabile, neuniform distribuite. Nu am luat în considerare în acest studiu volumul glandelor salivare majore.

Durata medie a bolii $\pm$ deviație standard este 6.08 ± 5.3 ani cu o distribuție pe grupe a câte 3 ani. Cei mai mulți pacienți au avut durata bolii între 1 și 3 ani, respectiv 40%, motiv

pentru care vom împărți lotul studiat în pacienți cu durata bolii sub 3 ani și pacienți cu durata bolii peste 3 ani (60%). Dintre pacienții diagnosticați cu durata bolii sub 3 ani, 28% sunt diagnosticați cu SS primar, pe când doar 4% din pacienții cu SS secundar se află în această categorie.

În ceea ce privește scorurile de activitate, media $\pm$ deviație standard pentru ESSDAI a fost 5.28 ± 6.85 (minim 0-maxim 40). 66.7% din pacienți au avut un scor sub 5, dintre aceștia 66.03% sunt diagnosticați cu SS primar, iar 70.37% (19/27) cu SS secundar PR. Scorul ESSPRI a avut o valoare medie de 5.13 ± 5.59 (minim 0, maxim 10). Elementele cuantificate subiectiv de către pacient au fost fatigabilitatea și simptomele sicca resimțite în ultimele 2 săptămâni. Scorul ESSPRI a fost aplicat la un număr de 21 de pacienți (40.7% SS primar, 90.2% femei).

Nu au rezultat diferențe în ce privește ESSPRI și ESSDAI în cele două grupuri (SS primar și SS secundar), deși manifestările articulare au fost frecvent întâlnite în SS secundar (secundar PR) 11/12 (în SS primar 6/9), în timp ce componenta glandulară a ESSDAI a fost confirmată la 4/9 cazuri cu SS primar (comparativ cu 1/12 din SS secundar). Această comparație a fost aplicată la un lot eșantion de 21 pacienți.

Anticorpul anti SSA/SSB au fost prezenți în 93.82% (18/21) din cazuri. Anticorpul anti Ro/SSA au fost pozitivi la 72/81 cazuri (88.8%) din pacienții cu SS primar.

Biopsia glandelor salivare a fost efectuată la 17 pacienți (20.98%). Scorul de focus limfocitar a fost atins la 12 din pacienți, 7 dintre aceștia diagnosticați cu SS primar.

Factorul reumatoid a fost pozitiv la 23/53 (43.39%) pacienți cu SS primar și 24/27 (88.8%) din SS secundar, iar anticorpul ACPA au fost prezenți doar la 92% pacienții cu SS secundar și la 2/52 (3.8%) din pacienții cu SS primar. (tabel I.6).

Tabelul I.6. Date clinico-biologice ale lotului studiat pentru evaluarea neomogenității ecostructurale glandulare

	N or min-max	Medie $\pm$ s.d. or %
Durata bolii, ani	1-22	6.08 ± 5.30
Vârsta	28-84	58.56 ± 12.25
Sex (f/total)	76/81	93.82
SS primar/SS secundar	53/28	65.43
ESSPRI	0-10	5.13 ± 5.59

ESSDAI	0-40	5.28 ±6.85
Anti SSA/SSB pozitiv (SS primar)	76/81 (50/53)	93.82
Biopsie scor focus>1 (SS primar)	12/17 (7/12)	70.58
RF pozitiv	47/81	58.02
C3	49-137	120.55 ±22.08
Limfocite (*10 ³)	0.54-2.80	1.35 ±0.61
CRP	0.39-95.94	9.91±18.11
Schirmer (mm)	2-19	8.52 ±4.03

f- feminin; SS primar- SS primar ; SS secundar- SS secundar; RF- factor reumatoid, C3- fracția C3 a complementului seric

Frecvent, neomogenitatea a fost găsită în toate cele patru glande salivare majore (38.75%, 42.5% glanda submandibulara stângă, respectiv dreaptă) în SS primar. Indiferent de scor, alterațiile ecografice s-au evidențiat la 84.91% din pacienții cu SS primar și 85.19% din pacienții cu SS secundar. Alterațiile grosiere detectate ecografic au fost mai frecvente la pacienții cu SS primar (20.75%, scor 2 versus 3.7% SS secundar).

Scorul ≥1 a fost atins la 28/32 (87.5%) din pacienți, în timp ce scorul 3 a fost atins la 6/32 (18.75%) pacienți. În timpul primilor 3 ani de activitate a bolii, 18/32 (56.25%) pacienți au avut modificări ecografice compatibile cu gradul 1, în timp ce gradul 2 a fost găsit frecvent la 4/32 (12.5%) versus 8/48 (16.6%) la cei cu durata bolii peste 3 ani.

Utilizând un cut-off de 1, 88.8% din pacienții cu SS primar și 84.03% cu SS secundar au arătat modificări.

Cu o durată medie a bolii de 5.33 ani, neomogenitatea discretă (scor 1) a fost modificarea cel mai frecvent întâlnită atât în SS primar, cât și în SS secundar. Durata bolii a fost negativ corelată cu prezența zonelor hipoecogene la glandei parotide drepte (r=-0.412; p<0.02).

Uscăciunea gurii și oboseala au fost distribuite omogen cu tendința scorului de 2-3 (pe o scala 0-10) în ambele SS primar și SS secundar. Scoruri ecografice cu modificări

avansate au fost identificate la pacienții care au raportat valori mai ridicate ale fatigabilității. Alterațiile cele mai avansate identificate ecografic cu prezența unor alterări grosiere au fost raportate strict la pacienții care au dat cea mai mare valoare pe scala fatigabilității, în cazul studiului nostru, scor 7. Identificarea glandelor salivare fără modificări ecografice a fost la grupul de pacienți care au cuantificat fatigabilitatea cu scorul 3. Modificările glandulare cu identificare unor zone hipoecogene multiple au apărut și la pacienții care are un nivel scăzut de fatigabilitate.

Pacienții care au avut tratament cu doze mici-medii de cortizon și/ sau DMARDs precum hidroxiclorochina, au fost cel mai frecvent identificați cu modificări minime ecografice (scor 1). Nici unul din pacienții aflați în tratament cu hidroxiclorochină nu au arătat modificări ecografice avansate

În acest studiu, majoritatea pacienților au experimentat de mai mulți ani fatigabilitate și simptome sicca iar modificările SGUS era deja prezente încă din primii 3 ani de la diagnostic. Deși sunt studii care arată o corelație între scorul focus limfocitar la nivel biptic și scorul SGUS, în studiul nostru nu s-a găsit o corelație. Aceasta poate fi explicată prin numărul relativ redus de pacienți și că puțini pacienți au acceptat efectuarea biopsiei de glanda salivară.

Studiul prezent aduce informații utile folosind un scor simplu de cuantificare semicantitativă, ușor de folosit și de aplicat. Utilizarea unui scor pentru detectarea și cuantificarea rapidă a modificărilor din SS ar putea permite medicilor reumatologi să includă examinarea ecografică în vizita clinică.

Scorul SGUS pentru neomogenitate a fost de asemenea un parametru în care consensul între observatori a fost cel mai ridicat pentru prezența de zone hipoecogene.

Totuși, sunt diferențe în raportarea acurateței diagnosticului a anomaliilor ultrasonografice la nivelul glandelor salivare, deci o lipsă a standardizării acestei tehnici. Posibile explicații pot fi numărul limitat de pacienți și echipamentul ecografic utilizat (tipul de aparat ecografic, diferite frecvențe și tip de transductori). Obiectivitatea inadecvată în evaluarea schimbărilor patologice ar trebui luată în considerare când se captează imaginile. Mai mult, este necesară experiența operatorului.

În fapt, prezența de regiuni hipoecogene multiple la nivelul parenchimului glandelor salivare pare să fie o caracteristică patognomonică a SS primar(18).

În ciuda rezultatelor încurajatoare, acest studiu are câteva limitări: este un studiu efectuat într-un singur centru, cu un grup control scăzut. Totuși, obiectivul principal a fost monitorizarea neomogenității ecostructurale ca semn inițial. O altă particularitate a studiului a

fost durată îndelungată a bolii. Totuși, chiar dacă este necesară și o validare externă pentru a putea elabora concluzii consecutive, rezultatele noastre par să crească numărul de dovezi care susțin utilizarea SGUS de rutină în algoritmul diagnostic.

Acest studiu reprezintă o contribuție adițională la datele care susțin utilitatea SGUS pentru un diagnostic neinvaziv al SS, chiar și în stadiile inițiale ale SS primar. SGUS este o metoda de evaluare rapidă și accesibilă majorității reumatologilor cu acces la un echipament ultrasonografic. Pentru detectarea cât mai devreme a SS și probabil pentru monitorizare în trialurile clinice și dezvoltarea unui limfom ar putea fi necesare scoruri mai elaborate de cuantificare, incluzând semnalul Doppler pentru evaluarea vascularizației la acest nivel.

Concluzii generale

1. Ecografia glandelor salivare detectează precoce modificările parenchimatoase identificând neomogenitatea glandulară în primii ani de la diagnostic.
2. Nu s-a ajuns la un consens în privința scorurului ecografic optim de cuantificare a modificărilor glandelor salivare datorită variabilității scorurilor ecografice, aparaturii diferite și absența unei standardizări în scanare.
3. În urma revizuirii literaturii de specialitate, nu s-au găsit diferențe mari între scorurile ecografice semicantitative existente, iar o performanță mai ridicată s-a demonstrat în scorul Salaffi și Theander.
4. Indiferent de tipul de SS, scorul de activitate ESSDAI nu s-a corelat cu nivelul de uscăciune resimțit și evaluat de către pacient.
5. Din punct de vedere clinic, prezența tumefacției parotidiene se corelează pozitiv cu toate scorurile ecografice semicantitative luate în considerare.
6. Prezența neomogenității ușoare apare la pacienții cu durata bolii mai mică și confirmă diagnosticul în 3 scoruri aplicate.
7. Alterările avansate cu degenerări chistice și distrucție fibroasă hiperecogene se corelează pozitiv cu scoruri ecografice mai avansate. Aceasta a fost observată doar la pacienții cu SS primar.
8. Evaluarea obiectivă a xerostomiei prin testul Schirmer a arătat o minimă îmbunătățire în cursul celor 6 luni de tratament cu Rituximab la pacienții cu SS secundar, însă evaluarea subiectivă a simptomelor Sicca nu a arătat modificări în dinamică.
9. Evaluarea subiectivă a fatigabilității a arătat scoruri mai ridicate (scala 7) și la pacienții cu modificări ecografice avansate. Expresia fatigabilității a fost raportată mai frecvent la pacienții cu SS secundar PR fără tratament cu Rituximab.
10. La pacienții diagnosticați cu SS secundar PR aflați în tratament cu Rituximab, s-au găsit modificări ecografice minime, nici unul din pacienți nu a avut scoruri avansate de distrugere glandulară.
11. Prezența zonelor hipoecogene la nivelul glandelor parotide bilateral la pacienții cu SS secundar PR, a arătat o îmbunătățire în cursul celor 6 luni de tratament cu Riutximab precum și reducerea dimensiunilor glandulare, deși scorul global SGUS nu a arătat modificări semnificative statistic.
12. Modificările prin prezența unor regiuni hipocogene de mici dimensiuni distribuite difuz sunt un semn precoce la pacienții diagnosticați cu SS până în 3 ani.

13. La pacienții diagnosticați până în 3 ani, apare afectarea simetrică a glandelor submandibulare și parotide ca model semnificativ statistic ($r = 0.494$; $p < 0.01$).
14. Biopsia de glandă salivară se corelează pozitiv cu scorul ecografic Theander ($r = 0.224$, $p < 0.05$) la pacienții cu SS primar și secundar.
15. Studii ulterioare care include cohorte mai mari sunt necesare pentru a confirma datele.
16. Absența unei standardizări în scanarea ecografică a glandelor salivare și a aparatului diferite utilizate a dus la heterogenitatea scorurilor ecografice.
17. Acuratețea raportată este similară între cele șapte scoruri studiate cu o performanță mai bună pentru scorul Salaffi și Theander.
18. Prezența clinică a tumefacției parotidiene se corelează pozitiv cu scorurile ecografice semicantitative.
19. Nu s-au găsit corelații cu scorul de activitate ESSDAI sau nivelul de xerostomie sau xeroftalmie.
20. Zonele hipoecogene de mici dimensiuni apar ecografic la pacienții diagnosticați recent și încadrează în valori de diagnostic 3 din cele 7 scorurile ecografice semicantitative.
21. Prezența chisturilor și a septurilor hiperecogene se corelează pozitiv cu scoruri semicantitative avansate în SS primar.
22. Nu au fost raportate prezența de chisturi și septuri hiperecogene la pacienții diagnosticați cu SS secundar PR în tratament cu Rituximab.
23. Deși scorul global SGUS nu a arătat modificări semnificative statistic, prezența zonelor hipoecogene la nivelul glandelor parotide și submandibulare stângi la pacienții cu SS secundar PR, a arătat o îmbunătățire în cursul celor 6 luni de tratament cu Rituximab precum și reducerea dimensiunilor glandulare.
24. Xerostomia evaluată de pacienți nu arătat nici o modificare în cursul celor 6 luni de tratament cu Rituximab la pacienții cu SS secundar, însă testul Schirmer a arătat o minimă îmbunătățire.
25. Neomogenitatea glandulară pare să fie un semn precoce (durata bolii până în 3 ani) al afecțiunii atât în SS primar cât și SS secundar.
26. Afectarea simetrică a glandelor submandibulare cu prezența neomogenității este un model semnificativ statistic la pacienții cu durata bolii până în 3 ani (SS primar și secundar).
27. Studii ulterioare care include cohorte mai mari sunt necesare pentru a confirma datele.

Originalitate și contribuții personale

Evalurea parenchimului glandular salivare are un impact important asupra prognosticului și diagnosticului SS. Investigarea imagistică cu o acuratețe cât mai ridicată și monitorizarea funcției sunt încă teme de cercetare active.

Subiectul tezei este utilizarea unei tehnici imagistice disponibilă în toate serviciile medicale, neiradiantă, neinvazivă, repetabilă, ieftină în studiul unei afecțiuni autoimune subdiagnosticate în populația generală, datorită semnelor clinice nespecifice. În momentul inițierii studiului doctoral, nu exista nici un consens în privința cuantificării modificărilor ecografice, fiind o multitudine de scoruri semicantitative și cantitative propuse, fiecare având ca gold standard diferite criterii de diagnostic și teste imagistice comparative (sialografia, scintigrafia).

Lucrarea are la bază cercetarea aprofundată a literaturii de specialitate și cuprinde 3 studii mari.

În prima parte, s-a efectuat o revizie a literaturii legată de existența scorurilor semicantitative pentru evaluarea afectării parenchimatoase în SS ulterior aceste scoruri au fost aplicate la lotul de pacienți studiat. Acest studiu a comparat scorurile existente și a căutat scorul cu cea mai bună performanță în termeni de specificitate și sensibilitate. Deși rezultatele au fost similare, scorul Salaffi, Theander și Tractiss(19) s-au diferențiat ușor comparativ cu celelalte. Toate rezultatele au fost raportate într-un poster virtual inițial la Congresul Român de Reumatologie în 2016, iar rezultatele complete au fost ulterior dezbătute la Congresul Mediteranean de Reumatologie din Genova în cadrul unei comunicări orale cu titlul „Scoring systems in ultrasound of salivary glands in Sjögren's Syndrome- a view over time” în 2018.

În 2017, studiul care privește comparația scorurilor ecografice și demonstrarea celui mai performant scor a fost acceptat ca prezentare de poster la congresul european de reumatologie din Madrid cu titlul „Ultrasound of salivary glands in Sjögren's syndrome – which semiquantitative scoring system is the best?”.

În literatură s-au efectuat 2 mari studii randomizate TEARS și TRACTISS pentru evaluarea răspunsului la tratament în SS primar.

În cea de-a doua parte, am arătat că în evaluarea pacienților cu SS secundar poliartritei reumatoide aflați în tratament cu Rituximab, rezultatele ecografice nu au arătat

modificări semnificative statistic la nivel global, însă modificări au fost semnalate la nivelul glandelor parotide și submandibulare stângi în cursul monitorizării. Rezultatele parțiale ale acestui studiu au fost publicate în articolul „Ultrasonographic salivary gland response to Rituximab în secondary Sjögren’s Syndrome.” din revista română de reumatologie (acreditare CNCSIB B+) (V. Iorgoveanu et al. RJR 2018).

Analizând lotul de pacienți, am observat ca pacienții diagnosticați recent arătau o caracteristică constantă în examinarea ecografică - neomogenitatea glandulară difuză.

În cea de-a treia parte, am demonstrat că acest model ecografic poate fi considerat precoce în diagnosticarea SS, atât în SS primar cât și SS secundar. Rezultatele acestui studiu au fost publicate în articolul „Is there an early ultrasonographic pattern în salivary glands în both primary and secondary Sjögren’s Syndrome?” din revista română de reumatologie (acreditare CNCSIB B+) (V. Iorgoveanu et al. RJR 2017).

Rezultatele obținute sunt în concordanță cu datele rezultate din studii multicentrice, lucrarea actuală aducând informații suplimentarea în ceea ce privește manifestările ecografice și din Sindromul Sjögren secundar și propune detectarea precoce a SS primar doar prin identificarea unui element ecografic precum neomogenitatea parenchimotoasă.

Rezultatele studiilor din lucrarea prezentată reprezintă puncte de reper în cercetarea din SS, respectiv ecografia glandelor salivare. Ne propunem să extindem această cercetare pentru a putea atinge un nivel de standardizare a evaluării și a putea crește disponibilitatea acestei tehnici în cât mai multe centre. Prin această contribuție, aducem o abordare cât mai practică a ecografiei de glande salivare, aducând-o în practica clinică ambulatorială.

Bibliografie

1. Baldini C, Luciano N, Tarantini G, Pascale R, Sernissi F, Mosca M, et al. Salivary gland ultrasonography: a highly specific tool for the early diagnosis of primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Res Ther*. 2015;17:146.
2. Salaffi F, Argalia G, Carotti M, Giannini FB, Palombi C. Salivary gland ultrasonography in the evaluation of primary Sjogren's syndrome. Comparison with minor salivary gland biopsy. *J Rheumatol*. 2000;27(5):1229-36.
3. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis*. 2002;61(6):554-8.
4. Song GG LY. Diagnostic accuracies of sialography and salivary ultrasonography in Sjögren's syndrome patients: a meta-analysis. *Clin Exp Rheumatol* 2014;32(4):516-22.
5. 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 Sjogren's Syndrome: A Consensus and Data-Driven Methodology Involving Three International Patient Cohorts. *Arthritis Rheumatol*. 2017;69(1):35-45.
6. Seror R, Theander E, Brun JG, Ramos-Casals M, Valim V, Dorner T, et al. Validation of EULAR primary Sjogren's syndrome disease activity (ESSDAI) and patient indexes (ESSPRI). *Ann Rheum Dis*. 2015;74(5):859-66.
7. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, Baer A, Challacombe S, Lanfranchi H, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjogren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjogren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(4):475-87.
8. Seror R, Bootsma H, Saraux A, Bowman SJ, Theander E, Brun JG, et al. Defining disease activity states and clinically meaningful improvement in primary Sjogren's syndrome with EULAR primary Sjogren's syndrome disease activity (ESSDAI) and patient-reported indexes (ESSPRI). *Ann Rheum Dis*. 2016;75(2):382-9.
9. Le Goff M, Cornec D, Jousse-Joulin S, Guellec D, Costa S, Marhadour T, et al. Comparison of 2002 AECG and 2016 ACR/EULAR classification criteria and added value of salivary gland ultrasonography in a patient cohort with suspected primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Res Ther*. 2017;19(1):269.
10. De Vita S, Lorenzon G, Rossi G, Sabella M, Fossaluzza V. Salivary gland echography in primary and secondary Sjogren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 1992;10(4):351-6.
11. 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(5):789-800.
12. Salaffi F, Carotti M, Iagnocco A, Luccioli F, Ramonda R, Sabatini E, et al. Ultrasonography of salivary glands in primary Sjogren's syndrome: a comparison with contrast sialography and scintigraphy. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(8):1244-9.
13. Cornec D, Costa S, Devauchelle-Pensec V, Jousse-Joulin S, Marcorelles P, Berthelot JM, et al. Blood and salivary-gland BAFF-driven B-cell hyperactivity is associated to rituximab inefficacy in primary Sjogren's syndrome. *J Autoimmun*. 2016;67:102-10.
14. Dass S, Bowman SJ, Vital EM, Ikeda K, Pease CT, Hamburger J, et al. Reduction of fatigue in Sjogren syndrome with rituximab: results of a randomised, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(11):1541-4.

15. Gazeau P, Cornec D, Jousse-Joulin S, Guellec D, Saraux A, Devauchelle-Pensec V. Time-course of ultrasound abnormalities of major salivary glands in suspected Sjogren's syndrome. *Joint Bone Spine*. 2018;85(2):227-32.
16. Tzioufas AG, Goules AV. Limited efficacy of targeted treatments in Sjogren's syndrome: why? *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36 Suppl 112(3):27-8.
17. Theander E, Mandl T. Primary Sjogren's syndrome: diagnostic and prognostic value of salivary gland ultrasonography using a simplified scoring system. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2014;66(7):1102-7.
18. Shimizu M, Okamura K, Yoshiura K, Ohyama Y, Nakamura S, Kinukawa N. Sonographic diagnostic criteria for screening Sjogren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;102(1):85-93.
19. Fisher BA, Everett CC, Rout J, O'Dwyer JL, Emery P, Pitzalis C, et al. Effect of rituximab on a salivary gland ultrasound score in primary Sjogren's syndrome: results of the TRACTISS randomised double-blind multicentre substudy. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(3):412-6.