



HAL
open science

Le lymphocyte B dans la maladie parodontale

Camille Framery

► **To cite this version:**

Camille Framery. Le lymphocyte B dans la maladie parodontale . Sciences du Vivant [q-bio]. 2017. dumas-01669035

HAL Id: dumas-01669035

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01669035v1>

Submitted on 20 Dec 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE
DENTAIRE

Année : 2017
Thèse N°: 29032

Le lymphocyte B dans la maladie parodontale

présentée par

Camille FRAMERY

Née le 9 mars 1991 à Brest

Thèse soutenue le 7 avril 2017
devant le jury composé de :

Pr Jacques-Olivier PERS

Professeur des Universités, UFR Odontologie Brest /
Président et Directeur

Pr Hervé BOUTIGNY-VELLA

Professeur des Universités, UFR Odontologie Brest /
Assesseur

Dr Frédérique d'ARBONNEAU

Maître de conférence des Universités, UFR
Odontologie Brest / *Assesseur*

Dr Valérie CHEVALIER-HERISSET

Maître de conférence des Universités, UFR
Odontologie Brest / *Assesseur*

Dr Gwenola FERREC

Assistante, UFR Odontologie Brest / *Assesseur*

Dr Yves KERBOULL

Praticien libéral, Brest / *Invité*



UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

PRESIDENT

Monsieur Matthieu GALLOU

DIRECTEUR GENERAL DES SERVICES

Monsieur Dominique BRUNEL

CORPS PROFESSORAL DE L'U.F.R. D'ODONTOLOGIE DE BREST

Année Universitaire 2016-2017

DOYEN

Monsieur Reza ARBAB CHIRANI

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

57-01 Parodontologie
57-03 Sciences Biologiques
58-01 Odontologie Conservatrice, Endodontie

Monsieur Hervé BOUTIGNY-VELLA
Monsieur Jacques-Olivier PERS
Monsieur Reza ARBAB CHIRANI

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS

56-01 Pédodontie
56-01 Pédodontie
56-03 Prévention, Epidémiologie, Economie Santé, Odonto légale
56-03 Prévention, Epidémiologie, Economie Santé, Odonto légale
57-02 Chirurgie Buccale, Pathologie et thérapeutique, anesthésio
57-02 Chirurgie Buccale, Pathologie et thérapeutique, anesthésio
57-03 Sciences Biologiques
58-01 Odontologie Conservatrice, Endodontie
58-01 Odontologie Conservatrice, Endodontie
58-02 Prothèses
58-02 Prothèses
58-03 Sciences anatomiques et physiologiques

Monsieur Hervé FORAY
Madame Frédérique d'ARBONNEAU
Monsieur Alain ZERILLI
Monsieur Bertrand PIVER
Madame Sylvie BOISRAMÉ
Monsieur Guy LE TOUX
Mademoiselle Laëtitia LE POTTIER
Madame Valérie CHEVALIER-HERISSET
Madame Karen VALLAEYS
Monsieur Vincent JARDEL
Madame Elisabeth LEIZE-ZAL
Madame Céline BODERE

ASSISTANTS

57-01 Parodontologie
57-01 Parodontologie
57-02 Chirurgie Buccale et Pathologique
58-01 Odontologie Conservatrice, Endodontie
58-01 Odontologie Conservatrice, Endodontie
58-02 Prothèses
58-02 Prothèses
58-02 Prothèses

Madame Juliette COAT
Madame Claire ALBARET
Madame Héloïse HERRY
Madame Anaïs BONNABESSE
Madame Caroline DARBIN
Monsieur Vincent BERTHELOT
Madame Gabrielle LEON
Madame Cécile PONDAVEN

ASSISTANTS ASSOCIES

56-02 Orthopédie Dento Faciale
57-03 Sciences Biologiques

Madame Kristelle MELONE
Madame Kahina AMROUCHE

À notre Directeur et Président de Thèse

Monsieur le Professeur Jacques-Olivier PERS,
Docteur en Chirurgie-Dentaire
Docteur des Universités
Professeur des Universités, U.F.R d'Odontologie, Brest
Praticien Hospitalier
Directeur de l'U.M.R 1227 Lymphocyte B et autoimmunité

Nous sommes très honoré que vous ayez accepté de diriger ce travail dont vous avez été l'initiateur ; sans vous celui-ci ne serait rien.

Nous vous remercions pour la qualité de l'enseignement, théorique et pratique, que vous nous avez prodigué pendant nos études.

Nous sommes particulièrement reconnaissant pour la possibilité que vous nous avez offert de travailler à vos côtés en clinique et nous espérons être à la hauteur de cet enseignement exigeant dans notre pratique professionnelle.

Nous vous remercions aussi de nous avoir ouvert les portes de votre laboratoire et de nous avoir ouvert l'esprit sur la recherche.

Veillez trouver ici, Monsieur, le témoignage de notre profonde admiration et reconnaissance.

À Monsieur le Professeur Hervé BOUTIGNY-VELLA,
Docteur en Chirurgie-Dentaire
Docteur des Universités
Professeur des Universités, U.F.R d'Odontologie, Brest
Praticien Hospitalier

Nous vous remercions de nous faire l'honneur de siéger dans notre jury.

Nous sommes reconnaissant de l'enseignement reçu auprès de vous au cours des Journées Odontologiques de Brest et nous réjouissons des prochains enseignements que vous voudrez bien nous prodiguer.

Veillez trouver ici, Monsieur, l'expression de notre profonde reconnaissance.

À Madame le Docteur Frédérique d'ARBONNEAU,
Docteur en Chirurgie-Dentaire
Docteur des Universités
Maître de Conférence des Universités, U.F.R d'Odontologie, Brest
Praticien Hospitalier

Nous vous sommes très reconnaissant d'avoir accepté de faire partie de notre jury.

Nous vous remercions pour votre exigence et votre implication dans l'enseignement clinique et théorique de l'odontologie pédiatrique, tout au long de notre cursus. Vous avez su nous préparer à la pratique libérale de cette discipline et nous espérons être à la hauteur de l'enseignement que vous nous avez prodigué.

Veillez trouver ici, Madame, l'expression de notre plus profond respect.

À Madame le Docteur Valérie CHEVALIER-HERISSET,
Docteur en Chirurgie-Dentaire
Docteur des Universités
Maître de Conférence des Universités, U.F.R d'Odontologie, Brest
Praticien Hospitalier

Nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de faire partie de notre jury.

Nous vous remercions pour la qualité de votre enseignement en odontologie conservatrice et en endodontie et pour votre implication dans l'encadrement clinique.

Nous tenons tout particulièrement à vous remercier pour vos encouragements et vos précieux conseils dispensés tout au long de notre cursus ; sachez que, sans vous, notre pratique professionnelle actuelle serait peu de chose.

Veillez trouver ici, Madame, l'expression de notre profond respect et de notre sincère amitié.

À Madame le Docteur Gwenola FERREC,
Docteur en Chirurgie-Dentaire
Assistante Hospitalo-Universitaire, U.F.R d'Odontologie, Brest

Nous vous remercions d'avoir accepté de siéger dans notre jury.

Veillez trouver ici, Madame, l'expression de notre sincère reconnaissance.

À Monsieur le Docteur Yves KERBOULL,
Praticien libéral, Brest

Nous vous sommes très reconnaissant d'avoir accepté de siéger dans notre jury.

Vous avez été le premier à nous éveiller à notre futur métier.

Nous vous remercions pour toutes les conversations sur la parodontologie et l'implantologie qui en ont agacé plus d'un lors des repas familiaux.

Nous vous sommes reconnaissant pour votre soutien indéfectible et votre affection.

Veillez trouver ici, Yves, l'expression de notre profonde admiration et de notre immense affection.

À ma mère, merci pour ton amour et ton soutien de tous les instants. Sans toi, je n'en serais certainement pas là. Pendant ces longues années d'études, tu as toujours été là pour moi, même à 3h du matin pour réciter une nième fois le vocabulaire d'allemand; pour cela, et pour tout le reste, je t'admire éternellement. Merci d'avoir usé de ta douceur pour gérer mon perfectionnisme/stress dans ses paroxysmes. Merci aussi d'avoir relu ce manuscrit, merci en particulier pour les points-virgules. Je suis fière d'être ta fille, je t'aime.

À mon frère Antoine, merci d'être toi. Tu as toujours été là pour moi, tu m'as appris, enfin tu as essayé de m'apprendre à prendre du recul sur mes études. Merci pour ta bonne humeur, ton excentricité et tous les merveilleux moments passés ensemble; en particulier ces fous rires mémorables concernant les sardines et les arbres à oignons. Je te remercie particulièrement pour ton aide dans l'élaboration de ce manuscrit en particulier pour la mise en page et les schémas. Merci pour tout. Ne change surtout pas d'un pouce, tu es parfait.

À mon père et à Michèle, merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mes études; vous m'avez poussée à toujours donner le meilleur de moi-même. Merci aussi pour tous les bons moments passés ensemble. Papa, mes affinités pour la chirurgie ne sont peut être pas étrangères à tes talents de chirurgien; merci pour ton amour. Je suis fière d'être ta fille, je t'aime.

À Grand-père et Grand-mère, merci pour votre affection et votre soutien indéfectible. Merci pour toute l'aide logistique apportée pendant toutes ces années. Merci aussi à grand-père pour son implication dans ma scolarité, mon perfectionnisme vient indubitablement de là. A grand-mère, merci de m'avoir transmis, dans l'apprentissage de la pâtisserie, l'amour du travail bien fait.

À Papy et Claudine, merci pour votre affection et tous les bons moments passés ensemble. Et merci aussi d'être là aujourd'hui.

À Fabienne, Matthieu et Marine, merci de m'avoir supportée pendant toutes ces années d'études et pardon pour toutes ces conversations odontologiques. Fabienne, nous ne sommes pas du même sang; pourtant notre aptitude aux conversations sans fin pourrait le laisser croire; merci aussi pour « moélette » et le « médicament du chat ».

A l'ensemble de la famille FRAMERY, à Paul-Adrien, Raphaële et Victoire, merci pour votre affection et votre soutien.

Aux licornes qui pètent, merci pour tous ces merveilleux moments passés ensemble et cette amitié éternelle qui nous lie. Je vous aime.

À mes amis du lycée, Pol-Maël, Floriane, Pierre-Yves, Jerome, Laurence, Elena, Vincent, Solène, Flora, Amélie, Johann, Perrine; merci pour tous ces merveilleux moments passés ensemble depuis maintenant 10 ans; sans vous je ne serais pas devenue celle que je suis. Je vous aime.

À ma promotion, Chloé, Lauriane, Julie, Nha-Lisa, Elodie, Maïanna, Eugénie, Léa, Emilie, Alexandre, Hadrien, Kevin, Riwallan, Christophe, Pierre Br, Pierre Bi, Matthieu, Margot, Amandine, Thibault, Jordan, Sylvain, Jonathan. Merci pour ces 5 années d'études fabuleuses.

À Lauriane Moal, notre amitié dure depuis maintenant 20 ans et je sais qu'elle durera encore longtemps. Merci de m'avoir aidée à ramasser les perles en bois renversées par Léa-Vanille en grande section; cela signe la douceur et la grande générosité qui te caractérisent.

À Jules Carré-Merceur, merci de m'avoir accordé ton amitié et d'être présent dans ma vie depuis maintenant plus de 25 ans. Merci pour tous ces superbes moments passés ensemble.

À tous mes amis de dentaire, Alex LG mon binôme adoré, Bobby, Antonin, Quentin, Yann, Aurélien, Laetitia, Aude, Benjamin, Louise, Salomé, Laurence, Fiona, Max P, Matthieu R, Héloïse, Arthur, KJ, Stéphanie LG, Morgan, Aurélie Hq, Ryan B, Alexandre C, Cécile, Julien et tous les autres, merci pour tous ces bons moments.

À toute l'équipe du cabinet dentaire de la place Lyautey à Landivisiau, merci pour votre accueil et votre affection. Vous avez fait de moi la dentiste que je suis et tellement plus encore. Pendant cette année passée à vos côtés, vous avez fait du travail un vrai plaisir; j'ai tellement ri et pleuré pendant cette année qu'il m'est difficile de la résumer en quelques lignes. J'espère avoir la

chance de pouvoir, un jour, travailler de nouveau auprès de vous car je ne me suis jamais sentie aussi épanouie que pendant cette année. Je vous adore ; Bisous Câlines.

Au Dr Sébastien Beuzit, Merci d'avoir éveillé en moi l'amour de la parodontologie, sans toi je serais probablement passée totalement à côté de cette discipline. Merci pour tout.

Au Dr Guy Le Toux, Merci pour la qualité de votre enseignement en implantologie et surtout merci de m'avoir fait assez confiance pour me laisser réaliser ma première greffe et ma première pose d'implant au cours de mon externat. Je ne l'oublierai pas.

Au Dr Pierre Pochard, Merci pour ton soutien et ton implication dans l'étude. Merci aussi pour ton aide dans la rédaction de ce manuscrit.

À tous ceux qui ont donné de leur personne pour l'étude, Julien, Maman, Lauriane, Alexandre, Anne, Jonathan, le personnel du laboratoire d'immunologie, Merci pour votre implication.

À tous les enseignants de la Faculté d'Odontologie de Brest, merci pour vos enseignements théoriques et pratiques.

À toute l'équipe de la Faculté d'Odontologie de Brest et du Service d'Odontologie du CHRU de Brest, merci pour votre accueil et vos encouragements.

À tous ceux que je n'ai pas cités mais qui ont contribué de près ou de loin à mes études, Merci.

Je certifie sur l'honneur ne pas avoir repris pour mon propre compte des propos, des citations, des illustrations déjà publiés.

BREST, le

FRAMERY, Camille

Signature.

LE LYMPHOCYTE B DANS LA MALADIE PARODONTALE

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	21
1 LA MALADIE PARODONTALE	22
1.1 EPIDEMIOLOGIE DE LA MALADIE PARODONTALE	22
1.2 LE PARODONTE.....	23
1.2.1 <i>La gencive</i>	23
1.2.1.1 L'épithélium de jonction.....	24
1.2.1.2 L'épithélium sulculaire.....	24
1.2.1.3 L'épithélium buccal.....	25
1.2.1.4 Le tissu conjonctif gingival.....	25
1.2.2 <i>Le ligament alvéolodentaire</i>	25
1.2.3 <i>Le ciment</i>	25
1.2.4 <i>L'os alvéolaire</i>	25
1.3 DEFINITION ET CLASSIFICATION DES MALADIES PARODONTALES	26
1.3.1 <i>La classification de l'American Academy of Periodontology de 1999</i>	27
1.3.2 <i>La classification de Page et Ecke 2007</i>	29
1.4 ETIOLOGIE DE LA MALADIE PARODONTALE	30
1.4.1 <i>La présence de bactéries virulentes</i>	31
1.4.1.1 Le biofilm.....	31
1.4.1.2 Les bactéries parodontopathogènes	33
1.4.1.2.1 Microbiologie spécifique aux parodontites chroniques	33
1.4.1.2.2 Microbiologie spécifique aux parodontites agressives.....	34
1.4.2 <i>L'absence de bactéries « protectrices »</i>	34
1.4.3 <i>La présence d'un environnement local défavorable à la santé parodontale</i>	34
1.4.4 <i>La défaillance de l'hôte</i>	34
1.5 LES FACTEURS DE RISQUES DES MALADIES PARODONTALES	35
1.5.1 <i>Facteurs de risques généraux</i>	35
1.5.1.1 L'âge.....	35
1.5.1.2 Le sexe	35
1.5.1.3 L'origine ethnique	36
1.5.1.4 Les facteurs génétiques.....	36
1.5.1.5 Le diabète.....	36
1.5.1.6 Le tabac	37
1.5.1.7 Les pathologies associées.....	38
1.5.1.8 Le statut socio-économique	38
1.5.1.9 Le stress et la composante psychologique.....	38

1.5.2	<i>Facteurs de risques locaux</i>	39
1.5.2.1	Les facteurs anatomiques	39
1.5.2.1.1	Encombrement, malposition, proximité radiculaire.....	39
1.5.2.1.2	Malocclusion	39
1.5.2.1.3	Anatomie radiculaire	39
1.5.2.1.4	Anatomie muco-gingivale.....	39
1.5.2.2	Les facteurs iatrogènes	40
1.5.2.3	Les parafonctions	40
1.6	PHYSIOPATHOLOGIE DES MALADIES PARODONTALES.....	40
1.6.1	<i>D'un point de vue biologique</i>	40
1.6.1.1	La gencive saine.....	41
1.6.1.2	La lésion initiale	41
1.6.1.3	La lésion précoce	42
1.6.1.4	La lésion établie.....	42
1.6.1.5	La lésion avancée.....	43
1.6.2	<i>D'un point de vue plus global</i>	43
2	<u>LE ROLE DE L'HOTE DANS LA MALADIE PARODONTALE.....</u>	45
2.1	LES MOYENS DE L'HOTE POUR MAINTENIR UN ETAT PARODONTAL SAIN.....	45
2.1.1	<i>L'inhibition de la croissance de la plaque dentaire supra-gingivale</i>	45
2.1.1.1	Les lactoferrines.....	45
2.1.1.2	Le lysozyme.....	45
2.1.1.3	Les peroxydases	45
2.1.1.4	Les cystatines	46
2.1.1.5	Les mucines.....	46
2.1.1.6	Les peptides anti-microbiens	46
2.1.1.7	Les Ig A sécrétoires	47
2.1.2	<i>L'inhibition de la croissance de la plaque dentaire infra-gingivale</i>	47
2.2	LA REPONSE DE L'HOTE FACE AUX PATHOGENES ORAUX.....	48
2.2.1	<i>La réponse immune face à une agression bactérienne</i>	48
2.2.1.1	La réponse immunitaire innée.....	48
2.2.1.2	La réponse immune adaptative	53
2.2.1.2.1	La réponse adaptative cellulaire.....	53
2.2.1.2.2	La réponse adaptative humorale.....	60
2.2.2	<i>Les particularités de la réponse immunitaire dans la maladie parodontale...</i>	62
2.2.2.1	Le dysfonctionnement des polymorphonucléaires neutrophiles.....	62
2.2.2.1.1	Les dysfonctionnements d'origine bactérienne.....	62
2.2.2.1.2	Les dysfonctionnements innés	63
2.2.2.2	Les dysfonctionnements des monocytes.....	63
2.2.3	<i>Les principaux mécanismes immunitaires impliqués dans la pathogenèse de la maladie parodontale</i>	64
2.2.4	<i>La réponse spécifique à la parodontite agressive</i>	67

2.2.5	<i>Les principaux mécanismes immunopathologiques inducteurs de la destruction des tissus conjonctifs.....</i>	67
2.2.6	<i>Les mécanismes immunopathologiques inducteurs de la destruction des tissus osseux alvéolaires.....</i>	68
2.2.7	<i>Le rôle des lymphocytes dans la maladie parodontale.....</i>	69
2.2.7.1	La destruction progressive implique une évolution des types cellulaires.....	69
2.2.7.2	Le modèle de réponse Th1 protectrice / Th2 destructrice.....	69
2.2.7.3	Le rôle du lymphocyte Th17.....	70
2.2.7.4	Le rôle des lymphocytes T régulateurs.....	70
2.2.7.5	Le rôle des lymphocytes B.....	71
2.3	LES FACTEURS BACTERIENS IMPLIQUES DANS L'EVASION DES SYSTEMES DE DEFENSE ET DANS LA PATHOGENESE DE LA MALADIE PARODONTALE.....	75
2.3.1	<i>Les mécanismes bactériens impliqués dans la pathogénèse des maladies parodontales</i>	75
2.3.2	<i>L'activité bactérienne de destruction tissulaire.....</i>	76
2.3.2.1	La destruction directe par des substances d'origine bactérienne.....	77
2.3.2.2	La destruction tissulaire indirecte d'origine bactérienne.....	77
2.3.2.3	L'activation de la réaction inflammatoire par les bactéries parodontopathogènes.....	77
2.3.3	<i>Les capacités bactériennes de contournement du système immunitaire.....</i>	78
2.3.3.1	La membrane bactérienne.....	78
2.3.3.2	La leucotoxine.....	78
2.3.3.3	Les protéases spécifiques des Immunoglobulines.....	78
2.3.3.4	Les protéases dégradant le complément.....	79
2.3.3.5	L'internalisation dans les cellules de l'hôte.....	79
3	<u>L'ETUDE MENEES DANS LE SERVICE D'ODONTOLOGIE DU CHRU DE BREST.....</u>	80
3.1	OBJECTIF DE L'ETUDE.....	80
3.2	MATERIELS ET METHODE.....	81
3.2.1	<i>Etapes du protocole réalisées dans le service d'odontologie.....</i>	81
3.2.1.1	Le recrutement des patients.....	81
3.2.1.2	Les critères d'inclusion.....	82
3.2.1.3	Le recueil des données cliniques.....	82
3.2.1.3.1	L'anamnèse générale.....	82
3.2.1.3.2	L'indice d'hygiène.....	83
3.2.1.3.3	Les mobilités dentaires.....	83
3.2.1.3.4	Le sondage parodontal.....	84
3.2.1.3.5	Le saignement.....	85
3.2.1.3.6	La suppuration.....	85
3.2.1.3.7	L'atteinte de furcation.....	85
3.2.1.3.8	Le charting parodontal.....	86
3.2.1.3.9	Les examens radiographiques.....	87

3.2.1.3.10	Le diagnostic	88
3.2.1.4	Le prélèvement sanguin	88
3.2.2	<i>Les étapes réalisées au sein du laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest</i>	89
3.2.2.1	Le protocole d'analyse des échantillons sanguins.....	89
3.2.2.1.1	L'analyse des échantillons sanguins par cytométrie en flux	89
3.2.2.1.2	La préparation des échantillons sanguins en vue de leur conservation	94
3.2.3	<i>L'analyse statistique des résultats</i>	95
3.3	RESULTATS.....	95
3.3.1	<i>Les sujets recrutés</i>	95
3.3.2	<i>Les résultats sur le sang prélevé</i>	97
3.3.2.1	Les résultats concernant les lymphocytes B circulants	97
3.3.2.1.1	Phénotype de lymphocytes B circulants chez les patients atteints de parodontite ...	97
3.3.2.1.2	Association entre paramètres cliniques et populations de lymphocytes B	101
3.3.2.2	Les résultats concernant les lymphocytes B1 circulants.....	104
3.3.2.3	Les résultats concernant l'expression de RANKL.....	106
3.4	DISCUSSION	108
	<u>CONCLUSION</u>	112
	<u>BIBLIOGRAPHIE.....</u>	113

Table des figures

FIGURE 1 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU PARODONTE D'APRES RATEITSCHAK ET AL. (RATEITSCHAK ET AL. 1986)	23
FIGURE 2 : COMPLEXES BACTERIENS D'APRES SOCRANSKY (S. S. SOCRANSKY ET AL. 1998)	32
FIGURE 3 : PRINCIPALES INTERACTIONS BACTERIENNES AU SEIN DU BIOFILM D'APRES LABBE (LABBE ET AL. 1998)	33
FIGURE 4 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES 5 STADES BIOLOGIQUES DECRITS PAR PAGE ET SCHROEDER EN 1976 (PIERRARD ET AL. 2014)	43
FIGURE 5 : MODELE DECRIVANT LA PATHOGENESE DE LA MALADIE PARODONTALE CHEZ L'HOMME D'APRES PAGE ET KORNMAN (R. C. PAGE ET KORNMAN 1997)	44
FIGURE 6 : EFFET DES PAMP MEDIES PAR LES TLR SUR LES CELLULES DU PARODONTE ET LEURS INTERACTIONS D'APRES HANS ET HANS EN 2011 (HANS ET HANS 2011)	51
FIGURE 7 : SCHEMA DES ETAPES DE DIFFERENCIATION AU SEIN DU FOLLICULE LYMPHOÏDE (ICONOGRAPHIE J-O. PERS)	56
FIGURE 8 : LA DIFFERENCIATION PLASMOCYTAIRE (ICONOGRAPHIE J-O. PERS)	57
FIGURE 9 : PRESENTATION DES DIFFERENTES SOUS-POPULATIONS DE LYMPHOCYTES T HELPER, DES CYTOKINES INDUISANT LEUR DIFFERENCIATION ET DES CYTOKINES QUE CES CELLULES PRODUISENT D'APRES GAFFEN ET HAJISHENGALLIS (GAFFEN ET HAJISHENGALLIS 2008)	60
FIGURE 10 : ROLE DES LYMPHOCYTES T DANS LA PATHOGENESE DE LA MALADIE PARODONTALE D'APRES GAFFEN ET HAJISHENGALLIS (GAFFEN ET HAJISHENGALLIS 2008)	71
FIGURE 11 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA DEFINITION DE LA PERTE D'ATTACHE D'APRES CHARON EN 2010 (CHARON 2010)	86
FIGURE 12 : EXEMPLE DE BILAN LONG CONE	87
FIGURE 13 : EXEMPLE D'UNE RADIOGRAPHIE PANORAMIQUE (RADIOGRAPHIE REALISEE DANS LE SERVICE D'ODONTOLOGIE DU CHU DE BREST)	88
FIGURE 14 : SCHEMA D'UNE VISUALISATION THEORIQUE SUR ORDINATEUR APRES CYTOMETRIE EN FLUX D'APRES KUBY (KUBY ET AL. 2008)	90
FIGURE 15 : STRATEGIE MISE EN PLACE POUR L'IDENTIFICATION DES LB ET DE LEURS SOUS-POPULATIONS (ICONOGRAPHIE P. POCHARD)	92
FIGURE 16 : REPRESENTATION DES 2 PANELS UTILISES POUR L'ANALYSE DU SANG EN CYTOMETRIE EN FLUX	97
FIGURE 17 : REPARTITION DES DIFFERENTES SOUS-POPULATIONS DE LB CHEZ UN PATIENT ATTEINT DE PARODONTITE EN FONCTION DE LEUR EXPRESSION DE CD38 ET DE L'IgD	98
FIGURE 18 : MISE EN EVIDENCE DE LA DIMINUTION DES Bm2 CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE PARODONTITE	99
FIGURE 19 : MISE EN EVIDENCE D'UNE NETTE AUGMENTATION DU TAUX DE Bm5 CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'UNE PARODONTITE	99
FIGURE 20 : MISE EN EVIDENCE D'UNE NETTE AUGMENTATION DES LB MEMOIRES CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'UNE PARODONTITE	100
FIGURE 21 : MISE EN EVIDENCE DE L'AUGMENTATION DU RATIO B MEMOIRES/B NAÏFS	100
FIGURE 22 : CORRELATION ENTRE LA PROPORTION DE LB MEMOIRES ET LES SIGNES CLINIQUES DE SEVERITE DE LA MALADIE (NAC ET PP)	101
FIGURE 23 : CORRELATION ENTRE LA PROPORTION DE LB MEMOIRES ET L'EXTENSION DE LA MALADIE PARODONTALE	102

FIGURE 24 : EVOLUTION DU TAUX DE LB NAÏFS EN FONCTION DU POURCENTAGE DE SITES AVEC PERTE D'ATTACHE=0 ET DU POURCENTAGE DE SITES ATTEINTS	103
FIGURE 25 : MISE EN EVIDENCE DE L'ABSENCE DE CORRELATION ENTRE LES INDICES CLINIQUES (BOP ET O'LEARY) ET L'EVOLUTION DU RAPPORT BMEMOIRES/BNAÏFS	103
FIGURE 26 : COMPARAISON DU NOMBRE DE B1 CHEZ LES PATIENTS PRESENTANT UNE PARODONTITE ET CHEZ LES TEMOINS	104
FIGURE 27 : EXPRESSION DU CD11B SUR LES LB CD5+ DES PATIENTS AVEC ET SANS PARODONTITE	104
FIGURE 28 : CORRELATION ENTRE LA DIMINUTION DU TAUX DE LB CD5+ ET LA SEVERITE DE LA MALADIE PARODONTALE	105
FIGURE 29 : EXPRESSION DE RANKL SUR LES LB.....	106
FIGURE 30 : EXPRESSION DU RANKL SUR LES SOUS-POPULATIONS DE LYMPHOCYTES B	106

Table des tableaux

TABEAU 1 : PRESENTATION SYNTHETIQUE DE LA CLASSIFICATION DE AAP DE 1999 (ARMITAGE 1999; DUYNINH ET AL. 2005)	29
TABEAU 2 : CLASSIFICATION DE PAGE ET EKE (ROY C. PAGE ET EKE 2007; PAUL I. EKE ET AL. 2012)	30
TABEAU 3 : AUGMENTATION DE LA PREVALENCE DE LA PARODONTITE AVEC L'AGE DANS LA POPULATION AMERICAINE (P. I. EKE ET AL. 2012)	35
TABEAU 4 : CRITERES D'INCLUSION ET D'EXCLUSION	82
TABEAU 5 : INDICE DE MOBILITE DENTAIRE DE MÜHLEMANN (MUHLEMANN 1950)	84
TABEAU 6 : CLASSIFICATION DES ATTEINTES DE FURCATION ADAPTEE DE MAYNARD ET WILSON (MAYNARD ET WILSON 1980)	86
TABEAU 7 : PANEL DES ANALYSES REALISEES SUR LES ECHANTILLONS DE SANG EN CYTOMETRIE EN FLUX.....	91
TABEAU 8 : RECAPITULATIF DES PATIENTS RECRUTES POUR L'ETUDE	96

Table des abréviations

Aa : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
AAP : American Academy of Periodontology
Ag : antigène
BAFF : B cell activating factor
BCR : B-cell recepteur ou récepteur à l'Ag du LB
Bf : *Bacteroides forsythus*
Bm : lymphocyte B mature
BOP : Bleeding on probing ou saignement au sondage
CD : cluster de différenciation, groupe marqueur antigénique de la surface cellulaire
CMH : complexe marqueur d'histocompatibilité
CPA : Cellule présentatrice d'antigène
Cr : *Campilobacter rectus*
CRP : protéine C réactive
DMSO : diméthylsulfoxyde
eBm5 : early Bm5 ou Bm5 précoces
Ec : *Eikenella corrodens*
EGF : Epidermal Growth Factor
ELAM : endothelial adhesion molecule
FcR : récepteur au fragment Fc des Ig
Fn : *Fusobacterium nucleatum*
ICAM : Intercellular adhesion molecule
Ig : Immunoglobuline
IL : Interleukine
LaF : Lanthanum fluoride
LB : Lymphocyte B
LPS : Lipopolysaccharide
LT : Lymphocyte T
LT reg : Lymphocyte T régulateur
LTc : Lymphocyte T cytotoxique
LTh : Lymphocyte T helper
M-CSF : facteur de stimulation des colonies de macrophages
MAPK : mitogen-activated protein kinase
MMP : Métalloprotéinase matricielle
Myd88 : myeloid differentiation primary response protein 88
NAC : Niveau d'attache clinique
NK : Natural killer
NOD : nucleotide-binding oligomerization domain
OMS : Organisation Mondiale pour la Santé
OPG : Ostéoprotégérine
PAMP : Pathogen associated molecular pattern ou motifs moléculaires associés aux pathogènes

PBS : phosphate buffered saline ou solution tampon phosphate salin
PEA : Pellicule exogène active
PFA : Paraformaldehyde
Pg : *Porphyromonas gingivalis*
PGE2 : Prostaglandine E 2
Pi : *Prevotella intermedia*
PMN : Polymorphonucléaire neutrophile
PP : Profondeur de poche
PRR : Pattern recognition receptors (récepteurs de reconnaissance des motifs moléculaires associés aux pathogènes)
RANK : Récepteur activateur du facteur nucléaire kappa B
RANKL : Ligand du récepteur activateur du facteur nucléaire kappa B
RPMI : Roswell Park Memorial Institute medium
SVF : sérum de veau fœtal
TACE : TNF- α converting enzyme
TCR : T-cell receptor ou récepteur à l'Ag des LB
TLR : Toll-like receptor
TNF : Tumor necrosis factor
VIH : virus de l'immuno-déficience humaine

INTRODUCTION

La maladie parodontale est une des maladies inflammatoires chroniques les plus communes chez l'Homme et est, selon l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS), la deuxième maladie de la cavité buccale. Si les traitements ont beaucoup évolué, il reste encore beaucoup de travail quant à la compréhension des mécanismes impliqués dans la destruction des tissus parodontaux afin de pouvoir les cibler spécifiquement au cours de la thérapeutique parodontale.

Si le facteur étiologique que sont les bactéries parodontopathogènes est bien connu, tous les individus ne sont pas égaux devant cette agression bactérienne et face à une même flore parodontopathique tous les individus ne développeront pas une maladie parodontale.

La maladie parodontale est considérée comme une maladie multifactorielle faisant intervenir le facteur bactérien mais aussi l'environnement et la réponse de l'hôte.

Une des pistes expliquant cette variabilité de réaction est en lien avec la réponse immunitaire de l'hôte à une flore parodontopathique spécifique. La compréhension du mécanisme à l'origine d'une réponse immunitaire différente d'un individu à l'autre face à la flore parodontopathogène pourrait jouer un rôle déterminant dans le diagnostic et le traitement des maladies parodontales, d'autant plus qu'il a été prouvé que parmi tous les facteurs intervenant dans la maladie c'est bien la réponse inflammatoire de l'hôte qui conduit le plus à la destruction tissulaire.

A la suite du travail réalisé par Coat et al. en 2015 (Coat et al. 2015) , nous pensons que les lymphocytes B jouent un rôle prépondérant dans les mécanismes impliqués dans le développement de la maladie parodontale. C'est pourquoi, notre étude vise à déterminer l'existence ou non d'un profil spécifique à la maladie parodontale dans la répartition des différentes sous-populations de lymphocytes B.

1 LA MALADIE PARODONTALE

Les maladies parodontales sont des pathologies inflammatoires multifactorielles d'origine bactérienne affectant les tissus de soutien de la dent (os alvéolaire, desmodonte, gencive et cément) aussi appelé parodonte.

1.1 Epidémiologie de la maladie parodontale

Il est relativement difficile de définir une prévalence de la maladie parodontale ; car, même s'il existe de nombreuses études traitant de la prévalence et du degré de sévérité de ces maladies, toutes ces études ne concernent pas les mêmes populations et n'utilisent pas les mêmes critères de jugement pour le diagnostic et la classification des parodontites. Il est aussi important de rappeler que les facteurs de risques influencent très fortement la prévalence des parodontites ; par exemple le risque de développer une parodontite est 2,5 à 6 fois plus important chez un fumeur que chez un non-fumeur (Houle et Grenier 2003). Pour obtenir des résultats significatifs, il faudrait donc étudier des groupes de population présentant les mêmes facteurs de risques (habitudes de vies, sexe, patrimoine génétique...) et utiliser pour toutes les études les mêmes critères de classification. Actuellement beaucoup d'études sur les parodontites agressives datent d'avant la classification de l'APP (American Academy of Periodontology) de 1999 et portent sur la prévalence des « parodontites à progression rapide » et des « parodontites juvéniles » dont les critères diagnostiques varient d'une étude à l'autre. Les études sur les parodontites chroniques utilisent également des critères diagnostiques différents d'une étude à l'autre. Avec l'avènement de la classification de Page et Eke, les études devraient être plus comparables puisqu'elles se baseront toutes sur une seule classification ; c'est d'ailleurs dans un but épidémiologique que cette classification a été développée (Roy C. Page et Eke 2007).

En se basant sur les études déjà publiées, il semble qu'en France plus de 69% des individus présentent une gingivite (Mattout, Bourgeois, et Bouchard 2006). De plus, une étude menée, en France, sur 2144 individus de 35 à 64 ans entre 2002 et 2003 a mis en évidence les prévalences suivantes (Bourgeois, Bouchard, et Mattout 2007) :

- 26,8% de la population étudiée présentent une parodontite chronique généralisée légère
- 25,1% de la population étudiée présentent une parodontite chronique généralisée modérée
- 18,7% de la population étudiée présentent une parodontite chronique généralisée sévère

Cette étude met en avant la très forte prévalence des parodontites chroniques dans la population française.

Quant aux parodontites agressives, il existe peu d'études sur leur prévalence dans la population française. Løe et al ont étudié la répartition des parodontites à développement précoce (early onset periodontitis) dont les critères diagnostiques sont proches des critères cliniques usuels de la parodontite agressive et ont déterminé que 0,53% de la population étudiée (groupe de 11007 enfants âgés de 14 à 17 ans) présentait une parodontite « juvénile » localisée contre 0,13% pour les parodontites « juvéniles » généralisées.

Par conséquent, il est important de comprendre que la répartition des parodontites dans la population est très hétérogène et dépend fortement des facteurs de risques à la fois physiques mais aussi socio-

économiques ; c'est pourquoi il est essentiel de les repérer lors du diagnostic et de les contrôler ou les supprimer, quand cela est possible, au cours du traitement de la maladie parodontale.

1.2 Le parodonte

Le parodonte est un système fonctionnel de différents tissus qui revêtent et supportent chaque dent (Rateitschak et al. 1986). Il est constitué de 4 éléments (Figure 1):

- La gencive
- Le ligament alvéolo-dentaire ou desmodonte
- L'os alvéolaire
- Le cément

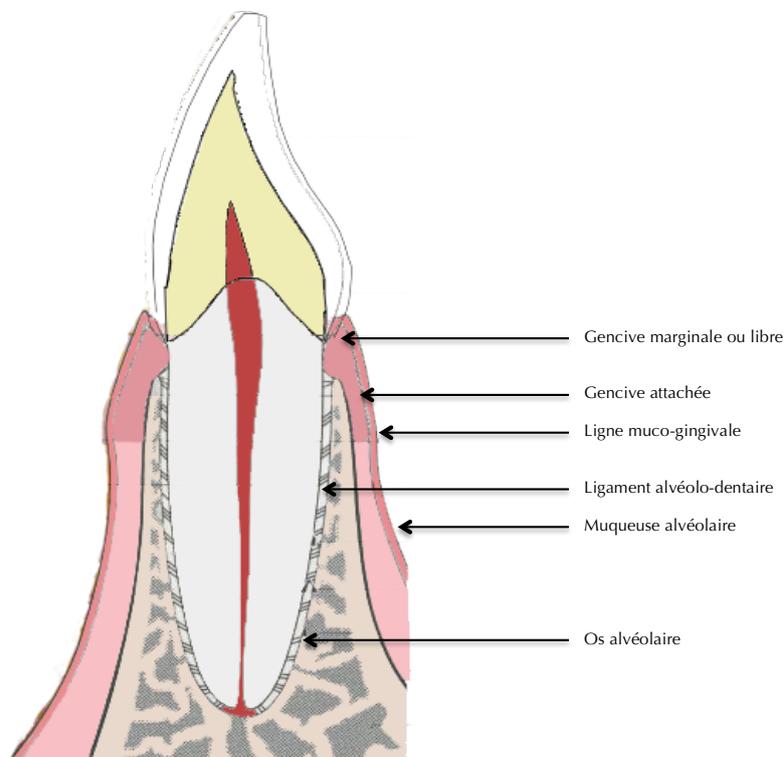


Figure 1 : Représentation schématique du parodonte d'après Rateitschak et al. (Rateitschak et al. 1986)

1.2.1 La gencive

La gencive est constituée de différentes entités :

- l'épithélium de jonction
- l'épithélium sulculaire
- l'épithélium buccal
- le tissu conjonctif gingival

Quand elle est saine la gencive adhère aux tissus sous-jacents, elle est rose pâle et piquetée en « peau d'orange » ; elle ne saigne ni spontanément ni au brossage ou au sondage.

1.2.1.1 L'épithélium de jonction

L'épithélium de jonction se situe entre la dent et le conjonctif gingival. Son épaisseur est d'environ 100 µm et sa longueur de 2mm. Il est constitué de quelques couches de cellules épithéliales squameuses parallèles à la surface dentaire. Il assure la sertissure du parodonte à la dent (Charon 2010). Les cellules de l'épithélium de jonction expriment à leur surface du N-acétyl-lactosamine, de l'EGF (epidermal growth factor), du LaF-3 (Lanthanum Fluoride-3), de l'IL-8 et de l'ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) qui leur permettent de communiquer avec d'autres cellules comme les monocytes et les polymorphonucléaires neutrophiles (PMN) (Steffensen et al. 1987; Mackenzie, Dabelsteen, et Mandel 1989; Crawford 1992; Gao et Mackenzie 1992; Tajima et al. 1992). L'épithélium de jonction est non kératinisé, non différencié et ne présente pas de digitations acanthosiques (digitations d'origine épithéliale) (Schroeder et Listgarten 1997). La jonction entre les cellules épithéliales et les structures dentaires se fait par le biais d'hémidesmosomes tandis que la jonction entre les cellules épithéliales se fait par le biais de desmosomes. La jonction entre l'épithélium de jonction et les tissus conjonctifs gingivaux se fait, quant à elle, par le biais d'hémidesmosomes et d'une lame basale. Malgré ce système d'attache, la résistance au détachement de l'épithélium de jonction est relativement faible (Charon 2010).

L'épithélium de jonction est un tissu à renouvellement très rapide ; pour exemple, il se répare en 5 jours après avoir été lésé par des gestes diagnostiques (sondage) ou thérapeutiques (chirurgicaux ou non) (Schroeder et Listgarten 1997).

Dans l'épithélium de jonction, on note la présence de cellules inflammatoires (PMN, monocytes, macrophages, cellules de Langerhans) venant du tissu conjonctif sous jacent. Les PMN les plus nombreux sont repérés apposés aux cellules épithéliales dans le fond du sulcus formant une barrière qui s'interpose entre les bactéries de la plaque sous gingivale et les cellules épithéliales les plus coronaires de l'épithélium de jonction empêchant les bactéries d'adhérer à l'épithélium de jonction et à la dent sur une hauteur d'environ 1mm (Vrahopoulos, Barber, et Newman 1992).

En marge de la présence des PMN, on décrit la présence d'autres cellules immunitaires comme les monocytes, les lymphocytes, les cellules de Langerhans et plus rarement les plasmocytes (Schroeder et Listgarten 1997).

1.2.1.2 L'épithélium sulculaire

L'épithélium sulculaire correspond au versant interne de l'épithélium gingival non attaché à la dent. Il est limité en haut par le sommet de la gencive marginale et en bas par les cellules les plus coronaires de l'épithélium de jonction.

C'est un épithélium squameux, pluristratifié et non kératinisé.

1.2.1.3 L'épithélium buccal

L'épithélium buccal représente le versant vestibulaire, lingual ou palatin de l'épithélium sulculaire. Il débute au sommet de la gencive marginale pour se terminer à la jonction mucogingivale et est constitué par la gencive marginale (libre) et la gencive attachée. C'est un épithélium stratifié.

1.2.1.4 Le tissu conjonctif gingival

Le tissu conjonctif gingival a pour rôle d'assurer l'herméticité et la protection du parodonte profond constitué de l'os, du cément et du ligament (Schroeder et Listgarten 1997). Il est situé sous l'épithélium sulculaire, jonctionnel et buccal. Le conjonctif gingival est constitué de 60 à 65% de collagène organisé en fibres, fibrilles puis faisceaux de fibres, de 5% de fibroblastes, de 3% de cellules immunitaires, le reste étant constitué par le compartiment vasculaire, la substance fondamentale et les éléments nerveux (Schroeder, Münzel-Pedrazzoli, et Page 1973). Les fibres situées entre la crête et l'épithélium de jonction assurent la jonction entre la gencive et la dent. Ces fibres portent le nom de fibre supra-crestales et constituent l'espace biologique dont l'épaisseur varie entre 1,5 et 2 mm.

1.2.2 Le ligament alvéolodentaire

Le ligament alvéolodentaire aussi appelé desmodonte se situe entre le cément et l'os alvéolaire. C'est un système d'amortissement des forces subies par la dent principalement lors de la fonction masticatoire mais c'est aussi un système donnant des informations nerveuses sur la position de la dent (proprioception). La largeur du desmodonte varie de 0,15 à 0,4 mm. Le ligament parodontal est en constant remaniement, en effet il s'adapte rapidement aux changements via son activité de synthèse dégradation permanente. C'est cette capacité de remodelage rapide du desmodonte qui est utilisée pour la réalisation des mouvements orthodontiques.

1.2.3 Le cément

Le cément recouvre la racine dentaire ; c'est un tissu conjonctif minéralisé sur lequel viennent se fixer les fibres desmodontales. Son épaisseur varie en fonction de sa localisation sur la racine entre 20 et 200 µm. Il existe 2 formes principales du cément :

- le cément acellulaire qui recouvre la dentine radiculaire
- le cément cellulaire qui recouvre le cément acellulaire.

Le cément est un tissu à renouvellement lent mais il participe tout de même au maintien de l'espace ligamentaire (Schroeder 1986).

1.2.4 L'os alvéolaire

L'os alvéolaire est constitué d'une corticale interne et d'une corticale externe denses entourant de l'os spongieux moins dense. L'os alvéolaire entoure la racine dentaire. La partie la plus coronaire de l'os alvéolaire porte le nom de crête dentaire et se situe à 2 ou 3 mm de la jonction émail-cément,

cet espace de 2-3 mm étant occupé par l'attache épithéliale (épithélium de jonction) et l'attache conjonctive (Schroeder et Listgarten 1997). Cet os est richement vascularisé et présente un remaniement permanent afin de s'adapter aux forces subies par l'organe dentaire et aux possibles migrations dentaires (physiologiques ou non).

1.3 Définition et classification des maladies parodontales

La maladie parodontale regroupe un nombre important d'affections dont le point commun est d'être des maladies inflammatoires multifactorielles d'origine bactérienne aboutissant à une destruction réversible ou non du parodonte. Il existe différentes classifications de ces maladies.

1.3.1 La classification de l'American Academy of Periodontology de 1999

L'American Academy of Periodontology (AAP) a développé en 1999, sous la direction d'Armitage, une classification des maladies parodontales dont les principales données sont résumées dans le tableau suivant (Tableau 1) :

<p>Maladies gingivales</p>	<p>Gingivites induites par la présence de plaque dentaire</p>	<p>Affections réversibles se limitant au parodonte superficiel (épithélium et conjonctif gingival) Gencive inflammatoire (rouge, oedémateuse et douloureuse) avec des saignements spontanés ou provoqués par le sondage. Affections pouvant être modifiées par des facteurs systémiques (hormonaux, traitements médicamenteux, malnutrition)</p>
	<p>Gingivites non induites par la plaque dentaire</p>	<p>Affections réversibles se limitant au parodonte superficiel liées : à une bactérie spécifique, ou d'origine virale, d'origine fongique, d'origine génétique, ou à des manifestations gingivales d'affections systémiques (allergie, lichen...), ou à une lésion traumatique, ou d'origine idiopathique</p>
<p>Parodontite chronique</p>	<p>Maladie infectieuse entraînant une inflammation des tissus de soutien des dents, une perte d'attache et une alvéolyse progressive ; caractérisée par la formation de poches et/ou de récessions tissulaires marginales</p> <p><u>Etiologie principale</u> : la plaque bactérienne</p> <p>Présence de tartre sous-gingival</p> <p>Caractérisée par la présence d'une inflammation gingivale (modification de la couleur, de la texture, du volume et du contour), une mobilité des dents, de saignements spontanés ou provoqués et d'une alvéolyse horizontale.</p> <p>Il existe 2 formes:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Parodontite chronique localisée : moins de 30% des sites de sondages sont atteints -Parodontite chronique généralisée : plus de 30% des sites de sondages sont atteints <p>Chacune des formes citées précédemment peut présenter un degré d'atteinte différent :</p> <ul style="list-style-type: none"> -parodontite chronique débutante entre 1 et 2 mm de perte d'attache -parodontite chronique modérée entre 3 et 4 mm de perte d'attache -parodontite chronique sévère plus de 5 mm de perte d'attache 	
<p>Parodontie Agressive</p>	<p>Maladie infectieuse entraînant une inflammation des tissus de soutien des dents, une perte d'attache et une alvéolyse rapide et importante ; caractérisée par la formation de poches et/ou de récessions tissulaires marginales</p> <p>Il existe 2 formes :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Parodontite agressive localisée : présentant des lésions angulaires au niveau des 1ères Molaires et Incisives avec une alvéolyse verticale -Parodontite agressive généralisée : présentant une perte d'attache 	

	proximale généralisée affectant au moins 3 dents permanentes autres que les incisives et 1ères molaires	
Parodontites comme manifestation d'une maladie systémique	Associées à un désordre hématologique	Neutropénie acquise, leucémie, autres
	Associées à une anomalie génétique	Neutropénie familiale et cyclique, syndrome de Down, syndrome de déficience de l'adhésion des leucocytes, syndrome de Papillon-Lefèvre, syndrome de Chediak-Higashi, histiocytose, maladie de stockage du glycogène, agranulocytose génétique infantile, syndrome de Cohen, syndrome d'Ehlers-Danlos, hypophostasie, autres...
	Non spécifiée	
Maladies parodontales nécrosantes	Gingivite ulcéro-nécrotique	Caractérisée par : -ulcération des papilles interdentaires avec nécrose (ne concerne que le parodonte superficiel) -dépôt pseudomenbraneux gris sur les ulcérations -gingivorragies, douleurs, fièvre, adénopathies -haleine fétide
	Parodontite ulcéro-nécrotique	Nécrose du parodonte superficiel et profond
Abcès parodontaux	Abcès gingivaux	Atteinte de la gencive marginale et/ou des papilles interdentaires
	Abcès parodontaux	Lésion du ligament dentaire et de l'os alvéolaire
	Abcès péri-coronaires	Situés sur une dent en cours d'éruption
Parodontite associée à une lésion d'origine endodontique	Lésion endo-parodontale	Caractérisée par : -la présence d'une dent nécrosée -la présence d'une perte d'attache associée à un défaut osseux pouvant aller jusqu'à l'apex
Anomalies congénitales ou acquises des tissus parodontaux	Facteurs locaux liés à la dent	Anatomie de la dent, présence de restaurations dentaires, fractures radiculaires, résorption cervicale et déchirures du cément qui modifient ou prédisposent à une maladie gingivale induite par la plaque ou à une parodontite
	Anomalies mucogingivales autour de la dent	Récession des tissus mous ou de la gencive, défaut de gencive kératinisée, réduction de la profondeur du vestibule, position aberrante d'un frein ou d'une insertion musculaire, couleur anormale, excès de gencive
	Anomalies	Déficit vertical et/ou horizontal de la crête, manque de gencive

	mucogingivales au niveau des crêtes édentées	ou de tissu kératinisé, hypertrophie de la gencive ou des tissus mous, position aberrante d'un frein ou d'une insertion musculaire, réduction de la profondeur du vestibule, couleur anormale
	Traumatisme occlusal	Primaire ou secondaire

Tableau 1 : Présentation synthétique de la classification de AAP de 1999 (Armitage 1999; Duyninh et al. 2005)

1.3.2 La classification de Page et Eke 2007

La classification de l'AAP de 1999 reste actuellement la plus utilisée mais en 2003 le Center for Disease Control and Prevention et l'AAP ont mis en place un groupe de travail dont le but était de développer une classification standardisée de la parodontite afin de pouvoir l'utiliser dans la recherche clinique et d'obtenir des données épidémiologiques reproductibles (Roy C. Page et Eke 2007; Paul I. Eke et al. 2012). Pour développer sa nouvelle classification, le groupe de travail s'est basé sur 3 éléments essentiels au diagnostic clinique de la maladie parodontale :

-**la profondeur de sondage** aussi appelée profondeur de poche qui est définie comme la distance du bord de la gencive à la base de la poche parodontale ou du sulcus

-**le niveau d'attache clinique** (ou perte d'attache) qui est défini comme la distance de la jonction émail-cément à la base de la poche parodontale ou du sulcus

-**le nombre de sites atteints**

Dans cette classification, on ne tient compte que des sites interproximaux car la maladie parodontale commence souvent dans ces zones et y est souvent plus sévère. De plus, les 3èmes molaires ou dents de sagesse ne sont pas considérées dans cette classification.

La classification de Page et Eke est synthétisée dans le tableau suivant (Tableau 2).

	Critères cliniques		
	Niveau d'attache clinique (NAC) ou perte d'attache		Profondeur de poche (PP)
Parodontite sévère	≥ 2 sites interproximaux avec NAC ≥ 6mm (pas sur la même dent)	ET	≥ 1 site interproximal avec PP ≥ 5mm
Parodontite modérée	≥ 2 sites interproximaux avec NAC ≥ 4mm (pas sur la même dent)	OU	≥ 2 sites interproximaux avec PP ≥ 5mm (pas sur la même dent)
Parodontite légère	≥ 2 sites interproximaux avec NAC ≥ 3mm (pas sur la même dent)	ET	≥ 2 sites interproximaux avec PP ≥ 4mm (pas sur la même dent) ou 1 site avec PP ≥ 5mm
Pas de parodontite			

Tableau 2 : Classification de Page et Eke (Roy C. Page et Eke 2007; Paul I. Eke et al. 2012)

Cette classification est actuellement considérée comme la classification de référence pour la réalisation d'études cliniques ou épidémiologiques.

1.4 Etiologie de la maladie parodontale

La maladie parodontale peut être assimilée à une infection mixte, c'est-à-dire qu'elle n'est pas liée à la présence d'une espèce bactérienne spécifique mais à la notion d'association bactérienne. En effet, la plupart des agents infectieux retrouvés dans la maladie font partie de la flore commensale et isolés, ils ne produisent que peu ou pas d'effet pathogène (Pierrard et al. 2014). La présence de ces associations bactériennes est le facteur étiologique principal de la maladie parodontale mais même en présence de ces bactéries parodontopathogènes tous les individus ne développeront pas de maladie parodontale. Pour que la maladie parodontale se mette en place, la présence des 4 facteurs suivants est essentielle (S. S. Socransky 1977):

- la présence de bactéries parodontopathogènes
- l'absence de bactéries protectrices
- la présence d'un environnement dento-gingival favorable au développement des maladies parodontales
- une défaillance de l'hôte

Il est essentiel de comprendre que ces 4 facteurs sont nécessaires à la mise en place de la maladie mais non suffisants pour déclencher des pertes d'attache (S. S. Socransky 1977). Pour que la maladie se développe, ces 4 facteurs doivent être présents fréquemment et de manière très intense.

1.4.1 La présence de bactéries virulentes

Il existe un très grand nombre de bactéries dans la cavité buccale (entre 300 et 400 espèces différentes selon les études) mais seule une très faible part (seulement entre 10 ou 20 espèces) pourrait jouer un rôle dans la pathogénèse de la maladie parodontale (S. S. Socransky et Haffajee 1991).

1.4.1.1 Le biofilm

Le biofilm est une association de bactéries adhérant à une surface au sein d'une matrice de polymères sécrétée par elle-même et parcourue par des canaux aqueux ouverts contenant différents nutriments.

Le but du biofilm est de mettre en place un environnement favorable au développement des bactéries qui s'y trouvent et de leur permettre d'interagir entre elles.

Le développement du biofilm se fait en plusieurs étapes :

-**la formation de la pellicule exogène active (PEA)** qui correspond à un film glycoprotéique sur lequel les bactéries pourront venir se fixer

-**la fixation des bactéries pionnières**: dans un premier temps des bactéries pionnières, principalement Gram +, viennent se fixer sur la PEA ; cela augmente les surfaces disponibles pour l'adhésion d'autres bactéries et certaines bactéries pionnières comme *Fusobacterium nucleatum (Fn)* favorisent l'adhésion d'autres espèces en assurant la liaison entre celles déjà présentes et les nouvelles espèces candidates (Listgarten 1994).

-**la maturation de la plaque** : la présence des bactéries pionnières offre de nouvelles surfaces disponibles à la colonisation par l'apport de nouveaux récepteurs moléculaires que reconnaîtront les ligands d'espèces préalablement incapables de se fixer à la PEA. Les bactéries appartenant à la plaque mature sont principalement Gram - et anaérobies strictes. Grâce au biofilm qui est de plus en plus épais un gradient d'oxygène se met en place ce qui permet à différents types de bactéries de cohabiter au sein de la même structure chacune bénéficiant d'un environnement spécifique qui lui est favorable.

-**le détachement** : ce phénomène est assez peu connu mais il semble probable que les bactéries se détachent en groupe afin de continuer de bénéficier de l'environnement favorable du biofilm. Les micro-organismes détachés constituent un réservoir bactérien capable de coloniser de nouvelles surfaces.

Le développement des pathologies parodontales est lié au développement en direction apicale du biofilm (Marsh 2003). Au sein de ce biofilm mature, de nombreuses bactéries se développent. Les différentes bactéries ont été organisées en complexes associés à une couleur en fonction de leur degré de virulence (S. s. Socransky et al. 1998) (Figure 2).

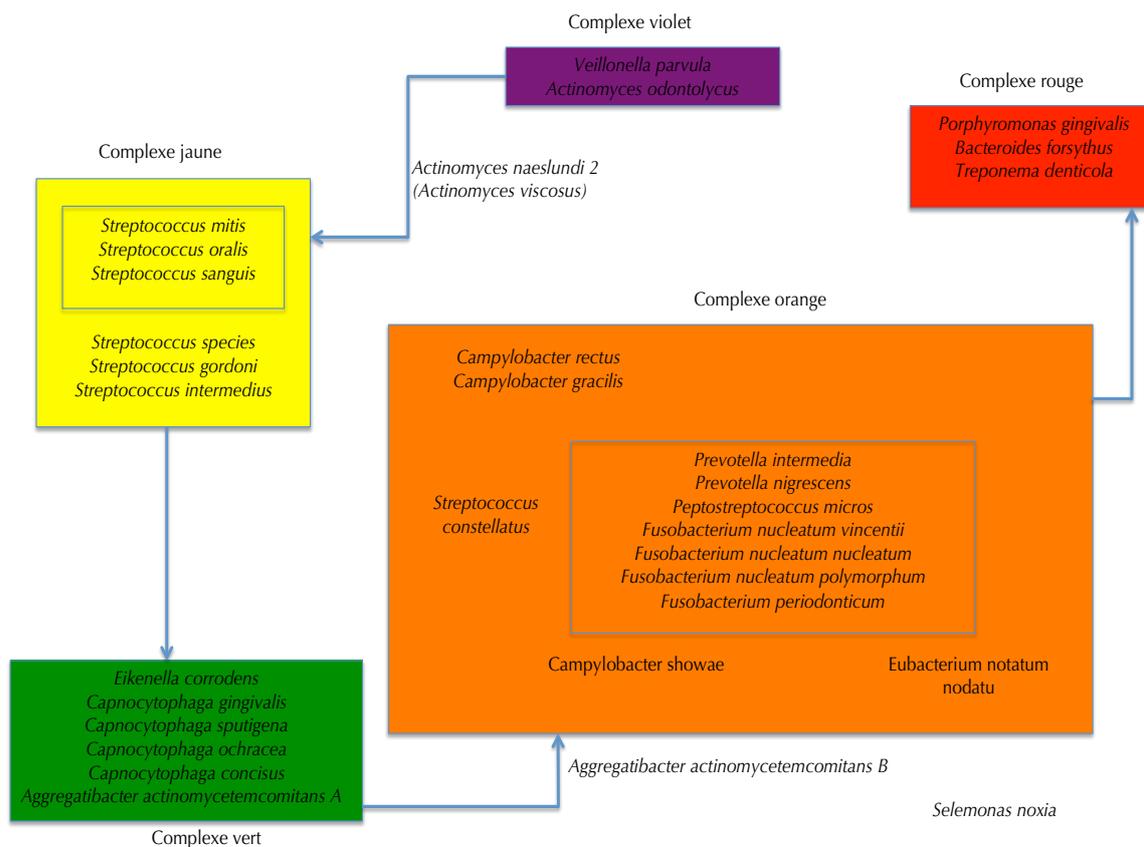


Figure 2 : Complexes bactériens d’après Socransky (S. s. Socransky et al. 1998)

Selon Socransky (S. S. Socransky 1977), pour être parodontopathogène, une bactérie doit :

- être présente en grande quantité dans un site atteint par la maladie
- entraîner une réponse immunitaire de l’hôte
- produire des facteurs de virulence
- induire des lésions si elle est introduite dans un modèle animal
- son élimination doit entraîner une amélioration de l’état clinique de l’individu

On retrouve des bactéries des complexes vert et jaune au stade initial de la maladie, le complexe violet pouvant servir de lien entre ces deux derniers. Les complexes rouge et orange sont retrouvés dans les poches les plus profondes et dans les tableaux cliniques les plus révélateurs d’une phase active de la maladie ainsi que chez les patients répondant très faiblement au traitement (Sigmund S. Socransky, Smith, et Haffajee 2002).

Les bactéries du biofilm interagissent entre elles au sein du biofilm. Ces interactions jouent probablement un rôle clé dans ces infections dites mixtes (c’est-à-dire causées par plusieurs types de bactéries différents). D’une part, les interactions bactériennes peuvent conduire à l’apparition d’une maladie parodontale en favorisant la multiplication des espèces parodontopathogènes. D’autre part, certaines interactions bactériennes peuvent jouer un rôle dans le maintien d’un état sain en prévenant la colonisation des sites sous-gingivaux par les espèces pathogènes (Labbé et al. 1998) (Figure 3).

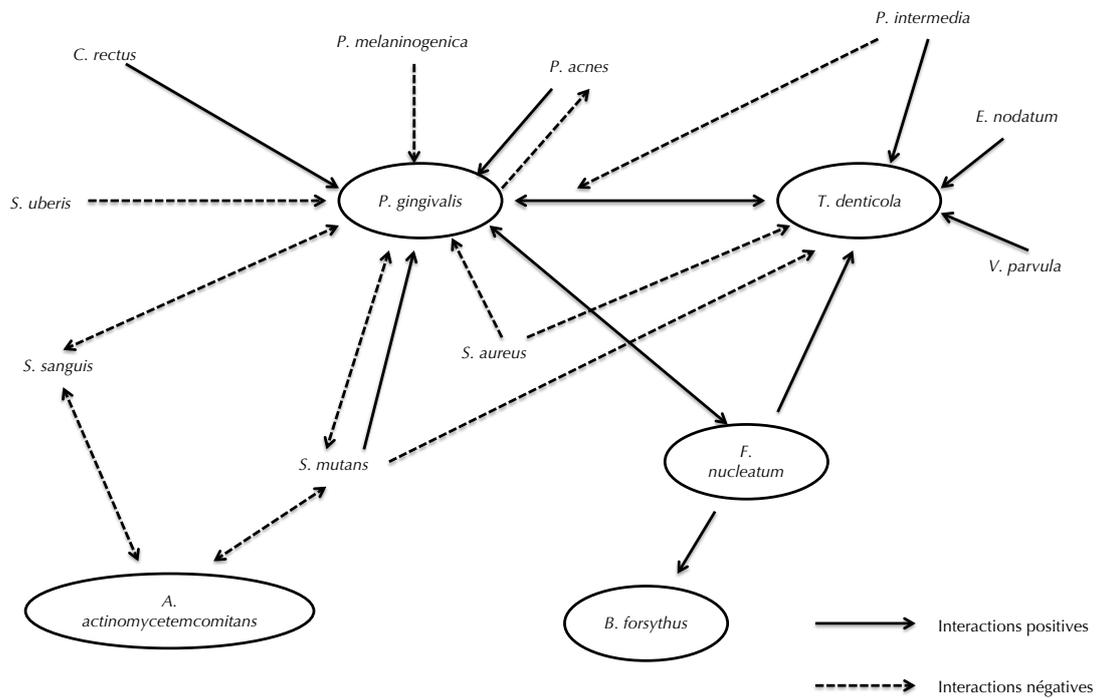


Figure 3 : Principales interactions bactériennes au sein du biofilm d'après Labbé (Labbé et al. 1998)

1.4.1.2 Les bactéries parodontopathogènes

Les bactéries impliquées dans la maladie parodontale sont principalement Gram -, protéolytiques et asacchrolytiques (ne métabolisant pas le sucre) ; ceci explique que les patients présentant une parodontite sévère ne présentent souvent que peu ou pas de caries (Slots 1998).

1.4.1.2.1 Microbiologie spécifique aux parodontites chroniques

Les bactéries impliquées dans les parodontites chroniques quelles soient généralisées ou localisées sont des bactéries Gram -, anaérobies strictes et capnophiles. Les bactéries les plus fréquemment rencontrées dans ce type d'affection sont *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Prevotella intermedia* (*Pi*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*), *Campilobacter rectus* (*Cr*) et *Bacteroides forsythus* (*Bf*) (Bercy et Tenenbaum 1996).

1.4.1.2.2 Microbiologie spécifique aux parodontites agressives

Pour les parodontites agressives, on retrouve principalement *Aa* mais on trouve aussi *Pg*, *Pi*, *Cr*, *Eikenella corrodens* (*Ec*) et *Fn* ainsi que les bactéries du genre *Capnocytophaga* (Bercy et Tenenbaum 1996).

1.4.2 L'absence de bactéries « protectrices »

Certaines bactéries sont corrélées au bon état parodontal car ce sont des antagonistes de bactéries parodontopathogènes. Par exemple, il a été décrit que des streptocoques peuvent entrer en conflit avec *Aa* et *Pg* (Darveau, Tanner, et Page 1997).

Cela implique donc que la thérapeutique parodontale ne doit pas viser à faire disparaître l'intégralité de la plaque dentaire mais simplement les bactéries à l'origine de la maladie parodontale.

1.4.3 La présence d'un environnement local défavorable à la santé parodontale

Les bactéries parodontopathogènes ont besoin d'un environnement compatible avec leur métabolisme pour proliférer. Les conditions essentielles sont en lien avec le potentiel d'oxydo-réduction, la pression osmotique et la température (augmentée par l'inflammation gingivale locale) (Haffajee et Socransky 1994).

Par exemple, la présence de tartre qui obstrue le sulcus sera à l'origine d'un environnement anaérobie favorable à ces bactéries. De même, dans les poches très profondes, les bactéries présentes dans la zone la plus apicale de la poche se développeront dans un environnement présentant une pression partielle en oxygène très basse.

1.4.4 La défaillance de l'hôte

Les mécanismes immunitaires impliqués dans la maladie parodontale sont complexes mais toutes les études s'accordent sur le rôle crucial des PMN et des monocytes.

Les PMN constituent la première barrière lors de l'agression par les bactéries parodontopathogènes ; si ceux-ci ne sont pas fonctionnels ou trop peu nombreux le parodonte n'est plus défendu et les bactéries peuvent le coloniser. Ces anomalies peuvent être liées à des maladies sanguines innées ou acquises, ou à la prise d'immunosuppresseurs ou d'anti-cancéreux. Il a aussi été démontré que *Pg* bloque l'adhésion aux cellules endothéliales et donc la possibilité pour les PMN de rejoindre le site de l'infection.

Les macrophages jouent aussi un rôle prépondérant dans le développement de la maladie parodontale. En effet, les lipopolysaccharides (LPS) de *Pg* entraînent la surproduction, par les macrophages activés, de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , Tumor necrosis factor ou TNF α et prostaglandine E 2 ou PGE2) entraînant la diminution de la production de collagène et l'augmentation de la production de collagénases par les cellules de l'épithélium et de l'endothélium gingival (R. C. Page et al. 1997). Par ce mécanisme détournant le système immunitaire, un déséquilibre entre destruction et apposition de collagène se met en place menant à la destruction des tissus parodontaux (Reynolds et Meikle 1997) ; ce dysfonctionnement n'a pas lieu chez les patients sains.

1.5 Les facteurs de risques des maladies parodontales

1.5.1 Facteurs de risques généraux

1.5.1.1 L'âge

De nombreuses études démontrent que la maladie parodontale s'accroît significativement avec l'âge (augmentation du nombre de sextants atteints, du nombre de poches profondes, de la perte d'attache et de la perte osseuse) (ANAES 2002). De plus, une étude américaine de 2012 a démontré que la prévalence de la parodontite augmente avec l'âge (P. I. Eke et al. 2012). Voici les résultats obtenus par Eke et collaborateurs (Tableau 3) :

Tranche d'âge	Prévalence
30 à 34 ans	24,4 %
35 à 44 ans	36,6%
50 à 64 ans	57,2%
>65 ans	70,1%

Tableau 3 : Augmentation de la prévalence de la parodontite avec l'âge dans la population américaine (P. I. Eke et al. 2012)

En revanche, il ne semble pas que le risque de parodontite agressive augmente avec l'âge (Van der Velden et al. 2006).

1.5.1.2 Le sexe

Les hommes présentent en moyenne plus de plaque, de gingivites et de poches parodontales que les femmes (ANAES 2002). Ce phénomène serait lié à une meilleure hygiène bucco-dentaire chez la femme. La répartition des parodontites chroniques est donc influencée par le sexe du patient, en revanche il n'a pas été établi de preuve formelle quant à la pondération de la répartition des parodontites agressives par le sexe, certaines études donnant des résultats contradictoires (Albandar et Rams 2002; Van der Velden et al. 2006).

Les modifications hormonales subies par la femme au moment de la grossesse et de la ménopause pourraient jouer un rôle sur l'état parodontal. En effet, même s'il n'existe pas de corrélation directe entre grossesse et développement de la maladie parodontale, des phases aiguës de gingivites et de parodontites ont été observées au cours de la grossesse (ANAES 2002). De même, à la ménopause, la perte dentaire est corrélée à la perte osseuse systémique et il a été observé que l'instauration d'un traitement hormonal substitutif aux œstrogènes semble protéger les femmes du développement de la maladie parodontale (par rapport aux femmes non suppléées en œstrogènes). Certains auteurs suggèrent même un effet protecteur des œstrogènes face à la maladie parodontale (Haas et al. 2009; Bouchard, Frémont, et Sanz 2014).

1.5.1.3 L'origine ethnique

La corrélation entre l'origine ethnique et la prévalence de la maladie parodontale est toujours très délicate à prouver. Même s'il semble acquis que, dans la population américaine, les individus afro-américains sont plus sujets aux maladies parodontales que les américains caucasiens (Beck et al. 1990), il est impossible de dissocier ce constat du statut socio-économique de ces populations.

1.5.1.4 Les facteurs génétiques

Il existe un lien évident entre la composante génétique et la susceptibilité ou la résistance aux maladies parodontales (Baker et Roopenian 2002). D'un point de vue empirique, la profession reconnaît le rôle déterminant de l'hérédité dans la maladie parodontale et l'importance de rechercher ce facteur lors de l'interrogatoire. Et même si la maladie parodontale est très certainement polygénique, une méta-analyse récente a démontré une corrélation entre la présence de mutations sur les gènes codant pour l'II-1 α et l'II-1 β (principalement situés sur le chromosome 2) et l'augmentation du risque de survenue d'une parodontite chronique (Nikolopoulos et al. 2008). Il faut aussi retenir le probable rôle du chromosome 6 pour les gènes codant pour le TNF α et du chromosome 9 pour les gènes codant pour la PGE2 (Calas-Bennasar et al. 2005).

De plus, de nombreuses maladies génétiques sont associées à un risque accru d'atteinte parodontale, c'est le cas du syndrome de déficience LFA-1 (lymphocyte function associated antigen – 1), du syndrome de Chediak-Higashi (anomalie fonctionnelle des PMN et déficit en cellules NK ou natural killer), du syndrome d'Ehler-Danlos (altération du collagène de type I dans le tissu conjonctif), du syndrome LAD (syndrome de déficit d'adhésion leucocytaire, du syndrome de Papillon-Lefèvre (anomalie des PMN associée à d'autres dysfonctionnements)...(Baker et Roopenian 2002; Bouchard, Frémont, et Sanz 2014)

1.5.1.5 Le diabète

Les diabètes dits « sucrés » représentent un groupe de pathologies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline, d'un défaut d'action de l'insuline ou de ces deux mécanismes combinés (Kuo, Polson, et Kang 2008). Il existe une importante relation bidirectionnelle entre le diabète et la maladie parodontale. En effet, les patients atteints de diabète sont plus susceptibles de développer une maladie parodontale et la sévérité des atteintes parodontales est plus importante chez les patients présentant un diabète non équilibré par rapport à la population saine ; mais la présence d'une maladie parodontale active peut aussi compliquer le contrôle de la glycémie (Kuo, Polson, et Kang 2008; Khader et al. 2006). On peut ainsi retenir que :

-les patients diabétiques de type 1 (insulino-dépendant) ont significativement plus de gingivites et ont des profondeurs de poches, des pertes d'attache, des pertes osseuses significativement plus importantes que chez les non diabétiques. Et les édentés sont significativement plus nombreux dans cette population (ANAES 2002)

-les patients diabétiques de type 2 (non insulino-dépendant) ont significativement plus de gingivites, de tartre, des poches parodontales et des pertes d'attache plus importantes que les non diabétiques (ANAES 2002)

Un traitement parodontal bien mené devrait améliorer le contrôle de la glycémie (Taylor 2001).

Les mécanismes impliqués dans cette relation bidirectionnelle sont en partie liés à la production, par les patients diabétiques, de produits finaux de la glycation avancée. Quand ces produits se fixent sur leurs récepteurs, un état pro-inflammatoire se met en place entraînant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que $IL-1\beta$, $TNF\alpha$ et PGE_2 qui jouent un rôle essentiel dans la pathogenèse de la maladie parodontale. De plus, l'accumulation de produits finaux de la glycation avancée affecte la migration et l'activité phagocytaire des PMN via une occlusion vasculaire qui accentue aussi la concentration en cytokines pro-inflammatoires entraînant ainsi la destruction des tissus conjonctifs. Dans le même temps, une maladie parodontale peut induire un état de résistance chronique à l'insuline contribuant ainsi à l'hyperglycémie et à la production de produits finaux de la glycation avancée ce qui amplifie les mécanismes de dégradation et des destructions des tissus conjonctifs. De plus, le LPS de *Pg* est un puissant inducteur de la production de $IL-1\beta$, $TNF\alpha$ et PGE_2 . Or il a été suggéré que le $TNF\alpha$ serait le médiateur de l'insulino-résistance en cas d'infection. Les infections bactériennes peuvent aussi diminuer l'absorption de glucose médiée par l'insuline des muscles squelettiques et provoquer une insulino-résistance généralisée à tout l'organisme (Kuo, Polson, et Kang 2008).

1.5.1.6 Le tabac

Le tabagisme est directement associé à la parodontite. En effet, le risque relatif de parodontite chez un fumeur augmente avec la consommation de cigarettes et la durée du tabagisme comparé au non-fumeur. Ce risque diminue lentement avec l'arrêt du tabagisme (ANAES 2002).

Il n'y a pas de consensus actuellement sur les effets du tabac sur le développement des pathogènes oraux ; et il semblerait que la formation de plaque ne soit pas influencée par le tabac. Cependant, il est bien connu que la nicotine est un vasoconstricteur ce qui masque les signes cliniques de l'inflammation (saignement et œdème gingival). Le tabac a aussi un effet sur l'alvéolyse ; en effet, plusieurs études montrent que l'alvéolyse est plus importante chez les patients fumeurs que chez les non-fumeurs et il semble aussi que la perte osseuse soit similaire entre anciens fumeurs et non fumeurs (Bergström 2004; Rosa, Lucas, et Lucas 2008) .

Le tabac agit sur la fonction des PMN et sur leur nombre. En effet, il a été démontré que le tabac diminue la capacité des PMN à détruire les micro-organismes phagocytés (Sørensen et al. 2004). Quant au fluide gingival, il semble que sa production soit diminuée par le tabac mais que sa teneur en $TNF\alpha$ soit augmentée (Boström, Linder, et Bergström 1998; Persson 2005).

Tous ces facteurs permettent d'appréhender le rôle important que joue le tabac chez les patients atteints de maladie parodontale ; le sevrage tabagique devra être systématiquement suggéré dans le cadre d'une prise en charge parodontale après avoir fourni une information complète au patient. Si le chirurgien-dentiste a l'habilitation à mettre en place un sevrage tabagique, il sera plus prudent d'adresser le patient à un praticien qui disposera d'une plus large expérience en matière de sevrage tabagique (médecin généraliste traitant, chirurgien-dentiste formé en tabacologie, médecin tabacologue voire service hospitalier d'addictologie en fonction du degré de dépendance du patient).

1.5.1.7 Les pathologies associées

Certaines pathologies générales peuvent influencer l'état parodontal des patients. C'est le cas, par exemple du VIH (virus de l'immuno-déficience humaine). En effet, il a été démontré que les patients masculins atteints du VIH ont plus de gingivites, et des pertes d'attaches et des profondeurs de poches plus importantes que chez les patients non atteints. Il semble aussi que plus le taux de lymphocytes T CD4 + est bas, plus les pertes d'attaches sont sévères (ANAES 2002).

L'ostéoporose agissant sur le métabolisme osseux est aussi associée à un risque accru de parodontite. Certains facteurs nutritionnels comme les déficits en vitamine C et en calcium, la consommation d'alcool ou de drogues sont aussi des facteurs de risque reconnus de la maladie parodontale. La prise de certains traitements de pathologies générales ont aussi un effet néfaste sur le parodonte, c'est le cas des chimiothérapies anticancéreuses, des inhibiteurs calciques comme la nifédipine (ou Adalate®), de la ciclosporine A (utilisée comme immunosuppresseur antirejet de greffes) et de la phénytoïne (anti-épileptique) (ANAES 2002; Calas-Bennasar et al. 2005).

1.5.1.8 Le statut socio-économique

Le statut socio-économique joue un rôle déterminant dans le développement de la maladie parodontale. En France, il a été démontré que les besoins en soins parodontaux augmentent avec la diminution du niveau social (ANAES 2002). Aux Etats-Unis, il a été démontré que la présence de faibles revenus et d'un faible niveau d'études était corrélée au risque de développer une maladie parodontale (Borrell et Crawford 2008; Boillot et al. 2011).

1.5.1.9 Le stress et la composante psychologique

Le stress est défini comme une réaction émotionnelle et physiologique ressentie quand un individu est confronté à un événement problématique de sa vie (problème de couple, difficultés financières, décès d'un proche) qui dépasse la capacité de l'individu à faire face efficacement à la situation. De nombreuses études s'accordent à dire que le stress influence négativement la mise en place et la progression de nombreuses maladies chroniques, y compris la parodontite. Le stress est aussi fortement associé au développement des maladies parodontales nécrosantes aiguës. Les mécanismes impliquant le stress dans la maladie parodontale font intervenir le système immunitaire dont la réponse est perturbée par le stress. Le stress augmente la production d'hormones neuroendocrines comme les glucocorticoïdes et les cathécolamines, ce qui a des effets négatifs sur le système immunitaire (réduction de la population lymphocytaire, réduction de la prolifération des lymphocytes, réduction de l'activité des cellules NK et de la production d'anticorps). Le stress chronique met aussi en place un état inflammatoire chronique entraînant la sur-production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF α , IL-6) qui via la cascade du récepteur activateur du facteur nucléaire kappa B (RANK) et de son ligand (RANKL) est à l'origine de la destruction des tissus parodontaux (Warren et al. 2014).

Il est important de comprendre que, si le stress a un effet sur la physiopathologie de la maladie parodontale, il a aussi un effet sur les habitudes de vie des patients en particulier sur l'hygiène orale, le tabac et le régime alimentaire. Ces facteurs comportementaux jouent aussi un rôle prépondérant dans

le développement de la maladie parodontale ; c'est pourquoi nous pouvons affirmer que le stress est un puissant facteur de risque de la parodontite tant sur un plan métabolique que comportemental.

1.5.2 Facteurs de risques locaux

Tous les facteurs accentuant la rétention de plaque et favorisant la mise en place d'un environnement favorable au développement des bactéries parodontopathogènes sont considérés comme des facteurs de risques locaux de la maladie parodontale.

1.5.2.1 Les facteurs anatomiques

1.5.2.1.1 Encombrement, malposition, proximité radiculaire

Les encombrements et les malpositions sont à l'origine de difficultés à mettre en œuvre correctement les manœuvres d'hygiène orale. En effet, les défauts de positionnement dentaire sont souvent à l'origine d'une réduction de l'accès aux zones interproximales dont l'entretien est nécessaire au maintien de la santé parodontale. De plus, l'encombrement dentaire est souvent associé à une proximité des racines qui en cas d'atteinte parodontale engagera rapidement le pronostic de la dent adjacente (Bouchard, Frémont, et Sanz 2014).

1.5.2.1.2 Malocclusion

Certaines malocclusions sévères peuvent être à l'origine de lésions gingivales pouvant faire le lit de la parodontite. C'est le cas, par exemple, des morsures palatines en cas de surplomb et de recouvrement augmenté ou des blessures du parodonte vestibulaire des incisives mandibulaires dans le cas d'une classe II division 2 sévère (Bouchard, Frémont, et Sanz 2014).

1.5.2.1.3 Anatomie radiculaire

Certaines particularités anatomiques radiculaires sont à l'origine d'une accentuation du problème parodontal en augmentant la rétention de plaque ou en facilitant la progression des pathogènes jusqu'à l'apex. C'est le cas, par exemple, des perles d'émail qui sont à l'origine de la formation d'une zone de rétention des bactéries parodontopathogènes. La présence d'un sillon coronopalical sur un versant de la racine est aussi un facteur de risque local puisqu'il fournit une voie royale aux bactéries pour atteindre l'apex dentaire.

1.5.2.1.4 Anatomie muco-gingivale

Certaines anomalies anatomiques des tissus muco-gingivaux constituent un facteur de risque local. C'est le cas de la présence de récessions tissulaires marginales qui sont des zones de rétention de plaque et dont l'accès lors des manœuvres d'hygiène est plus limité. De même, la présence de brides ou de freins peut mener à la formation ou à l'aggravation de récessions tissulaires marginales par traction mécanique sur les tissus parodontaux (Bouchard, Frémont, et Sanz 2014).

1.5.2.2 Les facteurs iatrogènes

Certains éléments introduits dans la cavité orale par le chirurgien dentiste peuvent être considérés comme des facteurs aggravants de la maladie parodontale car ils forment une zone de rétention de plaque entraînant le développement d'un réservoir bactérien. Ainsi les éléments prothétiques ou les soins conservateurs en sur-contour sont à l'origine de rétention de plaque. Il en est de même si ces restaurations sont mal polies.

La situation des limites des restaurations qu'elles soient prothétiques ou conservatrices joue aussi un rôle crucial. En effet, le respect de « l'espace biologique » semble nécessaire au maintien de la santé parodontale ; ainsi il faudrait respecter une distance de 2-3mm entre la crête osseuse et les limites de la restauration, cette distance correspondant à la hauteur nécessaire à la présence de l'épithélium de jonction et l'attache conjonctive. D'autre part, la mise en place d'une limite prothétique infra-gingivale pourrait aussi léser le parodonte superficiel (Bouchard, Frémont, et Sanz 2014).

1.5.2.3 Les parafunctions

Certaines parafunctions peuvent être à l'origine de lésions du parodonte superficiel pouvant faire le lit de la maladie parodontale. Ainsi l'onychophagie peut être considérée comme un facteur de risque local de la maladie parodontale tout comme l'usage répété de cure-dents. Il en est de même quant à d'autres habitudes chroniques pouvant entraîner des blessures des tissus gingivaux (auto-mutilation avec une pointe de compas, un couteau...). Il a aussi été démontré que le port d'un piercing lingual ou labial pouvait entraîner des lésions gingivales via la mise en place d'une importante inflammation voire le développement de récessions tissulaires marginales associées.

1.6 Physiopathologie des maladies parodontales

Au fil des années, plusieurs auteurs ont tenté de décrire le mécanisme physiopathologique de la maladie parodontale entraînant la destruction des tissus de soutien de la dent et pouvant conduire à la perte spontanée des dents.

1.6.1 D'un point de vue biologique

En 1976, Page et Schroeder ont travaillé sur la pathogénèse de la maladie parodontale en décrivant 5 stades correspondant à une chronologie de la maladie d'un point de vue histologique. Même si beaucoup de connaissances ont été acquises depuis quant aux mécanismes conduisant à la destruction des tissus parodontaux, ces données histologiques constituent la base permettant la compréhension des mécanismes en jeu dans cette maladie.

Les 5 stades décrits par Page et Schroeder sont :

- la gencive saine
- la lésion initiale
- la lésion précoce
- la lésion établie
- la lésion avancée

Pour chaque stade, Page et Schroeder décrivent les cellules en présence et l'état des tissus parodontaux mais ils ne proposent pas de mécanisme expliquant le passage d'un stade à l'autre.

1.6.1.1 La gencive saine

D'un point de vue macroscopique la gencive est rose pâle, de texture ferme et élastique avec un aspect granité en peau d'orange. Les papilles sont présentes et le bord marginal suit le collet anatomique des dents.

D'un point de vue microscopique, on observe un épithélium de jonction intact dans lequel on retrouve quelques leucocytes, des monocytes et des PMN. Le fluide gingival passe au niveau du sillon gingivo-dentaire et contient des anticorps.

1.6.1.2 La lésion initiale

A ce stade la gencive semble encore saine d'un point de vue macroscopique mais microscopiquement l'inflammation se développe suite à l'arrêt du contrôle de plaque (en général 4 jours après l'arrêt du contrôle de plaque). On observe alors :

- une dilatation des vaisseaux sanguins
- l'apparition de lacunes entre les cellules endothéliales
- la présence de protéines plasmatiques dans les tissus parodontaux
- une augmentation du flux de fluide gingival qui tente d'évacuer les bactéries loin du sulcus
- la présence de nombreux PMN dont la migration depuis les vaisseaux est favorisée à la fois par la présence d'adhésines (par exemple endothelial leukocyte adhesion molecule 1 ou ELAM-1 et intercellular adhesion molecule 1 ou ICAM-1) et par la présence de facteurs chimiotactiques sécrétés par les bactéries à l'origine de l'agression et/ou par les cellules de l'hôte.

A mesure que la plaque s'accumule, les enzymes bactériennes et métaboliques produites augmentent la perméabilité de l'épithélium de jonction permettant ainsi l'entrée dans le parodonte d'autres bactéries et de leurs produits ainsi que l'écoulement du fluide gingival qui contient les constituants du complément. L'activation du complément dans le sulcus entraîne la production d'anaphylatoxines (C3a et C5a) qui conduisent au relargage par les mastocytes de substances vasoactives. Ces substances augmentent la perméabilité vasculaire conduisant à l'apparition de l'œdème. Les mastocytes relarguent aussi du TNF- α qui induit l'expression d'adhésines par les cellules endothéliales entraînant la migration des PMN dans le sulcus et les tissus gingivaux (Ohlrich, Cullinan, et Seymour 2009).

1.6.1.3 La lésion précoce

Après plusieurs jours sans contrôle de plaque (4 à 7 jours en général), la dilatation des vaisseaux persiste et devient visible à l'œil nu. La gencive est érythémateuse, un liseré rouge apparaît au niveau du bord marginal du sulcus. A ce stade, on ne note pas encore de migration apicale de l'attache épithéliale mais la présence d'un œdème gingival entraînant la présence d'une fausse poche est possible.

D'un point de vue microscopique, on note la dégénérescence des fibroblastes et des fibres de collagène.

A ce stade, les changements vasculaires sont plus visibles et on note le développement d'infiltrats inflammatoires autour des capillaires. Cela entraîne une augmentation du flux liquidien dans les tissus et l'afflux de fluide gingival. Les espaces inter-cellulaires sont élargis au niveau de l'épithélium de jonction ce qui facilite encore plus la pénétration des pathogènes dans les tissus affectés et donc favorise l'aggravation de l'inflammation.

Au départ, dans la lésion, les PMN prédominent ; puis au bout de 21 jours sans reprise d'hygiène, les lymphocytes représentent 70% de l'infiltrat alors que les plasmocytes ne représentent que 10% de l'infiltrat (Seymour et al. 1983). Le nombre de PMN est multiplié par 4 dans l'épithélium jonctionnel via certaines molécules d'adhésion (ELAM-1, ICAM-1) et l'augmentation de la production d'IL-8 par les cellules épithéliales. Ces PMN vont former une barrière contre les micro-organismes accumulés dans le sulcus. A ce stade, jusqu'à 70% du collagène de la zone infiltrée peuvent être dégradés.

A mesure que la lésion progresse, les cellules T deviennent prédominantes avec 2 LT CD4 pour 1 LT CD8.

A ce stade, la lésion peut rester stable et ne pas progresser ; ou sous l'effet de divers facteurs (innés, acquis et/ou environnementaux), dont les tenants et les aboutissants ne sont actuellement pas totalement élucidés, la lésion progresse entraînant une perte d'attache (Ohlrich, Cullinan, et Seymour 2009; Pierrard et al. 2014).

1.6.1.4 La lésion établie

A ce stade, on note la présence d'un œdème gingival ; la gencive est érythémateuse et saigne spontanément ou au moindre contact.

Le flux de fluide gingival augmente ; le collagène est détruit et entraîne la migration apicale de l'attache épithéliale. L'épithélium de jonction est remplacé par de l'épithélium de poche qui n'est pas attaché à la surface dentaire permettant ainsi aux bactéries de coloniser la poche (Pierrard et al. 2014).

A ce stade, la lésion est majoritairement constituée de lymphocytes B (LB) et associée à de hauts niveaux d'IL-1 et IL-6. Les tissus conjonctifs sont détruits et l'alvéolyse commence. On note principalement la présence de plasmocytes en grand nombre ce qui indique une réponse immune adaptative liée aux LB (Ohlrich, Cullinan, et Seymour 2009).

Selon Page, c'est entre ce stade et le stade de lésion avancée que l'on observe l'apparition de lésions parodontales irréversibles, correspondent à la transition de la gingivite à la parodontite (R. C. Page et Schroeder 1976).

1.6.1.5 La lésion avancée

A ce stade, la migration apicale de l'épithélium de poche continue au delà de la jonction émail-cément et une destruction des tissus de soutien de la dent apparaît (tissus mous et tissus osseux) entraînant la détection d'une poche lors du sondage parodontal.

Le biofilm continue de se développer en direction apicale ; l'environnement devient de plus en plus favorable aux bactéries parodontopathogènes. La dégradation des tissus parodontaux est causée par différentes substances dont l'origine et la fonction seront définies plus loin dans ce document.

Les schémas suivants schématisent ces différents stades biologiques (Figure 4).

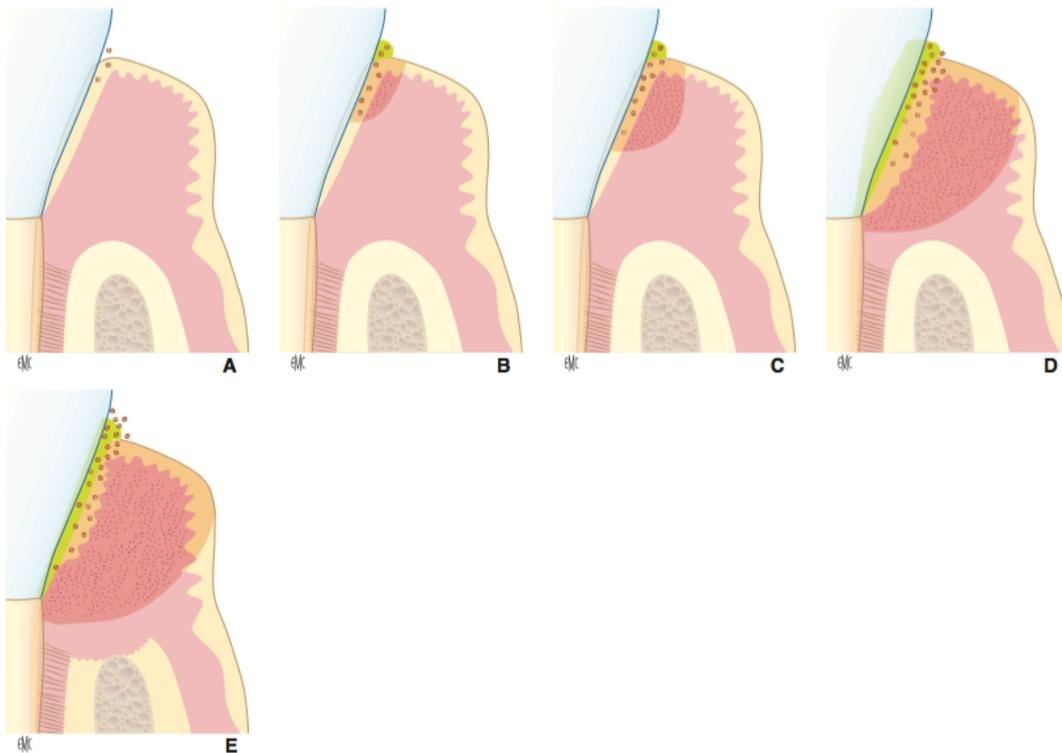


Figure 4 : Représentation schématique des 5 stades biologiques décrits par Page et Schroeder en 1976 (Pierrard et al. 2014)

A Gencive saine ; B Lésion initiale ; C Lésion précoce ; D Lésion établie ; E Lésion avancée

1.6.2 D'un point de vue plus global

A la suite de l'étude menée par Page et Schroeder en 1976, de nombreuses études ont permis de mettre en place un modèle présentant une vision plus dynamique de la maladie parodontale. Cette vision inclut un système de communication, la migration et le fonctionnement des différentes cellules impliquées, ce qui représente réellement la pathogénèse de la maladie (R. C. Page et Kornman 1997).

Le modèle proposé par Page et Kornman en 1997 décrit la maladie parodontale comme la conséquence de la réaction de l'hôte à une agression bactérienne (causée principalement par *Pg*, *Bf* et *Aa*). Cette réponse de l'hôte va être modulée par des facteurs intrinsèques (génétiques) ou induits (comme le tabagisme, les maladies systémiques...) ce qui va entraîner, dans les cas défavorables, une défaillance des mécanismes de contrôle des bactéries au niveau du sulcus. En réponse à cette agression

bactérienne non maîtrisée, l'hôte va mettre en place une réponse inflammatoire et immunitaire immédiate entraînant la production de cytokines, d'eicosanoides et d'autres médiateurs de l'inflammation tels que les kinines, des produits d'activation du complément et des métalloprotéinases matricielles (MMP) qui sont à l'origine de la destruction des tissus de soutien de la dent (Figure 5).

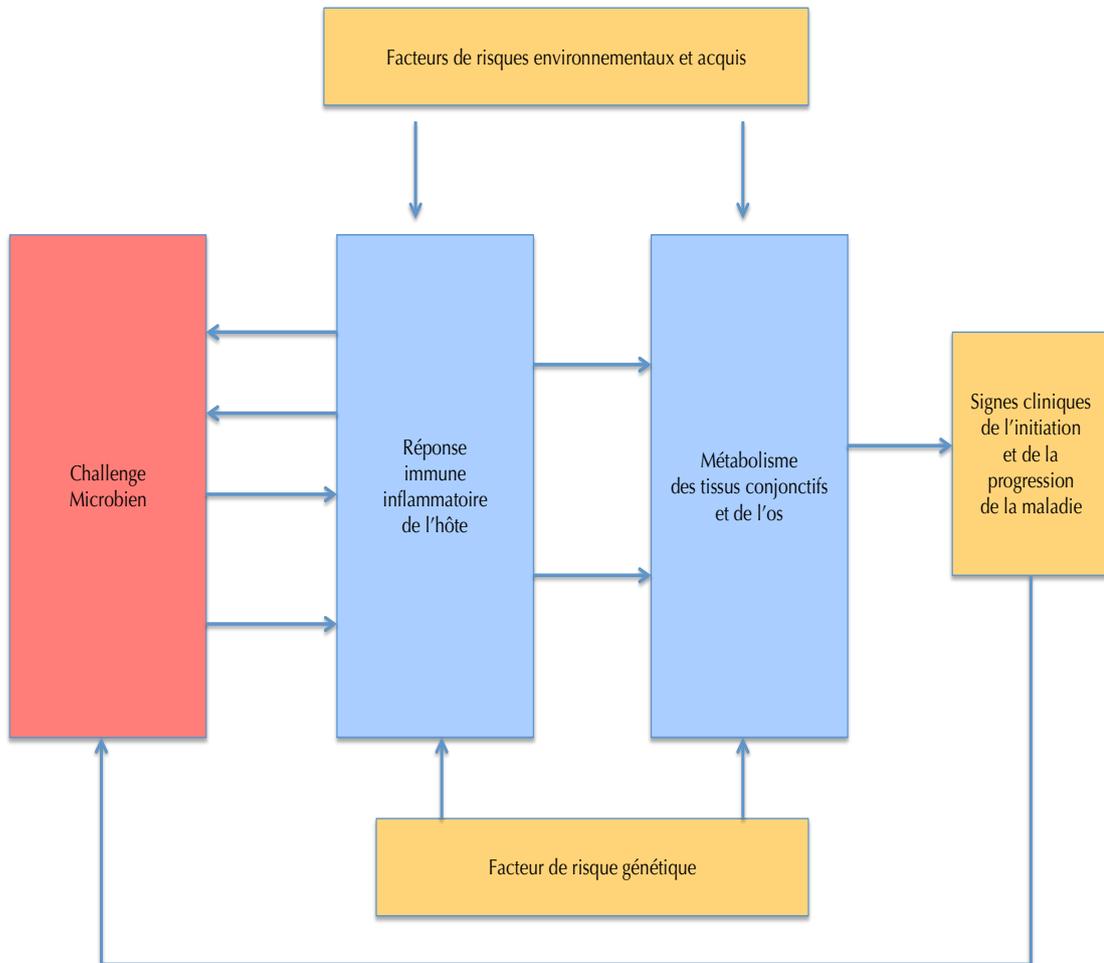


Figure 5 : Modèle décrivant la pathogenèse de la maladie parodontale chez l'Homme d'après Page et Kornman (R. C. Page et Kornman 1997)

La destruction tissulaire pathognomonique de la maladie parodontale est principalement liée à la réponse de l'hôte mais peut aussi être liée à une action directe des bactéries responsables de la maladie.

2 LE ROLE DE L'HOTE DANS LA MALADIE PARODONTALE

Comme nous l'avons déjà évoqué dans la première partie de ce travail, si l'étiologie de la maladie parodontale reste bactérienne, il est évident que l'immunité est le principal facteur qui fera passer un individu d'un état parodontal sain à un état pathologique.

Dans ce chapitre, nous évoquerons, de manière non exhaustive, les rôles connus que joue l'immunité dans la maladie parodontale.

2.1 Les moyens de l'hôte pour maintenir un état parodontal sain

2.1.1 L'inhibition de la croissance de la plaque dentaire supra-gingivale

La croissance de la plaque dentaire supra-gingivale est limitée par des facteurs mécaniques et chimiques. D'abord d'un point de vue mécanique, le flux salivaire et les mouvements de la langue ainsi que des lèvres, au cours de la mastication mais aussi de l'élocution, limitent la stagnation et le développement de la plaque dentaire. De plus, la salive contient de nombreux principes actifs qui limitent le développement de la plaque dentaire (Darveau, Tanner, et Page 1997; Thivichon-Prince et Keller 2012).

2.1.1.1 Les lactoferrines

La lactoferrine est une glycoprotéine salivaire liant le fer. Elle est produite par les PMN et par les cellules épithéliales glandulaires. Il a été démontré que les lactoferrines jouent un rôle essentiel dans l'inhibition de l'adhésion initiale des bactéries orales aux surfaces via la séquestration du fer. Le fer est essentiel à la croissance de la plupart des bactéries et influence aussi l'expression de certains facteurs de virulence. Les lactoferrines participent donc directement à l'inhibition de la formation du biofilm oral (Arslan, Leung, et Wu 2009).

2.1.1.2 Le lysozyme

Le lysozyme est une enzyme produite par les PMN et les macrophages que l'on retrouve aussi dans la salive. Il a pour effet d'augmenter la perméabilité de la membrane bactérienne entraînant un déséquilibre osmotique conduisant à la lyse bactérienne. Le lysozyme et les lactoferrines présentent une synergie dans leur activité antibactérienne quand ils sont associés (Leitch et Willcox 1998).

2.1.1.3 Les peroxydases

Les peroxydases sont des enzymes d'origine salivaire ou leucocytaire ; leur rôle est de dégrader le peroxyde d'hydrogène produit par les bactéries. A l'issue de ce mécanisme, un ion thiocyanate est produit et va détruire les bactéries via l'inactivation des enzymes bactériennes glycolytiques.

Cependant, il a été prouvé que la peroxydation est aussi destructrice pour les tissus parodontaux, un taux élevé de peroxydases salivaires ayant été associé à une détérioration de l'état parodontal (Barabash et al. 1979; Tsai et al. 2005). De plus, cette action antibactérienne des peroxydases ne serait pas efficace sur toutes les espèces bactériennes ; elle serait, en particulier, inefficace sur *Aa* dont le rôle central dans la pathogénèse sera développé au chapitre 2.3 (Ihalin et al. 1998).

2.1.1.4 Les cystatines

Les cystatines sont des inhibiteurs des cystéines protéases ; elles sont produites par les glandes sous-mandibulaires et sub-linguales. Elles ont pour rôle de protéger l'organisme d'une protéolyse non désirée.

Il a aussi été observé que la concentration en cystatines de la salive était augmentée chez les patients atteints de gingivite ou de parodontite (Henskens et al. 1993). De plus, il a aussi été démontré que les cystatines salivaires pouvaient adhérer aux fibroblastes gingivaux et augmenter leur libération d'IL-6, cytokine pro-inflammatoire et médiateur de la résorption osseuse jouant un rôle dans la pathogénèse de la maladie parodontale (Kato et al. 2000; Kato et al. 2002). Cela pourrait suggérer un rôle indirect des cystatines dans la maladie parodontale même si leur fonction principale reste l'inhibition de la destruction enzymatique médiée par les bactéries de la plaque dentaire.

2.1.1.5 Les mucines

Les mucines sont des glycoprotéines produites par les cellules des glandes sous-maxillaires, sub-linguales et accessoires. Elles sont responsables de la viscosité de la salive. Elles ont à la fois des capacités lubrifiantes permettant l'éloignement des bactéries des surfaces dentaires, et des fonctions anti-bactériennes, car les mucines sont capables d'adhérer aux bactéries présentes dans la salive, facilitant ainsi leur élimination. Les mucines jouent un rôle de barrière fonctionnelle dynamique et sont essentielles au maintien de la santé du parodonte (Slomiany et al. 1996).

2.1.1.6 Les peptides anti-microbiens

Les peptides anti-microbiens sont produits par les glandes salivaires, les cellules de l'épithélium oral et les PMN. Plus de 45 différents peptides anti-microbiens ont été détectés dans la salive. Ces molécules ont des fonctions bactéricides, fongicides et anti-virales ; elle peuvent présenter une action synergique et constituent une barrière anti-microbienne naturelle (De Smet et Contreras 2005). Parmi ces 45 peptides, il existe 3 familles qui sont particulièrement étudiées : les histatines, les défensines et les cathélicidines. Les histatines sont produites par les cellules des glandes parotides et ont une fonction fongicide (particulièrement active sur *Candida albicans*) et une fonction bactéricide. Les défensines sont produites par les cellules épithéliales, les cellules glandulaires et les PMN. Elles ont un rôle bactéricide via la lyse de certaines espèces bactériennes. Leur concentration dans la salive est augmentée chez les malades atteints de parodontite chronique (bien que leur action bactéricide ne soit pas directement efficace sur *Aa* et *Pg*). Les cathélicidines, en particulier la cathélicidine LL37, jouent aussi un rôle d'alarmine via leur rôle chimiotactique et activateur des cellules présentatrices

d'antigène (CPA) (Gorr 2012). Les peptides anti-microbiens constituent donc une des premières lignes de défense que rencontrent les pathogènes oraux.

2.1.1.7 Les Ig A sécrétoires

Les IgA sont les principaux effecteurs de l'immunité muqueuse. Cette branche spécifique du système immunitaire est située aux interfaces muqueuses entre l'organisme et l'environnement extérieur. Les IgA sécrétoires sont constituées de 2 IgA (chacune étant constituée de 2 chaînes lourdes de type α et de 2 chaînes légères de type λ ou κ) liées entre elles par la chaîne J et stabilisées par le composant sécrétoire. L'ensemble donne une IgA sécrétoire qui présente 4 sites de fixation antigénique. Ces IgA sécrétoires sont produites par des plasmocytes à IgA dont les précurseurs ont rencontré l'antigène (Ag) au niveau des plaques de Peyer (après transport de l'Ag depuis la surface de la muqueuse via les cellules M), puis ont migré vers les organes lymphoïdes secondaires avant de revenir dans le compartiment muqueux pour y produire ces effecteurs que sont les IgA sécrétoires. Les principaux rôles des IgA sécrétoires sont :

- inhibition de l'adhésion bactérienne par fixation des IgA à la surface des pathogènes
- action anti-inflammatoire (via l'inhibition de l'activité du complément et des cellules NK au niveau local)

Cette réponse est donc adaptée au revêtement muqueux et a pour but d'empêcher le passage des pathogènes sans pour autant léser la barrière muqueuse.

2.1.2 L'inhibition de la croissance de la plaque dentaire infra-gingivale

La plaque dentaire infra-gingivale se développe au sein du sulcus chez un patient sain ou de la poche parodontale dans le cas d'un parodonte pathologique ; l'un et l'autre sont des environnements très particuliers. D'une part, la poche parodontale et surtout sa partie la plus profonde ne sont pas soumises au flux salivaire et aux mouvements des tissus mous. D'autre part, plus la poche parodontale est profonde, plus la pression partielle en oxygène est diminuée ce qui est favorable au développement de bactéries anaérobies (Loesche et al. 1983). Pour lutter, au niveau local, contre le développement de la plaque sous-gingivale, il y a d'une part une barrière mécanique, représentée par la barrière épithéliale, et d'autre part le fluide gingival.

Le fluide gingival est un exsudat sérique qui contient des éléments provenant à la fois du sang, des tissus de l'hôte et de la plaque dentaire bactérienne (électrolytes, petites molécules organiques, protéines, cytokines, anticorps spécifiques, Ag bactériens, et enzymes originaires de l'hôte ou des bactéries) (Delima et Van Dyke 2003). Il a aussi été démontré qu'il contenait diverses populations de cellules (des bactéries provenant de la plaque bactérienne, des leucocytes ayant migré depuis le sang et des érythrocytes). Le fluide gingival présente une première fonction de rinçage purement mécanique ; mais il a aussi été démontré que les cellules qu'il contient sont viables et actives. Ainsi, les leucocytes provenant de l'hôte, majoritairement représentés par les PMN (entre 70 et 98% des leucocytes présents dans le fluide gingival, selon les études) maintiennent leur activité de phagocytose et de lyse des bactéries phagocytées, assurant ainsi une fonction de protection de l'espace dento-gingival et prévenant l'extension apicale de la plaque sous-gingivale (Delima et Van Dyke 2003).

La barrière épithéliale joue aussi un rôle dans la limitation de la croissance de la plaque sous-gingivale. En effet, comme nous l'avons déjà évoqué au chapitre 1.2.1, l'épithélium de jonction fait le lien entre la dent et l'épithélium sulculaire, matérialisant une barrière physique au fond du sulcus. Ce rôle de barrière est renforcé par le renouvellement rapide de cet épithélium ; l'épithélium de jonction est, en effet, renouvelé entièrement tous les 4 à 6 jours alors que l'épithélium sulculaire ne l'est que tous les 10 à 14 jours. Cela permet de remplacer rapidement les cellules altérées par l'agression bactérienne (Delima et Van Dyke 2003). Malheureusement cette barrière est relativement perméable car elle présente peu de jonctions intercellulaires ; ainsi les espaces intercellulaires peuvent parfois servir de réservoir au fluide gingival mais peuvent aussi représenter une porte d'entrée pour les pathogènes bactériens. Ces derniers pénètrent par les espaces intercellulaires dont le volume est augmenté en cas de phénomène inflammatoire (Delima et Van Dyke 2003).

2.2 La réponse de l'hôte face aux pathogènes oraux

La maladie parodontale est une maladie multifactorielle d'origine bactérienne. Il existe un grand nombre de bactéries présentes dans la cavité orale, mais seul un petit nombre semble jouer un rôle clé dans la pathogenèse de la maladie parodontale. Pourtant il n'est pas possible de cibler une seule et unique bactérie responsable de la maladie. La compréhension des mécanismes bactériens bien qu'essentielle n'est pas suffisante à la compréhension de la pathogenèse de la maladie parodontale. Le système immunitaire a pour rôle de nous protéger des agressions par des pathogènes extérieurs mais dans le cadre de la maladie parodontale, le système immunitaire échoue à évincer les bactéries parodontopathogènes. Il semble donc crucial de comprendre d'une part les mécanismes impliqués dans la réponse immunitaire face à une agression bactérienne mais aussi les particularités de la réponse à l'agression par des bactéries parodontopathogènes menant au développement de la parodontite. Ces mécanismes sont multiples et complexes ; le but, ici, n'est pas d'en faire une liste exhaustive mais d'essayer d'obtenir une vision d'ensemble mettant en exergue les mécanismes clés.

2.2.1 La réponse immune face à une agression bactérienne

Le système immunitaire constitue notre système de défense face aux agressions qu'elles soient d'origine bactérienne, virale ou fongique. La réponse immunitaire est classiquement divisée en :

-**une réponse immunitaire innée**, dont le rôle est de mettre en place une réponse immédiate lors de l'entrée d'un agresseur dans l'organisme.

-**une réponse immunitaire acquise ou adaptative**, dont le rôle est de mettre en place une réponse retardée mais très efficace face à l'agresseur.

2.2.1.1 La réponse immunitaire innée

L'immunité innée repose sur un système de réponse basé sur l'utilisation de molécules non spécifiques luttant contre les pathogènes et sur l'action anti-pathogène non spécifique de certaines cellules.

Différents mécanismes interviennent dans l'immunité innée, ceux-ci sont présentés de manière non exhaustive dans ce chapitre.

Les peptides anti-microbiens

Les peptides anti-microbiens sont des molécules produites par les glandes salivaires, les cellules de l'épithélium oral et les PMN qui présentent des fonctions bactéricides, fongicides et anti-virales. Leur rôle a déjà été évoqué au chapitre 2.1.1.6 .

Le complément

Le complément est un système de protéines sériques d'origine hépatique dont le rôle est l'élimination des pathogènes. L'activation de ce système conduit à une suite de réactions enzymatiques menant à la formation d'un complexe d'attaque membranaire (CAM) entraînant la destruction de la bactérie par la formation de pores sur la membrane bactérienne.

Le complément est aussi à l'origine de l'opsonisation qui augmente de 80% la phagocytose en fixant à la surface du pathogène une molécule du complément (le C3b), captée par les phagocytes. Le complément est par ailleurs un facteur de modulation de l'immunité adaptative. En effet, un LB présente, à sa surface, une molécule réceptrice du complément. Quand le LB a fixé l'Ag sur son BCR (B-cell Receptor, récepteur à l'antigène du lymphocyte B), s'il fixe aussi une molécule du complément (le C3b), il sera alors hyper-activé.

Il existe 3 voies d'activation du complément :

-**La voie classique** : Cette voie a besoin de la présence d'un complexe immun ; c'est-à-dire d'un Ac qui a reconnu son Ag. L'Ac est soit une IgM soit 2 IgG.

-**La voie alterne** : Cette voie peut se faire en l'absence d'Ac ; elle peut être activée par des polysaccharides bactériens particuliers ou par des membranes bactériennes.

-**La voie des lectines** : Cette voie ne nécessite pas la présence de complexe immun ; elle est liée à la liaison de la mannose-binding-lectin à des résidus de mannose présents sur la membrane des micro-organismes.

Les Pattern Recognition Receptors

Lorsqu'un pathogène pénètre dans l'organisme, il est immédiatement reconnu par les récepteurs de reconnaissance des motifs moléculaires associés aux pathogènes ou pattern recognition receptors (PRR) solubles qui sont des récepteurs pour les motifs moléculaires associés aux pathogènes ou pathogen associated molecular pattern (PAMP). Les PAMP peuvent être des lipopolysaccharides (LPS) bactériens, des peptidoglycanes, de l'ADN bactérien, de l'ARN bactérien ou des lipoprotéines. Ces molécules sont spécifiques des pathogènes et sont donc détectées comme étrangères à l'organisme par les PRR. Ces PRR solubles sont les lectines spécifiques du mannose (mannose-binding lectin), la protéine C réactive (CRP), la protéine sérum amyloïde A et la protéine liant les LPS. Les PRR se fixent aux PAMP facilitant ainsi leur phagocytose et l'activation de la voie classique du complément (Megson et al. 2010).

Les PRR peuvent être retrouvés au niveau des membranes cellulaires ou du cytoplasme de certaines cellules immunitaires. La reconnaissance d'un PAMP par un de ces récepteurs permet de déclencher l'activation des cellules immunitaires.

Il existe différents types de PRR cellulaires ; les 2 principales familles sont les Toll-like receptors (TLR) et les NOD like receptors (NOD pour nucleotide-binding oligomerization domain).

Les TLR sont des récepteurs transmembranaires principalement exprimés par les cellules du système immunitaire inné (neutrophiles, macrophages et CD), les cellules du système immunitaire acquis (LB et LT), certaines cellules du parodonte (fibroblastes gingivaux et desmodontaux, cellules épithéliales) et d'autres cellules comme les ostéoblastes. Il existe 10 TLR chez l'Homme.

Les cellules du parodonte expriment principalement TLR 2 et TLR4, les ostéoblastes TLR 4 et les ostéoclastes TLR 2 et 4. TLR 2 et TLR 4 sont impliqués dans la reconnaissance de la plupart des bactéries parodontopathogènes (principalement via leur reconnaissance des LPS des bactéries Gram négatives) ; ainsi TLR 2 reconnaît le LPS de *Pg* et *Capnocytophaga* tandis que le TLR4 reconnaît le LPS de *Pg*, *Aa* et *Fn*. Une fois la bactérie détectée, il y a activation des cellules immunitaires porteuses des TLR via des voies de signalisation intra-cellulaires. Il existe 2 voies d'activation, une voie dépendante de la protéine Myd88 (myeloid differentiation primary response protein 88) et une voie indépendante de Myd88. La voie dépendante de Myd88 est la plus importante dans l'activation cellulaire médiée par les TLR. Une fois activées, les cellules porteuses des TLR auront des actions diverses résumées dans le schéma suivant (Figure 6) (Mahanonda et Pichyangkul 2007; Hans et Hans 2011).

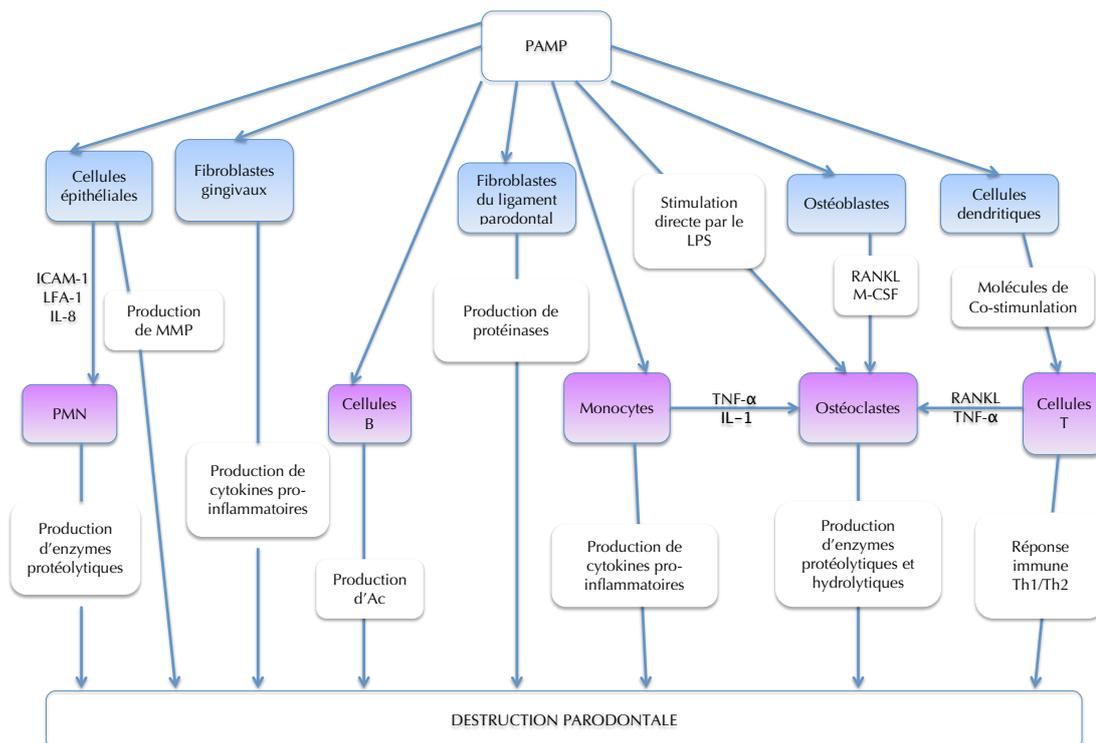


Figure 6 : Effet des PAMP médiés par les TLR sur les cellules du parodonte et leurs interactions d'après Hans et Hans en 2011 (Hans et Hans 2011)

Cellules résidentes du parodonte en bleu ; Cellules non résidentes du parodonte en violet ; ICAM-1 : molécule d'adhésion intercellulaire-1, LFA-1 : ligand pour l'antigène associé à la fonction lymphocytaire-1 ; RANKL : ligand du récepteur activateur du facteur nucléaire kappa B ; M-CSF : facteur de stimulation des colonies de macrophages

Les NOD like-receptors sont des récepteurs cytosoliques pour les PAMP. Les récepteurs NOD1 et NOD2 sont exprimés sur les cellules de l'immunité innée et acquise mais aussi sur les cellules du ligament desmodontal. Ces récepteurs reconnaissent les peptidoglycanes des bactéries à Gram positif et négatif et activent des voies de signalisation inflammatoires (comme le NFκB et le MAPK ou mitogen-activated protein kinase) et l'immunité innée (Jeon et al. 2012; Dong Liu, Rhebergen, et Eisenbarth 2013).

Les polymorphonucléaires neutrophiles

Les PMN sont des cellules phagocytaires produites dans la moelle osseuse. Ils circulent plusieurs heures dans le sang (entre 7 et 10 heures) avant, sous l'attraction de chimiokines comme l'IL-8, de migrer dans les tissus, dans lesquels ils survivent quelques jours. Les neutrophiles sont

porteurs de nombreux TLR dont les TLR 2 et 4 qui reconnaissent les bactéries parodontopathogènes. Une fois activés les PMN éliminent les pathogènes par un phénomène appelé phagocytose. En parallèle de la phagocytose, les PMN libèrent des lysosomes contenant différents médiateurs (comme certaines MMP par exemple) qui vont lyser les pathogènes mais aussi les tissus parodontaux sains. Les PMN sont aussi de puissants producteurs de cytokines pro-inflammatoires. Ces cellules constituent la première ligne de défense face à l'agression bactérienne ; leur rôle crucial dans le développement de la maladie parodontale sera développé au chapitre 2.2.2.1 (Scott et Krauss 2012).

Les macrophages

Les macrophages sont aussi produits dans la moelle osseuse ; ils en sortent sous une forme très peu différenciée appelée monocytes. Ces monocytes circulent dans le sang avant de passer dans les tissus, par diapédèse, où ils terminent leur différenciation en macrophages. Les macrophages ont une fonction de phagocytose et de production de cytokines pro-inflammatoires. Ce sont aussi des cellules présentatrices d'Ag par le CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe II aux LTh (Lymphocyte T helper). En théorie, les macrophages jouent aussi un rôle anti-inflammatoire en phagocytant les PMN qui ont déjà agi, entraînant un changement de phénotype des macrophages qui se mettent à produire des cytokines anti-inflammatoires ; cela n'est pas retrouvé dans la parodontite car l'agression bactérienne permanente entraîne une inflammation chronique (Ortega-Gómez, Perretti, et Soehnlein 2013).

Les cellules dendritiques

Les CD forment un groupe hétérogène de cellules originaires de la moelle osseuse. On en retrouve dans la gencive. Elles sont capables de phagocyter des pathogènes puis de migrer dans la lymphe afin de présenter l'Ag au LTh et LTc (Lymphocyte T cytotoxique). Les cellules dendritiques jouent un rôle important dans la santé parodontale. Il a, en effet, été observé que le nombre de CD dans l'épithélium oral diminue chez les patients atteints de parodontite. Cela s'expliquerait par le fait que la flore commensale active en permanence les CD, stimulant ainsi la production de LT reg qui inhibent l'activation des LTCD4+. Dans le cadre de la parodontite, le nombre de DC étant diminué, la production de LTreg est diminuée et le nombre de LTCD4+ augmenté (Cutler et Teng 2007; A. Wilensky et al. 2014).

Les cellules NK

Les cellules NK ou natural killer sont des cellules cytotoxiques pouvant détruire les pathogènes par contact direct sans présentation de l'Ag. Elles sont aussi productrices de cytokines pro-inflammatoires (IFN γ et TNF α) ce qui permet l'orientation de la réponse immune adaptative. Les cellules NK interviennent aussi dans la régulation de l'auto-immunité. Au niveau parodontal, il a été démontré, *in vitro*, qu'il existe des interactions entre les cellules NK et certaines bactéries parodontopathogènes (*Pg*, *Fn*, et *Aa*) ; ces interactions entraîneraient l'augmentation de production d'IFN γ et de TNF α menant à la destruction des tissus parodontaux. Des études, *in vivo*, sur la souris ont confirmé ce probable rôle destructeur au niveau parodontal des cellules NK (Asaf Wilensky,

Chaushu, et Shapira 2015). Il semblerait aussi que des cellules NK soient détectées dans les tissus parodontaux des patients atteints de parodontite agressive mais pas chez les patients atteints de parodontite chronique (Nowak et al. 2013).

Les mastocytes

Les mastocytes sont produits dans la moelle osseuse et possèdent des récepteurs pour le complément, pour la fraction constante des Ig et des TLR. Suite à leur activation, elles produisent de nombreuses substances y compris des médiateurs de l'inflammation (prostaglandines et leucotriènes) et des protéases (MMP ...) libérées sous la forme de granules. Il a récemment été constaté que le nombre de mastocytes dans la gencive pathologique était fortement augmenté chez les patients atteints de parodontite chronique ; de plus les mastocytes sont de puissants producteurs de MMP, enzyme clé dans la dégradation de la matrice extra-cellulaire. Ces éléments laissent penser que les mastocytes joueraient un rôle particulier dans la maladie parodontale (Steinsvoll, Helgeland, et Schenck 2004).

2.2.1.2 La réponse immune adaptative

La transition de la réponse innée vers la réponse adaptative se fait via la présentation antigénique. Les cellules présentatrices d'Ag jouent ainsi le rôle d'interface entre ces deux réponses ; en effet, elles ont la capacité de présenter l'Ag, via leur expression du CMH de classe II et de nombreuses molécules de co-stimulation, aux cellules de l'immunité adaptative et en particulier au LTh ou CD4+. Tous les phagocytes peuvent être des CPA (monocytes, macrophages, LB) mais ce sont principalement les CD qui joueront ce rôle.

La réponse adaptative a la particularité de pouvoir créer une mémoire immunitaire c'est-à-dire qu'elle produit des lymphocytes capables de garder en mémoire la première introduction de l'Ag dans l'organisme et de déclencher une nouvelle réponse immune spécifique plus rapide et plus efficace en cas de nouvelle introduction de cet Ag.

2.2.1.2.1 La réponse adaptative cellulaire

La réponse immune adaptative cellulaire est principalement liée aux lymphocytes. Les LB se développent initialement dans la moelle osseuse, à partir de cellules souches hématopoïétiques contrairement aux LT qui se développent au sein du thymus.

Les lymphocytes B

Les lymphocytes B se développent au départ dans la moelle osseuse à partir d'un précurseur lymphoïde (dérivant de la cellule souche hématopoïétique). Le processus de naissance et de maturation des LB jusqu'à la différenciation terminale en cellules productrices d'Ac est aussi appelé ontogenèse. L'ontogenèse des LB comprend 3 phases principales :

-**la phase indépendante de l'Ag** qui se déroule dans la moelle osseuse et au cours de laquelle le répertoire du LB va être mis en place via des réarrangements géniques

-**la phase dépendante de l'Ag** qui se déroule dans les organes lymphoïdes secondaires, à ce stade la survie du LB va dépendre de son interaction avec l'Ag

-**la différenciation terminale** qui correspond à la différenciation du LB en plasmocyte producteur d'Ac ou en LB mémoire

Dans la moelle, au cours de la maturation antigène-indépendante, on repère 4 stades différents :

-**La cellule pro-B précoce** : à ce stade des réarrangements de gènes ont lieu ; s'ils sont couronnés de succès la cellule passe au stade suivant

-**La cellule pro-B tardive** : à ce stade il y a de nouveau des réarrangements géniques principalement au niveau de la chaîne lourde de l'IgM qui constituera le BCR. La cellule pro-B est CD19 +, CD43 +, CD24+, CD45+ (B220+).

-**La cellule pré-B (précurseur B)** : à ce stade l'Ig est exprimée sur la membrane de la cellule constituant ainsi le pré-BCR. La cellule pré-B est CD19 +, CD43 -, CD24+, CD45+ (B220+) et CD25+.

-**La cellule B immature** : à ce stade il y a un dernier réarrangement de la chaîne légère, ce qui permet de constituer l'IgM, pièce centrale du BCR. La cellule B immature est CD25-, CD45 +, CD19+.

Le BCR est un complexe constitué d'une Ig M et de protéines associées (en l'occurrence un dimère d'Ig comprenant une chaîne alpha ou CD79a et une bêta ou CD 79b associé à l'IgM). Ce BCR a pour particularité de pouvoir reconnaître directement l'Ag sans que celui-ci n'ait été nécessairement présenté par une CPA.

Au cours de ces différentes étapes, tout au long de la maturation des LB, il existe une importante sélection, afin d'éliminer les cellules n'ayant pas réussi les différents réarrangements et afin d'éliminer les LB auto-réactifs (c'est à dire reconnaissant à tort le soi). Cette élimination des LB auto-réactifs est importante car on estime qu'au cours de leur genèse dans la moelle jusqu'à 75% des LB sont auto-réactifs.

Le LB immature va pouvoir sortir de la moelle et circuler dans le sang ou la lymphe ; on parle à ce stade de **LB transitionnel**. Les LB transitionnels vont migrer vers les organes lymphoïdes secondaires que sont la rate, les ganglions lymphatiques, les amygdales, et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. C'est au sein de ces organes lymphoïdes secondaires que le LB rencontrera l'Ag. Les LB transitionnels résident principalement dans la rate. Le LB transitionnel évolue au sein de la rate ; au départ il est dit de type 1 et est CD20+, CD5+, CD10+/-, CD21+/-, CD23 +/-, IgM +, IgD+/- et CD38+. Puis il exprime une seconde Ig associée à l'IgM ; il s'agit en l'occurrence d'une IgD ; à ce stade il est dit LB transitionnel de type 2 et est CD20+, CD5+/-, CD21++, CD23 +/-, IgM ++, IgD++ et CD38+/- (Le Pottier et al. 2007; J. O. Pers et Youinou 2014).

Au sein des organes lymphoïdes secondaires, le LB transitionnel va pouvoir donner 2 grands types de cellules :

-**les LB folliculaires** : cela concerne 90% des LB transitionnels qui vont migrer vers un follicule lymphoïde

-les **LB de la zone marginale de la rate**, qui constituent un pool de cellules parfois qualifiées d'innées car elles auront une réponse très rapide à une stimulation antigénique. Ces cellules sont CD20+, CD5-, CD23-, CD21+++, IgM+++, IgD+/-, CD1c++ (Le Pottier et al. 2007; J. O. Pers et Youinou 2014).

Juste avant la distinction entre LB folliculaires et LB de la zone marginale, il y a de nouveau un point de contrôle qui se fait sous la dépendance de la cytokine BAFF (B cell activating factor), facteur de survie des LB dans les organes lymphoïdes secondaires. BAFF est une cytokine de la super-famille du TNF- α . Cette cytokine joue un rôle essentiel dans la croissance et la survie des LB dans la circulation périphérique. En effet, il a été observé que, chez les souris déficientes en BAFF, on retrouvait un nombre significativement plus bas de LB circulants que chez les souris témoins. De plus, chez les souris traitées par un agent neutralisant BAFF, le nombre de LB matures était drastiquement réduit en comparaison avec des souris sauvages (Mackay et Schneider 2009). Dans le développement des LB, BAFF fait intervenir la compétition cellulaire afin de contrôler et d'éliminer les cellules ne répondant pas aux critères de sélection. En effet, 3 types de LB transitionnels vont se partager la production de BAFF, limitée en conditions physiologiques :

- les cellules très peu dépendantes de BAFF
- les cellules modérément dépendantes de BAFF
- les cellules très dépendantes de BAFF (c'est le cas des cellules fortement auto-réactives)

Suite à la compétition cellulaire, les cellules nécessitant beaucoup de BAFF ne disposeront pas d'assez de cette cytokine pour survivre et se multiplier, elles vont donc s'amenuiser et finir par mourir. Les cellules très peu dépendantes de BAFF vont être orientées vers la zone marginale de la rate ; les cellules modérément dépendantes de BAFF répondent aux critères de survie et s'orientent vers le follicule lymphoïde pour se multiplier et se spécialiser. Dans les maladies auto-immunes, un excès de production de BAFF a été observé ; cette sur-expression permet aux cellules auto-réactives de survivre et de résider dans des environnements où elles ont plus de chances de s'activer de manière inappropriée (Thien et al. 2004).

Une partie des LB transitionnels va donc rejoindre un follicule lymphoïde ; ils vont y rencontrer leur Ag et se multiplier, constituant ainsi un centre germinatif. A ce stade, on parle de LB matures (Bm) (CD20+, CD10-, CD24+/-, CD23+, IgD+, CD27-, CD38+).

Au départ, on parle de Bm1 naïf (CD38- et IgD+) puis cette cellule évolue en Bm2 activé (CD38+ et IgD+) car elle a rencontré l'Ag qui lui a été présenté par les LT. Certaines cellules Bm2 vont évoluer en Bm2' (CD38++ et IgD+) qui sera la cellule fondatrice du centre germinatif. Au sein de ce centre germinatif, de nombreux mécanismes sont mis en place afin que la cellule fondatrice se multiplie et se différencie de manière à mettre en place un arsenal complet capable de lutter efficacement et durablement contre l'Ag. Dans un premier temps, la cellule fondatrice subit une division cellulaire intense dans une zone d'expansion appelée zone sombre. Dans cette zone, on retrouve les cellules appelées centroblastes Bm3 qui sont CD38++ et IgD-. Puis les Bm3 migrent vers la zone claire où ils se différencient en centrocytes Bm4. Dans la zone claire, les LB seront sélectionnés et ils pourront subir une commutation de classe (c'est à dire un changement d'isotype d'Ig produite, en effet constitutionnellement les LB produisent des IgM mais la commutation de classe

leur permet de produire des IgG, IgA, IgE) ; puis il y aura une différenciation en 2 grands types cellulaires :

-les **LB mémoires précoces** (CD38+ et IgD-) qui évoluent localement en LB mémoires Bm5 CD38- et IgD-

-les **plasmoblastes** (CD38++ et IgD-) qui se différencieront en plasmocytes. La différenciation plasmocytaire sera évoquée plus loin dans ce chapitre (Le Pottier et al. 2007; J. O. Pers et Youinou 2014).

Le schéma suivant résume les différentes étapes décrites précédemment (Figure 7).

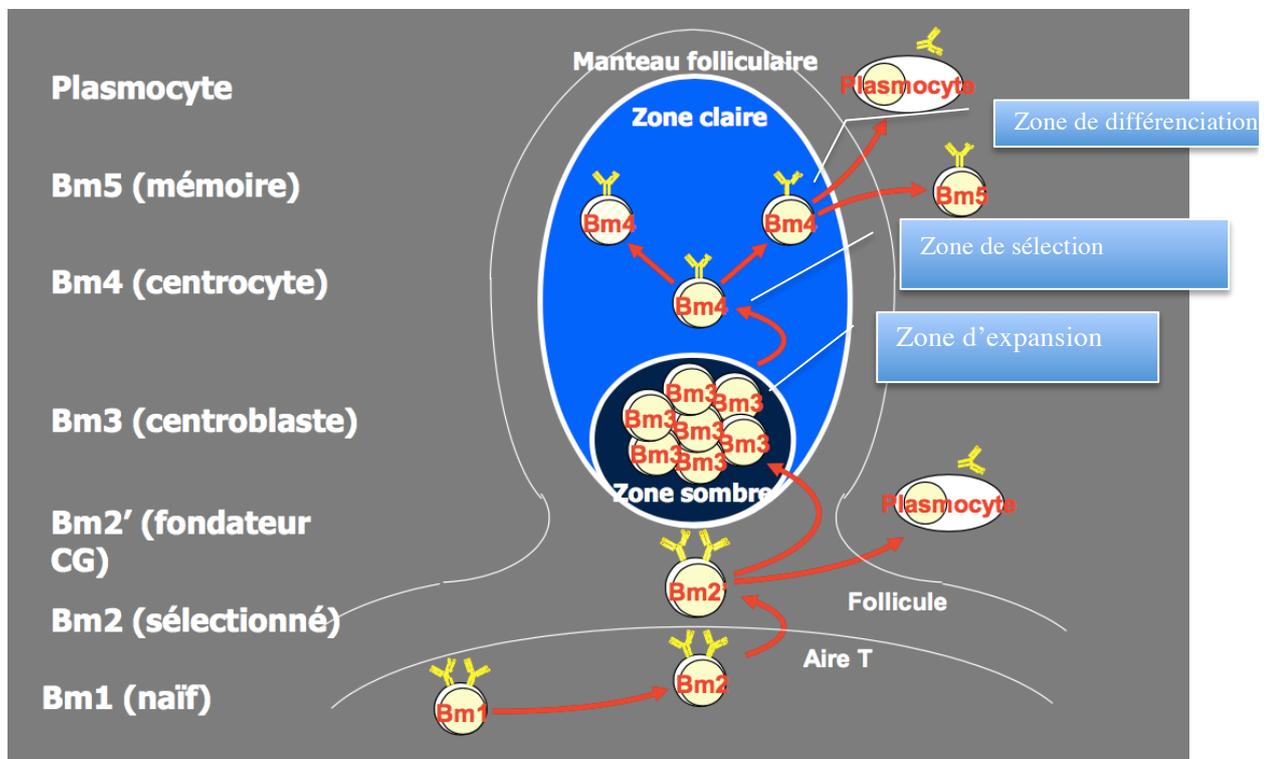


Figure 7 : Schéma des étapes de différenciation au sein du follicule lymphoïde (iconographie J-O. Pers)

La cellule plasmocytaire est une cellule très particulière, elle est dédiée à la production de protéines et en particulier d'Ig. La spécificité des Ig produites dépend de celle de la cellule B dont elles dérivent. La différenciation des plasmocytes est complexe et résumée dans le schéma suivant (Figure 8)

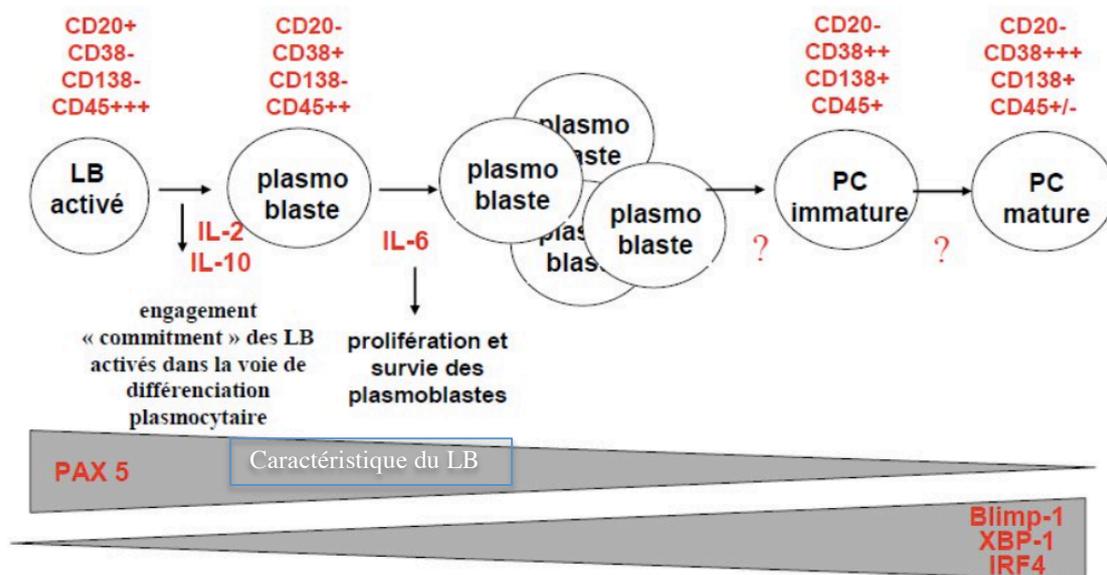


Figure 8 : La différenciation plasmocytaire (iconographie J-O. Pers)

A l'issue de sa différenciation, le plasmocyte ne présente plus les caractéristiques de la lignée B; en effet, il n'exprime plus PAX 5 qui est un marqueur identitaire de la lignée B, ni le BCR. La survie du plasmocyte ne dépend donc plus de l'Ag. Ce plasmocyte obtenu est la cellule la plus différenciée de la lignée B.

Les LB mémoires sont des cellules à durée de vie longue. Suite à la ré-introduction, dans l'organisme, de l'Ag pour lequel ils sont spécifiques, les LB mémoires se transforment très rapidement en plasmocytes avec une production plus rapide et plus efficace d'Ac permettant de lutter plus efficacement contre l'agresseur. Les LB mémoires sont IgD-, CD38- et CD27+.

Il existe une autre population de LB appelée LB-1 par opposition aux autres LB décrits précédemment qui sont dits « LB conventionnels ». Ils représenteraient 5% des cellules B et sont principalement situés au niveau des muqueuses et des cavités péritonéales et pleurales. Parmi ces LB-1, deux populations ont été décrites chez la souris :

- les LB-1a qui expriment le CD5 sur leur membrane
- les LB-1b qui possèdent l'ARN messager du CD5 mais ne l'expriment pas en surface

La plupart des études portent sur les LB CD5+ (ou LB-1a chez la souris); ces cellules sont caractérisées par leur expression du CD5 (habituellement retrouvé sur les LT) et leur faible taux d'expression d'IgD de membrane. Ces cellules peuvent produire des Ac mais ceux-ci sont peu spécifiques et elles se transforment peu en cellules à mémoire (Kuby et al. 2008).

Les cellules de la lignée B ont différentes fonctions :

- la **production d'Ac** ; ce sont les effecteurs de la réponse adaptative humorale ; les Ac permettent la neutralisation des agents pathogènes, ils interagissent avec le complément...

-**la présentation antigénique** via leur expression du CMH de classe II et de certaines molécules de co-stimulation (CD80 et CD86) qui en présentant l'Ag aux LT joue le rôle d'interface entre immunité innée et acquise

-**la production de cytokines** ; en réponse à une stimulation Th1, les LB produisent du TNF- α , de l'IFN- γ , de l'IL-12 alors qu'en réponse à une stimulation Th2, ils produisent de l'IL-4, IL-6, IL-10 γ

-**l'organisation des organes lymphoïdes secondaires** sous l'influence des lymphotoxines LT- α et β produites par les LB

Les lymphocytes T

Les lymphocytes T (LT) représentent 80 à 90% des lymphocytes circulants. Leur rôle dans l'immunité spécifique est central mais elle est souvent retardée de plusieurs jours par rapport à l'introduction de l'Ag dans l'organisme.

Comme les LB, les LT dérivent du précurseur lymphoïde (dérivant lui même de la cellule souche hématopoïétique) situé dans la moelle osseuse. Les LT ont la particularité de maturer au sein du thymus ; à la sortie de la moelle, les LT sont au stade de thymocytes multipotents doubles négatifs. A ce stade, ils sont caractérisés par la présence à leur surface d'un récepteur appelé Thy 1 ; puis d'autres molécules s'expriment progressivement (une molécule d'adhésion CD44, un récepteur pour un facteur de croissance c-kit, un récepteur de l'IL-2 le CD25). Quand le LT exprime CD44, c-kit et CD25, on considère qu'il est au stade de thymocyte double négatif. C'est à ce stade que se met en place le TCR (T-cell receptor ou récepteur à l'Ag du LT). Puis les LT passent au stade de thymocytes doubles positifs, ils sont alors CD4+ et CD8+. Le dernier stade de maturation au sein du thymus est celui des thymocytes simples positifs ; les thymocytes sont alors soit CD4+ soit CD8+ et perdent l'expression de l'autre CD. Les LT CD4+ représentent 4% des thymocytes alors que les LT CD8+ ne représentent que 2% des thymocytes.

Comme les LB, les LT rencontrent l'Ag au sein des organes lymphoïdes secondaires. Les LT reconnaissent les Ag présentée par les CPA via le CMH de classe II. Le module de reconnaissance de l'Ag est le TCR, mais cette reconnaissance nécessite l'intervention d'autres molécules pour être active. Ainsi le CD4 et le CD8 agissent comme module d'accrochage en augmentant fortement l'affinité entre le TCR et le CMH II. D'autres molécules interviennent, comme le CD3 qui a pour rôle d'informer la cellule qu'un Ag a été reconnu par le TCR ou comme les CD28 et CD40 qui jouent le rôle de module de contrôle.

Il existe différentes populations de LT, dont le rôle dans la maladie parodontale sera développé au chapitre 2.2.7.

On retrouve parmi les LT, les LT NK ; ce sont des LT à activité cytotoxique qui possèdent des marqueurs spécifiques aux LT (le CD3 par exemple) et des marqueurs caractéristiques des cellules NK (CD56 et CD16). Ces cellules jouent un rôle important dans la défense anti-infectieuse et particulièrement dans la lutte contre les bactéries présentant un glycolipide de surface.

Il existe aussi des LT appelés LT $\gamma\delta$; ils sont en général CD4- et CD8- et leur fonction est peu connue. Il semble cependant qu'ils soient fréquemment retrouvés dans les épithéliums et les muqueuses ; ils joueraient alors un rôle de barrière locale, ce qui les rattacherait plutôt à l'immunité innée (Ferreira 2013).

Les LT $\alpha\beta$ CD8⁺ aussi appelés LT cytotoxiques représentent une population de LT ayant un rôle majeur dans la lyse et la destruction des cellules infectées par des germes intracellulaires. L'action cytotoxique de ces cellules se fait selon les étapes suivantes :

-fixation

-formation de pores dans la cellule cible grâce à la perforine (enzyme produite par le LT CD8)

-pénétration du grandzyme (enzyme capable de fragmenter l'ADN de la cible) entraînant l'apoptose de la cellule ciblée

Les LT $\alpha\beta$ CD4⁺ représentent une grande famille de LT, dont le rôle dans l'immunité générale est crucial. Depuis plusieurs années, leur rôle dans la maladie parodontale est étudié de près. On appelle aussi les LT CD4 les LT helper ou auxiliaires. Il en existe donc plusieurs sous populations ; la différenciation des LT CD4 naïfs dépend de la CPA et de l'environnement cytokinique. En effet, INF- γ et l'IL-12 orientent plus vers une polarisation Th1 ; l'IL-4 oriente plus vers une polarisation Th2 tandis que le TGF- β , l'IL-6 et l'IL-1 orientent plus vers une polarisation en Th17. Une fois la polarisation établie, celle-ci est irréversible.

Les LT Th1 produisent principalement de l'IL-2, du TNF- α et de l'IFN- γ . Ils participent à l'immunité cellulaire en activant les macrophages et jouent un rôle dans l'élimination des pathogènes intracellulaires.

Les LT Th2 jouent un rôle dans l'immunité humorale en stimulant la production d'IgG et d'IgE par les LB ; ils jouent aussi un rôle dans l'élimination des pathogènes extracellulaires. Ces LT Th2 sont producteurs d'IL-4, 5, 6, 9, 10 et 13. Les Th2 jouent aussi un rôle dans l'immunité cellulaire car ils activent les macrophages.

Les LT Th17 sont une autre sous population de LT CD4 ; ce sont des producteurs d'IL-17, IL-21 et IL-23. L'IL-17 est une cytokine pro-inflammatoire. De plus les cytokines produites sont à l'origine de la production d'autres molécules, telles que des cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-8, PGE2...) et des MMP. Les Th17 ont aussi une fonction de recrutement et d'activation des PMN (Gaffen et Hajishengallis 2008). L'IL-17 pourrait de plus affecter l'activité des ostéoclastes induisant ainsi une résorption osseuse (Ohlrich, Cullinan, et Seymour 2009)

Les LT régulateurs (ou LT reg) sont CD4⁺, CD25⁺, Foxp3⁺ (marqueur caractéristique des LTreg). Ils ont une action inhibitrice des LT, soit par contact direct avec le LT reg, soit de manière indirecte en passant par la sécrétion de cytokines modifiant la polarisation Th1/Th2/Th17.

Il est important de noter qu'il existe une régulation réciproque entre les LT Th1 et Th2 ; on parle communément du paradigme Th1/Th2. En effet, l'IFN- γ produit par les Th1 inhibe la différenciation des Th2 ; alors que l'IL-10 produite par les Th2 inhibe la différenciation des Th1 (Bouchard, Frémont, et Sanz 2014).

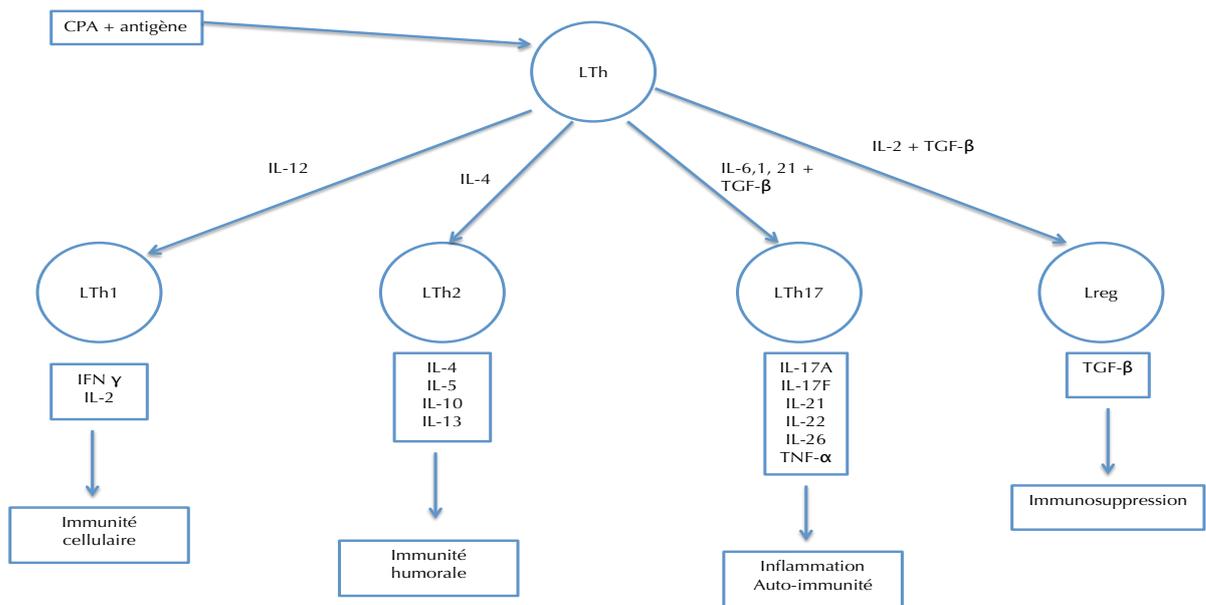


Figure 9 : Présentation des différentes sous-populations de lymphocytes T helper, des cytokines induisant leur différenciation et des cytokines que ces cellules produisent d'après Gaffen et Hajishengallis (Gaffen et Hajishengallis 2008)

2.2.1.2.2 La réponse adaptative humorale

Lorsqu'un LB naïf rencontre un Ag, ce contact entraîne l'activation du LB. Il existe 2 types d'Ag :

-**les Ag thymo-indépendants** (non protéiques) qui peuvent activer le LB sans nécessiter la présence d'un LT helper, ce type d'Ag entraîne la production exclusive d'IgM. Cette réponse rapide ne passe pas par un centre germinatif ; il n'y a donc pas de sélection ou de maturation d'affinité donc les Ig sont de faible affinité et il n'y a pas de LB mémoire produit.

-**les Ag thymo-dépendants** (protéiques) qui ne peuvent activer le LB que si celui-ci coopère avec un LT helper. La coopération avec LT helper nécessite que le LB internalise l'Ag puis le lui présente à sa surface via le CMH de classe II, afin que le LT sécrète des cytokines activant le LB. Avec ce type d'Ag, il y a passage par un centre germinatif et mise en place de LB mémoires spécifiques de cet Ag et production d'Ac de forte affinité qui sont le plus souvent des IgG ayant une demi-vie très longue.

Dans le cadre de la maladie parodontale, les Ag bactériens comme le LPS sont principalement thymo-indépendants et peuvent donc activer directement les LB (Kuby et al. 2008).

Quand le LB est activé, une prolifération, appelée expansion clonale, se met en place puis les LB obtenus se différencient en plasmocytes (cellules spécialisées dans la sécrétion d'Ac) et en LB mémoires.

Les anticorps ou immunoglobulines (Ig) sont les effecteurs solubles de l'immunité humorale. Les Ig ont une structure en Y et sont formées de 4 chaînes polypeptidiques (2 chaînes lourdes et 2 chaînes légères) reliées entre elles par des ponts disulfures. Il existe 5 types de chaînes lourdes (γ , α , μ , δ , ϵ) déterminant les 5 classes Ig.

Les **Ig G** représentent 75% des Ig du sang ; il existe 4 sous-classes IgG numérotées de 1 à 4. Les IgG1, 3 et 4 jouent un rôle important dans la protection du fœtus car elles passent la barrière placentaire. L'IgG3 est l'activateur le plus puissant du complément. L'IgG1 et 3 se lient avec une forte affinité aux récepteurs du fragment constant des phagocytes favorisant ainsi l'opsonisation.

Les **Ig A** représentent 15 à 20% des Ig du sang ; elles sont principalement présentes dans les sécrétions muqueuses (salive, larmes, sécrétions bronchiques et uro-génitales). Elles sont souvent retrouvées sous forme de monomères mais existent aussi sous forme de dimères, reliées entre elles par la pièce J. Dans les sécrétions externes, on retrouve une IgA appelée « sécrétoire » qui est constituée d'un dimère ou d'un tétramère, d'une chaîne J et d'une chaîne polypeptidique appelée « composant sécrétoire » qui les protège de l'action des protéases présentes dans le milieu. Ce type d'IgA est formé lors du transport au travers des cellules épithéliales des muqueuses. La liaison de l'IgA sécrétoire avec les Ag présents à la surface des bactéries empêche la bactérie de se fixer aux cellules de la muqueuse avant d'être éliminée.

Les **Ig M** représentent 10% des Ig sanguines, elles sont principalement retrouvées au niveau du sang et présentent une structure pentamérique avec la pièce J reliant chaque chaîne à une autre. L'IgM est la première classe d'Ig synthétisée suite à la première rencontre avec un Ag. Les IgM sont aussi de puissants activateurs du complément.

Les **Ig D** représentent moins d'1% des Ig sanguines. Le rôle des Ig D sériques est peu connu. Elles sont exprimées à la surface du LB mature et jouent un rôle dans la reconnaissance de l'Ag par le LB.

Les **Ig E** sont retrouvées en très faible pourcentage dans le sang. Elles jouent un rôle fondamental dans les réactions d'hypersensibilité immédiate car elles sont à l'origine de la dégranulation des mastocytes.

Les Ig sont constituées de 2 grandes parties : la partie variable (ou fragment Fab) chargée de reconnaître l'Ag dont elle est spécifique et la partie constante (ou fragment Fc).

La fonction principale du fragment Fab est de reconnaître l'Ag dont elle est spécifique. Cette fraction peut aussi intervenir dans la neutralisation des toxines produites par certaines bactéries empêchant leur fixation et donc leur action délétère. Cette fonction est principalement effectuée par les IgG au niveau sanguin et les IgA au niveau des muqueuses. Le fragment Fab des Ig a aussi la capacité d'inhiber les adhésines bactériennes, empêchant ainsi l'adhérence des bactéries à leur cible, évitant donc l'infection bactérienne. Un mécanisme similaire est décrit dans la lutte contre les virus.

Le fragment Fc possède aussi des fonctions qui lui sont propres. Le fragment Fc joue un rôle dans le transport des Ig ; c'est principalement le cas des IgA qui vont se fixer à la pièce sécrétoire située à la surface des cellules épithéliales avant de la traverser par transcytose pour aboutir aux IgA sécrétoires au sein des muqueuses. Le fragment Fc des Ig joue aussi un rôle dans l'activation du complément. En effet, lorsque le fragment Fab s'est fixé à une bactérie, le fragment Fc entraîne l'activation du complément. Cette activation est à l'origine de la formation du complexe d'attaque membranaire, qui est chargé de détruire la bactérie. Cette fonction est principalement effectuée par les IgG1 et IgG3 et

minoritairement par les IgG2 et IgG4. Le fragment Fc a un rôle dans le recrutement et l'activation de certaines cellules effectrices de l'immunité comme les PMN, les monocytes et macrophages et les cellules NK. En effet, ces cellules possèdent un récepteur au fragment Fc des Ig appelés Fc récepteurs ou FcR. Il existe 3 types de FcR : le FcR1 reconnaît les Ig libres et les FcR2 et FcR3 reconnaissent les Ig liées à un Ag (principalement les IgG1 et IgG3).

Lorsqu'un Ag entre dans l'organisme, cela entraîne une production d'Ac après une période de latence de durée variable (période plus courte si l'Ag a déjà été rencontré auparavant). Puis la concentration sérique en Ig augmente exponentiellement. Au cours de la réponse primaire, c'est-à-dire quand l'Ag est rencontré pour la première fois, la réponse va être principalement médiée par les IgM et sera retardée d'environ une semaine et de faible intensité. Cette réponse décroît au bout de 3 semaines. Lors de la réponse secondaire, la période de latence est beaucoup plus courte (environ 2 ou 3 jours), elle est intense et principalement médiée par les IgG (Abbas et al. 2013).

Dans la maladie parodontale, tous les mécanismes décrits précédemment entrent en jeu mais sont dépassés, permettant l'instauration de la parodontite. Ce dépassement du système immunitaire par les bactéries parodontopathogènes est lié à des particularités dans la réponse immune aux pathogènes parodontaux mais aussi à certaines capacités spécifiques des bactéries responsables de la maladie parodontale. Ces différents points seront développés plus loin.

2.2.2 Les particularités de la réponse immunitaire dans la maladie parodontale

2.2.2.1 Le dysfonctionnement des polymorphonucléaires neutrophiles

Comme cela a déjà été évoqué au chapitre 1.6.1, les PMN représentent la première barrière face à l'agression par les bactéries parodontopathogènes. Chez certains individus, les PMN ne jouent pas correctement leur rôle permettant le développement de la maladie parodontale. Ces dysfonctionnements des PMN peuvent être causés par les bactéries ou être innés.

2.2.2.1.1 *Les dysfonctionnements d'origine bactérienne*

Certaines bactéries comme *Pg* peuvent inhiber l'adhésion des PMN aux cellules endothéliales, ce qui limite donc le recrutement des PMN sur le site de l'infection. De plus *Pg* inhibe la production d'Il-8 par les cellules épithéliales (Darveau, Tanner, et Page 1997); or l'Il-8 est un puissant chimio-attractant pour les PMN. Ces mécanismes expliquent le relatif manque de PMN sur le site de l'infection puisqu'ils n'ont pu ni être recrutés ni adhérer au niveau du site infectieux. Cela explique que les bactéries puissent pénétrer à l'intérieur des tissus parodontaux. Les bactéries peuvent aussi avoir un effet sur la phagocytose. En effet, les PMN, une fois sur le site, ont pour objectif de phagocyter les pathogènes. Le LPS ainsi que les autres constituants de la capsule polysaccharidique

qui entoure les bactéries sont composés de molécules anioniques et hydrophobiques qui empêchent la liaison entre les PMN et les bactéries, et protègent les structures bactériennes qui habituellement activent le complément. Cela a été démontré par le fait que des anticorps anti-polysaccharidiques augmentent l'efficacité de la phagocytose (Darveau, Tanner, et Page 1997). Les bactéries comme *Aa* ont aussi une fonction lytique directe des PMN via la leucotoxine produite par celles-ci, ce qui a pour conséquence de créer des pores dans la membrane des PMN entraînant un choc osmotique à l'origine de leur destruction (Tsai et al. 1984).

2.2.2.1.2 Les dysfonctionnements innés

Le rôle des dysfonctionnements innés des PMN dans le développement de la maladie parodontale a été suspecté suite à l'observation de patients souffrant d'une anomalie génétique des PMN et présentant des parodontites sévères (Dennison et Van Dyke 1997). C'est l'exemple de patients atteints d'un défaut congénital d'adhésion des leucocytes (c'est le cas dans le *Lazy Leukocytes Syndrome* et dans le *Leukocytes Adhesion Deficiency Syndrome II*) ; ou encore le cas de patients atteints des syndromes de *Papillon-Lefèvre* et de *Chediak-Higashi* et qui présentent aussi des dysfonctionnements majeurs des PMN. Les patients atteints par ces syndromes présentent souvent des parodontites très précoces.

Il a aussi été démontré que 75% des patients atteints de parodontite localisée présentent une diminution de la chimiotaxie des PMN ; ce défaut persiste après traitement et est probablement transmis sur le mode autosomique dominant (Van Dyke et al. 1981; Van Dyke 1985; Hamada et Holt 1991; Hart et al. 1992). Ce défaut de chimiotaxie est lié soit à un nombre anormalement bas de PMN, soit à une altération des récepteurs, soit à un défaut de signalisation intra-cellulaire.

Les dysfonctionnements innés des PMN peuvent aussi avoir un effet sur la bactéricidie. Il a, en effet, été observé qu'après phagocytose de *Aa* par les PMN ceux-ci ne parviennent pas à dégrader le pathogène car le phagosome contenant *Aa* ne fusionne pas avec le lysosome contenant les enzymes lytiques (Meyer et Fives-Taylor 1997).

2.2.2.2 Les dysfonctionnements des monocytes

Parmi leurs multiples rôles, les monocytes sont producteurs de nombreuses cytokines. Les cytokines sont des peptides de bas poids moléculaire produits par des cellules immunitaires ou non et permettent aux cellules de communiquer entre elles. Les cytokines intervenant dans la réponse immunitaire sont appelées interleukines. De nombreuses études ont montré qu'il existait dans la parodontite un probable dysfonctionnement dans la production des cytokines par les monocytes.

Ainsi, il a été démontré que les monocytes des patients atteints de parodontite sévère produisent 4 à 7 fois plus d'IL-1 que ceux des sujets sains (Kornman et al. 1997) ; or l'IL-1 est une cytokine pro-inflammatoire, qui entraîne l'activation de la réponse immunitaire en activant les lymphocytes ; ce phénomène est très délétère puisque il est à l'origine de la destruction tissulaire conjonctive via la production de MMP, de collagénases et de PGE2.

2.2.3 Les principaux mécanismes immunitaires impliqués dans la pathogénèse de la maladie parodontale

En raison de la présence permanente de bactéries dans le sulcus, il existe chez tous les individus une stimulation constante de l'inflammation au niveau local. Dans la gencive dite « saine », on retrouve en faible nombre des PMN et des lymphocytes B et T.

Si l'hygiène bucco-dentaire du patient n'est pas satisfaisante, la charge bactérienne augmente ; les PMN ainsi que les cellules du parodonte comme les fibroblastes augmentent leur synthèse de cytokines pro-inflammatoires (Il-1, Il-6, Il-8, TNF α). De plus, les pathogènes sont détectés par le complément qui déclenche la phase vasculaire de l'inflammation (caractérisée cliniquement par un œdème inflammatoire et biologiquement par l'augmentation de l'afflux sanguin dans la zone concernée, permettant la diapédèse des éléments nécessaires à sa résolution) (Madianos, Bobetsis, et Kinane 2005). La réponse vasculaire permet à de nombreux PMN de migrer vers la zone inflammée depuis les vaisseaux sanguins, en suivant un gradient chimiotactique (lié à la production d'Il-8 qui est un puissant chimioattractant des PMN). Ces PMN forment une barrière au niveau de l'épithélium de jonction ; leur objectif est de détruire les pathogènes avec lesquels ils sont en contact par le biais de la phagocytose, en les lysant via des enzymes lysosomales par exemple. Les monocytes circulants pénètrent dans la zone et se transforment en macrophages. De plus, en réponse à la production de cytokines pro-inflammatoires, les MMP sont synthétisées et débutent l'altération du parodonte en détruisant les fibres de collagène de la matrice extra-cellulaire. Ce stade initial de la réponse immunitaire fait principalement intervenir l'immunité innée.

Si cette première réponse ne suffit pas à faire diminuer la charge bactérienne, les cellules de l'immunité adaptative entrent en jeu ; cela est représenté par la présence d'un infiltrat de cellules mononucléées. Les Ag bactériens (comme le LPS) sont reconnus par les CPA, c'est à dire les cellules dendritiques et les macrophages. Celles ci activent la réponse immunitaire spécifique. Les LT CD4 (helper qui jouent un rôle fondamental dans l'initiation et le développement des réponses immunitaires adaptatives) et les LT CD8 (à action cytotoxique) vont se différencier et proliférer. Les Lymphocytes B se différencient en plasmocytes capables de produire des anticorps spécifiques des pathogènes impliqués dans l'agression bactérienne. La différenciation des lymphocytes B en plasmocytes se fait sous l'influence des LT CD4 (en particulier des LT CD4 th2 dont le rôle sera décrit plus tard dans ce document).

A ce stade, il n'y a pas encore d'altération des tissus osseux, on peut donc encore parler de gingivite, mais si la charge bactérienne ne diminue pas on passera au stade de parodontite qui est caractérisée par la présence d'une perte d'attache (signe pathognomonique d'une résorption osseuse pathologique).

Les mécanismes menant à une perte osseuse alvéolaire dans le cadre de la maladie parodontale sont multiples. Il a été démontré que la destruction osseuse dans les maladies parodontales est médiée par la réponse immunitaire et inflammatoire de l'hôte. La résorption osseuse dans la maladie parodontale est induite directement et indirectement par l'infiltrat de cellules inflammatoires. Il est important de rappeler que la résorption osseuse proprement dite n'est pas pathologique ; en effet, à l'état sain, l'os présente une balance entre la résorption et l'apposition osseuse, ce mécanisme

permettant aux tissus osseux de se renouveler régulièrement. Les cellules impliquées dans le remodelage osseux sont :

-**les ostéoblastes** impliqués dans la formation osseuse mais qui produisent aussi des cytokines et des facteurs de croissance (granulocyte colony stimulating factor ou G-CSF, insulin like growth factor ou IGF...)

-**les ostéoclastes** qui sont des cellules hyper-spécialisées dans la résorption osseuse dérivant des cellules hématopoiétiques de la moëlle. La différenciation des pré-ostéoclastes en ostéoclastes se fait sous l'influence de nombreux facteurs dont le RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor – κ B Ligand) et le TNF α . De plus, l'IL-1, le TNF α et l'EGF ont pour action de désactiver les ostéoblastes et d'augmenter la libération de CSF-1 et du RANKL.

-**les ostéocytes** qui sont des cellules osseuses matures qui se sont retrouvées bloquées dans la matrice osseuse ; ils jouent un rôle de modulation de la résorption osseuse

-**les cellules de la lignée osseuse** (pré-curseurs des cellules précédemment citées)

Les principaux médiateurs de la résorption osseuse sont IL-1, IL-6, IL-11, IL-17, TNF α , TNF β , TGF β , les kinines et la thrombine ainsi que les LPS bactériens et les prostaglandines.

Plusieurs acteurs interviennent à différents niveaux dans le mécanisme de résorption osseuse de la parodontite.

Ainsi, la différenciation et l'activation des ostéoclastes sont modulées par le RANKL, le RANK (Receptor Activator of Nuclear Factor – κ B), et l'OPG (ostéoprotégérine) :

-**le RANKL** est exprimé par les ostéoblastes, les cellules stromales de la moëlle osseuse mais aussi d'autres cellules comme les lymphocytes, sous 2 formes : une forme membranaire et une forme circulante

-**le récepteur RANK**, lui, se retrouve principalement à la surface des ostéoclastes et de ses précurseurs ; quand il rentre en contact avec son ligand RANKL cela entraîne la différenciation et la prolifération des ostéoclastes

-**l'OPG** est un récepteur circulant pour le RANKL, elle est produite par de nombreuses cellules y compris les ostéoblastes et a pour fonction d'inhiber la résorption osseuse en se liant au RANKL empêchant la liaison de celui-ci avec son récepteur RANK situé sur les ostéoclastes.

C'est la balance entre ces 3 protéines qui oriente dans un sens ou dans l'autre le remodelage osseux (Boyle, Simonet, et Lacey 2003).

Dans la maladie parodontale, les bactéries parodontopathogènes sont à l'origine d'une réponse inflammatoire locale entraînant la production, par les cellules de l'hôte, de cytokines favorisant la résorption osseuse (PGE2, IL-1, RANKL...) et entraînant le déséquilibre de la balance entre mécanismes protecteurs et destructeurs. La sécrétion de médiateurs inflammatoires est accentuée par les LT, LB, macrophages et PMN présents sur le site de l'agression bactérienne. Tous ces médiateurs mènent à une activation de l'ostéoclastogenèse médiée par le RANKL. Il a été prouvé que l'expression du RANKL est augmentée chez les patients présentant une maladie parodontale (D. Liu et al. 2003) et que les LT et LB activés sont une des sources principales de production du RANKL dans les tissus parodontaux atteints d'une parodontite (Yasuda et al. 1998; Taubman et al. 2005; Nagasawa et al. 2007). *Pg* et *Aa* ont un mécanisme qui leur permet d'activer la production de RANKL chez les

ostéoblastes et les fibroblastes gingivaux. Quand ils sont stimulés par le LPS et l'IL-1, les ostéoblastes et les fibroblastes du desmodonte expriment le RANKL.

Les cellules immunitaires spécifiques jouent aussi un rôle dans la résorption osseuse de la maladie parodontale. En effet, les LT CD4 et CD8 sont présents dans les lésions parodontales et il a été suggéré que les LT Th1, à l'origine d'une réponse dite cellulaire, sont plutôt associés aux lésions stables tandis que les LT Th2, induisant une réponse humorale, sont plutôt associés aux lésions progressives. Dans la maladie parodontale, il existerait donc un déséquilibre dans la balance entre les cellules Th1 et Th2 ; la lignée Th1 étant plutôt protectrice tandis que les Th2 seraient plutôt inducteurs de la résorption osseuse. Cependant il a été récemment démontré que les LT régulateurs (LT reg) et les LT Th17 étaient aussi présents dans les tissus parodontaux cela suggérant un rôle de ces cellules dans l'immunorégulation de la maladie parodontale ; c'est pourquoi le paradigme de Th1 protecteur et Th2 destructeur commence aujourd'hui à être remis en cause (Gaffen et Hajishengallis 2008; Ohlrich, Cullinan, et Seymour 2009; AlShwaimi et al. 2013).

La réponse immunitaire innée joue aussi un rôle important dans la résorption osseuse. En effet, la réponse innée doit pouvoir reconnaître un large éventail de pathogènes ; pour cela elle utilise les PAMP qui sont des motifs moléculaires exprimés par les pathogènes. Les PAMP sont reconnus par les TLR qui jouent un rôle majeur dans la détection des bactéries et l'initiation de l'inflammation et de la réponse immunitaire de l'hôte. Les TLR sont exprimés par les cellules endothéliales, les cellules épithéliales, les fibroblastes gingivaux... L'interaction PAMP/TLR entraîne le recrutement de molécules spécifiques qui vont se lier à la kinase associée à l'IL-1R ; une chaîne de signalisation intracellulaire se met en place. L'activation de RANK et de la protéine-1 entraîne la transcription de gènes impliqués dans la stimulation de l'immunité innée, avec par exemple l'expression de ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) et du LFA-1 (lymphocyte function associated antigen-1) ; s'ensuit une amélioration de l'attachement et de la migration des globules blancs dans les tissus ainsi qu'une augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires. Ainsi la production d'IL-8 attire les PMN, et l'activation des cellules endothéliales, des macrophages, des cellules dendritiques et des PMN entraîne la production de MMP qui détruisent directement les tissus. Les ostéoblastes sont aussi très sensibles au PAMP, cela peut entraîner la production de médiateurs impliqués dans la résorption osseuse et l'inhibition de la production d'OPG. Le LPS de *Pi* inhibe la différenciation des ostéoblastes et la minéralisation osseuse. De manière générale, il faut retenir que les LPS bactériens entraînent l'initiation de la réponse immunitaire dans les tissus gingivaux via le recrutement de cellules inflammatoires et la production de médiateurs induisant l'activation des ostéoclastes. Les LPS induisent en particulier la production par les ostéoblastes du RANKL, d'IL-1, de PGE2 et de TNF α qui sont connus pour favoriser l'activité ostéoclastique et guider la production de MMP. Le résultat de ces mécanismes est l'altération irréversible des tissus mous et de l'os alvéolaire constituant le parodonte.

Comme cela a été démontré, de nombreux mécanismes interviennent dans l'initiation et le développement de la maladie parodontale. Ces mécanismes sont complémentaires et leur compréhension est encore incomplète à ce jour.

2.2.4 La réponse spécifique à la parodontite agressive

Si la définition clinique de la parodontite agressive diffère de la parodontite chronique, les mécanismes généraux restent globalement les mêmes. Les profils cytokiniques sont similaires au niveau des tissus atteints. Cependant on observe une augmentation du nombre de LT et une diminution des macrophages chez les patients atteints d'une parodontite agressive en comparaison avec ceux atteints de parodontite chronique. Cependant il est difficile de juger de l'importance de cette différence puisqu'elle pourrait aussi être liée à différents stades de la maladie ou à des variations génétiques. Cette différence pourrait cependant être associée soit à des profils microbiens distincts soit à la présence de bactéries fortement pathogènes en quantité réduite. La première hypothèse semble peu crédible : bactériologiquement, il n'existe pas une bactérie spécifique de la parodontite agressive comme de la parodontite chronique. Une autre hypothèse qui expliquerait les variations cliniques entre parodontite agressive et chronique pourrait être en lien avec une variabilité inter-individuelle au niveau des mécanismes de détection des pathogènes (TLR...). Une autre étude a montré que 75% des patients atteints de parodontite agressive présentaient un défaut de chimiotactisme des neutrophiles. Ce défaut qui se transmet de manière autosomique dominante pourrait aussi expliquer le rôle crucial du facteur de risque génétique dans la parodontite agressive (Dennison et Van Dyke 1997; Kulkarni et Kinane 2014).

2.2.5 Les principaux mécanismes immunopathologiques inducteurs de la destruction des tissus conjonctifs

Comme cela a déjà été évoqué au chapitre 2.2.3, la destruction des tissus conjonctifs est induite par des toxines libérées par les pathogènes parodontaux eux même, mais la principale cause de destruction conjonctive est liée à l'action de protéases libérées par les cellules de l'hôte. Dans cette partie, nous traiterons uniquement des destructions causées par les cellules de l'hôte.

Les principales protéases impliquées dans la destruction des tissus conjonctifs sont les MMP mais on retrouve aussi une implication des sérines protéases et des cystéines protéases. Les MMP sont principalement sécrétées par les cellules du parodonte elles mêmes, mais peuvent aussi être produites par des cellules hématopoïétiques y compris les monocytes et macrophages, les neutrophiles, les ostéoblastes et ostéoclastes... Ces enzymes ont le pouvoir de digérer les macromolécules de la matrice des tissus. Les MMP représentent une grande famille de protéases ; les principales sous-familles participant activement à la destruction des tissus parodontaux dans la maladie parodontale sont les collagénases que sont les MMP-1, MMP-8 et MMP-13, les gélatinases que sont les MMP-2 et MMP-9 et les stroméolysines que sont les MMP-3 et MMP-10 ; ces dernières ciblent à la fois le collagène, la gélatine de la matrice et les glycoprotéines. Ces MMP peuvent agir seules ou de manière synergique (Reynolds et Meikle 1997). La production de ces MMP est fortement induite par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, TNF- α ...). Au cours du processus de la maladie parodontale, ce sont principalement les PMN, les ostéoblastes, les fibroblastes gingivaux et les macrophages qui produisent ces MMP (Sorsa et al. 2006; Reynolds et Meikle 1997).

D'autres enzymes (élastase, cathepsine G), certains radicaux oxygénés, et les enzymes contenues dans les lysosomes libérés au cours de la phagocytose, produits par les PMN, pourraient

aussi jouer un rôle dans la dégradation des tissus mous parodontaux (Kunimatsu et al. 1997; Ujiie et al. 2007).

2.2.6 Les mécanismes immunopathologiques inducteurs de la destruction des tissus osseux alvéolaires

Comme cela a déjà été largement évoqué, la destruction osseuse, signe pathognomonique de la maladie parodontale, est médiée par la réponse immune et inflammatoire de l'hôte au challenge microbien (Hienz, Paliwal, et Ivanovski 2015). L'os des maxillaires est en remodelage permanent en réponse à des influences mécaniques, nutritives et hormonales. Une balance entre la résorption osseuse par les ostéoclastes et la formation osseuse par les ostéoblastes est nécessaire au maintien de l'homéostasie. Mais dans la parodontite, différents mécanismes perturbent cette balance en favorisant la résorption aux dépens de la formation osseuse.

La résorption osseuse est principalement effectuée par les ostéoclastes ; ce sont des cellules dérivant d'un précurseur des monocytes et macrophages. Dans la maladie parodontale, les ostéoclastes se différencient et s'activent sous l'action du M-CSF (facteur de stimulation des colonies de macrophages) et d'une augmentation du ratio RANKL/OPG, ce qui oriente fortement la balance en faveur d'une résorption osseuse plus active que la formation osseuse.

D'un point de vue biologique, suite à la production de certaines cytokines (IL-1, IL-6, TNF- α , PGE2), les ostéoblastes et les fibroblastes gingivaux se mettent à produire du RANKL, il en est de même des LB et des LT (principalement les LTh17) qui produisent massivement du RANKL dans la maladie parodontale. Le RANKL favorise la différenciation des pré-ostéoclastes en ostéoclastes matures et actifs, induisant ainsi la résorption osseuse. Si le ratio RANKL/OPG est inversé, sous l'action de certaines cytokines (TGF- β ...), il n'y a pas de différenciation des pré-ostéoclastes ; ceux-ci entrent alors en apoptose et ne mettent donc pas en place de résorption osseuse (Boyle, Simonet, et Lacey 2003; Hienz, Paliwal, et Ivanovski 2015).

Dans la maladie parodontale, tout concourt à favoriser un déséquilibre de la balance RANKL/OPG favorable à la résorption osseuse. L'agression bactérienne permanente inhérente à la maladie parodontale entraîne la mise en place d'un environnement cytokinique pro-inflammatoire (IL-1, IL-6, PGE2, TNF- α) ; or ces mêmes cytokines sont à l'origine de la production du RANKL. Un mécanisme similaire est décrit pour la production du M-CSF, induite par ces mêmes cytokines pro-inflammatoires et dont l'action permet la différenciation du précurseur commun aux ostéoclastes et monocytes/macrophages (Bouchard, Frémont, et Sanz 2014).

La découverte, il y a plusieurs années, de l'axe RANK/RANKL/OPG a permis une meilleure compréhension du rôle des ostéoclastes dans la biologie du remodelage osseux. Cela pourrait permettre, dans les années à venir, de mettre en place des thérapeutiques ciblant spécifiquement cet axe afin de limiter la résorption osseuse pathologique caractéristique de certaines maladies, comme la maladie parodontale (Boyle, Simonet, et Lacey 2003).

2.2.7 Le rôle des lymphocytes dans la maladie parodontale

2.2.7.1 La destruction progressive implique une évolution des types cellulaires

Page et Schroeder ont observé et décrit différentes étapes dans les lésions de la maladie parodontale au niveau anatomopathologique. On observe ainsi que les types cellulaires évoluent en parallèle de l'évolution de la lésion et donc de la maladie parodontale. Ainsi :

-au départ, au stade de lésion initiale, on retrouve principalement des PMN dans les tissus parodontaux atteints

-puis au stade de lésion précoce aussi appelée lésion stable, l'infiltrat est principalement composé de lymphocytes et surtout de LT avec une prédominance de LT CD4

-finalement avec l'évolution de la lésion au stade de lésion établie (puis de lésion avancée), ce sont les LB qui deviennent majoritaires (R. C. Page et Schroeder 1976; R. C. Page et al. 1997).

Ces constatations semblent indiquer un rôle spécifique de ces différentes cellules immunitaires dans la pathogenèse et l'évolution de la maladie. Dans ce chapitre, nous nous intéresserons particulièrement au rôle des lymphocytes dans la maladie parodontale.

2.2.7.2 Le modèle de réponse Th1 protectrice / Th2 destructrice

Comme nous l'avons déjà précisé, il existe plusieurs sous populations de LT helper ; parmi ceux là 2 lignées ont longtemps été considérées comme cruciales dans la compréhension de l'immunopathologie de la maladie parodontale ; il s'agit des LTh1 et LTh2 dont la différenciation et la régulation réciproque ont déjà été décrites plus haut. Pendant longtemps la lignée Th1 médiant une réponse immune dite cellulaire a été associée à la gingivite et à la lésion parodontale stable ; ceci était corrélé à une forte présence des LT dans les infiltrats inflammatoires retrouvés au niveau des sites pathologiques, tandis que la lignée Th2 était plutôt associée à une lésion progressive, car les Th2 favorisent une réponse humorale faisant intervenir les plasmocytes producteurs d'Ig. On parle fréquemment de modèle dit « Th1 protecteur / Th2 destructeur ». Pour expliquer l'orientation vers Th1 ou Th2, il avait été proposé que lors d'une forte réponse innée, les macrophages et PMN produisaient plus d'IL-12 orientant la réponse vers la lignée Th1. A contrario, lors d'une réponse immune innée plus faible, la lignée Th2 était privilégiée (car les PMN produisent moins d'IL-12), cette lignée favorisant une réponse humorale ; cela explique la forte présence de LB dans les lésions parodontales en progression (Gaffen et Hajishengallis 2008).

Il semblerait aussi que l'Ag microbien puisse, au moins partiellement, orienter la différenciation Th1/Th2 et donc potentiellement influencer l'évolution de la maladie. En effet, il a été démontré que sur une souris immunisée uniquement avec *Pg*, les clones de LT présents avaient uniquement un profil Th1 ; alors qu'une immunisation avec Fn puis *Pg* était à l'origine d'un profil strictement Th2 (Choi et al. 2000).

2.2.7.3 Le rôle du lymphocyte Th17

La découverte récente de l'existence d'une autre lignée de LTh appelés LTh17 a remis en cause le modèle « Th1 protecteur/Th2 destructeur ». Les LTh17 sont appelés ainsi car ils produisent la cytokine IL-17. Cette cytokine joue un rôle important dans le développement des maladies auto-immunes et inflammatoires (Krstic et al. 2015). L'IL-17 induit la production d'IL-6, IL-8 et PGE2 ; il semblerait aussi que l'IL-17 affecte l'activité des ostéoclastes en favorisant leur activité résorptive tout en favorisant la mise en place de la réponse immune humorale. De plus, l'activation des monocytes par le TLR-2 semble être un stimulus efficace pour la différenciation des Th17. Il a été observé que le taux d'expression d'IL-17 était augmenté dans les tissus atteints de lésion parodontale. Tous ces éléments laissent à penser que les Th17 via leur production d'IL-17 jouent un rôle dans le mécanisme de la maladie parodontale (Ohlrich, Cullinan, et Seymour 2009). Cependant certaines études tendent à présenter l'IL-17 comme une cytokine protectrice puisque les souris déficientes en récepteur à l'IL-17 sont plus susceptibles à la perte osseuse alvéolaire induite par *Pg* ; cela serait cohérent avec le rôle protecteur des LTh17 face aux bactéries extracellulaires et aux champignons (Gaffen et Hajishengallis 2008). Une étude de 2016 tend, quant à elle, à prouver qu'il existe une relative synergie entre LTh1 et LTh17, ayant un rôle délétère pour les tissus parodontaux. En effet, cette étude a montré que le taux de LTh1 et de LTh17 était plus élevé chez les patients atteints de parodontite chronique que chez les témoins. De plus, la même étude a montré une association positive entre le taux de LTh1 et la profondeur de sondage, et aussi une corrélation positive entre le taux de LTh17 et la profondeur de sondage. Ces résultats semblent attribuer un rôle aux LTh17 associés aux LTh1 dans la pathogenèse de la parodontite chronique (Chen et al. 2016).

2.2.7.4 Le rôle des lymphocytes T régulateurs

Une autre population de LT joue un rôle dans la modulation de la maladie parodontale, il s'agit des LTreg. Ces cellules semblent jouer un rôle dans la régulation de la maladie parodontale puisqu'on retrouve une augmentation du taux de LTreg (associée à une augmentation de la proportion des cellules B) chez les patients atteints de parodontite (Nakajima et al. 2005). Cette augmentation de la présence de Treg chez les patients atteints de parodontite pourrait être une tentative de l'hôte de restreindre sa réponse immunitaire, qui dans ce cas est destructrice (Thivichon-Prince et Keller 2012). En effet, une étude a montré, que chez une souris traitée avec un traitement anti-LTreg et sur laquelle on a induit une parodontite expérimentale, la perte osseuse alvéolaire était accentuée et les taux de cytokines pro-inflammatoires et de RANKL augmentés. Cette donnée semble induire que les LTreg ont pour rôle d'atténuer la sévérité et la progression de la maladie parodontale (Garlet et al. 2010). Les connaissances sur le rôle précis des LTreg sont encore limitées à ce jour.

Gaffen propose un modèle synthétisant le rôle des LT dans la maladie parodontale (Figure 10).

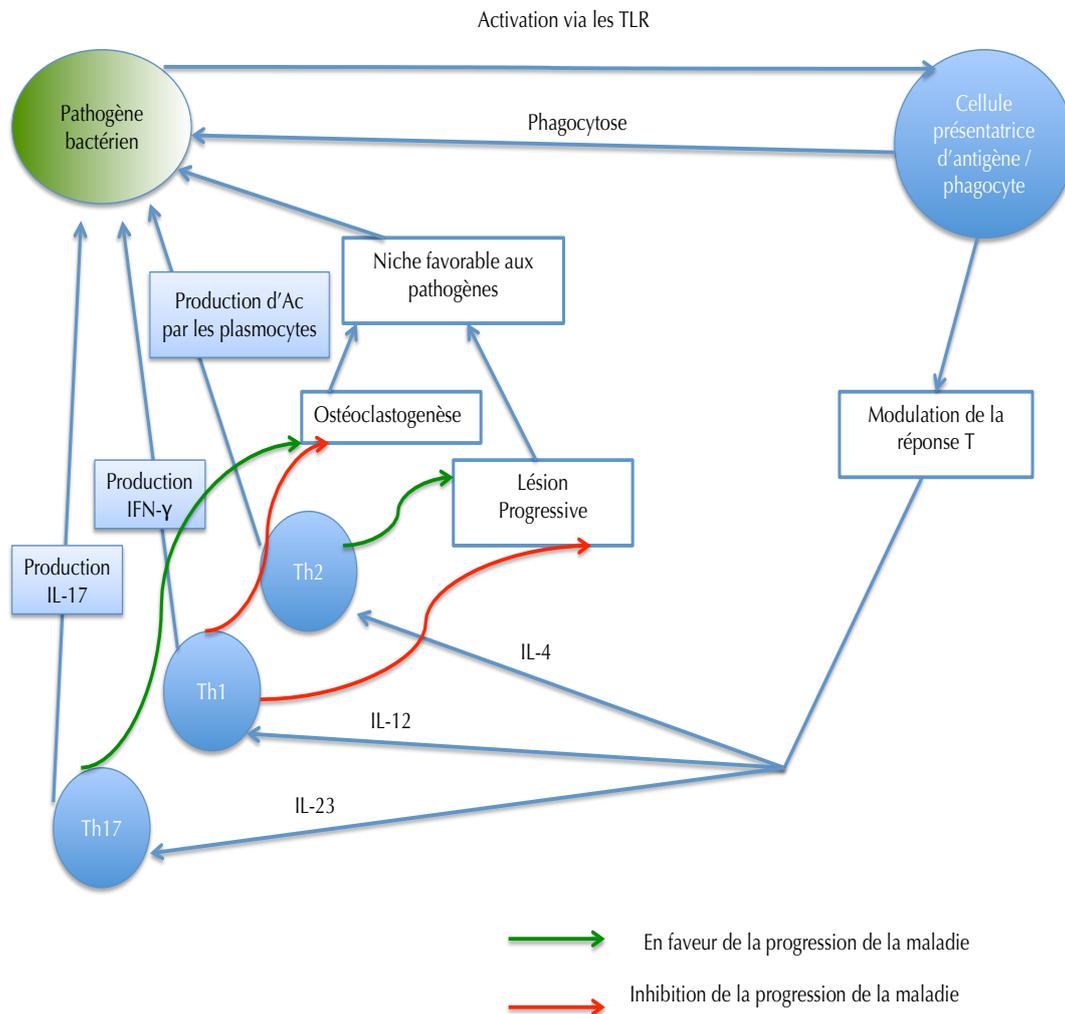


Figure 10 : Rôle des lymphocytes T dans la pathogenèse de la maladie parodontale d'après Gaffen et Hajishengallis (Gaffen et Hajishengallis 2008)

2.2.7.5 Le rôle des lymphocytes B

Le rôle des LB dans la maladie parodontale a été moins étudié que celui des LT. Cependant une récente revue de la littérature met en exergue le rôle crucial du LB dans la parodontite et le potentiel intérêt d'utiliser le LB comme cible pour les nouveaux traitements des parodontites sévères (Zouali 2017)

Il a été observé depuis de nombreuses années que les LB étaient prédominants dans les tissus parodontaux des patients atteints de parodontite. Ainsi, Page et Schroeder constatent que la progression de la maladie parodontale, voire la transition du stade de gingivite à celui de parodontite, est associée à une forte infiltration de LB dans les tissus parodontaux touchés (R. C. Page et Schroeder

1976). Il a aussi été constaté que, dans les lésions parodontales, les plasmocytes représenteraient jusqu'à 50% de l'ensemble des cellules présentes, et les autres types de cellules B, 18% ; ces données sont valables tant pour les parodontites agressives que pour les parodontites chroniques (Berglundh et Donati 2005). La transition de gingivite modérée à parodontite serait aussi associée à une modification de l'infiltrat inflammatoire au niveau de la lésion parodontale ; ainsi l'infiltrat serait, dans un premier temps, principalement constitué de lymphocytes ne présentant pas Ig ; puis la population cellulaire serait remplacée par des lymphocytes IgG+ et IgM+ et par des plasmocytes ; ceci serait tout à fait cohérent avec les données précédemment citées (Mackler et al. 1977). Par ailleurs, les LB sont plus présents dans les infiltrats des sites en activité que dans ceux des sites sains ou stables, mettant en évidence une corrélation entre la proportion des LB dans les lésions parodontales et la sévérité de la maladie (Seymour et al. 1983; Stoufi et al. 1987).

De plus, les plasmocytes sont de puissants producteurs de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6...) mais aussi de MMP dont le rôle dans la pathogenèse de la maladie parodontale a été largement évoqué au chapitre 2.2.5.

Il existe par ailleurs un lien étroit entre LB et remodelage du système squelettique. D'une part, nous savons que les LB activés sont de puissants producteurs de RANKL (Kawai et al. 2006). Le rôle primordial du RANKL dans la résorption osseuse pathognomonique de la maladie parodontale a déjà été démontré dans ce document au chapitre 2.2.3. Dans les lésions parodontales, le taux de LB exprimant RANKL est plus important (environ 90%) que le taux de LT exprimant RANKL (50 à 60%) également puissants producteurs de RANKL ; ceci pourrait suggérer que les LB ont un rôle plus important que les LT dans la résorption osseuse médiée par RANKL dans la maladie parodontale (Abe et al. 2015). Une étude récente a étudié le rôle du RANKL dans sa forme soluble sur l'ostéoclastogénèse dans la maladie parodontale. En effet, il a été constaté que le RANKL était présent, dans les lésions parodontales, à la fois sous forme membranaire exprimée par les lymphocytes et sous forme soluble. Or il existe une enzyme appelée TACE (TNF- α converting enzyme) qui a la capacité d'une part de cliver le précurseur du TNF- α libérant ainsi du TNF- α mature et d'autre part de cliver le RANKL membranaire afin de le libérer sous sa forme soluble. Le TNF- α et le RANKL soluble sont présents fortement dans les lésions parodontales, ce qui laisse penser que l'expression de TACE sur les lymphocytes est à l'origine de l'induction de l'ostéoclastogénèse secondaire à la libération de RANKL soluble. Cette hypothèse est confirmée, dans cette même étude, par le fait que, sur des cultures in vitro de lymphocytes traités par Ac anti-TACE ou Ac anti-RANKL, on observe une nette réduction de l'ostéoclastogénèse ; ceci indique que le RANKL soluble libéré grâce à TACE possède une importante activité ostéoclastogénique. Nous savons par ailleurs que, dans la lésion parodontale, les LB expriment plus le RANKL et TACE comparativement aux LT et aux monocytes. Nous pouvons donc conclure que le clivage du RANKL médié par l'enzyme TACE produite par les lymphocytes activés, et en particulier les LB, peut promouvoir l'ostéoclastogénèse dans la parodontite (Kanzaki et al. 2016). Le résultat de cette étude confirme donc le rôle crucial du LB dans l'ostéoclastogénèse médiée par RANKL et donc indirectement dans la lyse osseuse caractéristique de la maladie parodontale.

D'autre part, en plus de se développer à proximité des cellules clés de l'homéostasie osseuse, soit dans la moelle osseuse, les LB partagent avec elles de nombreuses cytokines. En effet, il est démontré que certaines cytokines cruciales pour le remodelage osseux, sont essentielles à la différenciation des LB ; c'est le cas de l'IL-7 et du RANKL. Ainsi les souris présentant une sur-expression d'IL-7 présentent une augmentation du nombre de cellules pré-B et une augmentation de la résorption osseuse. Il a aussi été observé que les souris déficientes en récepteur à l'IL-7 présentaient une diminution du développement des LB et une augmentation de la densité osseuse minérale. Des souris déficientes en RANKL présentent un os ostéoporotique et un blocage dans la différenciation des LB entre les pro-B et pré-B (Manilay et Zouali 2014). De plus, il semblerait que l'IL-7 produite par les LB soit un activateur de l'ostéoclastogénèse médiée par les LT ; cette démonstration n'a pour l'instant été validée qu'*in vitro* (Colucci et al. 2005). Dans le cas particulier de la parodontite, il semble aussi que la présence de LB spécifiques des bactéries parodontopathogènes soit indispensable à la mise en place de la résorption osseuse caractéristique de la parodontite (Harada et al. 2006). D'autres études suggèrent que des LB spécifiques de pathogènes, comme *Aa*, pourraient contribuer à l'accumulation de RANKL chez des animaux immunisés avec *Aa* ce qui conduit à l'augmentation de la différenciation des ostéoclastes (Han et al. 2006).

Une étude portant sur BAFF a démontré que le taux de BAFF dans la salive des patients présentant une atteinte parodontale secondaire à un syndrome de Gougerot-Sjögren présentait une corrélation positive avec l'atteinte parodontale étudiée ici via la profondeur de poche (J.-O. Pers et al. 2005).

Une autre étude s'est appuyée sur 2 cytokines essentielles à la survie des LB (APRIL et BAFF). Les chercheurs ont remarqué que les taux de ces 2 cytokines étaient augmentés dans la gencive des patients atteints de parodontite, cela étant bien sûr corrélé à l'augmentation du nombre de LB dans les lésions parodontales. De plus, ils ont aussi observé que la neutralisation de ces 2 cytokines diminuait le nombre de LB dans les tissus gingivaux et inhibait la perte osseuse, chez la souris. Cela semble prouver que les LB et certaines cytokines contribuent à la perte osseuse dans la maladie parodontale. Cependant, des traitements anti-APRIL et anti-BAFF n'ont pas réussi à inhiber la résorption osseuse chez des souris déficientes en LB ce qui indique que ces cytokines nécessitent la présence de LB pour être effectives (Abe et al. 2015). De plus, la même étude a démontré que APRIL et BAFF contribuent à la résorption osseuse chez les patients atteints de parodontite chronique en facilitant la survie des LB exprimant RANKL (Abe et al. 2015).

D'autre part, il a été démontré que des réactions auto-immunes sont impliquées dans la parodontite via la présence d'auto-Ac et de cellules B auto-réactives. En effet, un taux élevé d'Ac anti-collagène de type I a été retrouvé dans le sang des patients atteints de parodontite en comparaison avec des témoins sains. Cette augmentation des Ac anti-collagène de type I est aussi retrouvée au niveau des tissus gingivaux atteints et dans le fluide gingival. D'autres études ont également mis en évidence des Ac dirigés contre certaines protéines du desmodonte. Des Ac anti-phospholipides ont aussi été retrouvés en plus grande quantité chez des patients atteints de parodontite chronique ou agressive généralisée que chez les patients témoins ou atteints de parodontite agressive localisée. Il est intéressant de noter que cette augmentation des Ac anti-phospholipides chez les patients atteints de

parodontite pourrait expliquer l'augmentation du risque de développer des pathologies cardiovasculaires chez ces patients (Berglundh, Donati, et Zitzmann 2007).

Il existe plusieurs hypothèses pour expliquer la présence d'auto-Ac dans la parodontite ; et en particulier, la présence d'auto-Ac dirigés contre le collagène de type I, principal constituant du parodonte. D'une part, on a constaté que la production d'IgG est généralement élevée dans la maladie parodontale ; cela serait en lien avec une stimulation prolongée du système immunitaire par les bactéries parodontopathogènes. En effet, ces bactéries présentent des PAMP qui vont être reconnus par les TLR situés sur diverses cellules dont les LB ce qui entraîne l'activation de la réponse immune adaptative et promeut l'activation de LB autoréactifs. D'autre part, la destruction tissulaire induite par les bactéries parodontopathogènes est à l'origine de la libération de nombreux fragments tissulaires pouvant être reconnus comme des Ag par les cellules du système immunitaire. L'agression par des pathogènes qui est à l'origine de la production d'Ac entraîne le même mécanisme de destruction tissulaire et de libération de fragments pouvant être reconnus à tort comme appartenant au non-soi. Dans un second temps, les auto-Ac peuvent se lier à des fragments de collagène formant un complexe immun à l'origine de l'activation du complément, du recrutement de PMN exprimant le récepteur au fragment Fc des IG, et de la stimulation des cellules T perpétuant ainsi la destruction parodontale (Seymour et Greenspan 1979; Ftis, Singh, et Dolby 1986; Hirsch et al. 1988; Anusaksathien et al. 1992).

Une autre raison de parler d'auto-immunité dans la maladie parodontale est liée à la forte présence de LB CD5+ chez les patients atteints de parodontite. Les LB CD5+ sont une sous population de LB1 particulièrement impliqués dans les réactions d'auto-immunité (par leur production d'auto-Ac) et caractérisés par la présence du marqueur CD5. Plusieurs études ont montré que le taux de LB CD5+ dans le sang des patients atteints de parodontite était largement supérieur (5 à 6 fois) à celui retrouvé chez les patients témoins. Dans la population des patients atteints de parodontite, les LB CD5+ représentaient de 40 à 50 % de l'ensemble des LB circulants. Il a aussi été démontré que ce taux de LB CD5+ ne diminuait pas après la thérapeutique parodontale ; ainsi le taux de LB CD5+ circulant serait plutôt un marqueur de susceptibilité à la maladie parodontale plutôt qu'un indicateur de sa présence. La présence de LB CD5+ a aussi été détectée dans les lésions parodontales. De plus, le taux d'IL-10, facteur de croissance pour les cellules B CD5+ est augmenté en cas de parodontite ; cela semble impliquer que les pathogènes parodontaux déclenchent une réponse à l'IL-10 conduisant à la prolifération de LB CD5+ et la production d'auto-Ac (Berglundh, Donati, et Zitzmann 2007; Donati et al. 2009). De plus, il a aussi été démontré que les LB CD5+ quand ils sont modifiés par l'Epstein Barr Virus sécrètent beaucoup plus d'IgM et d'IgG que les LB conventionnels. Or on retrouve fréquemment des cellules infectées par l'Epstein Barr Virus dans les lésions parodontales (Slots et al. 2006). De l'ensemble de ces éléments, nous pouvons conclure que les LB CD5+ jouent un rôle important dans la réponse immune observée principalement chez les patients atteints de parodontite agressive ; ils sont la principale source d'auto-Ac détectés dans les lésions parodontales et ces auto-Ac pourraient contribuer à la dégradation des tissus parodontaux (Zouali 2017).

Un élément supplémentaire à prendre en compte dans le domaine de l'auto-immunité en parodontologie est la découverte récente d'un taux élevé d'auto-Ac dirigés contre les peptides citrulinés. Ces Ac sont des marqueurs spécifiques utilisés dans le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde, maladie auto-immune bien connue. Il a aussi été observé que leur taux diminuait après

mise en place d'une thérapeutique parodontale. Ces éléments confirment les données existantes qui indiquent que parodontite et polyarthrite rhumatoïde partagent certains mécanismes ; les observations de cette étude conduisent même à penser que le traitement des affections parodontales pourrait limiter le risque de développer secondairement une polyarthrite rhumatoïde (Lappin et al. 2013).

Une autre étude a montré que les souris infectées par *Pg* auxquelles on a inoculé de l'IL-33 (cytokine de la famille de l'IL-1) présentaient des LB avec une expression augmentée de RANKL associée à une exacerbation de la résorption osseuse. L'IL-33 seule ne suffit pas à augmenter la production de RANKL par les LB, mais associée à *Pg* cette production est très nettement augmentée. Cette donnée semble induire un rôle primordial du LB dans la perturbation du remodelage osseux dans la parodontite (Malcolm et al. 2015).

Une autre étude, réalisée sur des souris, a montré que les souris déficientes en LB et infectées par *Pg* étaient protégées contre la perte osseuse alvéolaire induite par *Pg* contrairement aux souris témoins. Cette donnée suggère un rôle crucial des LB dans la pathogénie de la parodontite (Oliver-Bell et al. 2015). D'autant plus qu'une autre étude a démontré que les patients traités par thérapie anti-LB pour une polyarthrite rhumatoïde voyaient une amélioration de leur état parodontal tant au regard de l'inflammation que de la destruction osseuse (Coat et al. 2015).

Toutes ces données mettent en exergue le rôle crucial des LB dans la pathogénèse de la maladie parodontale. Ainsi, les LB ou leurs produits pourraient constituer une cible thérapeutique. En effet, on pourrait envisager des thérapeutiques dont le but serait d'inhiber RANKL ou APRIL afin de diminuer la résorption osseuse caractéristique de la maladie parodontale. Ces principes thérapeutiques pourraient aussi s'appliquer à d'autres pathologies systémiques présentant un défaut de remodelage osseux associé à un dysfonctionnement des ostéoclastes et à une inflammation tissulaire liée aux LB (Zouali 2017).

2.3 Les facteurs bactériens impliqués dans l'évasion des systèmes de défense et dans la pathogénèse de la maladie parodontale

2.3.1 Les mécanismes bactériens impliqués dans la pathogénèse des maladies parodontales

Les bactéries parodontopathogènes ont un pouvoir pathogène qui est spécifique à chaque espèce ; on peut aussi parler de facteur de virulence. Un facteur de virulence correspond à un ensemble de propriétés uniques qui permettent à l'espèce bactérienne de coloniser sa cible, de s'y multiplier, de se défendre contre les défenses de l'hôte et de causer des dommages tissulaires (S. S. Socransky et Haffajee 1991).

Certains facteurs de virulence interviennent au niveau de la colonisation. C'est le cas des adhésines bactériennes qui sont des molécules d'adhésion, spécifiques, permettant aux bactéries de se fixer aux surfaces dentaires ou parodontales ainsi qu'aux substances produites par l'hôte, ou à d'autres bactéries

déjà fixées ; on parle dans ce cas de coagrégation (S. S. Socransky et Haffajee 1991). Certaines espèces bactériennes possèdent aussi des facteurs de virulence leur permettant de dépasser les mécanismes de défense de l'hôte. Par exemple, *Pg*, *Pi* et *Capnocytophaga* possèdent des protéases spécifiques des IgG et IgA permettant de détruire ces anticorps ; d'autres espèces bactériennes ont le pouvoir d'échapper aux anticorps en changeant leurs Ag de surface (Gibbons et Qureshi 1980) ou en imitant les Ag de l'hôte (Mergenhagen et al. 1987). Certaines bactéries comme *Aa* et *Pg* peuvent aussi produire des leucotoxines qui inhibent la phagocytose. *Aa* produit aussi des leucotoxines qui affectent les PMM, les monocytes, qui tuent les lignées de LT et LB matures ou qui facilitent la suppression non létale des cellules immunitaires (Baehni et al. 1979; Simpson, Berthold, et Taichman 1988; Rabie, Lally, et Shenker 1988).

D'autres facteurs de virulence bactérienne interviennent dans des mécanismes à l'origine de dommages tissulaires au niveau du parodonte. Dans un premier temps, les bactéries peuvent envahir les tissus parodontaux. Il semble qu'il existe plusieurs modes d'invasion ; soit les bactéries envahissent de manière massive les tissus entraînant l'altération ou la destruction de l'épithélium, de la matrice extracellulaire ; ceci nécessite que les bactéries présentent une motilité active et des propriétés leur permettant d'échapper à la phagocytose ; soit les bactéries se multiplient dans les cellules épithéliales (S. S. Socransky et Haffajee 1991). Les bactéries peuvent aussi produire des substances entraînant directement ou indirectement la destruction tissulaire. Ainsi certaines substances d'origine bactérienne peuvent endommager ou détruire les tissus directement (par exemple le sulfure d'hydrogène) ; d'autres peuvent entraîner le relargage, par les cellules des tissus, de facteurs biologiquement actifs (comme les LPS) ; d'autres encore peuvent affecter la matrice extracellulaire. Il est important de noter que le lien entre facteurs bactériens et effet sur les tissus parodontaux n'est pas aussi simple que cela ; en effet, un facteur de virulence pourrait entraîner plus qu'un seul effet. Cependant, les études semblent mettre en lumière le rôle crucial de *Pg* et *Aa* dans la pathogénèse de la maladie parodontale (S. S. Socransky et Haffajee 1991). Ainsi *Pg* produit un large spectre de protéases conduisant à la dégradation du collagène, des Ig et la fibronectine (Gibbons et MacDonald 1961; Kilian 1981; Lantz et al. 1986; Wikström et Linde 1986; Larjava et al. 1987; Sato et al. 1987; Birkedal-Hansen et al. 1988; Smalley, Birss, et Shuttleworth 1988; Winkler et al. 1988; Grenier, Mayrand, et McBride 1989; Jin et al. 1989; Smalley, Shuttleworth, et Birss 1989; Lantz et al. 1990).

Il est certain que l'ensemble de ces facteurs bactériens joue un rôle majeur dans la pathogénèse de la maladie parodontale mais il est difficile d'en hiérarchiser le rôle. En effet, les données suggèrent que les facteurs bactériens peuvent virtuellement affecter tous les types cellulaires présents dans le parodonte. Cependant la destruction parodontale étant relativement limitée, cela suggère que ces substances ne sont probablement pas toujours produites ou n'atteignent pas toujours leur cible .

2.3.2 L'activité bactérienne de destruction tissulaire

Comme cela a déjà été évoqué au chapitre 2.3.1, les bactéries produisent des substances qui peuvent :

- être à l'origine d'une destruction directe des tissus parodontaux
- entraîner la production par les cellules de l'hôte de substances actives détruisant les tissus parodontaux
- activer le système immunitaire dont certains médiateurs sont à l'origine de la destruction tissulaire

2.3.2.1 La destruction directe par des substances d'origine bactérienne

Certaines bactéries comme *Pg*, *Pi*, *Aa* et bien d'autres peuvent produire des enzymes s'attaquant aux protéines constitutives des tissus parodontaux. Cette dégradation protéolytique des tissus permet aux bactéries parodontopathogènes de progresser vers les couches plus profondes du parodonte ; elle permet aussi aux bactéries d'accéder à des nutriments nécessaires à leur survie.

De plus certaines bactéries, comme *Aa*, ont la capacité de produire des toxines comme la leucotoxine qui crée des pores dans la membrane des PMN, des monocytes et de certains lymphocytes. Les PMN représentant la première ligne de défense du parodonte, cela permet à *Aa* de se protéger contre la phagocytose et la bactéricidie.

Enfin certaines bactéries comme *Aa* et *Pg* possèdent des hémolysines qui en détruisant les hématies libèrent du fer (via la libération d'hémoglobine), facteur essentiel à la croissance bactérienne (Kuramitsu et Ellen 2000).

2.3.2.2 La destruction tissulaire indirecte d'origine bactérienne

Sur la membrane externe des bactéries Gram négatives se trouvent des LPS. Le LPS peut induire la production d'enzymes lytiques par diverses cellules comme les macrophages et les fibroblastes. Ces enzymes sont les MMP qui clivent les constituants de la matrice extracellulaire.

Le LPS peut aussi induire la production de cytokines pro-inflammatoires qui vont avoir une action délétère sur les tissus parodontaux (Wang et Ohura 2002).

2.3.2.3 L'activation de la réaction inflammatoire par les bactéries parodontopathogènes

Les bactéries parodontopathogènes via leurs Ag bactériens peuvent activer la réponse du système immunitaire et entraîner la production de cytokines de l'inflammation comme l'IL-1 β et le TNF α . En réponse à ces médiateurs, certaines cellules (comme les PMN, les fibroblastes, les cellules endothéliales...) mettent en place des mécanismes de destruction tissulaire via les MMP entre autres.

En parallèle, suite à la stimulation bactérienne, des mécanismes endogènes de destruction bactérienne se mettent en place via la voie phagocytaire. En effet, les fibroblastes, les macrophages et les cellules épithéliales peuvent phagocyter des fragments de fibres de collagène.

De plus, l'IL-1 β est aussi à l'origine de la production de PGE₂, puissants médiateurs de la résorption osseuse, à l'origine de l'augmentation de la perméabilité vasculaire et de la chimiotaxie des leucocytes (Charon 2010).

2.3.3 Les capacités bactériennes de contournement du système immunitaire

2.3.3.1 La membrane bactérienne

L'un des premiers moyens utilisé par les pathogènes parodontaux pour contourner le système immunitaire est lié à une de leurs caractéristiques structurales majeures. En effet, les bactéries parodontopathogènes sont majoritairement des bactéries à Gram négatif, ces bactéries ont pour caractéristique notable de posséder une membrane externe en plus de leur membrane cytoplasmique. Ces bactéries ont la capacité de produire, à partir de leur membrane externe, des vésicules. Ces vésicules possèdent sur leur surface l'ensemble des marqueurs spécifiques à leur bactérie d'origine (LPS, adhésines...) et, à l'intérieur de la vésicule, l'ensemble des enzymes synthétisées par la bactérie d'origine. De ce fait, elles peuvent être détectées par le système immunitaire et piéger une grande partie des anticorps dirigés contre la bactérie à l'origine des vésicules créant ainsi une diversion permettant à la bactérie d'origine d'échapper à la phagocytose dépendante de l'opsonisation. Ces vésicules peuvent aussi dégrader certains agents actifs du système immunitaire via leurs enzymes (Mayrand et Grenier 1998). Il semblerait, aussi, que les vésicules libérées par *Pg* pourraient protéger d'autres souches bactériennes, comme *Capnocytophaga*, de l'action du complément via le rôle de protéases dégradant le complément comme cela sera exposé plus loin (Grenier et Bélanger 1991).

2.3.3.2 La leucotoxine

Certains produits bactériens, comme la leucotoxine produite par *Aa*, représentent un moyen, pour les pathogènes parodontaux, d'échapper au système immunitaire. En effet, la leucotoxine est à l'origine de la mort cellulaire des monocytes, des PMN et des LT ; elle agit en formant des pores dans la membrane de certains leucocytes entraînant la rupture de l'homéostasie et donc la mort cellulaire. Le principal rôle de la leucotoxine semble être de protéger *Aa* de la phagocytose par les PMN mais ce rôle semble varier en fonction du niveau d'expression de cette toxine. De plus, il a été démontré qu'*Aa* possédait aussi des propriétés cytotoxiques à l'égard des PMN. Il est donc probable que la leucotoxine joue un rôle crucial dans la protection contre la phagocytose mais ce rôle varie en fonction des souches d'*Aa* et des taux d'expression de la toxine ; et il existe d'autres mécanismes complémentaires qui protègent aussi *Aa* contre la phagocytose par les PMN (Herbert, Novince, et Kirkwood 2016).

2.3.3.3 Les protéases spécifiques des Immunoglobulines

Certaines enzymes protéolytiques bactériennes peuvent détruire des acteurs importants du système immunitaire (Ig).

Il a été démontré que des protéases produites par certaines bactéries parodontopathogènes peuvent dégrader des Ig. Ainsi, Kgp, une cystéine protéase produite par *Pg*, peut dégrader les IgG1 se trouvant dans le fluide gingival supprimant ainsi l'activité antibactérienne anticorps-dépendante au niveau local et en particulier l'activité antibactérienne ciblée sur *Pg* (Guentsch et al. 2013). Cette protéase est aussi

capable de dégrader les IgG3, la dégradation de ces 2 types d'IgG a été associée à la diminution de la phagocytose opsonine-dépendante par les PMN (Vincent et al. 2011). Il a aussi été démontré que *Capnocytophaga* et *Pi* peuvent cliver l'IgA1 (Frandsen et al. 1995).

2.3.3.4 Les protéases dégradant le complément

Certaines cystéines protéases, aussi appelées gingipaines, produites par *Pg* peuvent inhiber le complément. En effet, il a été démontré que certaines gingipaines (Kgp, HRgpA et RgpB) peuvent inhiber la voie classique, la voie alterne et la voie des lectines d'activation du complément en dégradant le composant C3. Ce composant a un rôle central dans la cascade du complément puisqu'il se situe à la réunion des 3 voies d'activation possibles. De plus, le complément intervient dans la destruction non spécifique des pathogènes via un mécanisme appelé opsonisation induite par le complément; ce mécanisme est caractérisé par le recouvrement d'un pathogène par le C3b qui est un facteur du complément permettant ainsi sa reconnaissance par les cellules phagocytaires. Dans le cas présent, suite à l'inactivation du C3, il n'y a pas d'opsonisation. *Pg* utilise donc cette faculté de ses gingipaines pour s'auto-protéger de l'opsonisation. La gingipaine HRgpA a aussi la faculté de bloquer la circulation de la protéine clivant le C4b au niveau de la surface cellulaire de *Pg*, ceci entraînant l'inhibition de 2 voies d'activation du complément (voie classique et voie des lectines). Tous ces mécanismes sont à l'origine de l'inhibition de l'action lytique du complément; cette action est bénéfique pour *Pg* mais aussi pour l'ensemble des bactéries parodontopathogènes. Ce constat corrobore le probable rôle clé de *Pg* dans la pathogénie de la maladie parodontale (Hajishengallis et Lamont 2014).

2.3.3.5 L'internalisation dans les cellules de l'hôte

Il a été démontré que certaines bactéries, non contentes de pouvoir dégrader les tissus parodontaux, peuvent aussi les envahir et résider dans le cytoplasme des cellules constitutives du parodonte (S. S. Socransky et Haffajee 1991). Ces mécanismes d'envahissement ou d'internalisation permettent à ces bactéries d'échapper au système immunitaire en dissimulant leurs Ag dans des cellules de l'hôte, donc considérées par celui-ci comme non pathogènes. Ces mécanismes pourraient aussi perturber l'homéostasie des cellules qu'elles colonisent; ainsi, il a été démontré que quand *Pg* a envahi les cellules épithéliales, celles-ci ne peuvent plus produire d'IL-8 qui est à l'origine du recrutement et de l'activation des PMN. Ce mécanisme pourrait entraîner une paralysie locale de la réponse immunitaire aux pathogènes parodontaux (Darveau, Tanner, et Page 1997). Certaines espèces peuvent aussi échapper aux anticorps en changeant leurs Ag de surface ou en imitant les Ag de l'hôte (Gibbons et Qureshi 1980; Mergenhagen et al. 1987).

3 L'ETUDE MENEES DANS LE SERVICE D'ODONTOLOGIE DU CHRU DE BREST

3.1 Objectif de l'étude

La maladie parodontale est une pathologie multifactorielle, dont l'étiologie principale est le facteur bactérien, mais qui fait aussi intervenir l'environnement et la réponse de l'hôte. En effet, la flore buccale parodontopathogène ne suffit pas à justifier la mise en place de la maladie.

La prévalence de cette maladie est difficilement quantifiable au niveau mondial ; elle varie en fonction de l'origine ethnique et l'usage de différentes classifications rend difficile la généralisation des résultats. Il faut cependant retenir que la prévalence reste importante puisqu'elle atteint parfois 60% dans certaines études (Irfan, Dawson, et Bissada 2001; Mattout, Bourgeois, et Bouchard 2006). De plus, l'OMS présente la maladie parodontale comme la deuxième maladie la plus fréquente au niveau de la cavité buccale.

L'importante prévalence de la maladie, ainsi que les mécanismes complexes et pour certains encore mal connus, nous ont incité à approfondir nos connaissances dans le rôle fondamental que joue l'hôte dans le développement de cette maladie.

De nombreuses études ont porté sur l'anatomopathologie des lésions parodontales ; elles montrent que la présence des LB dans les lésions parodontales est associée à l'évolution de la maladie parodontale voire à la transition du stade de gingivite au stade de parodontite (caractérisée par une perte osseuse alvéolaire) (R. C. Page et Schroeder 1976; R. C. Page et al. 1997; Berglundh et Donati 2005). Il est, de plus, bien connu que les LB sont de puissants producteurs de RANKL et d'IL-7, médiateurs induisant directement ou indirectement l'ostéoclastogenèse, phénomène crucial et nécessaire à la mise en place de l'alvéolyse caractéristique de la parodontite (Colucci et al. 2005; Kawai et al. 2006; Manilay et Zouali 2014). Par ailleurs, le LB est producteur de nombreuses cytokines (IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β ...); ces cytokines pro-inflammatoires favorisent la production de MMP, enzymes clés de la dégradation de la matrice extra-cellulaire des tissus parodontaux (Berglundh, Donati, et Zitzmann 2007). Des études, chez la souris, ont montré que les souris déficientes en LB semblaient protégées contre la perte osseuse alvéolaire d'origine parodontale (Oliver-Bell et al. 2015). Ce faisceau de preuves, associé aux résultats d'une étude clinique de 2015 mettant en évidence une amélioration de l'état parodontal chez des patients traités par thérapie anti-LB, nous conduit aujourd'hui à étudier de plus près le rôle du LB dans la maladie parodontale (Coat et al. 2015).

L'objectif de cette étude est d'analyser le phénotype des LB présents au niveau du sang et des lésions parodontales chez des patients atteints de maladie parodontale. Les différentes sous-populations de LB (transitionnel, immature, mature, mémoire) seront recherchées dans le sang et/ou dans la gencive afin d'observer une potentielle association d'une sous-population particulière au degré d'agressivité de la maladie parodontale. La découverte d'un phénotype de LB particulier associé à la maladie parodontale pourrait permettre de mieux comprendre la physiopathologie de cette maladie et

par conséquent d'expliquer pourquoi tous les individus ne sont pas égaux devant l'agression bactérienne parodontopathogène. Si un tel profil était mis en évidence, il serait possible d'affiner le diagnostic, ce qui impacterait inévitablement le pronostic et surtout le traitement de la parodontite.

3.2 Matériels et méthode

Un protocole strict a été mis en place pour la réalisation de l'étude tant pour la partie réalisée en clinique que pour celle réalisée en laboratoire. L'objet de ce chapitre est de présenter les différentes étapes de ce protocole.

3.2.1 Etapes du protocole réalisées dans le service d'odontologie

Le recrutement des patients et les étapes cliniques ont été réalisés au sein du service d'odontologie du CHRU de Brest. Le protocole a été validé par le comité de protection des personnes du 9 avril 2015 et enregistré dans clinicaltrials.gov sous le numéro NCT02833285.

3.2.1.1 Le recrutement des patients

Les sujets recrutés sont des patients se présentant en consultation dans le service d'odontologie du CHRU de Brest et pour lesquels un prélèvement sanguin est nécessaire afin d'écartier tout diabète ou trouble de l'hémostase. A leur arrivée dans le service, les patients seront informés de l'existence de cette étude, de ses objectifs, et de la possibilité de refuser d'y participer. Le patient qui souhaite participer à l'étude devra lire puis signer un formulaire de consentement. Ce formulaire rappelle que :

- la participation à l'étude ne change en rien la prise en charge au sein du service d'odontologie
- dans le cadre de cette prise en charge, en cas de bilan sanguin prévu à des visées diagnostiques, une partie du sang sera conservée et analysée à des fins de recherche scientifique
- dans le cadre de la prise en charge, si un geste chirurgical est prévu, un prélèvement de tissus parodontaux sera réalisé, conservé et analysé
- l'ensemble des échantillons biologiques prélevés seront conservés au sein de la collection d'échantillons biologiques humains DC 2014-2158 intitulée « OdontoBrest »
- l'ensemble des données cliniques sont anonymisées et stockées informatiquement, le patient peut à tout moment de l'étude demander leur rectification

3.2.1.2 Les critères d'inclusion

Une fois le consentement signé, le patient sera intégré à l'étude et inclus au groupe des patients ou au groupe des témoins selon les critères suivants (Tableau 4) :

	Inclusion	Exclusion
Cas/patient	<ul style="list-style-type: none"> -âgé de plus de 18 ans -souffrant d'une parodontite -avec une suspicion de trouble de l'hémostase ou de la présence d'un diabète -nécessitant potentiellement une chirurgie impliquant le parodonte -en bonne santé générale -ayant donné son consentement éclairé 	<ul style="list-style-type: none"> -âge inférieur à 18 ans -patient ayant été traité par antibiothérapie au cours des 3 mois précédant l'étude -femme enceinte -patient présentant une pathologie systémique (en particulier une pathologie inflammatoire) -traitement orthodontique en cours
Témoin	<ul style="list-style-type: none"> -âgé de plus de 18 ans -avec une suspicion de trouble de l'hémostase ou de présence d'un diabète -en bonne santé générale -ne présentant pas d'atteinte parodontale -nécessitant potentiellement une chirurgie buccale 	<ul style="list-style-type: none"> -âge inférieur à 18 ans -patient présentant une maladie parodontale -patient ayant été traité par antibiothérapie au cours des 3 mois précédant l'étude -femme enceinte -patient présentant une pathologie systémique (en particulier une pathologie inflammatoire) -traitement orthodontique en cours

Tableau 4 : Critères d'inclusion et d'exclusion

3.2.1.3 Le recueil des données cliniques

Une fois le patient dûment informé, un bilan parodontal complet sera réalisé afin de poser le diagnostic clinique. L'ensemble des données cliniques est recueilli par un seul investigateur clinique afin d'éviter les variations liées au changement d'intervenant. Un certain nombre de données cliniques vont être relevées au cours d'une séance dont la réalisation est standard et nécessaire à toute prise en charge parodontale. L'ensemble des éléments relevés par l'investigateur sera décrit dans cette partie

3.2.1.3.1 L'anamnèse générale

Avant d'entreprendre tout examen clinique ou radiologique, il est essentiel d'interroger méthodiquement le patient.

Dans un premier temps, l'interrogatoire portera sur le motif de consultation et les attentes du patient qu'il conviendra de reporter dans le dossier médical afin de pouvoir y revenir en cours de traitement ou en fin de traitement. En effet, le but d'un traitement quel qu'il soit n'est pas obtenir la satisfaction du praticien mais bien celle du patient.

Dans un second temps, une anamnèse médicale générale sera réalisée afin de prendre en compte les facteurs généraux pouvant influencer sur la maladie ou la réalisation du traitement.

Puis une anamnèse « parodontale » ou locale sera réalisée. Le but de cet interrogatoire est d'évaluer l'histoire de la maladie (passé bucco dentaire, antécédent de traitement parodontal, nombre de brossages, durée du brossage, type de brosse à dents utilisée et technique de brossage adoptée) et de rechercher les facteurs de risque de la maladie parodontale que sont principalement :

- l'hérédité
- le diabète
- le tabac
- le stress
- les pathologies ou états généraux (grossesse, infection par le VIH...)
- les traitements médicamenteux en cours pouvant influencer sur le parodonte

Une fois toutes ces informations recueillies, il sera alors possible d'envisager un examen clinique approfondi (Calas-Bennasar et al. 2005).

3.2.1.3.2 L'indice d'hygiène

Il existe de nombreux indices utilisés dans l'évaluation de l'hygiène orale ; leur rôle est :

- de fournir une estimation quantitative de la présence de plaque
- de mettre en lumière le lien entre le niveau de l'hygiène orale et la sévérité de la maladie parodontale
- de contrôler la mise en œuvre des nouvelles mesures d'hygiène enseignées par le chirurgien-dentiste au patient.

L'indice de plaque le plus utilisé en routine est celui de O'Leary et al. Il est simple d'utilisation et a l'avantage de pouvoir être facilement reporté sur un charting parodontal. Il évalue la présence ou l'absence de plaque sur les 4 faces (vestibulaire, mésiale, distale, linguale ou palatine) de chaque dent. La présence de plaque est mise en évidence par l'utilisation d'un révélateur de plaque. Une fois que toutes les faces des dents ont été observées, on calcule l'indice global selon la formule suivante :

$$\frac{\text{nombre de faces avec plaque}}{\text{nombre de faces observées}} \times 100 = \text{indice de plaque (en \%)}$$

Un indice d'O'leary global est donc obtenu sous la forme d'un pourcentage ; en dessous de 20%, l'hygiène est considérée comme correcte (O'Leary, Drake, et Naylor 1972).

3.2.1.3.3 Les mobilités dentaires

La mobilité dentaire est définie comme le déplacement, dans le sens horizontal et/ou vertical, de la dent dans son alvéole (Bouchard, Frémont, et Sanz 2014). L'étiologie de cette mobilité peut être

parodontale, liée à un problème occlusal ou liée à d'autres pathologies (fracture radiculaire...), mais quoi qu'il arrive, il est essentiel de l'estimer et de la reporter méthodiquement dans le dossier médical. Il existe plusieurs moyens d'évaluer la mobilité dentaire ; la technique la plus classique consiste à utiliser le manche de 2 instruments et à les placer de part et d'autre de la dent (en vestibulaire et en palatin) et d'apprécier la mobilité de la dent. On peut aussi n'utiliser qu'un seul manche d'instrument d'un côté de la dent et la pulpe d'un doigt de l'autre. Pour chaque dent, on donnera un score de mobilité. Le plus fréquemment utilisé est celui de Mühlemann, dont les différents scores sont décrits dans le tableau suivant (Tableau 5):

0	Ankylose
1	Mobilité physiologique
2	Mobilité augmentée mais inférieure à 1mm dans le sens vestibulo-lingual
3	Mobilité supérieure à 1 mm dans le sens vestibulo-lingual mais sans altération de la fonction pour le patient
4	Mobilité dite « terminale » caractérisée par une mobilité supérieure à 1mm horizontale ET verticale avec altération de la fonction pour le patient

Tableau 5 : Indice de mobilité dentaire de Mühlemann (Muhlemann 1950)

3.2.1.3.4 Le sondage parodontal

Afin d'obtenir un diagnostic précis, un sondage parodontal sera réalisé. La réalisation d'un sondage parodontal initial est essentielle car celui-ci va permettre de mettre en évidence l'importance des lésions, mais il servira surtout de point de repère une fois la thérapeutique réalisée pour évaluer le degré d'amélioration.

Dans le cadre de notre étude, ce sondage sera réalisé avec une sonde parodontale à pression constante. Ce type de sonde a pour particularité d'émettre un signal sonore quand la pression exercée par l'opérateur est trop forte. Cela permet de standardiser la pression exercée par l'opérateur lors du sondage. En effet, la pression exercée est un des principaux facteurs de variation lors du sondage même s'il est réalisé systématiquement par le même individu (Calas-Bennasar et al. 2005).

Il est possible de réaliser le sondage :

-avant tout traitement (y compris détartrage) ce qui a l'avantage d'enregistrer l'état initial mais a l'inconvénient de déclencher une bactériémie importante ; par ailleurs le tartre supra-gingival peut empêcher le sondage sur certains sites

-après détartrage, ce qui facilite la réalisation du sondage, limite la bactériémie et évite les potentielles erreurs de lecture liées à l'inflammation gingivale

Le sondage consiste à introduire la sonde dans le sulcus parallèlement au grand axe de la dent jusqu'à ressentir une légère résistance. On mesure alors :

-la profondeur de sondage ou profondeur de poche qui correspond à la distance entre le fond de la poche et le sommet de la gencive marginale

-le niveau gingival qui correspond à la distance entre le sommet de la gencive marginale et la jonction amélo-cémentaire. Cette distance peut être négative en cas d'hypertrophie gingivale ou positive en cas de récession.

La mesure est réalisée en 4 points de la dent (mésio-vestibulaire, disto-vestibulaire, disto-palatin, mésio-palatin) afin d'obtenir un diagnostic selon la classification de Page et Eke.

3.2.1.3.5 Le saignement

Le saignement spontané ou déclenché par le sondage est directement lié à l'inflammation. Il est donc important de l'évaluer objectivement afin de prendre la mesure de l'inflammation présente et de pouvoir la ré-évaluer après la thérapeutique. La présence d'un saignement lors du sondage n'est pas directement corrélée à la présence ou l'absence d'une lésion parodontale mais son absence semble corrélée à une stabilisation de la lésion (Colombier, Bigot, et Detienville 1989). D'un point de vue pratique, on notera la présence ou l'absence de saignement en chaque point de sondage en prenant le temps de ne pas effectuer le relevé immédiatement puisque le saignement peut apparaître plusieurs secondes après le retrait de la sonde. L'indice de saignement au sondage est aussi appelé indice BOP (Bleeding On Probing).

3.2.1.3.6 La suppuration

La suppuration correspond à un écoulement de pus par le sulcus qui apparaît suite au sondage ou à la pression digitale sur la zone. Ce signe est rare et peu étudié mais il semble être un signe tardif de l'infection parodontale qu'il faut bien différencier de l'abcès parodontal et de la suppuration d'origine endodontique (Calas-Bennasar et al. 2005).

3.2.1.3.7 L'atteinte de furcation

L'atteinte de furcation ou lésion inter-radicaire est une destruction partielle ou totale du système d'attache de la zone inter-radicaire. L'atteinte de la zone de furcation entraîne une accumulation de plaque et de tartre dans une zone dont l'accès est impossible pour le patient et très difficile pour le praticien en thérapeutique initiale (c'est-à-dire sans réaliser un lambeau chirurgical d'accès). L'évaluation de l'atteinte de furcation se fait au niveau des molaires à l'aide d'une sonde courbée dite sonde de Nabers. Pour les molaires mandibulaires, la mesure s'effectue en 2 points (vestibulaire et lingual) tandis que pour les molaires maxillaires 3 points seront nécessaires (vestibulaire, mésial et distal). La classification la plus utilisée est celle adaptée de Hamp et al. qui se base sur une mesure horizontale de la perte d'attache dans la zone de furcation (Hamp, Nyman, et Lindhe 1975; Maynard et Wilson 1980). Cette classification est détaillée dans le tableau suivant (Tableau 6).

Degré de sévérité	
Classe 1	Perte horizontale des tissus parodontaux inter-radicaux inférieure à 3mm
Classe 2	Perte horizontale des tissus parodontaux inter-radicaux supérieure à 3mm, mais non transfixiante
Classe 3	Perte horizontale des tissus parodontaux inter-radicaux transfixiante

Tableau 6 : Classification des atteintes de furcation adaptée de Maynard et Wilson (Maynard et Wilson 1980)

3.2.1.3.8 Le charting parodontal

L'ensemble des données recueillies au cours de l'examen clinique est retranscrit dans le dossier clinique sous la forme d'un charting parodontal.

C'est une fois les données cliniques reportées sur le charting parodontal que l'on calculera, pour chaque poche parodontale mesurée, la perte d'attache aussi appelée niveau d'attache clinique. Le niveau d'attache clinique correspond à la distance séparant le fond de la poche de la jonction émail-cément ; c'est cette seule valeur qui reflète la sévérité de la maladie parodontale (Figure 11). Le niveau d'attache se calcule en additionnant la valeur de la profondeur de poche à celle du niveau gingival (valeur négative en cas d'hypertrophie gingivale et positive en cas de récession tissulaire marginale).

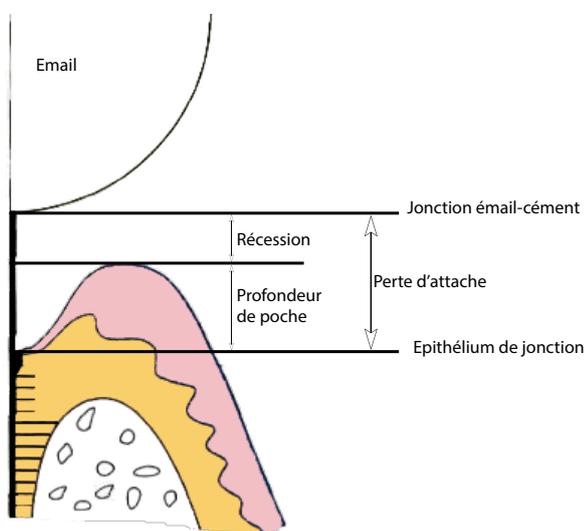


Figure 11 : Représentation schématique de la définition de la perte d'attache d'après Charon en 2010 (Charon 2010)

3.2.1.3.9 Les examens radiographiques

Tous les examens radiographiques nécessaires à l'amélioration du diagnostic seront réalisés.

L'examen complémentaire le plus fréquemment réalisé en parodontologie consiste en la réalisation de radiographies. L'examen radiographique de référence en parodontologie est le bilan long cône qui comporte entre 17 et 21 radiographies (avec 8 clichés rétro-alvéolaires des dents postérieures, 9 clichés des dents antérieures et 4 clichés bite-wings des secteurs latéraux) (Figure 12). Le bilan long cône peut se réaliser avec des capteurs numériques ou analogiques et les clichés doivent être réalisés en utilisant le système d'angulateurs de Rinn afin d'obtenir une meilleure reproductibilité. En effet, si le bilan long cône sert au diagnostic, il sert aussi aux contrôles après traitement ; ainsi on pourra réaliser un bilan long cône tous les 2 ou 3 ans afin de contrôler le maintien de l'état parodontal ou de diagnostiquer une récurrence.



Figure 12 : Exemple de bilan long cône

Sur le bilan long cône, on pourra évaluer le degré d'alvéolyse en mesurant sur les radios à échelle 1 la longueur de racine qui n'a plus de support osseux et la distance entre l'apex et la jonction émail-cément. En divisant la première mesure par la seconde on obtient un ratio qui donne le degré d'alvéolyse (souvent exprimé sous forme de pourcentage). Le bilan long cône permet aussi d'évaluer la présence des septa interdentaires, la présence de lésions inter-radiculaires, la présence de tartre et la présence de facteurs de rétention de plaque (particularités anatomiques, restaurations débordantes...) (Struillou, Maujean, et Chairay 2008). Si le bilan long cône est l'imagerie 2D qui présente le moins de déformation, il faut tout de même rappeler que, comme dans d'autres domaines, la radiographie sous-évalue légèrement la sévérité des lésions, c'est pourquoi les examens radiologiques sont toujours à corrélérer avec les données cliniques.

La radiographie panoramique peut aussi être utilisée en parodontologie, mais elle reste un examen de débrouillage donnant une vision globale de l'atteinte sans être très précise (Figure 13). En effet, la radiographie panoramique présente de nombreuses déformations avec en particulier la projection de structures anatomiques voisines sur les zones d'intérêt pour le praticien. Il faut tout de même noter que la radiographie panoramique joue un rôle pédagogique essentiel pour le patient. En effet, ce type de radiographie est facilement interprétable par le patient qui peut alors visualiser la perte osseuse (décrite par le praticien) et par exemple, le tartre sous-gingival ; ceci joue un rôle crucial dans la

motivation des patients, surtout chez ceux dont les symptômes cliniques sont frustrés (les fumeurs qui présentent peu de saignement sont moins enclins à débiter une thérapeutique parodontale).



Figure 13 : Exemple d'une radiographie panoramique (radiographie réalisée dans le service d'odontologie du CHU de Brest)

Sur cette figure (Figure 13), on note la présence d'un important flou antérieur, une alvéolyse terminale est visible sur toutes les dents mais le flou empêche une lecture précise des informations.

L'utilisation de la tomodynamométrie en parodontologie n'est pas recommandée surtout en première intention. En effet, si ce type d'imagerie 3D apporte d'assez nombreuses informations, il est aussi très irradiant et n'apporte pas suffisamment d'éléments intéressants pour justifier de son utilisation. La tomodynamométrie peut parfois être proposée en seconde intention afin d'écarter une potentielle fracture radiculaire ou une lésion d'origine endodontique (ANAES 2002; Struillou, Maujean, et Chairay 2008).

3.2.1.3.10 *Le diagnostic*

Une fois le charting dûment rempli et les informations complémentaires recueillies, le diagnostic sera posé et la maladie parodontale étiquetée selon les classifications détaillées au chapitre 1.3 . Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé la classification de Page et Eke qui est spécifiquement conçue pour la réalisation d'études cliniques (Roy C. Page et Eke 2007).

3.2.1.4 Le prélèvement sanguin

Au cours de ce rendez-vous de bilan parodontal, un prélèvement sanguin sera effectué dans l'optique de rechercher un éventuel diabète concomitant à la maladie parodontale. Le prélèvement sera réalisé par l'infirmière du service d'odontologie du CHRU de Brest. En plus des prélèvements sanguins nécessaires à la recherche d'un diabète, un tube sera prélevé pour analyse au laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest.

Sur les tubes concernant la recherche d'un diabète (critère d'exclusion de notre étude au vu des interactions profondes entre ces deux pathologies), les analyses seront réalisées dans les laboratoires de biologie et de biochimie du CHRU de Brest. Le tube prélevé dans le cadre de l'étude sera étiqueté et transmis au laboratoire d'immunologie dans l'heure qui suit le prélèvement pour être analysé selon le protocole décrit plus bas.

3.2.2 Les étapes réalisées au sein du laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest

Chacun des prélèvements sanguins réalisés en clinique sera traité et analysé au sein du Laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest selon un protocole strict détaillé ci-après.

3.2.2.1 Le protocole d'analyse des échantillons sanguins

L'échantillon sanguin prélevé en clinique sera divisé en deux parties, une partie sera préparée pour être analysée, l'autre partie sera préparée pour être conservée dans le cadre de la biocollection pour de potentielles analyses ultérieures.

3.2.2.1.1 L'analyse des échantillons sanguins par cytométrie en flux

Dans notre étude, le sang prélevé aux patients sera étudié en cytométrie en flux afin de déterminer et de quantifier les différentes populations et sous-populations de LB.

La cytométrie est une technique qui se base sur l'utilisation d'un faisceau laser et d'un détecteur de lumière pour compter les cellules intactes en suspension informant de la taille et de la granulométrie de ces cellules. Les cellules seront au préalable marquées par des Ac couplés à des molécules fluorescentes appelées fluorochromes. Le passage d'une cellule devant le faisceau laser entraîne la déviation de celui-ci qui est enregistrée. Le cytomètre analysera alors la fluorescence émise par chaque fluorochrome et informera ainsi du phénotype propre à chaque cellule. Le schéma suivant présente une image qui pourrait être obtenue sur l'ordinateur à la suite d'un passage en cytomètre en flux (Figure 14).

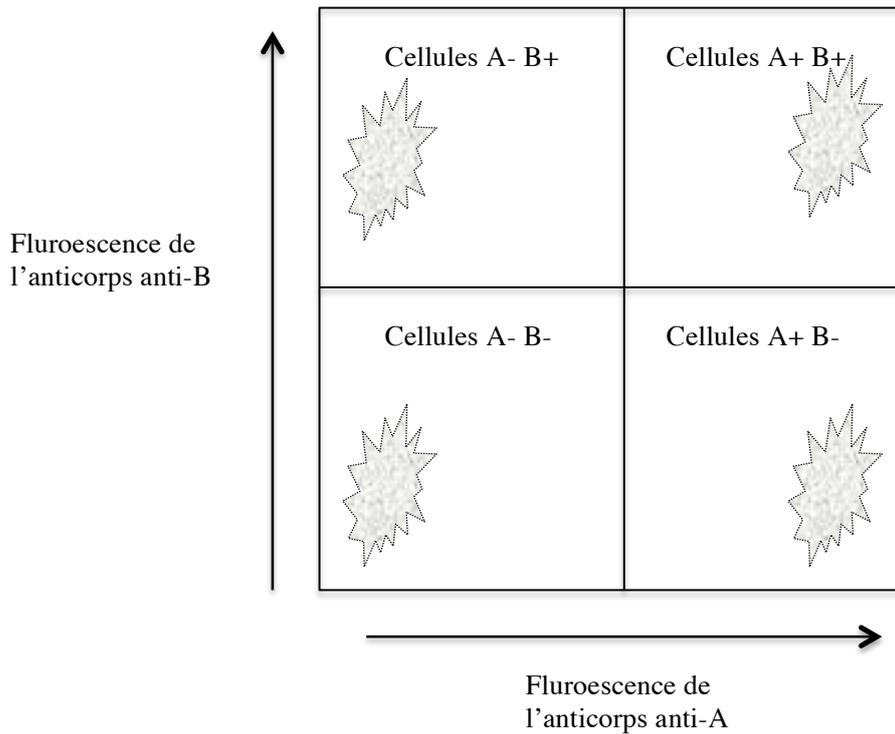


Figure 14 : Schéma d'une visualisation théorique sur ordinateur après cytométrie en flux d'après Kuby (Kuby et al. 2008)

Dans notre étude, les échantillons sanguins seront préparés et analysés par cytométrie en flux selon le protocole suivant :

1. Prendre 100 μ L de sang et les diluer dans 4 mL de PBS ou de Hank's
2. Centrifuger à 200g (1200 rpm), pendant 5 minutes
3. Retirer le surnageant de Hank's ou PBS
4. Recommencer l'opération 2 fois
5. Ajouter les anticorps de marquage (l'ensemble des Ac utilisés pour l'analyse des échantillons sanguins de notre étude sont décrits dans le tableau 7)
6. Placer les tubes pour la lyse des cellules (environ 1min/tube) dans la machine de lyse (TQ-Prep)
7. Passer les tubes dans le cytomètre et utilisation des programmes suivants :
 - panel B : LBPARO-panelB.pro
 - panel B : LBPARO-panelB1.pro
8. Les résultats seront sauvegardés sur l'ordinateur dédié à l'étude au laboratoire

			Laser 1 (488nm)				Laser 2 (638nm)		Laser 3 (405nm)		Laser 1	Laser 2	Protocole de cytométrie
Fluorochrome			PE	FITC	PC5,5	PC7	APC	AAF750	PB	KO	ECD	AAF700	
Volume sanguin (microL)			SANG										
Panel B (microL)	100	Tube RANKL	Rankl	CD25	CD38	CD27	IgD	CD24	IgM	CD3	CD5	CD19	LBParo-PanelB
			15	5	3,5	3,5	3,5	3,5	5	5	5	3,5	
Panel B1 (microL)	100	Tube RANKL	Rankl	CD43	CD5	CD27	CD11b	CD24	CD20	CD3	CD69		LBParo-PanelB1
			15	10	5	5	5	5	5	5	10		

Tableau 7 : Panel des analyses réalisées sur les échantillons de sang en cytométrie en flux

Une fois les étapes du protocole décrit plus haut réalisées, nous avons utilisé un logiciel d'analyse qui nous a permis d'identifier les différentes sous-populations lymphocytaires. Pour ce faire, nous avons ciblé différents paramètres afin de mettre en évidence les différentes populations ; cette stratégie nous a permis d'individualiser chaque sous-population en fonction de ses principales caractéristiques. Pour plus de clarté, nous avons synthétisé la stratégie mise en place pour identifier les différentes populations et sous populations sous forme de schéma (Figure 15) et nous allons la développer dans le paragraphe suivant.

Stratégie d'identification des sous-populations de Lymphocytes B

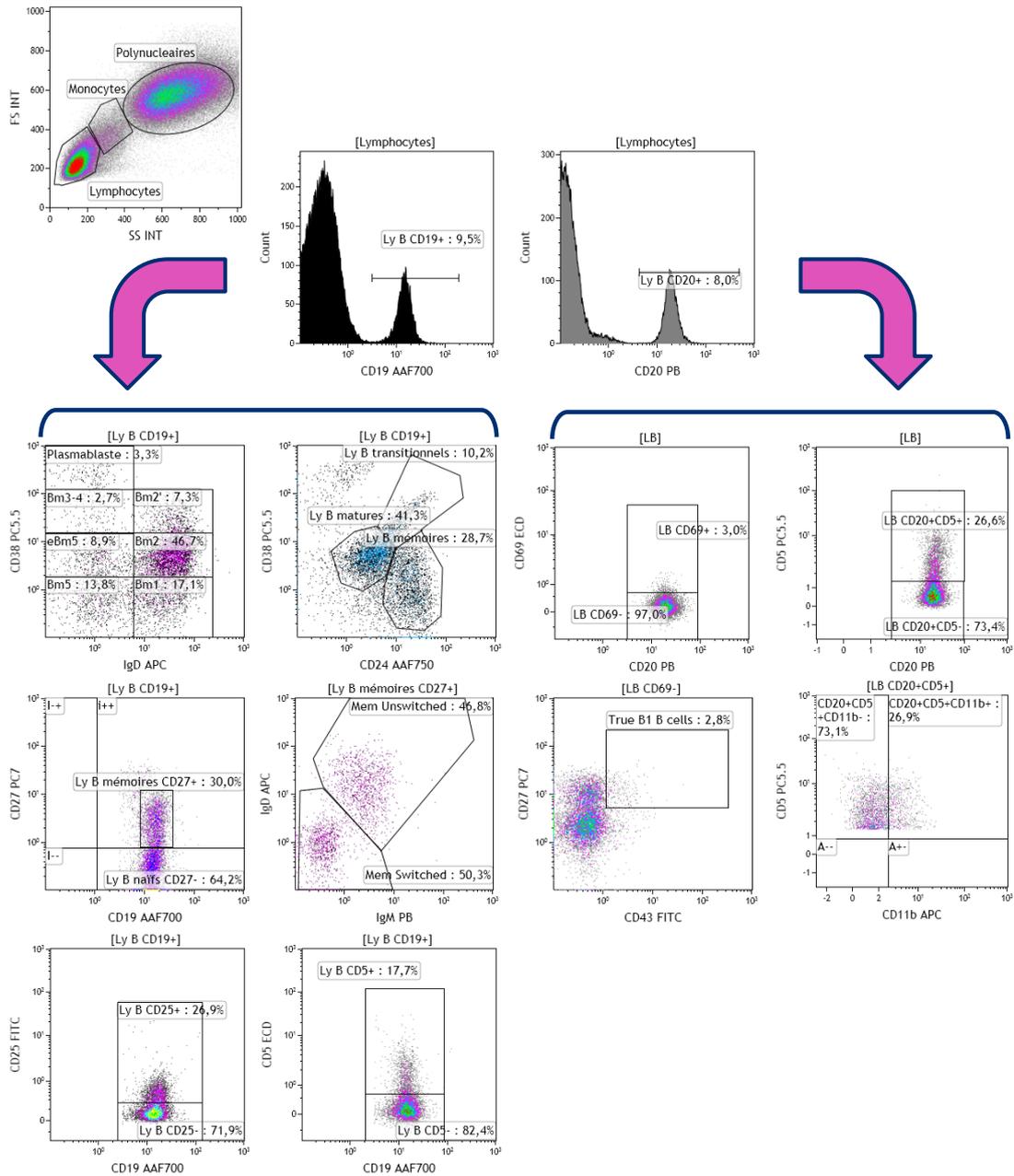


Figure 15 : Stratégie mise en place pour l'identification des LB et de leurs sous-populations (iconographie P. Pochard)

Dans un premier temps, les lymphocytes sont isolés des monocytes et des polynucléaires en fonction de leur taille et de leur granulométrie (rapport de la taille du noyau par rapport à celle du cytoplasme). Les lymphocytes sont des cellules de petite taille, présentant une faible granulométrie ; on se concentrera donc sur ce type de cellules.

Parmi ces cellules, on recherchera celles qui sont CD19+, marqueur caractéristique des LB. Sur ces cellules CD19+, on étudiera l'expression de l'IgD caractéristique des LB naïfs et faiblement matures (son expression débute au stade de LB transitionnel et disparaît ensuite au stade Bm3) et l'expression du CD38, retrouvé sur les LB mémoires, les LB activés et les plasmocytes. Ainsi on distinguera les populations suivantes :

- les Bm1 : exprimant fortement l'IgD mais faiblement le CD38
- les Bm2 : exprimant fortement l'IgD mais modérément le CD38
- les Bm2' : exprimant fortement l'IgD et fortement le CD38
- les plasmablastes : exprimant faiblement l'IgD et très fortement le CD38
- les Bm3 et Bm4 : exprimant faiblement l'IgD et fortement le CD38
- les eBm5 (early Bm5 ou Bm5 précoces) : exprimant faiblement l'IgD et modérément le CD38
- les Bm5 : exprimant faiblement l'IgD et faiblement le CD38

On étudie ensuite, toujours sur les LB CD19+, l'expression du CD38 et du CD24 qui est aussi un marqueur de différenciation des LB ; on distingue alors les populations suivantes :

- les LB transitionnels : exprimant très fortement le CD38 et le CD24
- les LB matures : exprimant modérément le CD38 et le CD24
- les LB mémoires : exprimant fortement le CD24 et modérément le CD38

Puis on étudie les LB CD19+, en fonction de leur expression du CD27, molécule caractéristique des LB activés et surtout des LB mémoires. Cela nous permet de séparer les LB mémoires qui expriment fortement CD27 des LB naïfs qui ne l'expriment pas .

Sur ces LB mémoires CD27+, on étudie l'expression de l'IgD et de l'IgM, caractéristique du BCR. On distingue ainsi 2 sous-populations de LB mémoires :

- les LB unswitched ; c'est-à-dire ceux n'ayant pas encore subi de commutation isotypique qui expriment l'IgM et fortement l'IgD
- les LB switched ayant subi la commutation isotypique c'est-à-dire présentant une maturation encore plus importante que les précédents. Ceux-ci n'expriment plus l'IgM et expriment faiblement l'IgD

Pour finir, on étudie l'expression, par les LB CD19+, du CD25 présent sur les LB activés et du CD5 molécule présente classiquement sur les LT et les LB1a.

Dans un second temps, on cible les LB CD20+, marqueur caractéristique de la lignée B à partir du stade pro-B. Sur cette population, on étudie l'expression du CD69 marqueur présent sur les LB activés et son absence est une des caractéristiques des LB-1. On y étudie aussi l'expression du CD5, les seuls LB exprimant le CD5 sont, en effet, les LB-1a.

Sur les LB CD69-, on étudie l'expression du CD27 et du CD43, les vrais LB1 étant, en effet, des cellules CD69-, CD27+ et CD43+.

Finalemment, on étudie l'expression du CD11b, molécule intervenant dans la chimiotaxie et la migration des leucocytes, afin de distinguer les populations exprimant le CD11b de celles ne l'exprimant pas ou peu. L'intérêt de cette analyse sera développé au chapitre 3.3.2.2.

3.2.2.1.2 La préparation des échantillons sanguins en vue de leur conservation

Dans le cadre de l'étude une biocollection a été mise en place, ainsi les échantillons prélevés sont conservés afin d'être ré-utilisés ultérieurement pour de nouvelles analyses. Afin d'être conservés correctement, le protocole suivant est appliqué :

A. Récupération du sérum (P)

1. Centrifuger les tubes de sang 10 min à 3000 rpm à température ambiante
2. Décanter le plasma et le placer dans un flacon de 10 mL
3. Etiqueter le flacon avec le numéro de la biocollection OdontoBrest et la date de congélation
4. Placer l'échantillon à -80 °C
5. Remplir la fiche de recensement des échantillons de la biocollection et la placer dans le classeur Biocollection OdontoBrest
6. Remplir le fichier Excel OdontoBrest-LBParo.xlsx pour le recensement des échantillons de la biocollection
7. Signaler un éventuel incident survenu durant la préparation sur la fiche de contrôle et de prévention des incidents correspondant à la biocollection

B. Récupération des cellules sanguine (CS) – Après récupération du sérum -

1. Préparer le milieu de congélation 2X constitué de 20% de DMSO (diméthylsulfoxyde) dans du sérum bovin fœtal (FBS). Ce milieu peut être stocké pendant 1 semaine à 4 ° C
2. Décanter le plasma et le placer dans un flacon de 10 mL
3. Préparer "Mr.Frosty": Retirez le support en polyéthylène haute densité et l'insert en mousse de l'unité de polycarbonate. Ajouter 250 ml de 2-propanol à 100% jusqu'à la limite de remplissage. Remplacer l'alcool au bout de 5 utilisations et documenter un changement de réactif.
4. Centrifuger les cellules à 300 g pendant 10 min à température ambiante
5. Re-suspendre les cellules suivant une concentration de 2×10^7 cellules / ml dans un milieu de culture cellulaire à la température ambiante. Si le nombre de cellules est inférieur à 1×10^7 , suspendre les cellules dans 0,5 mL.
6. Ajouter, au goutte à goutte, suffisamment de milieu de congélation 2X à température ambiante pour doubler le volume de la suspension cellulaire. Remuer doucement le tube lors de l'ajout du milieu de congélation.
7. Retirer lentement la suspension cellulaire à l'aide d'une pipette et distribuer 1 mL par tube cryogénique.
8. Placer immédiatement les cryotubes dans un conteneur avec gel Mr. Frosty à température ambiante et placer le récipient de congélation dès que possible dans le congélateur à -80 ° C.

9- Transférer les tubes cryogéniques dans un réservoir d'azote liquide après 1 à 14 jours de congélation

3.2.3 L'analyse statistique des résultats

L'analyse statistique des résultats sera effectuée à l'aide du logiciel graphpad IBM SPSS au sein du laboratoire d'immunologie. La limite de signification statistique est fixée à 0,005 pour l'ensemble des tests.

Pour la répartition des sous populations entre les patients atteints de parodontite et les patients sains, un test de Mann Whitney a été réalisé ; ce test est un test non paramétrique visant à évaluer l'homogénéité de plusieurs moyennes.

Pour l'évaluation de la corrélation entre différents paramètres cliniques un test de Pearson a été réalisé ; ce test sert à évaluer la corrélation linéaire entre deux variables, c'est-à-dire l'association ou la dépendance qui lie l'une de ces variables à l'autre.

3.3 Résultats

3.3.1 Les sujets recrutés

A l'issue de cette étude, 26 sujets ont été recrutés (Tableau 8). Sur ces sujets :

- 13 patients présentaient une parodontite sévère selon la classification de Page et Eke
- 13 patients présentant un état parodontal sain ont été recrutés comme témoin

Patient	Caractéristiques générales			Diagnostic selon Page et Elie	Données cliniques				
	Sexe	Age	Tabac		% sites atteints	% de sites avec perte d'adhérence >6 mm	% de sites avec profondeur de poche >5 mm		
TEMON1	Femme	37	OUI	Patient sain	0	19	0	100	0
TEMON2	Femme	25	NON	Patient sain	0	5	0	100	0
TEMON3	Homme	24	NON	Patient sain	0	5	0	100	0
TEMON4	Homme	38	NON	Patient sain	0	6	0	100	0
TEMON5	Femme	41	NON	Patient sain	0	6	0	100	0
TEMON6	Homme	36	OUI	Patient sain	0	13	0	100	0
TEMON7	Femme	54	NON	Patient sain	0	3	0	100	0
TEMON8	Femme	25	OUI	Patient sain	0	Donnée manquante	0	100	0
TEMON9	Homme	26	NON	Patient sain	0	Donnée manquante	0	100	0
TEMON10	Femme	25	NON	Patient sain	0	5	0	100	0
TEMON11	Homme	25	NON	Patient sain	0	5	0	100	0
TEMON12	Femme	27	OUI	Patient sain	0	Donnée manquante	0	100	0
TEMON13	Homme	27	OUI	Patient sain	0	6	0	100	0
PATIENT 1	Femme	32	OUI	Parodontite sévère	100	67,8714286	42,8714286	13,095381	30,9528095
PATIENT 2	Homme	47	NON	Parodontite sévère	100	31,81818182	12,5	34,09090909	10,22727273
PATIENT 3	Homme	43	OUI	Parodontite sévère	5	20,5607476	1,68918679	14,0365159	30,8411215
PATIENT 4	Homme	36	OUI	Parodontite sévère	8	37,92929296	15,74074074	28,7171717	7,407407407
PATIENT 5	Homme	26	NON	Parodontite sévère	10	34,82142857	13,89285714	31,25	1,785714286
PATIENT 6	Femme	42	OUI	Parodontite sévère	Donnée manquante	41,96028571	5,357142857	0	2,678571429
PATIENT 7	Homme	48	NON	Parodontite sévère	Donnée manquante	72	54	0	62
PATIENT 8	Homme	44	OUI	Parodontite sévère	Donnée manquante	62,3032258	19,5468871	0	51,6129323
PATIENT 9	Homme	66	OUI	Parodontite sévère	Donnée manquante	100	79,4176471	0	67,64705802
PATIENT 10	Femme	37	NON	Parodontite sévère	Donnée manquante	100	100	0	100
PATIENT 11	Femme	52	NON	Parodontite sévère	8	17	13	23	12
PATIENT 12	Homme	46	OUI	Parodontite sévère	Donnée manquante	75	66,66666667	0	62,5
PATIENT 13	Homme	34	OUI	Parodontite sévère	Donnée manquante	100	100	0	41,25

Tableau 8 : Récapitulatif des patients recrutés pour l'étude

3.3.2 Les résultats sur le sang prélevé

Comme nous l'avons présenté au chapitre 3.2.2.3, le sang prélevé chez les patients et les témoins a été analysé en cytométrie en flux au sein du laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest.

Cette analyse a été effectuée selon 2 panels (B, B1) qui sont représentés dans la figure suivante (Figure 16).

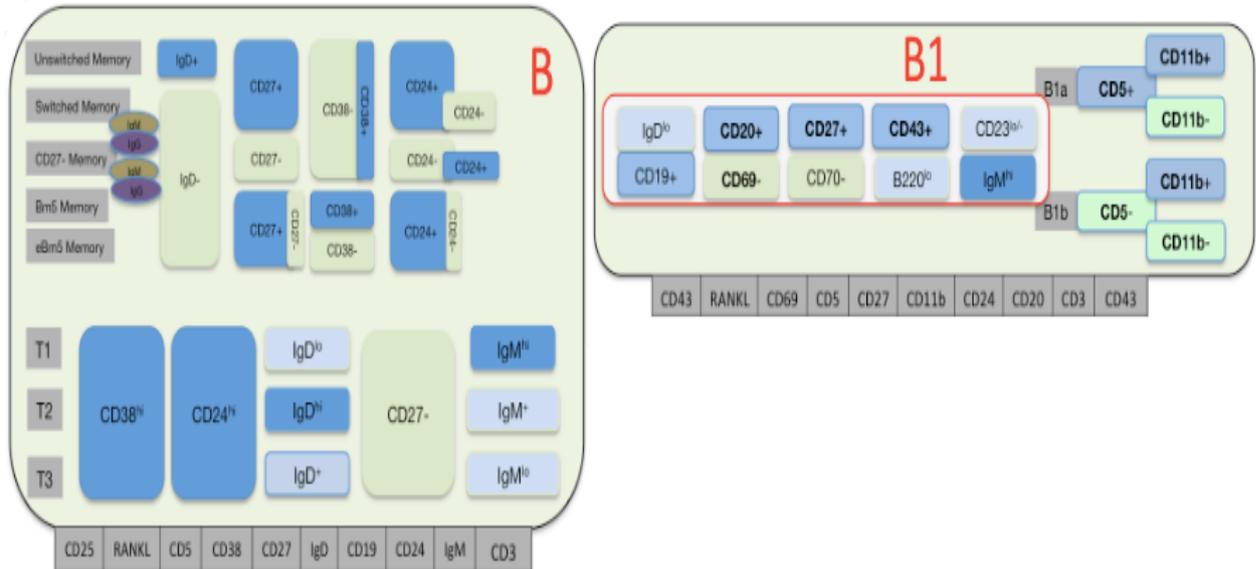


Figure 16 : Représentation des 2 panels utilisés pour l'analyse du sang en cytométrie en flux

3.3.2.1 Les résultats concernant les lymphocytes B circulants

3.3.2.1.1 Phénotype de lymphocytes B circulants chez les patients atteints de parodontite

Après examen des résultats obtenus après cytométrie en flux, on observe une nette augmentation des LB mémoires chez les patients atteints d'une parodontite par rapport aux témoins. En effet, on observe une diminution des Bm2 et une augmentation des Bm5 signant une augmentation nette des LB matures aux dépens des LB naïfs. Cette augmentation est très forte pour les LB mémoires switched, c'est-à-dire les LB mémoire ayant subi une commutation isotypique.

La figure suivante montre la répartition des différentes sous populations de LB, obtenue après cytométrie en flux chez un patient atteint de parodontite (Figure 17).

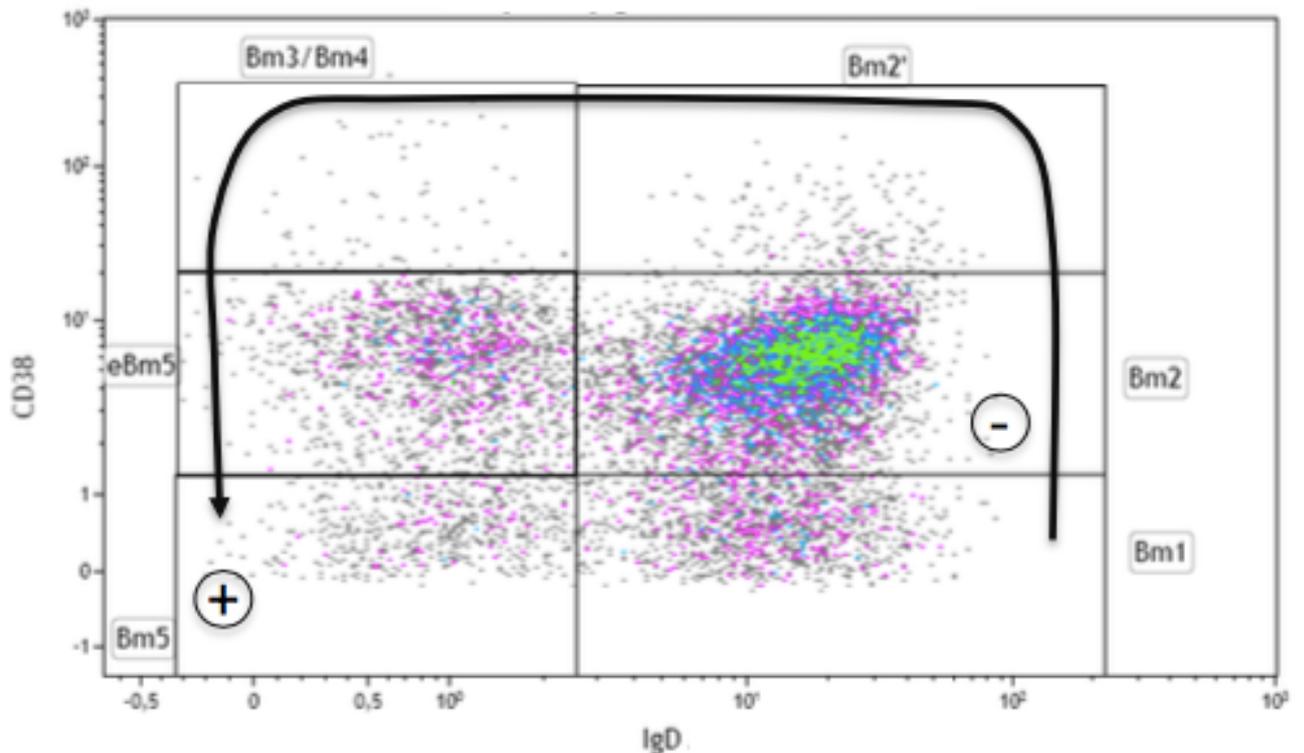


Figure 17 : Répartition des différentes sous-populations de LB chez un patient atteint de parodontite en fonction de leur expression de CD38 et de l'IgD

CD38 est un marqueur caractéristique des LB mémoires matures, l'IgD au contraire est associée aux LB naïfs et aux LB faiblement matures (l'expression de l'IgD est perdue à partir du stade Bm3).

La figure suivante met en évidence une diminution statistiquement significative du taux de LB Bm2 chez les patients atteints de parodontite par rapport aux témoins (Figure 18).

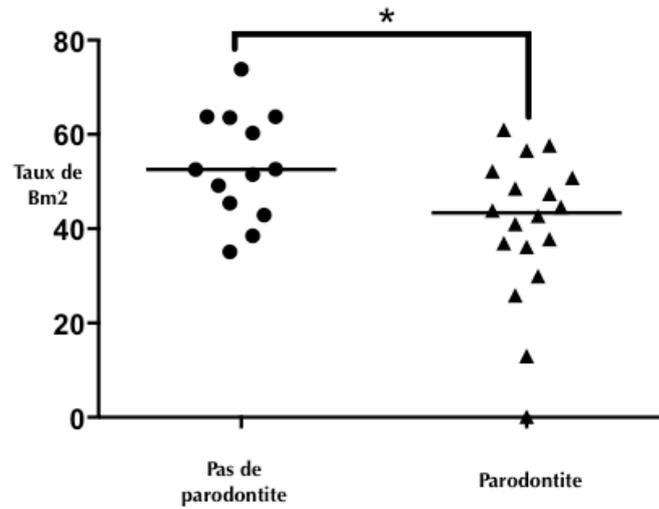


Figure 18 : Mise en évidence de la diminution des Bm2 chez les patients atteints de parodontite

* : statistiquement significatif

Les figures suivantes mettent en évidence l'augmentation des LB présentant une importante maturation, soit les Bmémoires CD27+ et les Bm5 (Figure 19 et 20).

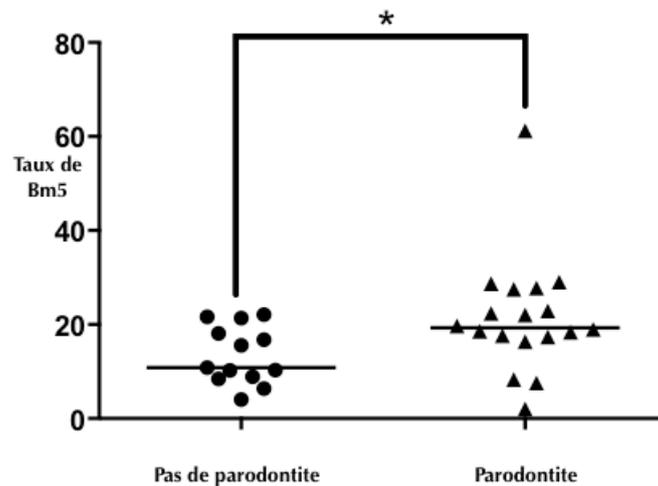


Figure 19 : Mise en évidence d'une nette augmentation du taux de Bm5 chez les patients atteints d'une parodontite

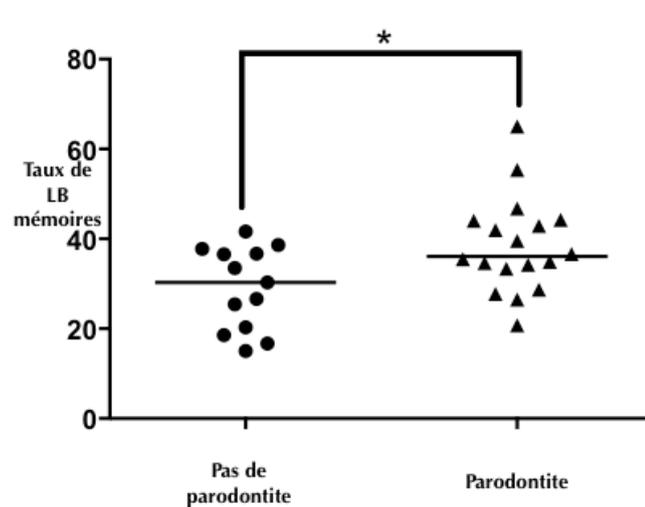


Figure 20 : Mise en évidence d'une nette augmentation des LB mémoires chez les patients atteints d'une parodontite

Une analyse du ratio B mémoires / B naïfs a été effectuée. L'évolution de ce ratio est en adéquation avec les précédentes constatations ; en effet, on note une nette augmentation de ce ratio chez les patients atteints d'une parodontite par rapport aux témoins (Figure 21).

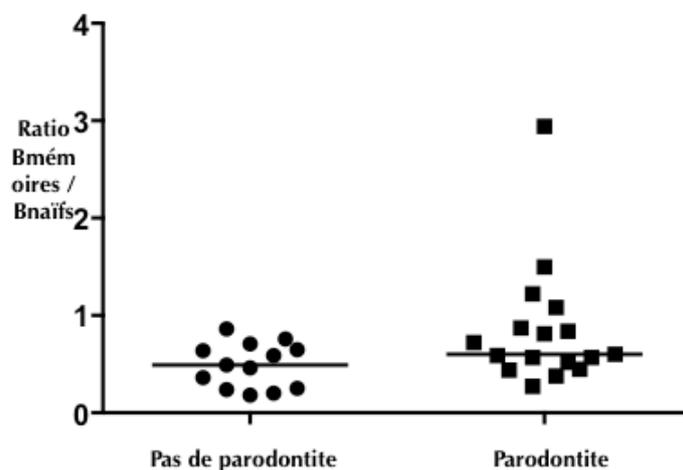


Figure 21 : Mise en évidence de l'augmentation du ratio B mémoires/B naïfs

Cette observation semble confirmer une évolution des sous-populations de LB chez les patients atteints d'une parodontite en faveur d'une maturation plus importante de ces LB. En effet, on note une augmentation du pourcentage de Bm5, de B mémoires et plus particulièrement de B mémoires switched qui sont des LB mémoires très matures puisqu'ils ont subi une commutation de classe.

3.3.2.1.2 Association entre paramètres cliniques et populations de lymphocytes B

Une association est observée entre la proportion de LB mémoires et la sévérité de la maladie. En effet, il a été observé que la proportion de LB mémoires était plus élevée chez les patients présentant un pourcentage élevé de sites avec une perte d'attache supérieure ou égale à 6mm. On observe de même une augmentation du taux de B mémoires chez les patients présentant un pourcentage élevé de sites avec une profondeur de poche supérieure à 5mm. Cependant ces résultats ne sont pas statistiquement significatifs en raison du nombre trop faible de patients, mais ils mettent en évidence des tendances nettes.

Sur la figure suivante (Figure 22), on retrouve l'association entre la présence de LB mémoires et la sévérité de la maladie représentée par la perte d'attache clinique et la profondeur de poche

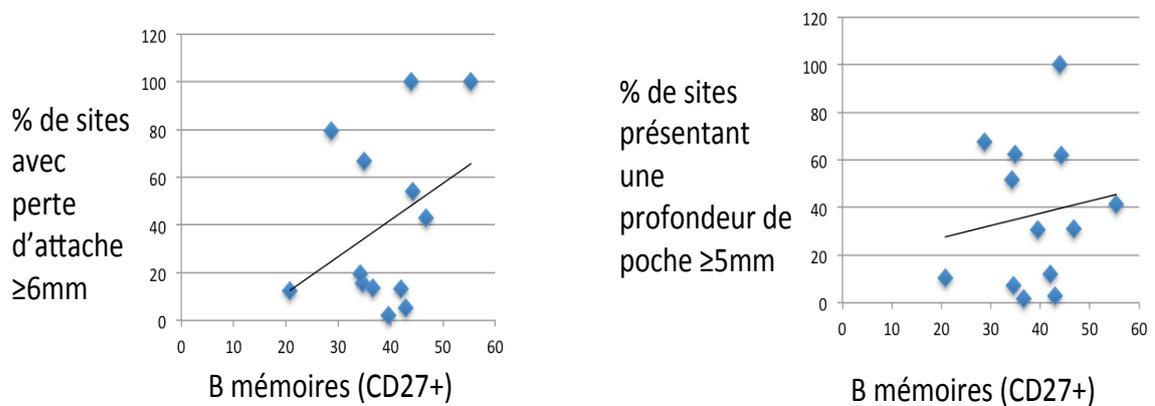


Figure 22 : Corrélation entre la proportion de LB mémoires et les signes cliniques de sévérité de la maladie (NAC et PP)

Il semble aussi qu'une association soit retrouvée entre la proportion de LB mémoires et l'extension de la maladie, c'est-à-dire le pourcentage de sites touchés par la parodontite. En effet, plus le pourcentage de sites touchés est important, plus on observe une tendance à l'augmentation du taux de LB mémoires (Figure 23).

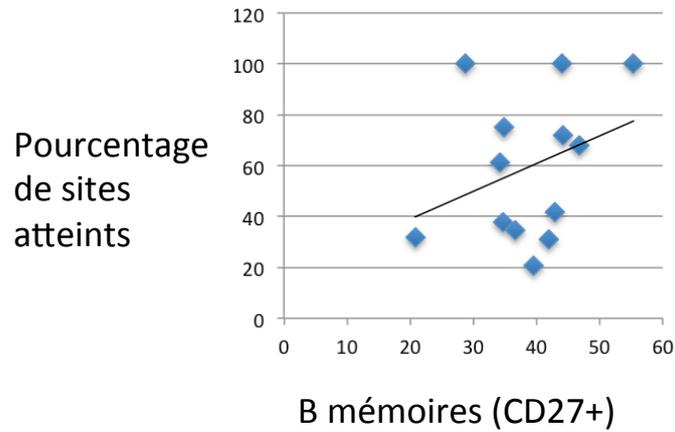


Figure 23 : Corrélation entre la proportion de LB mémoires et l'extension de la maladie parodontale

Nous avons aussi analysé l'évolution des taux de LB naïfs chez les patients atteints de parodontite en fonction des critères cliniques évoqués dans ce chapitre ; ces résultats ne sont pas statistiquement significatifs en raison du faible nombre de patients mais ils mettent cependant en évidence des tendances intéressantes. Ainsi on note une association positive entre l'augmentation du nombre de sites sains (avec perte d'attache = 0) et le nombre de LB naïfs dans le sang. On note aussi que lorsque le pourcentage de sites atteints augmente le taux de LB naïfs dans le sang a tendance à diminuer.

La figure suivante (Figure 24) met en évidence l'évolution du taux de B naïfs en fonction du pourcentage de sites présentant une perte d'attache égale à 0 et en fonction du pourcentage de sites atteints.

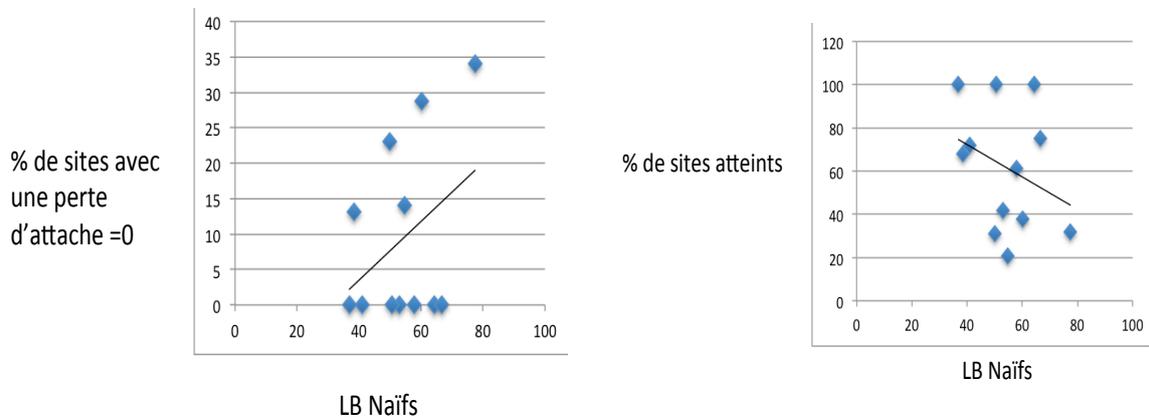


Figure 24 : Evolution du taux de LB naïfs en fonction du pourcentage de sites avec perte d'attache=0 et du pourcentage de sites atteints

Cette constatation semble nous orienter vers une association entre LB naïfs et santé parodontale alors que les LB mémoires seraient associés à la maladie parodontale. Nous avons aussi étudié l'évolution du ratio Bmémoires/Bnaïfs en fonction des différents critères cliniques et nous retrouvons des tendances similaires à celles retrouvées sur les LB mémoires.

En revanche, on ne retrouve pas de corrélation statistiquement significative entre la répartition des différentes sous populations de LB et les indices cliniques d'hygiène (indice d'O'Leary) et de saignement au sondage (BOP).

La figure suivante (Figure 25) met en évidence cette absence de corrélation entre le ratio Bmémoires/Bnaïfs et les indices d'O'Leary et BOP.

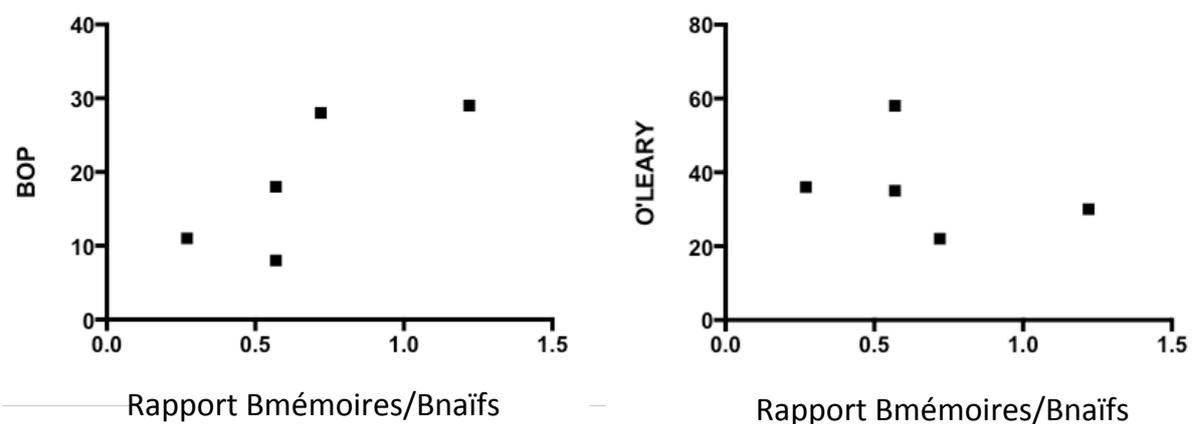


Figure 25 : Mise en évidence de l'absence de corrélation entre les indices cliniques (BOP et O'Leary) et l'évolution du rapport Bmémoires/Bnaïfs

3.3.2.2 Les résultats concernant les lymphocytes B1 circulants

Concernant les B1, il n'y a pas de modification de leur nombre global comme mis en évidence sur la figure suivante (Figure 26). Mais on observe une tendance à la diminution de ce taux de B1 chez les patients atteints de parodontite.

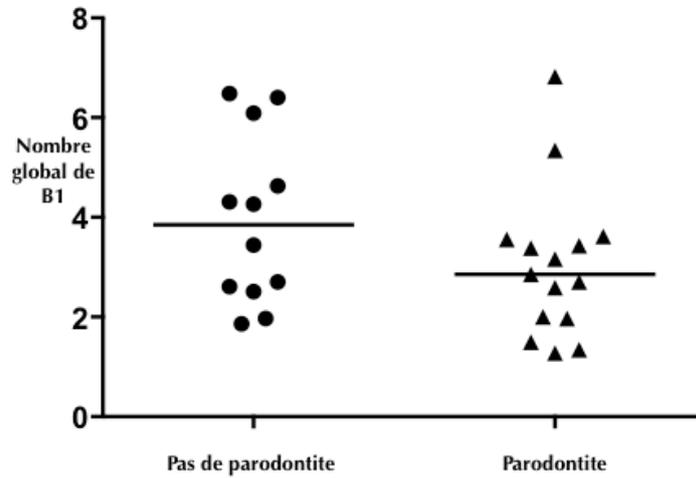


Figure 26 : Comparaison du nombre de B1 chez les patients présentant une parodontite et chez les témoins

Cependant on remarque que les LB CD5+ des patients atteints d'une parodontite présentent une augmentation, statistiquement significative de leur expression du CD11b, molécule intervenant dans la chimiotaxie et la migration des leucocytes (Figure 27).

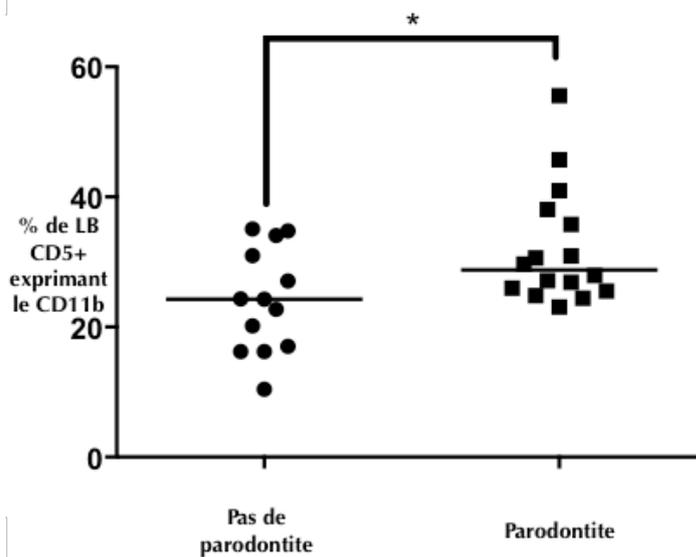


Figure 27 : Expression du CD11b sur les LB CD5+ des patients avec et sans parodontite

Cependant une corrélation négative a été mise en évidence entre le taux de LB CD5+ et la sévérité de la maladie. Ainsi plus l'atteinte est importante et sévère, moins on retrouve de LB CD5+ dans le sang des patients. Ainsi dans la figure suivante (Figure 28), on observe que l'augmentation du nombre de sites sans perte d'attache (perte d'attache =0) est associé à une tendance à l'augmentation du nombre de LB CD5+. De plus, on notera aussi que les critères de sévérité de la maladie parodontale (pourcentage de sites atteints, pourcentage de sites avec une perte d'attache supérieure ou égale à 6mm, et pourcentage de sites présentant des profondeurs de poches supérieures ou égales à 5mm) sont associés à une tendance à la diminution du taux de LB CD5+. Ces résultats ne sont pas statistiquement significatifs en raison du nombre trop faible de patients.

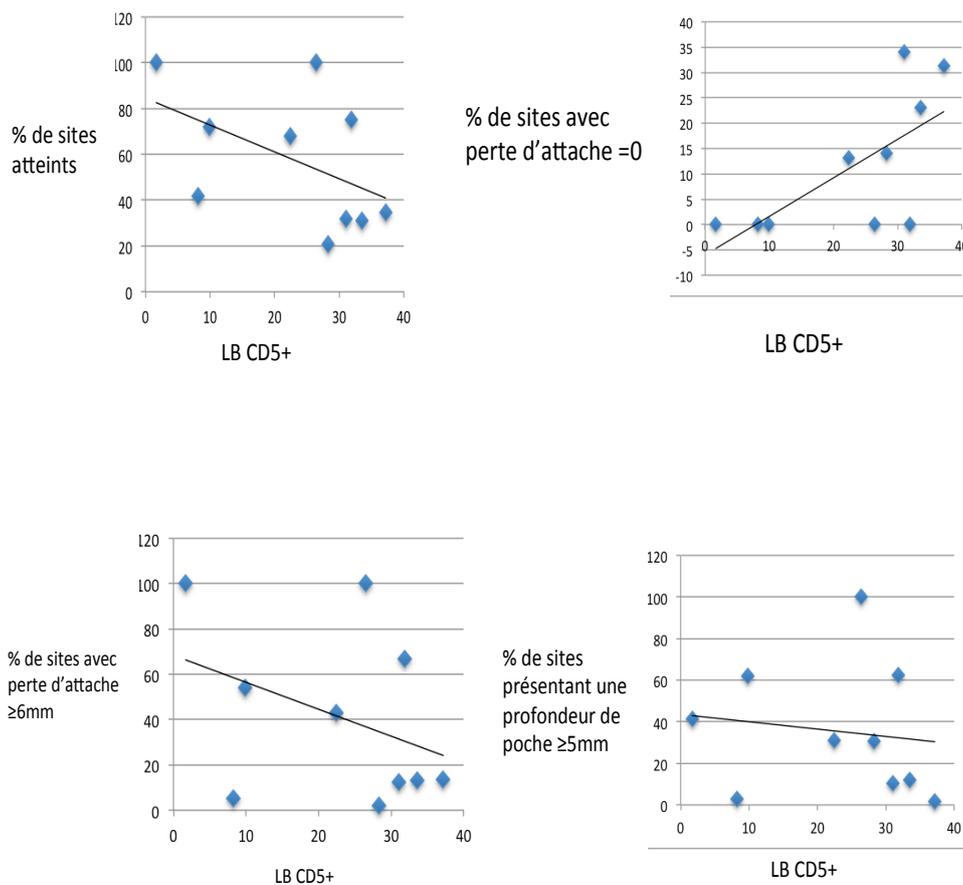


Figure 28 : Corrélation entre la diminution du taux de LB CD5+ et la sévérité de la maladie parodontale

3.3.2.3 Les résultats concernant l'expression de RANKL

Après analyse des résultats, on note que RANKL n'est pas systématiquement exprimé par les LB chez les patients présentant une parodontite ; en revanche on observe une tendance à l'augmentation de l'expression de RANKL sur les LB chez les patients atteints d'une parodontite (Figure 29).

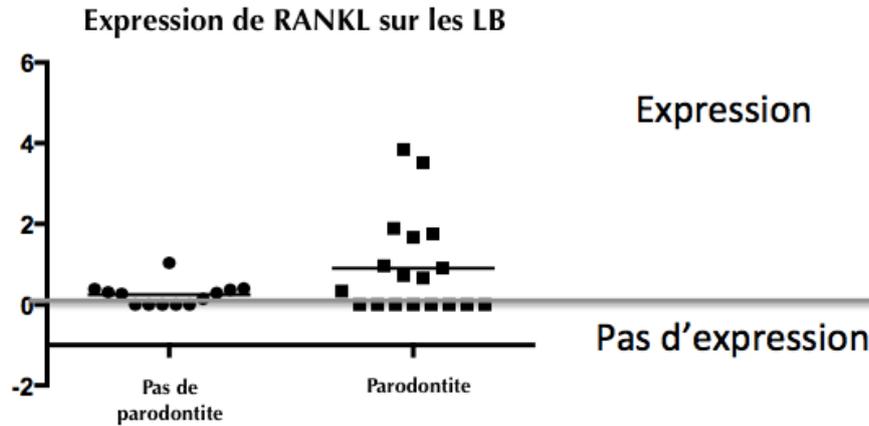


Figure 29 : Expression de RANKL sur les LB

De plus, en analysant l'expression du RANKL sur les différentes sous-populations de LB, on observe une augmentation, statistiquement significative, de RANKL sur l'ensemble de ces sous-populations chez les patients atteints de parodontite ; l'expression du RANKL semble d'ailleurs s'homogénéiser sur toutes les sous-populations chez les patients atteints de parodontite en comparaison avec les patients sans parodontite (Figure 30).

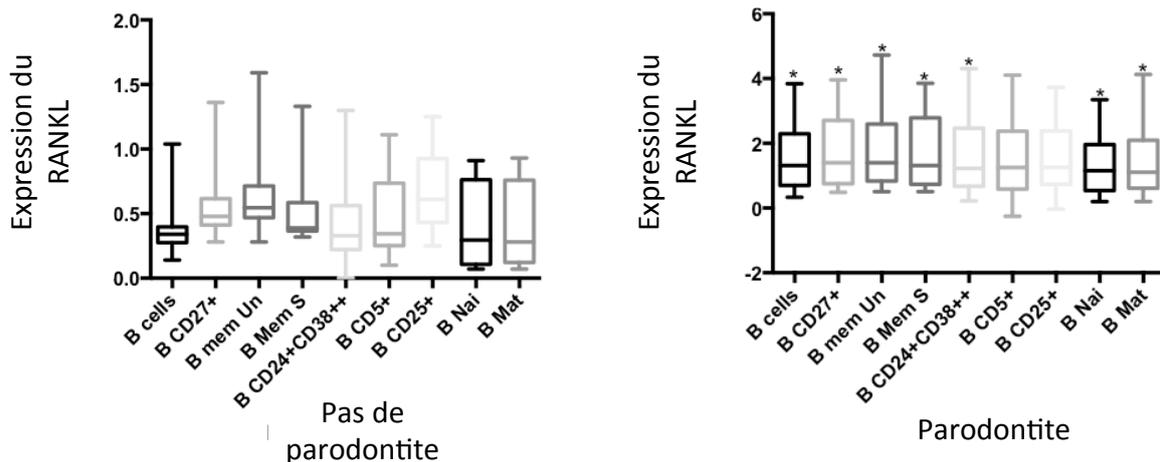


Figure 30 : Expression du RANKL sur les sous-populations de lymphocytes B

Il n'a cependant pas été retrouvé de corrélation entre l'expression de RANKL sur les LB et les différents paramètres cliniques ; cela est probablement dû au trop faible nombre de patients.

Au total, on retiendra, de notre étude, les informations suivantes:

- la maladie parodontale, dans sa forme sévère, semble associée à un phénotype immunitaire particulier caractérisé par une augmentation du taux de LB matures en particulier des LB mémoires et une diminution du taux de LB naïfs dans le sang.
- les différents signes cliniques caractérisant la sévérité (pourcentage de sites avec une perte d'attache supérieure ou égale à 6mm et pourcentage de sites avec une profondeur de poche supérieure ou égale à 5mm) et l'extension (pourcentage de sites atteints) de la maladie parodontale semblent associés à une augmentation du taux de LB mémoires dans le sang des patients
- a contrario*, la santé parodontale (pourcentage de sites ne présentant pas de perte d'attache) semble associée à une augmentation du taux de LB naïfs dans le sang
- nous avons par ailleurs mis en évidence une tendance à la diminution du nombre de LB B1 dans le sang des patients atteints de maladie parodontale

3.4 Discussion

Lors de la mise en place du protocole, nous avons jugé bon d'utiliser la classification de Page et Eke aux dépens de celle de l'AAP de 1999 car cette nouvelle classification est représentative de la sévérité de la maladie ; elle se base, en effet, principalement sur le nombre de sites atteints contrairement à celle de l'AAP de 1999 qui nécessite de nombreux critères pour poser un diagnostic. Dans la sélection de nos patients, nous nous sommes focalisés sur ceux présentant une atteinte sévère. En effet, chez ces patients, tous les marqueurs caractéristiques de la maladie parodontale (inflammation, résorption osseuse...) sont exacerbés ; c'est pourquoi nous avons choisi de privilégier ce type de patients afin d'espérer obtenir des résultats nets.

La sélection de patients uniquement atteints de parodontite sévère selon la classification de Page et Eke représente bien sûr un biais de cette étude. Il faudra envisager, dans la prochaine étude, d'inclure des patients atteints de parodontite modérée et légère afin d'évaluer si les résultats obtenus dans cette étude sont extrapolables à l'ensemble des parodontites. De plus, ni la parité homme/femme, ni la consommation de tabac ne sont équivalentes entre les populations de témoins et de patients. Ces critères sont très importants, en particulier le tabac, car il influence fortement l'état parodontal. De plus, comme nous l'avons déjà évoqué au chapitre 1.5.1.2, le sexe, en particulier les modifications hormonales subies par la femme au cours de sa vie, influencent fortement le développement de la maladie parodontale.

Dans les résultats, nous avons noté qu'il n'y avait pas de corrélation entre l'augmentation du taux de LB mémoires et le marqueur d'inflammation BOP. Cette donnée est à pondérer puisque nous n'avions qu'un faible nombre de patients pour lesquels nous disposions de l'indice BOP, ce qui ne permet pas de conclure d'un point de vue statistique. De plus, cette absence de corrélation est probablement liée au fait que la plupart des patients du groupe « parodontite » sont des patients fumeurs. Comme cela a déjà été évoqué au chapitre 1.5.1.6, le tabac a un effet vasoconstricteur sur les tissus parodontaux, ce qui sous-évalue l'indice BOP. Cela pourrait expliquer l'absence de corrélation entre BOP et la répartition des différentes sous-populations de LB. Afin de faire la lumière sur cette donnée, il serait intéressant d'inclure dans une nouvelle étude des patients atteints de parodontite et non fumeurs. En outre, il est important de rappeler que BOP est un reflet de l'inflammation du parodonte superficiel ; or les mécanismes régissant l'inflammation sont différents de ceux régissant la résorption osseuse, même si certains médiateurs sont communs.

Concernant les LB CD5+, leur taux semble diminuer avec l'augmentation de la sévérité de la maladie. Cette observation, associée à l'observation que les LB CD5+ semblent exprimer de manière plus forte le CD11b chez les patients atteints d'une parodontite, pourrait être expliquée par le passage des LB CD5+, avec l'aide du CD11b, dans les tissus parodontaux quand la parodontite devient plus sévère. Ces cellules seraient alors moins retrouvées au niveau du sang. Cependant d'autres études ont mis en évidence une nette augmentation du taux de LB CD5+ dans le sang des patients atteints de parodontite, décrivant même cette augmentation comme un marqueur de susceptibilité de la maladie

parodontale (Donati et al. 2009). L'augmentation du nombre de patients devrait nous permettre de confirmer nos premières données ou d'obtenir des données plus en corrélation avec la littérature.

Quant au RANKL, même si nous ne parvenons pas à obtenir des résultats statistiquement significatifs, il existe une tendance à l'augmentation de l'expression du RANKL sur les LB des patients atteints d'une parodontite. Cette tendance à l'augmentation semble indiquer un probable rôle des LB dans la cascade RANK/RANKL. Ceci devra être confirmé par une augmentation du nombre de patients étudiés. De plus, il serait intéressant, à l'avenir, d'évaluer une éventuelle variation de l'expression en fonction du type de parodontite (sévère, modérée ou légère). Il serait aussi intéressant d'évaluer le taux d'OPG et de RANKL circulants dans le sang des patients atteints de parodontite en comparaison avec des patients témoins. En effet, le déséquilibre du couple RANKL/OPG est à l'origine d'une activation de l'ostéoclastogenèse ; cette donnée est essentielle dans la résorption osseuse caractéristique de la maladie parodontale (Hienz, Paliwal, et Ivanovski 2015).

Notre étude préliminaire est le reflet d'une analyse partielle des données. En effet, au cours du recrutement, nous avons recrutés 4 patients atteints de parodontite modérée dont les données n'ont pas pu être intégrées aux résultats au vu du trop faible nombre de patients. Cependant, après analyse de ces données, il semble que les tendances générales soient concordantes avec celles retrouvées chez les patients atteints de parodontite sévère. Cette information conforte notre volonté de mettre en place une nouvelle étude avec plus de patients et avec une diversité dans la sévérité des parodontites chez les patients recrutés.

Dans le cadre de notre protocole, nous avons aussi eu l'occasion de prélever de la gencive au niveau de dents sévèrement atteintes chez certains patients nécessitant une chirurgie (avulsion ou chirurgie parodontale d'assainissement) ; les premiers résultats semblent très prometteurs. En effet, dans la gencive de la poche parodontale, on observe une nette augmentation du taux de LB mémoires et de plasmablastes ce qui semble concorder avec nos observations sur le sang circulant. Cependant, nous avons observé que les LB présents dans l'infiltrat inflammatoire de la poche parodontale expriment peu ou pas le RANKL sous sa forme membranaire. Cette donnée pourrait sembler contradictoire avec nos résultats montrant une augmentation de l'expression du RANKL sur les différentes sous-populations de LB dans le sang des patients atteints de parodontite ; mais il faut tenir compte du possible clivage du RANKL entraînant la libération de RANKL sous sa forme soluble. Ainsi, on pourrait envisager que le RANKL membranaire situé sur les LB est clivé au cours de la maladie parodontale, la libération du RANKL soluble pourrait alors être à l'origine de l'activation des ostéoclastes responsables de la résorption osseuse dans la parodontite.

Une étude est aussi en cours sur les LT, dont le rôle dans la parodontite a été décrit au chapitre 2.2.7 ; les premiers résultats semblent mettre en évidence une augmentation des populations de LT CD4+ et CD8+ effecteurs. Une étude plus approfondie de la répartition des différentes sous-populations de LT dans la parodontite et de son association avec les différents critères cliniques est en cours afin de déterminer s'il existe un phénotype de LT spécifique de la maladie parodontale dans sa forme sévère.

Au total, les résultats de notre étude ont mis en évidence une nette augmentation des LB mémoires dans le sang des patients atteints de parodontite. Cette augmentation se fait aux dépens des LB naïfs dont le taux diminue fortement chez les patients atteints de parodontite en comparaison avec les patients sains. Cette observation laisse envisager la possible existence d'un phénotype immunitaire spécifique des maladies parodontales. Ce phénotype serait caractérisé par une augmentation des LB présentant une importante maturation, c'est le cas principalement des LB mémoires, mais aussi par une diminution des LB naïfs.

L'observation de phénotypes immunitaires spécifiques a déjà été mise en évidence dans certaines maladies auto-immunes. Cela a été montré, par exemple, dans le Syndrome de Gougerot-Sjogren, maladie auto-immune inflammatoire touchant spécifiquement les glandes exocrines. Dans cette maladie, une répartition spécifique des sous-populations de LB a été mise en évidence. Chez les patients atteints du syndrome de Gougerot-Sjogren, le ratio $(Bm2 \text{ et } Bm2') / (eBm5 + Bm5)$ était fortement augmenté. Ainsi, il a été démontré que l'on retrouvait plus de LB faiblement différenciés que de LB fortement matures chez les patients atteints de ce syndrome par rapport à des patients sains (Binard et al. 2009).

Afin d'améliorer la significativité de nos résultats et de pouvoir les généraliser, nous envisageons de mettre en place une étude portant sur un plus grand nombre de patients. Dans cette future étude, nous souhaitons recruter des patients souffrant des différents types de parodontite selon la classification de Page et Eke c'est-à-dire parodontite sévère, parodontite modérée et parodontite légère. L'objectif serait, non seulement de confirmer les résultats obtenus au cours de notre première étude, mais encore de comparer les différents paramètres étudiés en fonction des différents types de parodontite. En effet, il serait intéressant de savoir si les données que nous avons mises en évidence sont valables uniquement pour les parodontites sévères ou si elles sont généralisables à l'ensemble des parodontites.

De plus, dans notre prochaine étude, nous prévoyons de réaliser des prélèvements sanguins à l'issue du traitement parodontal initial. En effet, si notre étude démontre bien l'existence d'une répartition des sous-populations de LB spécifique à la maladie parodontale, nous ne savons pas actuellement si ce phénotype se normalise après retour à un état parodontal stabilisé ou s'il persiste même après traitement. La littérature a déjà démontré que le taux LB CD5+ est statistiquement augmenté chez les patients souffrant de maladie parodontale mais que ce taux ne se normalise pas après retour à un état parodontal stabilisé, définissant ainsi l'augmentation du taux de LB CD5+ comme un critère de susceptibilité à la maladie parodontale et non comme un marqueur de sa présence ou de son activité. Il serait très intéressant de pouvoir analyser cela sur les LB mémoires. Cependant, nous persistons à penser que l'augmentation du taux de LB mémoires est bien un marqueur de la présence et de la sévérité de la maladie parodontale puisque cette augmentation est corrélée aux critères cliniques. De plus, nous savons que les LB mémoires sont des cellules actives dont le rôle dans la réponse immunitaire adaptative est central ; il semblerait donc cohérent qu'elles soient plus présentes chez les patients atteints de parodontite. En effet, cette pathologie fait fortement intervenir la

mémoire immunitaire puisque l'hôte est confronté, en permanence, aux mêmes pathogènes. Pour confirmer cette hypothèse, il pourrait aussi être intéressant d'analyser le BCR de ces LB afin de confirmer que ces cellules sont toutes spécialisées dans la lutte contre les bactéries parodontopathogènes responsables de la maladie parodontale.

L'ensemble des données recueillies au cours de cette étude est très prometteur. L'analyse des données concernant la gencive, les LT, et l'inclusion de nouveaux patients atteints de parodontite modérée pourrait nous permettre d'obtenir une vision globale de l'immunité adaptative chez les patients atteints de parodontite. Cependant les résultats obtenus au cours de l'étude préliminaire sont déjà très évocateurs et à terme ils pourraient faire évoluer à la fois le diagnostic et le traitement de la maladie parodontale. Cette étude ouvre de nombreuses portes sur une nouvelle vision plus systémique et immunologique de la maladie parodontale.

Conclusion

L'analyse de la littérature contemporaine nous a orienté vers un rôle crucial des LB dans la maladie parodontale tant par leur présence augmentée dans les tissus atteints, que par leur rôle dans le remodelage du système squelettique. Par ailleurs, l'étude menée au sein du CHRU de Brest en 2015 par Coat et al. montrant une amélioration de l'état parodontal chez les patients traités par thérapie anti-LB n'a fait que conforter notre opinion.

A ce jour, le rôle crucial du LB dans la maladie parodontale ne fait plus aucun doute. La question se pose alors de savoir s'il existerait un phénotype immunitaire spécifique à la maladie parodontale dans la répartition des LB.

Si notre étude préliminaire mérite d'être approfondie, elle semble, cependant, mettre en évidence un phénotype, ou une répartition, des LB, spécifique à la maladie parodontale dans sa forme sévère. Cette répartition spécifique est caractérisée par une forte orientation des LB vers des sous-populations présentant une maturation importante (Bmémoires CD27+, Bmémoires switched...) aux dépens des sous-populations de LB naïfs.

Si ce phénotype immunitaire spécifique des parodontites sévères était confirmé, cela pourrait impacter le diagnostic de ces pathologies mais aussi leur traitement.

A l'avenir, il serait intéressant de réaliser une étude longitudinale afin d'observer une éventuelle normalisation du phénotype de LB associé aux malades atteints de parodontite à la suite de la mise en place d'une thérapeutique parodontale conventionnelle.

Bibliographie

Abbas, Abul K., Andrew H. H. Lichtman, Pierre L. Masson, Abdul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, et John Scott & Co. 2013. *Les Bases de L'immunologie Fondamentale et Clinique*. Elsevier Masson.

Abe, Toshiharu, Mohammed AlSarhan, Manjunatha R. Benakanakere, Tomoki Maekawa, Denis F. Kinane, Michael P. Cancro, Jonathan M. Korostoff, et George Hajishengallis. 2015. « The B-cell stimulatory cytokines BLyS and APRIL are elevated in human periodontitis and are required for B-cell-dependent bone loss in experimental murine periodontitis ». *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 195 (4): 1427-35. doi:10.4049/jimmunol.1500496.

Albandar, Jasim M., et Thomas E. Rams. 2002. « Risk Factors for Periodontitis in Children and Young Persons ». *Periodontology 2000* 29: 207-22.

AlShwaimi, Emad, Ellen Berggreen, Hisako Furusho, Jonathan Caleb Rossall, Justine Dobeck, Subbiah Yoganathan, Philip Stashenko, et Hajime Sasaki. 2013. « IL-17 Receptor A Signaling Is Protective in Infection-Stimulated Periapical Bone Destruction ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 191 (4): 1785-91. doi:10.4049/jimmunol.1202194.

ANAES. 2002. « Parodontopathies : diagnostic et traitements ». *Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-faciale* 104 (1): 33-42.

Anusaksathien, O., G. Singh, N. Matthews, et A. E. Dolby. 1992. « Autoimmunity to Collagen in Adult Periodontal Disease: Immunoglobulin Classes in Sera and Tissue ». *Journal of Periodontal Research* 27 (1): 55-61.

Armitage, G. C. 1999. « Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions ». *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology* 4 (1): 1-6. doi:10.1902/annals.1999.4.1.1.

Arslan, S. Y., K. P. Leung, et C. D. Wu. 2009. « The Effect of Lactoferrin on Oral Bacterial Attachment ». *Oral Microbiology and Immunology* 24 (5): 411-16. doi:10.1111/j.1399-302X.2009.00537.x.

Baehni, P., C. C. Tsai, W. P. McArthur, B. F. Hammond, et N. S. Taichman. 1979. « Interaction of Inflammatory Cells and Oral Microorganisms. VIII. Detection of Leukotoxic Activity of a Plaque-Derived Gram-Negative Microorganism ». *Infection and Immunity* 24 (1): 233-43.

Baker, Pamela J., et Derry C. Roopenian. 2002. « Genetic susceptibility to chronic periodontal disease ». *Microbes and Infection* 4 (11): 1157-67. doi:10.1016/S1286-4579(02)01642-8.

Barabash, R. D., E. K. Gukevich, Z. V. Berezovskaia, G. N. Varava, et A. P. Levitskiĭ. 1979. « [Role of peroxidase in the pathogenesis of parodontosis] ». *Voprosy Meditsinskoi Khimii* 25 (3): 333-42.

Beck, J. D., G. G. Koch, R. G. Rozier, et G. E. Tudor. 1990. « Prevalence and Risk Indicators for Periodontal Attachment Loss in a Population of Older Community-Dwelling Blacks and Whites ». *Journal of Periodontology* 61 (8): 521-28. doi:10.1902/jop.1990.61.8.521.

Bercy, Pierre, et Henri Tenenbaum. 1996. *Parodontologie: Du diagnostic à la pratique*. De Boeck Supérieur.

Berglundh, Tord, et Mauro Donati. 2005. « Aspects of Adaptive Host Response in Periodontitis ». *Journal of Clinical Periodontology* 32 Suppl 6: 87-107. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00820.x.

Berglundh, Tord, Mauro Donati, et Nicola Zitzmann. 2007. « B Cells in Periodontitis: Friends or Enemies? ». *Periodontology* 2000 45: 51-66. doi:10.1111/j.1600-0757.2007.00223.x.

Bergström, Jan. 2004. « Influence of Tobacco Smoking on Periodontal Bone Height. Long-Term Observations and a Hypothesis ». *Journal of Clinical Periodontology* 31 (4): 260-66. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00475.x.

Binard, A., L. Le Pottier, V. Devauchelle-Pensec, A. Saraux, P. Youinou, et J.-O. Pers. 2009. « Is the Blood B-Cell Subset Profile Diagnostic for Sjogren Syndrome? ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 68 (9): 1447-52. doi:10.1136/ard.2008.096172.

Birkedal-Hansen, Henning, Robert E. Taylor, Joseph J. Zambon, Pankaj K. Barwa, et Mirdza E. Neiders. 1988. « Characterization of Collagenolytic Activity from Strains of *Bacteroides Gingivalis* ». *Journal of Periodontal Research* 23 (4): 258-64. doi:10.1111/j.1600-0765.1988.tb01369.x.

Boillot, Adrien, Bechara El Halabi, George David Batty, Hélène Rangé, Sébastien Czernichow, et Philippe Bouchard. 2011. « Education as a Predictor of Chronic Periodontitis: A Systematic Review with Meta-Analysis Population-Based Studies ». *PloS One* 6 (7): e21508. doi:10.1371/journal.pone.0021508.

Borrell, Luisa N., et Natalie D. Crawford. 2008. « Social Disparities in Periodontitis among United States Adults 1999-2004 ». *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 36 (5): 383-91.

Boström, L., L. E. Linder, et J. Bergström. 1998. « Clinical Expression of TNF-Alpha in Smoking-Associated Periodontal Disease ». *Journal of Clinical Periodontology* 25 (10): 767-73.

Bouchard, Philippe, Matthieu Frémont, et Mariano Sanz. 2014. *Parodontologie & dentisterie implantaire*. Odontologie. Paris: Lavoisier Médecine Sciences.

Bourgeois, D., P. Bouchard, et C. Mattout. 2007. « Epidemiology of Periodontal Status in Dentate Adults in France, 2002-2003 ». *Journal of Periodontal Research* 42 (3): 219-27. doi:10.1111/j.1600-0765.2006.00936.x.

Boyle, William J., W. Scott Simonet, et David L. Lacey. 2003. « Osteoclast Differentiation and Activation ». *Nature* 423 (6937): 337-42. doi:10.1038/nature01658.

Calas-Bennasar, I., P. Bousquet, O. Jame, V. Orti, et P. Gibert. 2005. « Examen clinique des parodontites ». *EMC - Odontologie* 1 (2): 181-91. doi:10.1016/j.emcodo.2005.01.005.

Charon, Jacques A. 2010. *Parodontie médicale: innovations cliniques*. 2ème édition. Collection JPIO. Rueil-Malmaison (Hauts-de-Seine), France: Éd. CdP.

Chen, Xiao-Tao, Li-Li Chen, Jing-Yi Tan, Dan-Hui Shi, Ting Ke, et Li-Hong Lei. 2016. « Th17 and Th1 Lymphocytes Are Correlated with Chronic Periodontitis ». *Immunological Investigations* 45 (3): 243-54. doi:10.3109/08820139.2016.1138967.

Choi, J. I., M. A. Borrello, E. S. Smith, et M. Zauderer. 2000. « Polarization of Porphyromonas Gingivalis-Specific Helper T-Cell Subsets by Prior Immunization with Fusobacterium Nucleatum ». *Oral Microbiology and Immunology* 15 (3): 181-87.

Coat, Juliette, Julien Demoersman, Sébastien Beuzit, Divi Cornec, Valérie Devauchelle-Pensec, Alain Saraux, et Jacques-Olivier Pers. 2015. « Anti-B Lymphocyte Immunotherapy Is Associated with Improvement of Periodontal Status in Subjects with Rheumatoid Arthritis ». *Journal of Clinical Periodontology* 42 (9): 817-23. doi:10.1111/jcpe.12433.

Colombier, M. L., C. Bigot, et R. Detienville. 1989. « [Bleeding on probing. Significance--consequences] ». *Journal De Parodontologie* 8 (4): 403-9.

Colucci, S., G. Mori, G. Brunetti, M. Coricciati, P. Pignataro, A. Oranger, N. Cirulli, F. Mastrangelo, F. R. Grassi, et M. Grano. 2005. « Interleukin-7 Production by B Lymphocytes Affects the T Cell-Dependent Osteoclast Formation in an in Vitro Model Derived from Human Periodontitis Patients ». *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* 18 (3 Suppl): 13-19.

Crawford, John M. 1992. « Distribution of ICAM-1, LFA-3 and HLA-DR in Healthy and Diseased Gingival Tissues ». *Journal of Periodontal Research* 27 (4): 291-98. doi:10.1111/j.1600-0765.1992.tb01680.x.

Cutler, Christopher W., et Yen-Tung A. Teng. 2007. « Oral Mucosal Dendritic Cells and Periodontitis: Many Sides of the Same Coin with New Twists ». *Periodontology 2000* 45: 35-50. doi:10.1111/j.1600-0757.2007.00222.x.

Darveau, R. P., A. Tanner, et R. C. Page. 1997. « The Microbial Challenge in Periodontitis ». *Periodontology 2000* 14 (juin): 12-32.

Delima, Andrew J., et Thomas E. Van Dyke. 2003. « Origin and Function of the Cellular Components in Gingival Crevice Fluid ». *Periodontology 2000* 31 (1): 55-76. doi:10.1034/j.1600-0757.2003.03105.x.

Dennison, D. K., et T. E. Van Dyke. 1997. « The Acute Inflammatory Response and

the Role of Phagocytic Cells in Periodontal Health and Disease ». *Periodontology* 2000 14 (juin): 54-78.

De Smet, Kris, et Roland Contreras. 2005. « Human Antimicrobial Peptides: Defensins, Cathelicidins and Histatins ». *Biotechnology Letters* 27 (18): 1337-47. doi:10.1007/s10529-005-0936-5.

Donati, M., B. Liljenberg, N. U. Zitzmann, et T. Berglundh. 2009. « B-1a Cells and Plasma Cells in Periodontitis Lesions ». *Journal of Periodontal Research* 44 (5): 683-88. doi:10.1111/j.1600-0765.2008.01178.x.

Duyninh, T., O. Jame, P. Bousquet, P. Gibert, et V. Orti. 2005. « Classification des maladies parodontales ». *EMC - Odontologie* 1 (1): 58-66. doi:10.1016/j.emcodo.2004.12.001.

Eke, Paul I., Roy C. Page, Liang Wei, Gina Thornton-Evans, et Robert J. Genco. 2012. « Update of the Case Definitions for Population-Based Surveillance of Periodontitis ». *Journal of Periodontology* 83 (12): 1449-54. doi:10.1902/jop.2012.110664.

Eke, P. I., B. A. Dye, L. Wei, G. O. Thornton-Evans, R. J. Genco, et CDC Periodontal Disease Surveillance workgroup: James Beck (University of North Carolina, Chapel Hill, USA), Gordon Douglass (Past President, American Academy of Periodontology), Roy Page (University of Washin. 2012. « Prevalence of Periodontitis in Adults in the United States: 2009 and 2010 ». *Journal of Dental Research* 91 (10): 914-20. doi:10.1177/0022034512457373.

Ferreira, Leonardo M. R. 2013. « Gammadelta T Cells: Innately Adaptive Immune Cells? » *International Reviews of Immunology* 32 (3): 223-48. doi:10.3109/08830185.2013.783831.

Frandsen, E. V., J. Reinholdt, M. Kjeldsen, et M. Kilian. 1995. « In Vivo Cleavage of Immunoglobulin A1 by Immunoglobulin A1 Proteases from *Prevotella* and *Capnocytophaga* Species ». *Oral Microbiology and Immunology* 10 (5): 291-96.

Ftis, A., G. Singh, et A. E. Dolby. 1986. « Antibody to Collagen Type I in Periodontal Disease ». *Journal of Periodontology* 57 (11): 693-98. doi:10.1902/jop.1986.57.11.693.

Gaffen, S. L., et G. Hajishengallis. 2008. « A New Inflammatory Cytokine on the Block: Re-Thinking Periodontal Disease and the Th1/Th2 Paradigm in the Context of Th17 Cells and IL-17 ». *Journal of Dental Research* 87 (9): 817-28.

Gao, Z., et I. C. Mackenzie. 1992. « Patterns of Phenotypic Expression of Human Junctional, Gingival and Reduced Enamel Epithelia in Vivo and in Vitro ». *Epithelial Cell Biology* 1 (4): 156-67.

Garlet, Gustavo P., Cristina R. Cardoso, Flavia S. Mariano, Marcela Claudino, Gerson F. de Assis, Ana P. Campanelli, Mario J. Avila-Campos, et João S. Silva. 2010. « Regulatory T Cells Attenuate Experimental Periodontitis Progression in Mice ». *Journal of Clinical*

Periodontology 37 (7): 591-600. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01586.x.

Gibbons, R. J., et J.B. MacDonald. 1961. « DEGRADATION OF COLLAGENOUS SUBSTRATES BY BACTEROIDES MELANINOGENICUS1 ». *Journal of Bacteriology* 81 (4): 614-21.

Gibbons, R. J., et J. V. Qureshi. 1980. « Virulence-Related Physiological Changes and Antigenic Variation in Populations of Streptococcus Mutans Colonizing Gnotobiotic Rats ». *Infection and Immunity* 29 (3): 1082-91.

Gorr, Sven-Ulrik. 2012. « Antimicrobial Peptides in Periodontal Innate Defense ». *Frontiers of Oral Biology* 15: 84-98. doi:10.1159/000329673.

Grenier, D, et M Bélanger. 1991. « Protective effect of Porphyromonas gingivalis outer membrane vesicles against bactericidal activity of human serum. » *Infection and Immunity* 59 (9): 3004-8.

Grenier, D., D. Mayrand, et B.C. McBride. 1989. « Further Studies on the Degradation of Immunoglobulins by Black-Pigmented Bacteroides ». *Oral Microbiology and Immunology* 4 (1): 12-18. doi:10.1111/j.1399-302X.1989.tb00400.x.

Guentsch, A., C. Hirsch, W. Pfister, B. Vincents, M. Abrahamson, A. Sroka, J. Potempa, et S. Eick. 2013. « Cleavage of IgG1 in Gingival Crevicular Fluid Is Associated with the Presence of Porphyromonas Gingivalis ». *Journal of Periodontal Research* 48 (4): 458-65. doi:10.1111/jre.12027.

Haas, Alex N., Cassiano K. Rösing, Rui V. Oppermann, Jasim M. Albandar, et Cristiano Susin. 2009. « Association among Menopause, Hormone Replacement Therapy, and Periodontal Attachment Loss in Southern Brazilian Women ». *Journal of Periodontology* 80 (9): 1380-87. doi:10.1902/jop.2009.090082.

Haffajee, Anne D., et Sigmund S. Socransky. 1994. « Microbial Etiological Agents of Destructive Periodontal Diseases ». *Periodontology 2000* 5 (1): 78-111. doi:10.1111/j.1600-0757.1994.tb00020.x.

Hajishengallis, George, et Richard J. Lamont. 2014. « Breaking Bad: Manipulation of the Host Response by Porphyromonas Gingivalis ». *European Journal of Immunology* 44 (2): 328-38. doi:10.1002/eji.201344202.

Hamada, Shigeyuki, et Stanley C. Holt. 1991. *Periodontal Disease: Pathogens & Host Immune Responses*. Quintessence Pub. Co.

Hamp, S. E., S. Nyman, et J. Lindhe. 1975. « Periodontal Treatment of Multirooted Teeth. Results after 5 Years ». *Journal of Clinical Periodontology* 2 (3): 126-35.

Hans, Mayank, et Veenu Madaan Hans. 2011. « Toll-like Receptors and Their Dual Role in Periodontitis: A Review ». *Journal of Oral Science* 53 (3): 263-71.

Han, Xiaozhe, Toshihisa Kawai, Jean W. Eastcott, et Martin A. Taubman. 2006. « Bacterial-Responsive B Lymphocytes Induce Periodontal Bone Resorption ». *Journal of*

Immunology (Baltimore, Md.: 1950) 176 (1): 625-31.

Harada, Y., X. Han, K. Yamashita, T. Kawai, J. W. Eastcott, D. J. Smith, et M. A. Taubman. 2006. « Effect of Adoptive Transfer of Antigen-Specific B Cells on Periodontal Bone Resorption ». *Journal of Periodontal Research* 41 (2): 101-7. doi:10.1111/j.1600-0765.2005.00839.x.

Hart, T. C., M. L. Marazita, H. A. Schenkein, et S. R. Diehl. 1992. « Re-Interpretation of the Evidence for X-Linked Dominant Inheritance of Juvenile Periodontitis ». *Journal of Periodontology* 63 (3): 169-73. doi:10.1902/jop.1992.63.3.169.

Henskens, Y. M., U. van der Velden, E. C. Veerman, et A. V. Nieuw Amerongen. 1993. « Protein, Albumin and Cystatin Concentrations in Saliva of Healthy Subjects and of Patients with Gingivitis or Periodontitis ». *Journal of Periodontal Research* 28 (1): 43-48.

Herbert, B. A., C. M. Novince, et K. L. Kirkwood. 2016. « Aggregatibacter Actinomycetemcomitans, a Potent Immunoregulator of the Periodontal Host Defense System and Alveolar Bone Homeostasis ». *Molecular Oral Microbiology* 31 (3): 207-27. doi:10.1111/omi.12119.

Hienz, Stefan A., Sweta Paliwal, et Saso Ivanovski. 2015. « Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis ». *Journal of Immunology Research* 2015. doi:10.1155/2015/615486.

Hirsch, H. Z., A. Tarkowski, E. J. Miller, S. Gay, W. J. Koopman, et J. Mestecky. 1988. « Autoimmunity to Collagen in Adult Periodontal Disease ». *Journal of Oral Pathology* 17 (9-10): 456-59.

Houle, MA, et D Grenier. 2003. « Maladies parodontales : connaissances actuelles ». *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS Médecine et maladies infectieuses* 33 (2003) 331-340. doi:10.1016/S0399-077X(03)00203-8.

Ihalin, R., V. Loimaranta, M. Lenander-Lumikari, et J. Tenovou. 1998. « The Effects of Different (pseudo)halide Substrates on Peroxidase-Mediated Killing of Actinobacillus Actinomycetemcomitans ». *Journal of Periodontal Research* 33 (7): 421-27.

Irfan, U. M., D. V. Dawson, et N. F. Bissada. 2001. « Epidemiology of Periodontal Disease: A Review and Clinical Perspectives ». *Journal of the International Academy of Periodontology* 3 (1): 14-21.

Jeon, Do-In, Se-Ra Park, Mee-Young Ahn, Sang-Gun Ahn, Jong-Hwan Park, et Jung-Hoon Yoon. 2012. « NOD1 and NOD2 Stimulation Triggers Innate Immune Responses of Human Periodontal Ligament Cells ». *International Journal of Molecular Medicine* 29 (4): 699-703. doi:10.3892/ijmm.2012.878.

Jin, Kwan-Chul, Pankaj K. Barua, J. Zambon, et Mirdza E. Neiders. 1989. « Proteolytic activity in black-pigmented bacteroides species ». *Journal of Endodontics* 15 (10): 463-67. doi:10.1016/S0099-2399(89)80025-1.

Kanzaki, Hiroyuki, Seicho Makihira, Maiko Suzuki, Takenobu Ishii, Alexandru Movila, Josefine Hirschfeld, Hani Mawardi, et al. 2016. « Soluble RANKL Cleaved from Activated Lymphocytes by TNF- α -Converting Enzyme Contributes to Osteoclastogenesis in Periodontitis ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 197 (10): 3871-83. doi:10.4049/jimmunol.1601114.

Kato, T, Tetsuya Imatani, Kiyoshi Minaguchi, Eiichi Saitoh, et Katsuji Okuda. 2002. « Salivary Cystatins Induce Interleukin-6 Expression via Cell Surface Molecules in Human Gingival Fibroblasts ». *Molecular Immunology* 39 (7-8): 423-30.

Kato, T., T. Imatani, T. Miura, K. Minaguchi, E. Saitoh, et K. Okuda. 2000. « Cytokine-Inducing Activity of Family 2 Cystatins ». *Biological Chemistry* 381 (11): 1143-47. doi:10.1515/BC.2000.141.

Kawai, Toshihisa, Takashi Matsuyama, Yoshitaka Hosokawa, Seicho Makihira, Makoto Seki, Nadeem Y. Karimbux, Reginaldo B. Goncalves, et al. 2006. « B and T Lymphocytes Are the Primary Sources of RANKL in the Bone Resorptive Lesion of Periodontal Disease ». *The American Journal of Pathology* 169 (3): 987-98. doi:10.2353/ajpath.2006.060180.

Khader, Yousef S., Ali S. Dauod, Saleh S. El-Qaderi, Ahmed Alkafajei, et Walid Q. Batayha. 2006. « Periodontal Status of Diabetics Compared with Nondiabetics: A Meta-Analysis ». *Journal of Diabetes and Its Complications* 20 (1): 59-68. doi:10.1016/j.jdiacomp.2005.05.006.

Kilian, M. 1981. « Degradation of Immunoglobulins A2, A2, and G by Suspected Principal Periodontal Pathogens. » *Infection and Immunity* 34 (3): 757-65.

Kornman, K. S., A. Crane, H. Y. Wang, F. S. di Giovine, M. G. Newman, F. W. Pirk, T. G. Wilson, F. L. Higginbottom, et G. W. Duff. 1997. « The Interleukin-1 Genotype as a Severity Factor in Adult Periodontal Disease ». *Journal of Clinical Periodontology* 24 (1): 72-77.

Krstic, Jelena, Hristina Obradovic, Tamara Kukolj, Slavko Mojsilovic, Ivana Okic-Dordevic, Diana Bugarski, et Juan F. Santibanez. 2015. « An Overview of Interleukin-17A and Interleukin-17 Receptor A Structure, Interaction and Signaling ». *Protein and Peptide Letters* 22 (7): 570-78.

Kuby, Janis, Thomas J. Kindt, Richard A. Goldsby, Barbara A. Osborne, et Catherine Sautès-Fridman. 2008. *Immunologie : le cours de Janis Kuby avec questions de révision*. 6e édition. Sciences sup. Paris: Dunod.

Kulkarni, Cyeele, et Denis F. Kinane. 2014. « Host Response in Aggressive Periodontitis ». *Periodontology 2000* 65 (1): 79-91. doi:10.1111/prd.12017.

Kunimatsu, K., Y. Ozaki, Y. Hara, Y. Aoki, K. Yamamoto, et I. Kato. 1997. « Immunohistochemical Study of Cathepsin G and Medullasin in Inflamed Gingival Tissues

from Periodontal Patients ». *Journal of Periodontal Research* 32 (2): 264-70.

Kuo, Lan-Chen, Alan M. Polson, et Taeheon Kang. 2008. « Associations between periodontal diseases and systemic diseases: A review of the inter-relationships and interactions with diabetes, respiratory diseases, cardiovascular diseases and osteoporosis ». *Public Health* 122 (4): 417-33. doi:10.1016/j.puhe.2007.07.004.

Kuramitsu, et Ellen. 2000. *Oral Bacterial Ecology: The Molecular Basis*. Howard K. Kuramitsu State University of New York, Buffalo, USA and Richard P. Ellen University of Toronto, Canada.

Labbé, S., N. Leke, C. Marcotte, C. Vayssier, P. Duchesne, D. Mayrand, et D. Grenier. 1998. « Interactions bactériennes: rôle déterminant lors des maladies parodontales ». *Médecine et Maladies Infectieuses* 28 (2): 186-92. doi:10.1016/S0399-077X(98)80002-4.

Lantz, M. S., R. D. Allen, P. Bounelis, L. M. Switalski, et M. Hook. 1990. « Bacteroides Gingivalis and Bacteroides Intermedius Recognize Different Sites on Human Fibrinogen. » *Journal of Bacteriology* 172 (2): 716-26.

Lantz, M. S., R. W. Rowland, L. M. Switalski, et M. Höök. 1986. « Interactions of Bacteroides Gingivalis with Fibrinogen. » *Infection and Immunity* 54 (3): 654-58.

Lappin, David F., Danae Apatzidou, Anne-Marie Quirke, Jessica Oliver-Bell, John P. Butcher, Denis F. Kinane, Marcello P. Riggio, Patrick Venables, Iain B. McInnes, et Shauna Culshaw. 2013. « Influence of Periodontal Disease, Porphyromonas Gingivalis and Cigarette Smoking on Systemic Anti-Citrullinated Peptide Antibody Titres ». *Journal of Clinical Periodontology* 40 (10): 907-15. doi:10.1111/jcpe.12138.

Larjava, H., V-J. Uitto, M. Haapasalo, J. Heino, et M. Vuento. 1987. « Fibronectin Fragmentation Induced by Dental Plaque and Bacteroides Gingivalis ». *European Journal of Oral Sciences* 95 (4): 308-14. doi:10.1111/j.1600-0722.1987.tb01846.x.

Leitch, E. C., et M. D. Willcox. 1998. « Synergic Antistaphylococcal Properties of Lactoferrin and Lysozyme ». *Journal of Medical Microbiology* 47 (9): 837-42. doi:10.1099/00222615-47-9-837.

Le Pottier, Laetitia, Valérie Devauchelle, Jacques-Olivier Pers, Christophe Jamin, et Pierre Youinou. 2007. « The Mosaic of B-Cell Subsets (with Special Emphasis on Primary Sjögren's Syndrome) ». *Autoimmunity Reviews* 6 (3): 149-54. doi:10.1016/j.autrev.2006.09.011.

Listgarten, M. A. 1994. « The Structure of Dental Plaque ». *Periodontology 2000* 5 (juin): 52-65.

Liu, Dong, Anne Marie Rhebergen, et Stephanie C. Eisenbarth. 2013. « Licensing Adaptive Immunity by NOD-Like Receptors ». *Frontiers in Immunology* 4 (décembre): 486. doi:10.3389/fimmu.2013.00486.

Liu, D., J. K. Xu, L. Figliomeni, L. Huang, N. J. Pavlos, M. Rogers, A. Tan, P. Price,

et M. H. Zheng. 2003. « Expression of RANKL and OPG mRNA in Periodontal Disease: Possible Involvement in Bone Destruction ». *International Journal of Molecular Medicine* 11 (1): 17-21.

Loesche, W. J., F. Gusberti, G. Mettraux, T. Higgins, et S. Syed. 1983. « Relationship between Oxygen Tension and Subgingival Bacterial Flora in Untreated Human Periodontal Pockets ». *Infection and Immunity* 42 (2): 659-67.

Mackay, Fabienne, et Pascal Schneider. 2009. « Cracking the BAFF Code ». *Nature Reviews. Immunology* 9 (7): 491-502. doi:10.1038/nri2572.

Mackenzie, I. C., E. Dabelsteen, et U. Mandel. 1989. « Expression of Blood Group Antigen-Related Carbohydrates by Human Gingival Epithelia ». *Journal of Periodontal Research* 24 (5): 289-97. doi:10.1111/j.1600-0765.1989.tb00872.x.

Mackler, B. F., K. B. Frostad, P. B. Robertson, et B. M. Levy. 1977. « Immunoglobulin Bearing Lymphocytes and Plasma Cells in Human Periodontal Disease ». *Journal of Periodontal Research* 12 (1): 37-45.

Madianos, P. N., Y. A. Bobetsis, et D. F. Kinane. 2005. « Generation of Inflammatory Stimuli: How Bacteria Set up Inflammatory Responses in the Gingiva ». *Journal of Clinical Periodontology* 32 Suppl 6: 57-71. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00821.x.

Mahanonda, Rangsi, et Sathit Pichyangkul. 2007. « Toll-like Receptors and Their Role in Periodontal Health and Disease ». *Periodontology* 2000 43: 41-55. doi:10.1111/j.1600-0757.2006.00179.x.

Malcolm, J., R. A. Awang, J. Oliver-Bell, J. P. Butcher, L. Campbell, A. Adrados Planell, D. F. Lappin, et al. 2015. « IL-33 Exacerbates Periodontal Disease through Induction of RANKL ». *Journal of Dental Research* 94 (7): 968-75. doi:10.1177/0022034515577815.

Manilay, Jennifer O., et Moncef Zouali. 2014. « Tight Relationships between B Lymphocytes and the Skeletal System ». *Trends in Molecular Medicine* 20 (7): 405-12. doi:10.1016/j.molmed.2014.03.003.

Marsh, P. D. 2003. « Plaque as a Biofilm: Pharmacological Principles of Drug Delivery and Action in the Sub- and Supragingival Environment ». *Oral Diseases* 9 Suppl 1: 16-22.

Mattout, C., D. Bourgeois, et P. Bouchard. 2006. « Type 2 Diabetes and Periodontal Indicators: Epidemiology in France 2002-2003 ». *Journal of Periodontal Research* 41 (4): 253-58. doi:10.1111/j.1600-0765.2006.00862.x.

Maynard, J. G., et R. D. Wilson. 1980. « Diagnosis and Management of Mucogingival Problems in Children ». *Dental Clinics of North America* 24 (4): 683-703.

Mayrand, D., et D. Grenier. 1998. « Bacterial interactions in periodontal diseases ». *Bulletin de l'Institut Pasteur* 96 (2): 125-33. doi:10.1016/S0020-2452(98)80006-7.

Megson, Emma, Tracy Fitzsimmons, Kencana Dharmapatni, et P. Mark Bartold. 2010.

« C-Reactive Protein in Gingival Crevicular Fluid May Be Indicative of Systemic Inflammation ». *Journal of Clinical Periodontology* 37 (9): 797-804. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01603.x.

Mergenhagen, S. E., A. L. Sandberg, B. M. Chassy, M. J. Brennan, M. K. Yeung, J. A. Donkersloot, et J. O. Cisar. 1987. « Molecular Basis of Bacterial Adhesion in the Oral Cavity ». *Clinical Infectious Diseases* 9 (Supplement 5): S467-74. doi:10.1093/clinids/9.Supplement_5.S467.

Meyer, D. H., et P. M. Fives-Taylor. 1997. « The Role of Actinobacillus Actinomycetemcomitans in the Pathogenesis of Periodontal Disease ». *Trends in Microbiology* 5 (6): 224-28. doi:10.1016/S0966-842X(97)01055-X.

Muhlemann, H. R. 1950. « [Measurement of dental mobility as a diagnostic and prognostic aid in paradontology] ». *Paradentologie* 4 (3): 110-19.

Nagasawa, Toshiyuki, Makoto Kiji, Reiko Yashiro, Doosadee Hormdee, He Lu, Melanie Kunze, Tomonari Suda, et al. 2007. « Roles of Receptor Activator of Nuclear Factor-kappaB Ligand (RANKL) and Osteoprotegerin in Periodontal Health and Disease ». *Periodontology 2000* 43: 65-84. doi:10.1111/j.1600-0757.2006.00185.x.

Nakajima, T., K. Ueki-Maruyama, T. Oda, Y. Ohsawa, H. Ito, G. J. Seymour, et K. Yamazaki. 2005. « Regulatory T-Cells Infiltrate Periodontal Disease Tissues ». *Journal of Dental Research* 84 (7): 639-43. doi:10.1177/154405910508400711.

Nikolopoulos, Georgios K., Niki L. Dimou, Stavros J. Hamodrakas, et Pantelis G. Bagos. 2008. « Cytokine Gene Polymorphisms in Periodontal Disease: A Meta-Analysis of 53 Studies Including 4178 Cases and 4590 Controls ». *Journal of Clinical Periodontology* 35 (9): 754-67. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01298.x.

Nowak, Michael, Benjamin Krämer, Manuela Haupt, Panos N. Papapanou, Justus Kerschull, Per Hoffmann, Ingo G. Schmidt-Wolf, et al. 2013. « Activation of Invariant NK T Cells in Periodontitis Lesions ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 190 (5): 2282-91. doi:10.4049/jimmunol.1201215.

Ohlrich, E. J., M. P. Cullinan, et G. J. Seymour. 2009. « The Immunopathogenesis of Periodontal Disease ». *Australian Dental Journal* 54 Suppl 1 (septembre): S2-10. doi:10.1111/j.1834-7819.2009.01139.x.

O'Leary, T. J., R. B. Drake, et J. E. Naylor. 1972. « The Plaque Control Record ». *Journal of Periodontology* 43 (1): 38. doi:10.1902/jop.1972.43.1.38.

Oliver-Bell, J., J.p. Butcher, J. Malcolm, M.k.l. MacLeod, A. Adrados Planell, L. Campbell, R.j.b. Nibbs, P. Garside, I.b. McInnes, et S. Culshaw. 2015. « Periodontitis in the Absence of B Cells and Specific Anti-Bacterial Antibody ». *Molecular Oral Microbiology* 30 (2): 160-69. doi:10.1111/omi.12082.

Ortega-Gómez, Almudena, Mauro Perretti, et Oliver Soehnlein. 2013. « Resolution of

Inflammation: An Integrated View ». *EMBO Molecular Medicine* 5 (5): 661-74. doi:10.1002/emmm.201202382.

Page, R. C., et K. S. Kornman. 1997. « The Pathogenesis of Human Periodontitis: An Introduction ». *Periodontology 2000* 14 (juin): 9-11.

Page, R. C., S. Offenbacher, H. E. Schroeder, G. J. Seymour, et K. S. Kornman. 1997. « Advances in the Pathogenesis of Periodontitis: Summary of Developments, Clinical Implications and Future Directions ». *Periodontology 2000* 14 (juin): 216-48.

Page, R. C., et H. E. Schroeder. 1976. « Pathogenesis of Inflammatory Periodontal Disease. A Summary of Current Work ». *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 34 (3): 235-49.

Page, Roy C., et Paul I. Eke. 2007. « Case Definitions for Use in Population-Based Surveillance of Periodontitis ». *Journal of Periodontology* 78 (7s): 1387-99. doi:10.1902/jop.2007.060264.

Pers, Jacques-Olivier, Frédérique d'Arbonneau, Valérie Devauchelle-Pensec, Alain Saraux, Yvon-Louis Pennec, et Pierre Youinou. 2005. « Is Periodontal Disease Mediated by Salivary BAFF in Sjögren's Syndrome? ». *Arthritis and Rheumatism* 52 (8): 2411-14. doi:10.1002/art.21205.

Pers, J. O., et P. Youinou. 2014. « Are the B Cells Cast with the Leading Part in the Sjogren's Syndrome Scenario? ». *Oral Diseases* 20 (6): 529-37. doi:10.1111/odi.12153.

Persson, G. Rutger. 2005. « Immune Responses and Vaccination against Periodontal Infections ». *Journal of Clinical Periodontology* 32 Suppl 6: 39-53. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00800.x.

Pierrard, L., J. Braux, F. Chatté, M.-L. Jourdain, et J.-M. Svoboda. 2014. « Étiopathogénie des maladies parodontales ». *EMC - Médecine buccale 2015*, n° 10(1):1-8 [Article 28-190-C-10] (décembre). doi:10.1016/S1877-7864(14)66241-8.

Rabie, G., E. T. Lally, et B. J. Shenker. 1988. « Immunosuppressive Properties of Actinobacillus Actinomycetemcomitans Leukotoxin ». *Infection and Immunity* 56 (1): 122-27.

Rateitschak, Klaus H., Edith M. Rateitschak, Herbert F. Wolf, Roy C. Page, et Hubert Ernst Schroeder. 1986. *Atlas de parodontologie*. Traduit par Pierre Laudenbach et Michel Jabbour. Paris, France: Flammarion.

Reynolds, J. J., et M. C. Meikle. 1997. « Mechanisms of Connective Tissue Matrix Destruction in Periodontitis ». *Periodontology 2000* 14 (juin): 144-57.

Rosa, Guillermo M., Gabriela Q. Lucas, et Oscar N. Lucas. 2008. « Cigarette Smoking and Alveolar Bone in Young Adults: A Study Using Digitized Radiographs ». *Journal of Periodontology* 79 (2): 232-44. doi:10.1902/jop.2008.060522.

Sato, M., M. Otsuka, R. Maehara, J. Endo, et R. Nakamura. 1987. « Degradation of

human secretory immunoglobulin a by protease isolated from the anaerobic periodontopathogenic bacterium, *Bacteroides gingivalis* ». *Archives of Oral Biology* 32 (4): 235-38. doi:10.1016/0003-9969(87)90016-1.

Schroeder, H. E. 1986. *Handbook of microscopic anatomy Volume V/5: The Periodontium*. Springer. Vol. 5.

Schroeder, H. E., et M. A. Listgarten. 1997. « The Gingival Tissues: The Architecture of Periodontal Protection ». *Periodontology* 2000 13 (février): 91-120.

Schroeder, H. E., S. Münzel-Pedrazzoli, et R. Page. 1973. « Correlated Morphometric and Biochemical Analysis of Gingival Tissue in Early Chronic Gingivitis in Man ». *Archives of Oral Biology* 18 (7): 899-923.

Scott, David A., et Jennifer Krauss. 2012. « Neutrophils in Periodontal Inflammation ». *Frontiers of Oral Biology* 15: 56-83. doi:10.1159/000329672.

Seymour, G. J., et J. S. Greenspan. 1979. « The Phenotypic Characterization of Lymphocyte Subpopulations in Established Human Periodontal Disease ». *Journal of Periodontal Research* 14 (1): 39-46.

Seymour, G. J., R. N. Powell, K. L. Cole, J. F. Aitken, D. Brooks, I. Beckman, H. Zola, J. Bradley, et G. F. Burns. 1983. « Experimental Gingivitis in Humans. A Histochemical and Immunological Characterization of the Lymphoid Cell Subpopulations ». *Journal of Periodontal Research* 18 (4): 375-85.

Simpson, D. L., P. Berthold, et N. S. Taichman. 1988. « Killing of Human Myelomonocytic Leukemia and Lymphocytic Cell Lines by *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* Leukotoxin ». *Infection and Immunity* 56 (5): 1162-66.

Slomiany, B. L., V. L. Murty, J. Piotrowski, et A. Slomiany. 1996. « Salivary Mucins in Oral Mucosal Defense ». *General Pharmacology* 27 (5): 761-71.

Slots, J. 1998. « Casual or Causal Relationship between Periodontal Infection and Non-Oral Disease? ». *Journal of Dental Research* 77 (10): 1764-65.

Slots, J., I. Saygun, M. Sabeti, et A. Kubar. 2006. « Epstein-Barr Virus in Oral Diseases ». *Journal of Periodontal Research* 41 (4): 235-44. doi:10.1111/j.1600-0765.2006.00865.x.

Smalley, J.W., A.J. Birss, et C.A. Shuttleworth. 1988. « The degradation of type I collagen and human plasma fibronectin by the trypsin-like enzyme and extracellular membrane vesicles of *Bacteroides gingivalis* W50 ». *Archives of Oral Biology* 33 (5): 323-29. doi:10.1016/0003-9969(88)90065-9.

Smalley, J.W., C.A. Shuttleworth, et A.J. Birss. 1989. « Collagenolytic activity of the extracellular vesicles of *Bacteroides gingivalis* W50 and an avirulent variant W50/BE1 ». *Archives of Oral Biology* 34 (7): 579-83. doi:10.1016/0003-9969(89)90098-8.

Socransky, Sigmund S., Claire Smith, et Anne D. Haffajee. 2002. « Subgingival

Microbial Profiles in Refractory Periodontal Disease ». *Journal of Clinical Periodontology* 29 (3): 260-68.

Socransky, S. S. 1977. « Microbiology of Periodontal Disease—Present Status and Future Considerations ». *Journal of Periodontology* 48 (9): 497-504. doi:10.1902/jop.1977.48.9.497.

Socransky, S. S., et A. D. Haffajee. 1991. « Microbial Mechanisms in the Pathogenesis of Destructive Periodontal Diseases: A Critical Assessment ». *Journal of Periodontal Research* 26 (3 Pt 2): 195-212.

Socransky, S.s., A.d. Haffajee, M.a. Cugini, C. Smith, et R. L. Kent. 1998. « Microbial Complexes in Subgingival Plaque ». *Journal of Clinical Periodontology* 25 (2): 134-44. doi:10.1111/j.1600-051X.1998.tb02419.x.

Sørensen, Lars Tue, Henning Bay Nielsen, Arsalan Kharazmi, et Finn Gottrup. 2004. « Effect of Smoking and Abstention on Oxidative Burst and Reactivity of Neutrophils and Monocytes ». *Surgery* 136 (5): 1047-53. doi:10.1016/j.surg.2004.04.001.

Sorsa, Timo, Leo Tjäderhane, Yrjö T. Konttinen, Anneli Lauhio, Tuula Salo, Hsi-Ming Lee, Lorne M. Golub, David L. Brown, et Päivi Mäntylä. 2006. « Matrix metalloproteinases: Contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation ». *Annals of Medicine* 38 (5): 306-21. doi:10.1080/07853890600800103.

Steffensen, B., D. E. Lopatin, R. G. Caffesse, et C. T. Hanks. 1987. « Blood Group Substances as Differentiation Markers in Human Dento-Gingival Epithelium ». *Journal of Periodontal Research* 22 (6): 451-55. doi:10.1111/j.1600-0765.1987.tb02054.x.

Steinsvoll, S., K. Helgeland, et K. Schenck. 2004. « Mast Cells – a Role in Periodontal Diseases? ». *Journal of Clinical Periodontology* 31 (6): 413-19. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00516.x.

Stoufi, E. D., M. A. Taubman, J. L. Ebersole, D. J. Smith, et P. P. Stashenko. 1987. « Phenotypic Analyses of Mononuclear Cells Recovered from Healthy and Diseased Human Periodontal Tissues ». *Journal of Clinical Immunology* 7 (3): 235-45.

Struillou, X., E. Maujean, et J.-P. Chairay. 2008. « Radiodiagnostic des maladies parodontales ». <http://www.em-premium.com.scd-proxy.univ-brest.fr/data/traites/mb/28-53185/>, novembre. <http://www.em-premium.com.scd-proxy.univ-brest.fr/article/189331/resultatrecherche/1>.

Tajima, Yoshifumi, Satoshi Yokose, Masanori Kashimata, Masahiko Hiramatsu, Naomi Minami, et Nobuo Utsumi. 1992. « Epidermal Growth Factor Expression in Junctional Epithelium of Rat Gingiva ». *Journal of Periodontal Research* 27 (4): 299-300. doi:10.1111/j.1600-0765.1992.tb01681.x.

Taubman, Martin A., Paloma Valverde, Xiaozhe Han, et Toshihisa Kawai. 2005. « Immune Response: The Key to Bone Resorption in Periodontal Disease ». *Journal of*

Periodontology 76 (11 Suppl): 2033-41. doi:10.1902/jop.2005.76.11-S.2033.

Taylor, G. W. 2001. « Bidirectional Interrelationships between Diabetes and Periodontal Diseases: An Epidemiologic Perspective ». *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology* 6 (1): 99-112. doi:10.1902/annals.2001.6.1.99.

Thien, Marilyn, Tri Giang Phan, Sandra Gardam, Michelle Amesbury, Antony Basten, Fabienne Mackay, et Robert Brink. 2004. « Excess BAFF Rescues Self-Reactive B Cells from Peripheral Deletion and Allows Them to Enter Forbidden Follicular and Marginal Zone Niches ». *Immunity* 20 (6): 785-98. doi:10.1016/j.immuni.2004.05.010.

Thivichon-Prince, B., et J. Keller. 2012. « Immunité du parodonte ». <http://www.em-premium.com.scd-proxy.univ-brest.fr/data/traites/mb/28-53723/>, avril. <http://www.em-premium.com.scd-proxy.univ-brest.fr/article/677804/resultatrecherche/3>.

Tsai, C. C., H. S. Chen, S. L. Chen, Y. P. Ho, K. Y. Ho, Y. M. Wu, et C. C. Hung. 2005. « Lipid Peroxidation: A Possible Role in the Induction and Progression of Chronic Periodontitis ». *Journal of Periodontal Research* 40 (5): 378-84. doi:10.1111/j.1600-0765.2005.00818.x.

Tsai, C. C., B. J. Shenker, J. M. DiRienzo, D. Malamud, et N. S. Taichman. 1984. « Extraction and Isolation of a Leukotoxin from *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* with Polymyxin B ». *Infection and Immunity* 43 (2): 700-705.

Ujiie, Y., S. Oida, K. Gomi, T. Arai, et M. Fukae. 2007. « Neutrophil Elastase Is Involved in the Initial Destruction of Human Periodontal Ligament ». *Journal of Periodontal Research* 42 (4): 325-30. doi:10.1111/j.1600-0765.2006.00952.x.

Van der Velden, U., F. Abbas, S. Armand, B. G. Loos, M. F. Timmerman, G. A. Van der Weijden, A. J. Van Winkelhoff, et E. G. Winkel. 2006. « Java Project on Periodontal Diseases. The Natural Development of Periodontitis: Risk Factors, Risk Predictors and Risk Determinants ». *Journal of Clinical Periodontology* 33 (8): 540-48. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.00953.x.

Van Dyke, T. E. 1985. « Role of the Neutrophil in Oral Disease: Receptor Deficiency in Leukocytes from Patients with Juvenile Periodontitis ». *Reviews of Infectious Diseases* 7 (3): 419-25.

Van Dyke, T. E., M. J. Levine, L. A. Tabak, et R. J. Genco. 1981. « Reduced Chemotactic Peptide Binding in Juvenile Periodontitis: A Model for Neutrophil Function ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 100 (3): 1278-84.

Vincent, Bjarne, Arndt Guentsch, Dominika Kostolowska, Ulrich von Pawel-Rammingen, Sigrun Eick, Jan Potempa, et Magnus Abrahamson. 2011. « Cleavage of IgG1 and IgG3 by Gingipain K from *Porphyromonas Gingivalis* May Compromise Host Defense in Progressive Periodontitis ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 25 (10): 3741-50. doi:10.1096/fj.11-187799.

Vrahopoulos, Theofilos P., Pauline M. Barber, et Hubert N. Newman. 1992. « The Apical Border Plaque in Chronic Adult Periodontitis. An Ultrastructural Study. I. Morphology, Structure, and Cell Content ». *Journal of Periodontology* 63 (4): 243-52. doi:10.1902/jop.1992.63.4.243.

Wang, P.-L., et K. Ohura. 2002. « Porphyromonas Gingivalis Lipopolysaccharide Signaling in Gingival Fibroblasts-CD14 and Toll-like Receptors ». *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine: An Official Publication of the American Association of Oral Biologists* 13 (2): 132-42.

Warren, Kimberly R., Teodor T. Postolache, Maureen E. Groer, Omar Pinjari, Deanna L. Kelly, et Mark A. Reynolds. 2014. « Role of Chronic Stress and Depression in Periodontal Diseases ». *Periodontology 2000* 64 (1): 127-38. doi:10.1111/prd.12036.

Wikström, M., et A. Linde. 1986. « Ability of Oral Bacteria to Degrade Fibronectin. » *Infection and Immunity* 51 (2): 707-11.

Wilensky, Asaf, Stella Chaushu, et Lior Shapira. 2015. « The Role of Natural Killer Cells in Periodontitis ». *Periodontology 2000* 69 (1): 128-41. doi:10.1111/prd.12092.

Wilensky, A., H. Segev, G. Mizraji, Y. Shaul, T. Capucha, M. Shacham, et A.-H. Hovav. 2014. « Dendritic Cells and Their Role in Periodontal Disease ». *Oral Diseases* 20 (2): 119-26. doi:10.1111/odi.12122.

Winkler, J. R., V. Matarese, C. I. Hoover, R. H. Kramer, et P. A. Murray. 1988. « An in Vitro Model to Study Bacterial Invasion of Periodontal Tissues ». *Journal of Periodontology* 59 (1): 40-45. doi:10.1902/jop.1988.59.1.40.

Yasuda, H., N. Shima, N. Nakagawa, K. Yamaguchi, M. Kinosaki, S. Mochizuki, A. Tomoyasu, et al. 1998. « Osteoclast Differentiation Factor Is a Ligand for Osteoprotegerin/osteoclastogenesis-Inhibitory Factor and Is Identical to TRANCE/RANKL ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (7): 3597-3602.

Zouali, Moncef. 2017. « The Emerging Roles of B Cells as Partners and Targets in Periodontitis ». *Autoimmunity* 50 (1): 61-70. doi:10.1080/08916934.2016.1261841.

N°29032

FRAMERY Camille

TITRE : Le lymphocyte B dans la maladie parodontale

Thèse : Chir. Dent. ; Brest ; 2017 ; (N°29032)

RESUME :

La maladie parodontale est une maladie multifactorielle dans laquelle la réponse de l'hôte joue un rôle essentiel.

La littérature laisse deviner un rôle important du lymphocyte B dans cette pathologie.

Dans cette optique, nous avons mis en place une étude visant à mettre en évidence une répartition des sous-populations de lymphocytes B, spécifique de la maladie parodontale sévère.

RUBRIQUE DE CLASSEMENT :

PARODONTOLOGIE

MOTS CLES :

Parodontologie
Lymphocyte B

Immunologie

JURY :

Président : M. Le Professeur Jacques-Olivier PERS

Assesseurs : M. Le Professeur Hervé BOUTIGNY-VELLA

Mme. Le Docteur Frédérique d'ARBONNEAU

Mme. Le Docteur Valérie CHEVALIER-HERISSET

Mme. Le Docteur Gwenola FERREC

Invité : M. Le Docteur Yves KERBOULL

ADRESSE DE L'AUTEUR :

Camille FRAMERY
11 allée verte
29870 LANNILIS