



**HAL**  
open science

## Rôle antibactérien des fibroblastes pulpaire : implication du complément

Candice Caro

► **To cite this version:**

Candice Caro. Rôle antibactérien des fibroblastes pulpaire : implication du complément. Chirurgie. 2019. dumas-02096895

**HAL Id: dumas-02096895**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02096895v1>**

Submitted on 11 Apr 2019

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0  
International License

# Rôle antibactérien des fibroblastes pulpaire : implication du Complément

## THESE

Présentée et publiquement soutenue devant la

Faculté d'Odontologie de Marseille  
(Doyen : Monsieur le Professeur Jacques DEJOU)

Aix Marseille Université  
(Président : Monsieur le Professeur Yvon BERLAND)

Le 8 février 2019

par

**CARO Candice**

née le 25 mars 1991

à MARSEILLE

**Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire**

**EXAMINATEURS DE LA THESE :**

Président	: Madame le Professeur	C. TARDIEU
Asseseurs	: <u>Monsieur le Professeur</u> Monsieur le Docteur Monsieur le Docteur	I. ABOUT P. LAURENT T. GIRAUD



# Rôle antibactérien des fibroblastes pulpaire : implication du Complément

## THESE

Présentée et publiquement soutenue devant la

Faculté d'Odontologie de Marseille  
(Doyen : Monsieur le Professeur Jacques DEJOU)

Aix Marseille Université  
(Président : Monsieur le Professeur Yvon BERLAND)

Le 8 février 2019

par

**CARO Candice**

née le 25 mars 1991

à MARSEILLE

**Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire**

**EXAMINATEURS DE LA THESE :**

Président	: Madame le Professeur	C. TARDIEU
Asseseurs	: <u>Monsieur le Professeur</u> Monsieur le Docteur Monsieur le Docteur	I. ABOUT P. LAURENT T.GIRAUD

## ADMINISTRATION

*Mise à jour: octobre 2018*

DOYENS HONORAIRES	Professeur Professeur Professeur	R. SANGIUOLO H. ZATTARA A. SALVADORI
DOYEN	Professeur	J. DEJOU
VICE – DOYEN CHARGE DES ENSEIGNEMENTS DIRECTEUR DU DEPARTEMENT DE FORMATION INITIALE	Professeur	J.D. ORTHLIEB
VICE – DOYEN CHARGE DE LA RECHERCHE DIRECTEUR DU DEPARTEMENT DE LA RECHERCHE	Professeur	C. TARDIEU
DIRECTEUR DU DEPARTEMENT DE FORMATION CONTINUE	Professeur	V. MONNET- CORTI
CHARGES DE MISSION	Professeur Professeur	F. BUKIET A. RASKIN
RESPONSABLE DES SERVICES ADMINISTRATIFS ET TECHNIQUES	Madame	K. LEONI
PROFESSEUR ÉMERITE	Professeur	O. HUE

# LISTE DES ENSEIGNANTS

<b>56<sup>ème</sup> SECTION :</b> <b>DEVELOPPEMENT, CROISSANCE ET PREVENTION</b>
---

## **56.01 ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE ET ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE**

### *ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE*

<i>Professeur</i>	C. TARDIEU *	<i>Assistant</i>	H. AL AZAWI
<i>Maître de Conférences</i>	D. BANDON	<i>Assistant</i>	V. MAGNAN
<i>Maître de Conférences</i>	I. BLANCHET		
<i>Maître de Conférences</i>	A. CAMOIN		
<i>Maître de Conférences</i>	A. CHAFAIE		

### *ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE*

<i>Maître de Conférences</i>	J. BOHAR	<i>Assistant</i>	I. CAMBON
<i>Maître de Conférences</i>	J. GAUBERT	<i>Assistant</i>	L. LEVY
<i>Maître de Conférences</i>	M. LE GALL *	<i>Assistant</i>	R. MATTERA
<i>Maître de Conférences</i>	C. PHILIP-ALLIEZ	<i>Assistant</i>	C. MITTLER
		<i>Assistant</i>	A. PATRIS- CHARRUET

## **56.02 PRÉVENTION - ÉPIDÉMIOLOGIE - ÉCONOMIE DE LA SANTÉ - ODONTOLOGIE LÉGALE**

<i>Professeur</i>	B. FOTI *	<i>Assistant</i>	A. PORTAL
<i>Professeur</i>	D. TARDIVO		

<b>57<sup>ème</sup> SECTION :</b> <b>CHIRURGIE ORALE ; PARODONTOLOGIE ; BIOLOGIE ORALE</b>
---

## **57.01 CHIRURGIE ORALE ; PARODONTOLOGIE ; BIOLOGIE ORALE**

### *PARODONTOLOGIE*

<i>Professeur</i>	V. MONNET- CORTI *	<i>Assistant</i>	A. BOYER
		<i>Assistant</i>	C. DUMAS
		<i>Assistant</i>	V. MOLL

### *CHIRURGIE BUCCALE – PATHOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE - ANESTHÉSIOLOGIE – RÉANIMATION*

<i>Maître de Conférences</i>	D. BELLONI	<i>Assistant</i>	E. QUINQUE
<i>Maître de Conférences</i>	F. CAMPANA	<i>Assistant</i>	
<i>Maître de Conférences</i>	J. H. CATHERINE *	<i>Assistant</i>	
<i>Maître de Conférences</i>	P. ROCHE-POGGI		

### *BIOLOGIE ORALE*

<i>Maître de Conférences</i>	P. LAURENT	<i>Assistant</i>	C. LE FOURNIS
------------------------------	------------	------------------	---------------

\* Responsable de la discipline

## 65<sup>EME</sup> SECTION : BIOLOGIE CELLULAIRE

*Professeur* Imad ABOUT \*  
(Responsable de la Biologie orale)

<b>58<sup>eme</sup> SECTION : REHABILITATION ORALE</b>
--

### 58.01 RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTION-DYSFONTION, IMAGERIE, BIOMATERIAUX

#### *ODONTOLOGIE CONSERVATRICE, ENDODONTIE*

<i>Professeur</i>	F. BUKIET *	<i>Assistant</i>	B. BALLESTER
<i>Professeur</i>	H. TASSERY	<i>Assistant</i>	H. DE BELENET
<i>Maître de Conférences</i>	G. ABOUDHARAM	<i>Assistant</i>	A. DEVICTOR
<i>Maître de Conférences</i>	M. GUIVARC'H	<i>Assistant</i>	S. MANSOUR
<i>Maître de Conférences</i>	C. PIGNOLY	<i>Assistant</i>	L. MICHEL-ROLLET
<i>Maître de Conférences</i>	L. POMMEL		
<i>Maître de Conférences</i>	E. TERRER		

#### *PROTHÈSE*

<i>Professeur</i>	M. RUQUET *	<i>Assistant</i>	N. CHAUDESAYGUES
<i>Maître de Conférences</i>	G. LABORDE	<i>Assistant</i>	M. DODDS
<i>Maître de Conférences</i>	M. LAURENT	<i>Assistant</i>	A. FERDANI
<i>Maître de Conférences</i>	G. MAILLE	<i>Assistant</i>	C. MENSE
<i>Maître de Conférences</i>	B.E. PRECKEL	<i>Assistant</i>	A. REPETTO
<i>Maître de Conférences</i>	G. STEPHAN	<i>Assistant</i>	A. SETTE
<i>Maître de Conférences</i>	P. TAVITIAN	<i>Assistant</i>	F. SILVESTRI
<i>Maître de Conférences</i>	A. TOSELLO		
<i>Maître de Conférences associé</i>	R. LAN		

#### *SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES BIOMATERIAUX, BIOPHYSIQUE, RADIOLOGIE*

<i>Professeur</i>	J. DEJOU	<i>Assistant</i>	
<i>Professeur</i>	J. D. ORTHLIEB *		
<i>Professeur</i>	A. RASKIN		
<i>Maître de Conférences</i>	T. GIRAUD		
<i>Maître de Conférences</i>	A. GIRAUDEAU		
<i>Maître de Conférences</i>	B. JACQUOT		
<i>Maître de Conférences</i>	J. P. RÉ		

#### *OCCLUSODONTOLOGIE,*

M. JEANY

\* Responsable de la discipline

Je remercie...

- Ma présidente du jury, le Professeur Corinne Tardieu, pour sa pédagogie et la précision de ses enseignements, qui sont un socle précieux dans la pratique quotidienne de l'odontologie. J'ajouterai que j'admire sa rigueur ainsi que son engagement à soigner et faciliter le soin des enfants quelle que soit leur condition, mais également sa patience et sa capacité d'écoute et de conseil vis-à-vis des étudiants en odontologie.



- Mon directeur de thèse, le Professeur Imad About, pour avoir accepté de me suivre et m'épauler dans ce fascinant travail de thèse, avec patience et bienveillance, pour ses réponses toujours rapides, claires et pointues, à chacun des questionnements ou chacune des difficultés que j'ai pu rencontrer, mais également pour ses enseignements de très grande qualité tout au long de mon cursus, qui ont su me donner l'envie de réaliser une thèse dans ce domaine. J'ajouterai que je lui porte une très grande estime, sur le plan professionnel mais également personnel. En plus d'être un véritable exemple de sympathie et de pédagogie, son parcours est à mes yeux une source d'inspiration.

- Le Docteur Patrick Laurent, pour sa bonne humeur, sa patience et sa disponibilité très appréciables au quotidien au contact des étudiants, pour l'intérêt qu'il porte à chacun d'entre eux, pour l'aide qu'il n'hésite jamais à leur apporter, mais également pour son expérience précieuse et ses enseignements, qu'il partage avec une grande générosité et une grande précision.

- Le Docteur Thomas Giraud, pour l'aide qu'il a pu me fournir tout au long de mon parcours, tant au niveau clinique que dans la rédaction de ma thèse, pour sa disponibilité, sa compréhension et son implication au quotidien dans l'accompagnement des étudiants.

# Sommaire

<b>PREAMBULE .....</b>	<b>1</b>
<b>I. LESIONS CARIEUSES ET BACTERIES CARIOGENES .....</b>	<b>3</b>
<b>A. Processus d'une lésion carieuse .....</b>	<b>3</b>
<b>B. Les bactéries cariogènes .....</b>	<b>5</b>
<b>II. LES DEFENSES.....</b>	<b>6</b>
<b>A. Les Toll-Like Receptors au niveau des odontoblastes et la dentine réactionnelle .....</b>	<b>6</b>
<b>B. Les cellules immunitaires et la phagocytose des bactéries cariogènes dans la pulpe..</b>	<b>9</b>
<b>III. LE ROLE DES FIBROBLASTES DANS LA LESION CARIEUSE.....</b>	<b>10</b>
<b>A. Les fibroblastes pulpaire sécrètent les protéines du Complément.....</b>	<b>10</b>
<b>B. Le complexe d'attaque membranaire .....</b>	<b>11</b>
<b>C. Le C5a .....</b>	<b>13</b>
<b>IV. LE C3B ET LA PHAGOCYTOSE .....</b>	<b>13</b>
<b>A. La phagocytose .....</b>	<b>13</b>
<b>B. Le C3b, une opsonine.....</b>	<b>17</b>
<b>V. PROBLEMATIQUE .....</b>	<b>18</b>
<b>VI. PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>18</b>
<b>A. Isolement et culture des fibroblastes humains .....</b>	<b>18</b>
<b>B. Stimulation des fibroblastes au LTA.....</b>	<b>19</b>

C. Activation du Complément et quantification de C3b .....	19
D. Culture des bactéries cariogènes <i>Streptococcus mutans</i> et <i>Streptococcus sanguis</i> .....	20
E. Fixation de C3b sur les bactéries cariogènes .....	20
F. Analyse statistique .....	20
<b>VII. RESULTATS .....</b>	<b>21</b>
A. Caractérisation des fibroblastes pulpaire : La protéine FSP sur les cellules triées	21
B. Production du C3b par les fibroblastes pulpaire .....	23
C. Opsonisation de <i>S. mutans</i> et <i>S. sanguis</i> par le C3b.....	25
<b>VIII. DISCUSSION ET CONCLUSION SUR L'IMPLICATION ANTI-CARIOGENE DES FIBROBLASTES, PERSPECTIVES .....</b>	<b>27</b>
<b>IX. BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>29</b>

# Table des illustrations

<b>FIGURE 1 : ORGANISATION DE LA COUCHE D'ODONTOBLASTES.....</b>	<b>6</b>
<b>FIGURE 2 : FORMATION DU COMPLEXE D'ATTAQUE MEMBRANAIRE.....</b>	<b>12</b>
<b>FIGURE 3 : OPSONISATION ET PHAGOCYTOSE. ....</b>	<b>17</b>
<b>FIGURE 4 : CELLULES PULPAIRES SE DETACHANT DE L'EXPLANT PULPAIRE .....</b>	<b>21</b>
<b>FIGURE 5 : MULTIPLICATION DES CELLULES PULPAIRES, APRES PLUSIEURS JOURS. ....</b>	<b>21</b>
<b>FIGURE 6 : DETECTION DE LA PROTEINE FSP SUR LES FIBROBLASTES PULPAIRES. ....</b>	<b>21</b>
<b>FIGURE 7 : FIBROBLASTES TRIÉS, CULTIVÉS EN MILIEU MEM FULL. ....</b>	<b>23</b>
<b>FIGURE 8 : SECRETION DE C3B PAR LES FIBROBLASTES A 5 HEURES ET 24 HEURES EN COMPARAISON AVEC UN MILIEU TEMOIN. * TEMOIGNE DE DEUX RESULTATS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTS (P &lt; 0.05). ....</b>	<b>24</b>
<b>FIGURE 9 : FIXATION DU C3B PRODUIT PAR LES FIBROBLASTES PULPAIRES SUR <i>S. MUTANS</i> ET <i>S. SANGUIS</i>. ....</b>	<b>25</b>

# Préambule

Le tissu pulpaire a une architecture conformationnelle particulière. Étant donné que la pulpe est située dans un environnement inextensible, l'équilibre entre les signaux inflammatoires et de régénération est crucial dans le processus de régénération. L'inflammation précède la régénération. Si la réponse inflammatoire est trop importante et incontrôlée, l'équilibre permettant d'accéder à la régénération n'est pas trouvé et la pulpe évolue vers une nécrose. Des mécanismes mis en place par l'inflammation vont permettre de contrôler et d'arrêter la progression carieuse. Puis, les odontoblastes détruits au niveau de la lésion carieuse sont remplacés par des odontoblastes de nouvelle génération, différenciés à partir de cellules souches pulpaires. Ces odontoblastes nouvellement différenciés sécrètent alors une dentine réparatrice qui s'interpose entre les bactéries et le complexe pulpaire.

Le système du Complément joue un rôle clé à la fois dans l'inflammation et dans la régénération. Les fibroblastes représentent la population cellulaire la plus abondante dans la pulpe dentaire et il est connu depuis peu qu'ils synthétisent tous les composants du Complément (Chmilewsky et al. 2014). Le C3a et le C5a exercent une action majeure au cours de la régénération pulpaire. Le C5a guide le recrutement des cellules souches, et le C3a entraîne la prolifération des fibroblastes et des cellules souches (Chmilewsky et al. 2013; Rufas et al. 2016). Dans l'inflammation, les anaphylatoxines C3a et C5a jouent, là encore, un rôle majeur. Grâce à leurs récepteurs respectifs, C3aR et C5aR, ils permettent tous deux une vasodilatation et augmentent la perméabilité vasculaire, les deux permettant aux cellules de l'immunité d'arriver sur le site lésé. Ils exercent également tous deux un chimiotactisme vis-à-vis des cellules phagocytaires et permettent leur arrivée rapide sur le site infecté. Les fibroblastes produisent aussi tous les composants du complexe d'attaque membranaire (CAM) et permettent la lyse bactérienne.

L'objectif de ce travail de thèse a été de définir de manière plus précise le rôle joué par les fibroblastes pulpaires dans le contexte de la lutte antibactérienne lors de lésions carieuses et la place de la protéine du Complément C3b dans ce processus. En effet la protéine du Complément C3b, produite notamment par le foie, a la capacité de se fixer aux pathogènes et ainsi d'augmenter leur destruction par les cellules immunitaires par un processus appelé la phagocytose. Nous avons donc étudié la synthèse de la protéine C3b par les fibroblastes pulpaires et sa capacité à se fixer et à opsoniser les bactéries cariogènes en vue

de les rendre plus susceptibles à la phagocytose par les macrophages recrutés dans la pulpe lors d'une lésion carieuse.



# **I. Lésions carieuses et bactéries cariogènes**

## **A. Processus d'une lésion carieuse**

La carie est qualifiée par l'Organisation Mondiale de la Santé de « troisième fléau mondial » et elle est la pathologie chronique la plus répandue, à tout âge, dans le monde. Il s'agit d'une maladie dont l'étiologie principale est les bactéries dites cariogènes. Cette pathologie multifactorielle, est caractérisée par la destruction localisée des tissus dentaires sous l'action des microorganismes. Cette destruction est en réalité un processus de déminéralisation des tissus dentaires, et est réversible durant ses stades initiaux (Botelho et al. 2016).

L'organe dentaire peut être divisé en deux parties, la couronne visible et les racines permettant son ancrage dans l'os. Au niveau coronaire, on va pouvoir distinguer trois tissus principaux, l'émail, la dentine et la pulpe dentaire.

L'émail, d'origine épithéliale, est le tissu le plus minéralisé de l'organisme. Il a une structure prismatique créée par un réseau de cristaux d'hydroxyapatite, qui constituent 96 % de son poids. Lors de l'éruption, la surface amélaire est poreuse et au contact du milieu buccal, elle subit une maturation dépendante du pH et des ions minéraux (calcium et phosphate) présents dans les fluides buccaux. On observe alors une succession de cycles de déminéralisation et de reminéralisation qui aboutissent, dans des conditions normales, à une diminution de la porosité et des irrégularités de surface. Une fois la maturité amélaire atteinte, les échanges se poursuivent tout au long de la vie entre la salive et l'émail.

La dentine est le tissu majoritaire de l'organe dentaire (présent également au niveau radiculaire), elle est de type organo-minéral. La partie minérale (70%) est majoritairement constituée de phosphates de calcium et d'hydroxyapatite. La partie organique (20%) est constituée de collagène (types I, III, V), de phosphoprotéines, de protéoglycanes et de facteurs de croissance (Goldberg et al. 2011). La dentine est sécrétée par les odontoblastes situés au niveau pulpaire au contact de la prédentine, et dont les prolongements se poursuivent dans les tubulis dentinaires. Ces cellules, post-mitotiques, vont sécréter de la dentine de manière physiologique et, en cas d'agression, une dentine dite tertiaire afin de protéger le complexe pulpaire sous-jacent.

La salive humaine est un véritable écosystème comportant des interactions entre les milieux biotiques (organismes) et abiotiques (éléments physiques et biochimiques) (Humphrey and Williamson 2001).

Les bactéries vont s'organiser en biofilm, sur les surfaces dentaires (plaque dentaire). En réalité cette organisation s'initie par la formation de la plaque exogène acquise, d'origine salivaire, acellulaire, sur laquelle les différentes espèces bactériennes vont pouvoir s'organiser. Le point de départ du processus carieux est la bascule de l'équilibre microbiologique sous l'influence de facteurs de risques tels que les comportements alimentaires (apport de sucres excessifs), une exposition trop ou trop peu importante au fluor, ou une hygiène insuffisante. A partir de la fermentation des sucres, certaines bactéries vont synthétiser des acides capables de déminéraliser les tissus dentaires. Ceci entraîne, au niveau amélaire, un élargissement des espaces inter-cristallins et une dissolution des cristaux d'hydroxyapatite. Si rien n'est fait dans les premiers stades, la carie continue son avancée, au niveau dentinaire, par phénomène de cavitation et devient alors irréversible, nécessitant des procédures de soins restaurateurs. L'avancée du processus carieux entraîne une inflammation au niveau pulpaire, elle aussi réversible dans un premier temps, puis irréversible et empêchant la conservation de la vitalité de la dent. En effet, les vaisseaux pulpaire à l'intérieur des canaux radiculaires et de la chambre pulpaire se dilatent et l'augmentation du flux sanguin intra-canalair entraîne une surpression, qui entraîne la destruction des tissus pulpaire et la nécrose.

Cependant, un potentiel important de régénération de l'organe dentaire est présent, notamment consécutivement à la déminéralisation permettant la libération de molécules bioactives au niveau dentinaire. Lors de lésions carieuses modérées affectant la dentine, l'activité sécrétoire des odontoblastes est stimulée pour élaborer localement et rapidement une couche de dentine tertiaire réactionnelle protectrice en regard du front de progression carieux. En cas de progression plus importante et rapide, les odontoblastes sous-jacents vont être détruits et ne pourront synthétiser cette dentine réactionnelle. Dans ces conditions, les cellules progénitrices présentes au niveau de la pulpe sont activées et migrent vers le site de la blessure, où, après différenciation en cellules « odontoblast-like », pourront régénérer une couche protectrice de dentine, qualifiée cette fois-ci de réparatrice.

## B. Les bactéries cariogènes

Les couronnes des dents humaines, une fois l'éruption faite, sont couvertes par une communauté microbienne symbiotique, principalement composée de bactéries à Gram-positif, normalement non pathogènes pour la dent. Ces communautés adhèrent, sous forme de biofilms, à la surface hautement minéralisée de l'email. Celui-ci constitue une barrière imperméable aux microorganismes et protège la dentine minéralisée sous-jacente, et la pulpe dentaire, tissu conjonctif situé au centre de la dent. Cependant, dans un environnement riche en sucre, des populations spécifiques de bactéries issues de cette communauté libèrent des acides qui progressivement déminéralisent l'email. Ceci conduit à une lésion carieuse, caractérisée par une cavité dans laquelle les bactéries cariogènes prolifèrent et libèrent des acides, creusant petit-à-petit la lésion.

Quand la barrière amélaire est rompue, la dentine est alors dégradée par les bactéries à Gram-positif, incluant les streptocoques, les lactobacilles et les actinomycètes, qui dominent largement la microflore carieuse. La prolifération et l'activité métabolique de ces microorganismes conduit à la diffusion de composants bactériens à l'intérieur des tubulis dentinaires, jusqu'à atteindre la pulpe périphérique (Gao et al. 2016).

Comme nous l'avons vu, différentes espèces bactériennes interviennent dans la lésion carieuse. La carie des sillons des faces occlusales révèle une plaque généralement dominée par *Streptococcus mutans*, avec la présence de *Streptococcus sanguis* et de lactobacilles, tels que *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus salivarius*. Les lactobacilles, *S. mutans* et *Aactinomyces viscosus* sont présents dans les lésions de subsurface (Botelho et al. 2016).

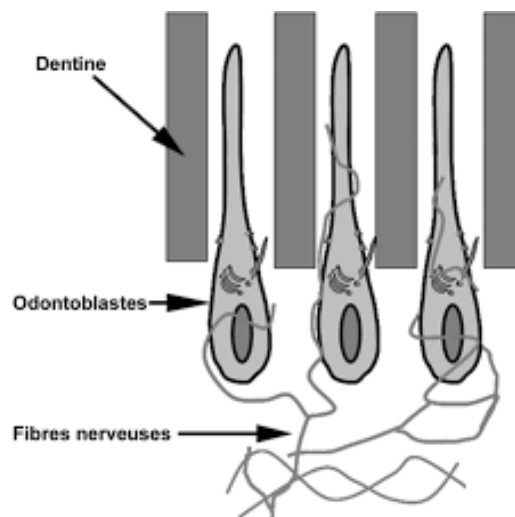
Le rôle des actinomycètes n'est pas clairement défini. En effet, ils sont ubiquitaires et leur nombre varie peu entre sites sains et sites cariés. Il semblerait qu'avec l'apparition de la carie, le nombre de *A.naeslundii* diminue, alors que celui de *A. viscosus* augmente. Après cavitation, s'effectue une sélection bactérienne très rapide, de l'ordre de 4 semaines : le nombre de *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei* augmente, passant de 1 à 5 %, et la proportion de *S. mutans* diminue. Lorsque la carie atteint la dentine, la proportion d'actinomycètes et de lactobacilles augmente fortement jusqu'à égaler celle des streptocoques. Les lactobacilles sont en contact avec la dentine, alors que les streptocoques restent à distance, du côté salivaire. Des études anciennes montraient que *A. naeslundii* et *A. viscosus*

étaient les agents étiologiques de la carie radiculaire. Il est clairement établi que les lactobacilles, ainsi que *S. mutans* et *S. sanguis* sont les micro-organismes prédominants dans ces lésions (Gao et al. 2016).

## II. Les défenses

### A. Les Toll-Like Receptors au niveau des odontoblastes et la dentine réactionnelle

Les odontoblastes sont localisés au niveau de l'interface pulpe-dentine, et étendent leurs prolongements cellulaires dans les tubulis dentinaires. En cas d'attaque, ce sont les premières cellules à être en contact avec les micro-organismes ou leurs produits, qui pénètrent facilement à travers l'émail et la dentine (Figure 1).



*Figure 1 : Organisation de la couche d'odontoblastes.*

*Source : Bulletin de l'Académie nationale de chirurgie dentaire, (Maurin 2007)*

Il a été montré que les odontoblastes sécrètent des peptides antimicrobiens tels que les  $\beta$ -défensines, notamment hBD-1 et hBD-2 (Domisch et al. 2005). Ils se comportent également comme une barrière imperméable et ont des fonctions immunitaires innées similaires à celles de l'épithélium oral. Ils sont aussi étroitement associés avec les cellules dendritiques et les lymphocytes T, qui sont des cellules pouvant répondre au facteur de croissance TGF- $\beta$ 1, libéré en cas de caries ou de blessures, lors de la destruction de la dentine (Botelho et al. 2016).

Ils peuvent également induire, *in vivo*, un chimiotactisme vis-à-vis des neutrophiles, par l'intermédiaire de l'interleukine-8 (IL-8), sécrétée en réponse aux lipopolysaccharides (LPS) bactériens (Durand et al. 2006).

De nombreuses études réalisées ces dix dernières années ont montré que les odontoblastes sont capables de détecter les microorganismes issus de la cavité orale qui envahissent les tissus minéralisés. Les odontoblastes sont impliqués dans ce combat contre l'invasion d'agents bactériens et activent différents acteurs de l'immunité pulpaire. Ils se mobilisent contre cette attaque en construisant leur propre arsenal antibactérien (défensines et oxyde nitrique) et en envoyant des messages moléculaires (chemokines et cytokines) dans la pulpe pour alerter les cellules immunitaires capable de détruire ses microorganismes (Yumoto et al. 2018). Ceci est possible grâce à la reconnaissance des agents pathogènes par les cellules pulpaires. De manière générale, une telle reconnaissance intervient à travers la détection des structures moléculaires commune, c'est-à-dire partagées par tous les agents pathogènes. Ces structures sont regroupées sous le terme « *Pathogen Associated Molecular Patterns* » (PAMPs) et sont détectées par un nombre limité de récepteurs cellulaire, nommés « *Pathogen recognition receptors* » (PRRs).

Une classe importante des PRRs est représentée par la famille des Toll-Like Receptors (TLR), qui est cruciale pour le déclenchement de la phase effectrice de la réponse immunitaire innée. En culture, il a été démontré que les odontoblastes produisent de nombreux facteurs pro-inflammatoires, tels que les  $\beta$ -défensines 1, 2 et 3 et l'interleukine 8, et expriment des TLR, dont TLR2 et TLR4 (Farges et al. 2015). De plus, il a été montré que l'expression de ces marqueurs est régulée de manière différentielle par les ligands apparentés à TLR2 et TLR4. TLR2 et TLR4, sont respectivement impliqués dans la détection de bactéries Gram-positif et Gram-négatif. Ils ont été retrouvés dans la membrane des cellules odontoblastiques dans la pulpe saine, et entraînent une réponse différente aux bactéries Gram-positif et Gram-négatif, ce qui indique que les odontoblastes sont équipés pour reconnaître ces pathogènes lorsqu'ils diffusent à travers les tubulis dentinaires lors de l'infection carieuse. Il a été montré que TLR2 est présent en plus grand nombre sur les odontoblastes présents sous des lésions carieuses que sur les odontoblastes sous la dentine saine, ce qui suggère que ces cellules ne sont pas seulement adaptées à la reconnaissance des bactéries à Gram-positif mais aussi capables d'amplifier leur réponse à ces agents pathogènes (Yumoto et al. 2018).

Une des principales conséquences de l'activation des TLR est la régulation positive des effecteurs de l'immunité innée, incluant les agents antimicrobiens, les cytokines pro-inflammatoires, et les chimiokines qui recrutent et activent les cellules immunitaires

résidentes au niveau tissulaire et les cellules inflammatoires/immunitaires de la circulation sanguine (Keller et al. 2010).

L'activation de TLR4 par les LPS induit la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, IL-1 $\beta$ , et TNF- $\alpha$  dans les cultures correspondantes, mais l'activation de TLR2 par son agoniste, un lipopeptide triacétylé nommé Pam3CSK4, diminue ces marqueurs inflammatoires (Veerayutthwilai et al. 2007). Les réponses à l'agoniste de TLR2, contrairement à l'agoniste de TLR4, indique que TLR2 peut servir de médiateur dans l'immunotolérance innée au niveau de la dent, tandis que l'activation de TLR4 par les bactéries à Gram-négatif initie les réponses inflammatoires. Le rôle de l'immunotolérance est certainement d'empêcher les dommages tissulaires, notamment au niveau de la pulpe, entraînés par une inflammation importante due à une réaction forte aux bactéries Gram-positif, lors de caries précoces. A l'inverse, TLR4 peut entraîner une réaction excessive en réaction aux bactéries Gram-négatif, lors de lésions carieuses, conduisant à une réaction inflammatoire incontrôlée et des dommages irréversibles à la pulpe et aux tissus péri-radicaux (Papp et al. 2016).

Les médiateurs de l'inflammation peuvent éliminer les infections bactériennes à un stade précoce et bloquent cette progression lorsqu'ils sont accompagnés par la formation de dentine à l'interface pulpo-dentinaire. Une cessation rapide de l'inflammation permet la guérison complète de la pulpe avec la formation d'une barrière, soit de dentine réactionnelle sécrétée par les odontoblastes survivants initiaux, soit de dentine réparatrice, sécrétée par les odontoblastes nouvellement différenciés.

La néoformation de dentine protège la pulpe sous-jacente de l'infection dentinaire et/ou du biomatériau de restauration coronaire, réduisant le risque d'irritation permanente par des agents extérieurs bactériens ou chimiques. Plus la formation de dentine réactionnelle/réparatrice est rapide, plus la guérison de la pulpe est rapide, et plus vite la santé de la dent est rétablie. Ceci dépend des agents moléculaires et cellulaires en mesure d'amortir les événements immunitaires et inflammatoires au sein de la pulpe dentaire et de favoriser le retour rapide à l'homéostasie tissulaire, une fois l'infection bactérienne résolue. Ces agents contribuent à empêcher l'évolution de l'inflammation de la pulpe vers un état chronique (Farges et al. 2015).

## **B. Les cellules immunitaires et la phagocytose des bactéries cariogènes dans la pulpe**

Comme les tissus périphériques tels que la peau, le tractus gastro-intestinal et les poumons, la pulpe dentaire saine contient des leucocytes sentinelles, qui sont biologiquement en mesure de détecter et de répondre à l'environnement local, incluant les macrophages, les cellules dendritiques (DCs) et les lymphocytes T (LT).

Les leucocytes, dans un tissu sain, prennent en charge l'immunosurveillance, c'est-à-dire qu'ils réalisent un échantillonnage continu de leur environnement, afin de détecter les éventuels microorganismes envahissant l'hôte. Leur nombre augmente de manière significative lorsque des pathogènes sont détectés, en raison de l'augmentation du processus inflammatoire.

Les neutrophiles sont initialement recrutés vers les tissus inflammatoires pour phagocyter et détruire les microorganismes. Par la suite, cette réponse est suivie par celle des monocytes, qui se différencient en macrophages. Les neutrophiles et les macrophages s'infiltrèrent progressivement dans le tissu pulpaire au fur et à mesure que la lésion carieuse progresse (Rutkowski et al. 2010).

Les macrophages sont capables de phagocyter les bactéries et d'activer les cellules déclenchant une réponse immunitaire adaptative, qui intervient en association avec les DCs. Dans la pulpe, les DCs sont initialement présents à un stade immature et elles sont attirées par les chemokines dérivées des odontoblastes vers le site de l'infection, où ils capturent les antigènes bactériens qui diffusent à travers les tubulis dentinaires. La capture d'antigènes déclenche l'activation et la maturation progressive des DCs, qui peuvent par la suite migrer vers les ganglions lymphatiques, où ils présentent les antigènes et activent les LT CD4+ naïfs (Farges et al. 2015).

Les DCs activés sécrètent un groupe de cytokines qui influencent la réponse immunitaire innée et adaptative, et qui sont considérés comme des régulateurs clés de la défense tissulaire contre l'infection. Les LT CD4+ naïfs, lorsqu'ils sont activés, se différencient en effecteurs CD4+ qui sont classiquement assignés pour prendre des fonctions spécifiques dans la réponse immunitaire, incluant la régulation des cellules médiatrices de l'immunité, l'inflammation et la protection contre les pathogènes intracellulaires (Rutkowski et al. 2010).

Il a été montré que les LT CD8+ cytotoxiques représentent environ 21 % du nombre total de leucocytes, les LT CD4+ environ 11 %, et les DCs environ 4%. Il a été observé qu'il y a une accumulation progressive et séquentielle de CD4+ et de CD8+ dans la pulpe inflammatoire, cette accumulation apparaissant en parallèle avec l'augmentation de la profondeur de la lésion dentinaire (Uribe-Querol and Rosales 2017).

Les cellules natural killers (NK) sont également bien connues comme faisant partie de système immunitaire inné. Il a été montré qu'ils possèdent également les caractéristiques de la réponse immunitaire adaptative. Les NK représentent environ 2,5 % des leucocytes dans la pulpe dentaire humaine saine.

Enfin, un nombre relativement petit de lymphocytes B est présent dans la pulpe saine, et leur nombre augmente significativement lors d'une pulpite et de la progression carieuse (Farges et al. 2015).

Dans le but d'éviter des dommages irréversibles au tissu pulpaire, la réponse immunitaire complexe doit être contrôlée pour permettre aux médiateurs de l'inflammation la destruction des pathogènes sans dommage pour les tissus de l'hôte. Les cellules régulatrices jouent un rôle majeur dans ce processus.

### **III. Le rôle des fibroblastes dans la lésion carieuse**

#### **A. Les fibroblastes pulpaires sécrètent les protéines du Complément**

Le système du complément est une cascade de protéines qui a été décrite pour la première fois au 19<sup>ème</sup> siècle. Ce système du complément chez les vertébrés supérieurs est constitué de près de 60 protéines circulantes et membranaires. Les composants plasmatiques font partie des cascades protéolytiques et fonctionnent pour protéger l'hôte des microbes, enlèvent les débris et semblent impliqués dans la survie cellulaire (Lubbers et al. 2017). Il s'agit un système de surveillance plasmique rapide et efficace qui contrôle les infections et les blessures tissulaires. Le Complément joue un rôle majeur dans la réponse inflammatoire lors de telles lésions. Il est rapidement activé par trois principales voies enzymatiques, la voie classique, la voie de la lectine, et des voies alternatives, qui convergent vers une voie terminale qui amène à la déposition du complexe d'attaque membranaire (MAC)/C5b-9 sur les surfaces des pathogènes.



L'activation du Complément peut être induite par une infection bactérienne, la présence de cellules apoptotiques et nécrotiques, ou la modification des surfaces par un biomatériau. C'est le cas lors de lésions carieuses ou traumatiques et des procédures de coiffage pulpaire.

Dès 1900, Ehrlich et Morgenroth suggèrent que le Complément est synthétisé dans le foie, et récemment, il a été établi que le foie est la principale source de plusieurs composants sériques du Complément, comme révélé par des études menées chez des patients transplantés du foie (Alper et al. 1969; Torisu et al. 1972), par des études menées *in vitro* avec des foies humains (Colten 1972). Il est la source d'au moins 90% du C3, C6, C8 et du facteur B contenus dans le sérum. (Morris et al. 1982). Le foie est donc le site primaire de la synthèse des protéines circulantes du Complément (excepté pour C1q, C7, et le facteur D).

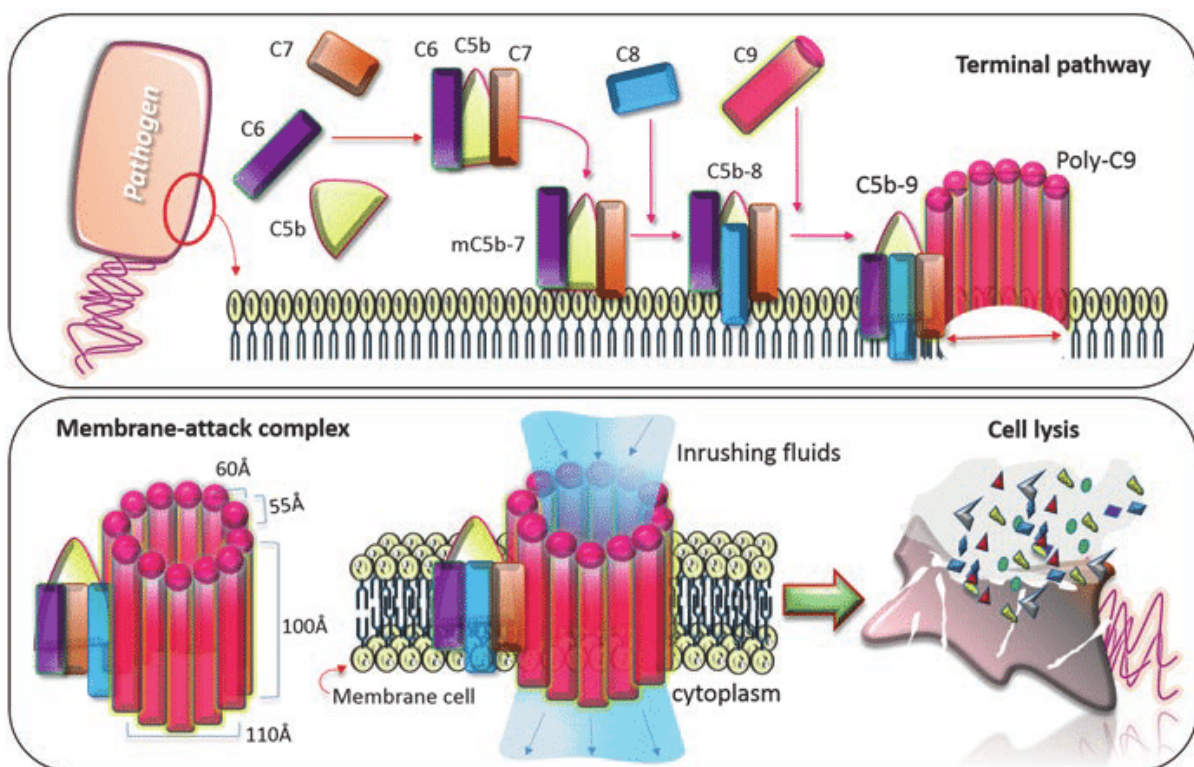
Par ailleurs, les protéines du Complément sont synthétisées par de nombreuses cellules, inflammatoires et non inflammatoires. La biosynthèse des protéines du Complément est sous contrôle génétique, et soumise à une régulation par différentes cytokines et hormones. Un large éventail de protéines solubles du système du complément semble être sécrété par une variété d'organes, tissus, et cellules, constitutivement ou en réponse à différents stimuli. Cette synthèse extra-hépatique, qui génère une réserve basale et locale de molécules du Complément, représente une contribution significative à la réaction inflammatoire tissulaire locale.

Les fibroblastes pulpaire humains sont les premières cellules non immunitaires capables de synthétiser toutes les protéines du Complément (Chmilewsky et al. 2014). Cette étude démontre que les fibroblastes pulpaire humains, stimulés par l'acide lipotéichoïque (LTA), synthétisent toutes les protéines du Complément, aboutissant notamment à la formation d'un complexe d'attaque membranaire cytolitique et le relargage du fragment C5a actif (Chmilewsky et al. 2015). Le LTA est un composant complexe de la paroi bactérienne des bactéries à Gram-positif, son ajout permet de mimer une infection bactérienne. Cela signifie que les fibroblastes sécrètent les protéines du Complément lors d'une lésion carieuse, qui sont directement disponibles pour réagir rapidement contre l'infection.

## **B. Le complexe d'attaque membranaire**

L'activation de la voie terminale du Complément aboutit à la formation du complexe d'attaque membranaire (CAM), un pore lytique qui s'insère dans les bicouches lipidiques et

qui entraîne la lyse bactérienne. Ce pore mesure environ 10 nm de diamètre et est assemblé à partir de cinq protéines du Complément : C5b, C6, C7, C8 et C9. La formation du CAM est une réaction séquentielle. Le processus est initié par le clivage protéolytique irréversible de C5 en deux composants (C5a et C5b) par la C5 convertase. C5a agit comme une anaphylatoxine pro-inflammatoire, tandis que C5b sert d'échafaudage pour la formation du CAM. C6 se lie à C5b pour produire C5b6, un intermédiaire stable et soluble. Ensuite, C7 se lie à son tour et l'ensemble devient à nouveau lipophile. C8 se lie alors à ce précurseur ainsi qu'à la membrane, devenant le premier composant à traverser la bicouche lipidique. Enfin, entre 12 et 19 exemplaires de C9 se joignent à l'assemblage pour former le CAM, qui est alors en forme d'anneau (Figure 2) (Bubeck 2014).



**Figure 2 : Formation du complexe d'attaque membranaire.**

*Source: (Andrade et al. 2017)*

La formation du pore membranaire et la lyse cellulaire qui en découle est inhibée par le CD59, un récepteur glycosylphosphatidylinositol ancré à la surface des cellules, qui se lie à C8 et C9. Il agit spécifiquement en bloquant l'incorporation de C9 dans le CAM. Durant l'activation de la voie terminale, CD59 protège les cellules hôtes de dommages tissulaires injustifiés.

Le travail expérimental réalisé sur les fibroblastes pulpaire a démontré, qu'après stimulation par le LTA des bactéries à Gram-positif, le CAM produit par les fibroblastes pulpaire s'assemble et se fixe sur *S. mutans* et *S. sanguis* entraînant leur lyse. Cette fixation a été démontrée dans un système de co-culture de fibroblastes pulpaire avec des bactéries cariogènes (Jeanneau et al. 2015).

### **C. Le C5a**

Durant le processus inflammatoire, C5a induit la vasodilatation des vaisseaux et le recrutement par chimiotactisme des leucocytes exprimant C5aR. Ces cellules migrent en suivant un gradient de concentration en C5a jusqu'au site inflammatoire. C5a induit d'autres effets divers, tels que la sécrétion d'amines vasoactifs et l'augmentation de la perméabilité vasculaire, afin de faciliter la migration extravasculaire des cellules (Cruvinel et al. 2010).

## **IV. Le C3b et la phagocytose**

### **A. La phagocytose**

La phagocytose est un mécanisme de l'immunité innée permettant l'élimination des éléments pathogènes. Il s'agit d'un mécanisme de défense contre les pathogènes, mais qui permet également, dans les organismes pluricellulaires, d'éliminer les cellules apoptotiques et de maintenir l'homéostasie tissulaire.

Des cellules, appelées phagocytes, migrent vers le site infectieux et reconnaissent les pathogènes à l'aide d'un système ligand/récepteur. Il s'agit de la première étape de la phagocytose : la reconnaissance du pathogène. La cellule phagocytaire va alors ingérer l'élément reconnu comme pathogène grâce à l'émission de pseudopodes.

Il existe 3 grands systèmes de reconnaissance du pathogène par la cellule phagocytaire. Il y a la voie PAMP/PRR, la voie C3b/CR1 médié par le système du complément et la voie Anticorps/Recepteur Fc médié par des anticorps reconnaissant spécifiquement un antigène à la surface du pathogène. Ces récepteurs déclenchent alors une cascade de signalisation qui induit la phagocytose. Ces récepteurs des phagocytes peuvent

être divisés en deux sous-ensembles : les récepteurs opsoniques (CR1 et Fc récepteur) et non-opsoniques (PRR). Les récepteurs non-opsoniques peuvent directement identifier les PAMPs sur la surface des micro-organismes. Les récepteurs opsoniques, eux, se lient à des molécules produites par l'hôte appelées opsonines qui sont soit la protéine du complément C3b soit des anticorps (Uribe-Querol and Rosales 2017). La présence d'opsonines permet d'augmenter la phagocytose.

Après que les récepteurs du phagocyte aient repéré un microorganisme, des événements de signalisation sont déclenchés pour initier la phagocytose. D'importants changements interviennent, remodelant la membrane, et le cytosquelette d'actine se développe pour aboutir à la formation de pseudopodes, qui couvrent le microorganisme. Les lipides s'associent et se dissocient de la membrane des phagosomes de manière ordonnée, et les GTPases Rho et Rac, qui sont d'importants régulateurs du cytosquelette d'actine, sont activés et recrutés à la formation du phagosome. Lors du contact avec l'agent pathogène, une dépression de la membrane, appelée la coupe phagocytaire, est formée. Ensuite, la polymérisation de l'actine permet la formation de pseudopodes qui entourent le microorganisme cible. En quelques minutes les saillies de la membrane fusionnent à l'extrémité distale pour sceller le nouveau phagosome (Uribe-Querol and Rosales 2017).

Le nouveau phagosome change rapidement la composition de sa membrane et son contenu, pour devenir une vacuole microbiocide, le phagolysosome. Ce processus est appelé maturation du phagosome.

La caractéristique la plus distincte des phagolysosomes est leur faible pH. Au cours du processus de maturation, la membrane du phagosome accumule de plus en plus de molécules actives composant l'ATPase de type V. Le complexe moléculaire que constitue cette V-ATPase crée un gradient de protons en utilisant de l'adénosine triphosphate (ATP) cytosolique comme source d'énergie. En effet, la V-ATPase effectue une translocation des protons extérieurs vers la lumière des phagosomes. Le faible pH du phagosome crée un environnement défavorable pour la plupart des microorganismes. L'acidité perturbe le métabolisme normal de beaucoup de bactéries et de champignons, et empêche l'utilisation de plusieurs éléments nutritifs microbiens. De plus, ce pH faible est nécessaire pour l'activation de nombreuses enzymes hydrolytiques, qui vont alors pouvoir dégrader le pathogène ingéré.

La V-ATPase favorise également la génération de superoxyde ( $O_2^-$ ), et combine l' $O_2^-$  obtenu avec du  $H^+$  pour former d'autres espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces ROS sont concentrés dans le phagolysosome et participent à la destruction des microorganismes. La

production de ROS est réalisée par la NADPH oxydase (NOX 2) sur la membrane même des phagosomes. NOX 2 transfère des électrons du nicotinamide adénine dinucleotide triphosphate (NADPH) cytosolique à l'oxygène moléculaire pour générer de l' $O_2^-$  dans le phagosome. Dans les conditions acides du phagosome, l' $O_2^-$  se transforme rapidement en  $H_2O_2$ , qui peut alors produire des radicaux libres hydroxylés ( $OH^\cdot$ ) par la réaction de Fenton, catalysée par le fer libéré par certaines protéines du phagosome. En outre, la myéloperoxydase est une enzyme présente dans le phagosome, pouvant transformer  $H_2O_2$  en acide hypochloreux et chloramines.  $O_2^-$  peut également réagir avec l'acide nitrique (NO) pour former le peroxyxynitrite ( $ONOO^-$ ), qui est hautement réactif. Les différentes formes de ROS sont ensemble des agents antimicrobiens efficaces car ils endommagent les protéines, les lipides et l'ADN des microorganismes dans le phagosome (Kissing et al. 2017).

En plus de ce pH inhospitalier pour les agents pathogènes et des conditions oxydatives leur nuisant, le phagosome fusionne avec les lysosomes de la cellule, contenant des enzymes digestives. Une série d'enzymes et de peptides sont alors libérés dans le phagosome pour inhiber la croissance des microorganismes, qui peut être limitée en réduisant la quantité de nutriments essentiels à l'intérieur du phagosome. Ces éléments nutritifs sont éliminés du phagosome par des molécules de capture relâchées dans le phagosome ou par des transporteurs présents sur la membrane du phagosome. Plusieurs facteurs interviennent également, tels que les enzymes, des peptides antimicrobiens, des protéases et des granules microbiocides. Les enzymes et peptides libérés dans le phagolysosome ont des effets antimicrobiens puissants. Ils détruisent les différentes composantes de la cellule microbienne. Les peptides antimicrobiens sont petits (< 10 KDa), cationiques et amphipathiques. Dans les phagocytes, ces peptides sont majoritairement représentés par les défensines et les cathelicidines.

Les défensines sont subdivisées en deux catégories, les  $\alpha$  et les  $\beta$  défensines, et sont stockées dans les granules primaires des neutrophiles. Elles perturbent l'intégrité des agents pathogènes en reliant des molécules chargées négativement à leur membrane. Elles forment des canaux multimériques perméables aux ions, entraînant la perméabilisation des membranes des bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif.

Les cathelicidines sont stockées dans les granules secondaires des neutrophiles en tant que précurseurs inactifs. Elles sont ensuite converties en peptides antimicrobiens dans la lumière du phagolysosome par l'élastase, une enzyme issue des granules primaires. Les cathelicidines actives perméabilisent la paroi cellulaire et la membrane interne des bactéries à Gram-positif (Uribe-Querol and Rosales 2017).

Parmi les nombreuses enzymes de dégradation, les cathepsines sont celles qui représentent le plus largement les protéases lysosomales. Il s'agit de protéases de cystéine qui jouent un rôle direct dans la mort des agents microbiens, en provoquant la rupture des membranes bactériennes.

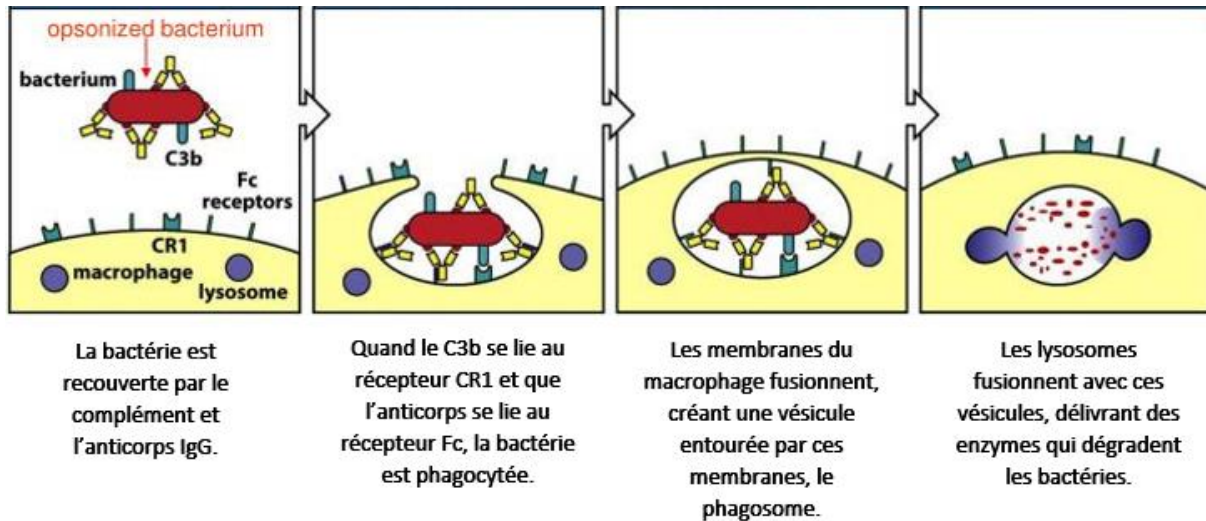
Le phagolysosome contient également de nombreuses hydrolases lysosomales, qui aident à détruire les agents pathogènes ingérés. Une enzyme importante de ce groupe est le lysozyme, une protéine antibactérienne qui peut être exprimée et sécrétée par plusieurs types de cellules. Le lysozyme dégrade les peptidoglycanes, constituants fondamentaux de la paroi bactérienne. Les autres enzymes peuvent ensuite compléter la lyse des bactéries.

Le pathogène est digéré par l'ensemble de ces éléments, et pour terminer est détruit par lyse cellulaire totale. Les éléments non dégradés sont évacués à l'extérieur de la cellule via exocytose.

Il existe des cellules phagocytaires dites professionnelles, telles que les macrophages, qui éliminent les microorganismes et les présentent aux cellules de l'immunité adaptative, et des cellules non-professionnelles, telles que les cellules dendritiques (Gordon 2016).

## B. Le C3b, une opsonine

Les opsonines se lient aux microorganismes et permettent d'augmenter l'efficacité de la phagocytose en facilitant la reconnaissance du pathogène par le phagocyte (Uribe-Querol et Rosales 2017).



*Figure 3 : Opsonisation et phagocytose.*

*Source : traduit de Janeway's immunobiology (Murphy et al. 2008)*

La protéine du Complément C3b est relâchée après clivage du fragment C3 par la C3 convertase. Le C3b est une opsonine, permettant de faciliter la phagocytose. En effet, il est capable de se lier à la membrane des pathogènes, et les cellules phagocytaires expriment les récepteurs au Complément (CR) (Pangburn et al. 1981; Newman et al. 1985).

Le CR1 est un sous-type de CR, qui est exprimé notamment par la plupart des cellules phagocytaires. Il est capable de réguler les C3 convertases. La liaison entre l'opsonine C3b, elle-même liée au pathogène, et le CR1 entraîne la phagocytose du pathogène et permet la destruction des complexes immuns solubles (Java et al. 2015).

Cette phagocytose par les cellules phagocytaires est optimisée par la fixation conjointe d'IgG et de C3b, et également par l'intervention de la fibronectine et des lipopolysaccharides (Figure 3) (Uribe-Querol and Rosales 2017).

## V. Problématique

Le C3b est une opsonine, permettant de faciliter la phagocytose. Dans le cas des fibroblastes pulpaire, la question se pose alors : sécrètent-ils le C3b pour opsoniser les bactéries cariogènes et permettre une phagocytose plus efficace par les macrophages ?

Pour répondre à cette problématique, des fibroblastes pulpaire ont été isolés à partir d'explants de pulpe entière, triés et caractérisé par la présence de la protéine FSP (Fibroblast Surface Protein). La sécrétion de la protéine C3b par ces cellules a été analysée par dosage immunoenzymatique (méthode ELISA). La capacité de cette protéine C3b, produite par les fibroblastes pulpaire, à opsoniser les bactéries cariogènes (*S. mutans* et *S. sanguis*) a été étudiée grâce à la méthode d'immunofluorescence.

## VI. Protocole expérimental

### A. Isolement et culture des fibroblastes humains

Des cellules pulpaire primaire ont été préparées à partir de troisièmes molaires immatures par la méthode de la culture d'explant.

Les fibroblastes pulpaire ont donc été isolés à partir de ces cultures primaire de cellules pulpaire par tri magnétique de cellules (Chmilewsky et al. 2014). Le tri magnétique a été réalisé via un anticorps anti-STRO. Les cellules souches sont STRO+ et les fibroblastes STRO-. Pour confirmer que les cellules isolées sont des fibroblastes, il a été réalisé une immunofluorescence sur celles-ci. Les cellules ont été marquées au FSP (Fibroblast surface protein), spécifique des fibroblastes.

Les fibroblastes pulpaire ont été cultivés dans un milieu essentiel minimal (MEM) additionné de 10% de sérum bovin fœtal (BFS), de L-glutamine 2mM, de pénicilline/streptomycine 50µg/ml et d'amphotéricine B 0,25 µg/mL à 37 °C dans une atmosphère de CO<sub>2</sub> à 5%. Ce milieu additionné sera appelé MEM full par la suite. Les fibroblastes ont ensuite été fixés avec du paraformaldéhyde (PFA) à 4 % pendant 15 minutes à 4°C et les sites de fixation non spécifiques ont été bloqués avec de l'albumine de sérum bovin (BSA) pendant 1 heure.



Les cellules ont ensuite été incubées pendant 1 heure avec 2 µg/mL d'IgM de souris anti Fsp-1 humain. Après rinçage, les cellules ont été incubées 45 minutes avec de l'Alexa Fluor 488 anti IgM de souris à 2 µg/mL et 1 µg/mL de DAPI, marquant les noyaux cellulaires.

## **B. Stimulation des fibroblastes au LTA**

A confluence, les fibroblastes ont été récoltés à l'aide de trypsine et placés dans des chambres douze puits, avec du milieu MEM full. Une fois la confluence atteinte, les cellules ont été rincées trois fois avec du PBS et ensuite incubées avec 350 µL de milieu exempt de sérum par puits, avec ou sans acide lipotéichoïque (LTA) (Invivogen, San Diego, USA) à 1µg/mL. Le LTA est un composant de la paroi bactérienne des bactéries à Gram-positif, il permet de stimuler une réponse immunitaire et permet de mimer une infection bactérienne.

Après 5h et 24h, le surnageant a été récolté. Ce surnageant est appelé milieu conditionné LTA dans les expérimentations suivantes. Le surnageant des fibroblastes non stimulé au LTA est appelé LTA free par la suite.

## **C. Activation du Complément et quantification de C3b**

Les surnageants ont été récoltés après 5h et 24h pour déterminer la concentration de C3b par dosage immunoenzymatique (ELISA). Des plaques 96 puits (Nunc MaxiSorp, DUTSCHER) ont été revêtues d'anticorps C3b humains (10 µg/mL), durant toute la nuit, à température ambiante. Les sites de liaison non spécifiques ont été bloqués avec 3% de lait (lait en poudre de vache) dilué en PBS pendant 1h, puis des échantillons et des étalons de protéines humaines de Complément C3b (Calbiochem, Millipore) ont été incubés à température ambiante pendant 2h. L'anticorps secondaire biotinylé (C3b biotine-Human anticorps, Assay Pro) a été ajouté à 10 µg/mL. Après 1h, de la streptavidine conjuguée avec la HRP (R&D Systems) a été ajoutée et incubée 20min à température ambiante.

Du tétraméthylbenzidine (substrat) (Life Technologies) a été ajouté et l'absorbance a été mesurée à 650nm. Toutes les expériences ont été réalisées en trois exemplaires avec 3 populations de fibroblastes différentes.

#### **D. Culture des bactéries cariogènes *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sanguis***

Les Souches de *Streptococcus mutans* (ATCC no. 31383), *Streptococcus sanguis* (ATCC no. BAA-1455) ont été obtenus à partir d'ATCC (Manassas, va, USA). Les bactéries ont été cultivées à 37 °C en conditions aérobies dans le milieu de base Lennox broth (Life Technologies).

#### **E. Fixation de C3b sur les bactéries cariogènes**

Des bactéries cariogènes ( $10^9$  bactéries/mL) ont été incubées 1h à 37°C sous agitation, dans un milieu témoin ou avec le surnageant, avec ou sans LTA. Les bactéries ont été lavées avec du PBS et fixées avec un appareil soufflant de l'air chaud sur des chambres de culture à 8 puits en verre. Les sites non spécifiques ont été bloqués avec du PBS contenant 3% de BSA pendant 1h et les bactéries ont été incubées pour 2h avec des IgG de souris anti-C3b humain (5µg/mL), ou le témoin isotype, à température ambiante, suivi de 45min avec Alexa Fluor 594 anti-IgG de souris (2 µg/mL) à température ambiante.

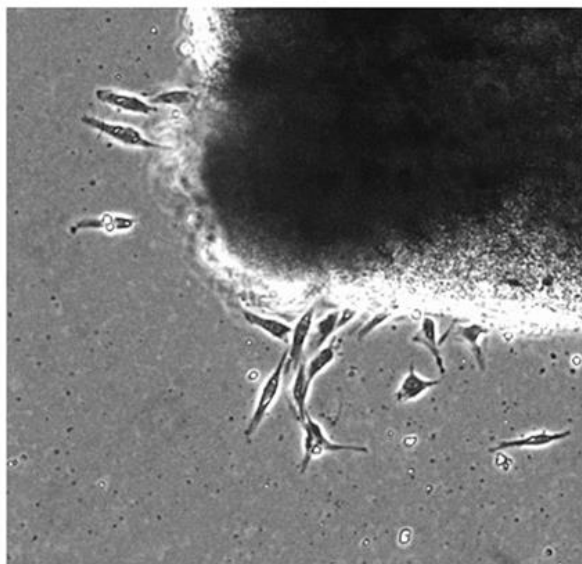
#### **F. Analyse statistique**

Toutes les expériences ont été répétées 3 fois, la différence significative a été réalisée ( $p < 0.05$ ) par test T de Student.

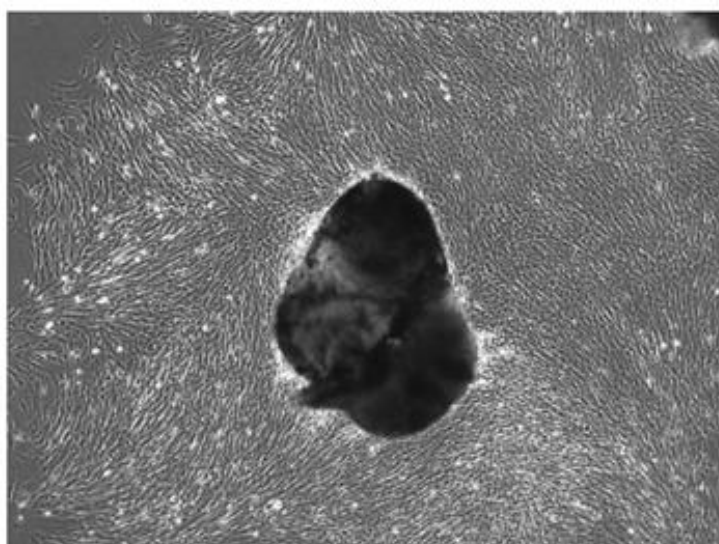
## VII. Résultats

### A. Caractérisation des fibroblastes pulpaire : La protéine FSP sur les cellules triées

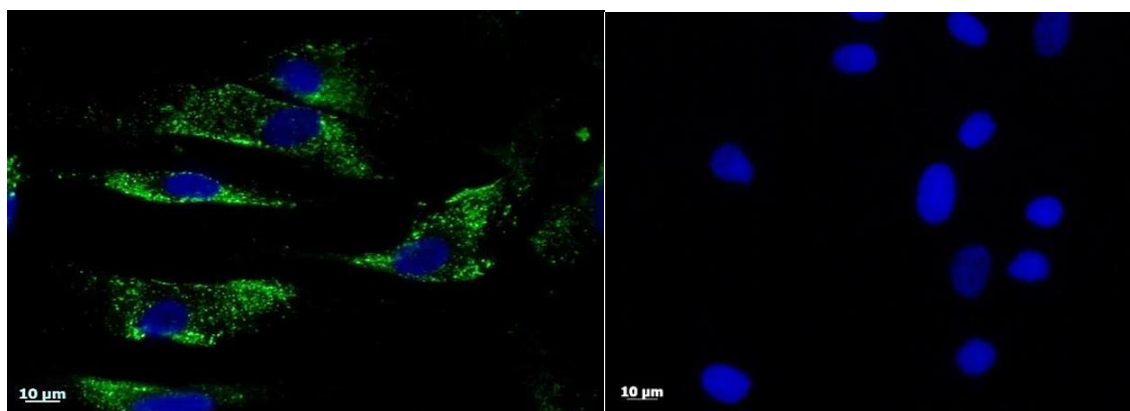
Des cellules pulpaire primaire ont été préparées à partir de troisièmes molaires immatures par la méthode de la culture d'explant (Figure 4 et Figure 5).



*Figure 4 : Cellules pulpaire se détachant de l'explant pulpaire*



*Figure 5 : Multiplication des cellules pulpaire, après plusieurs jours.*



*A*

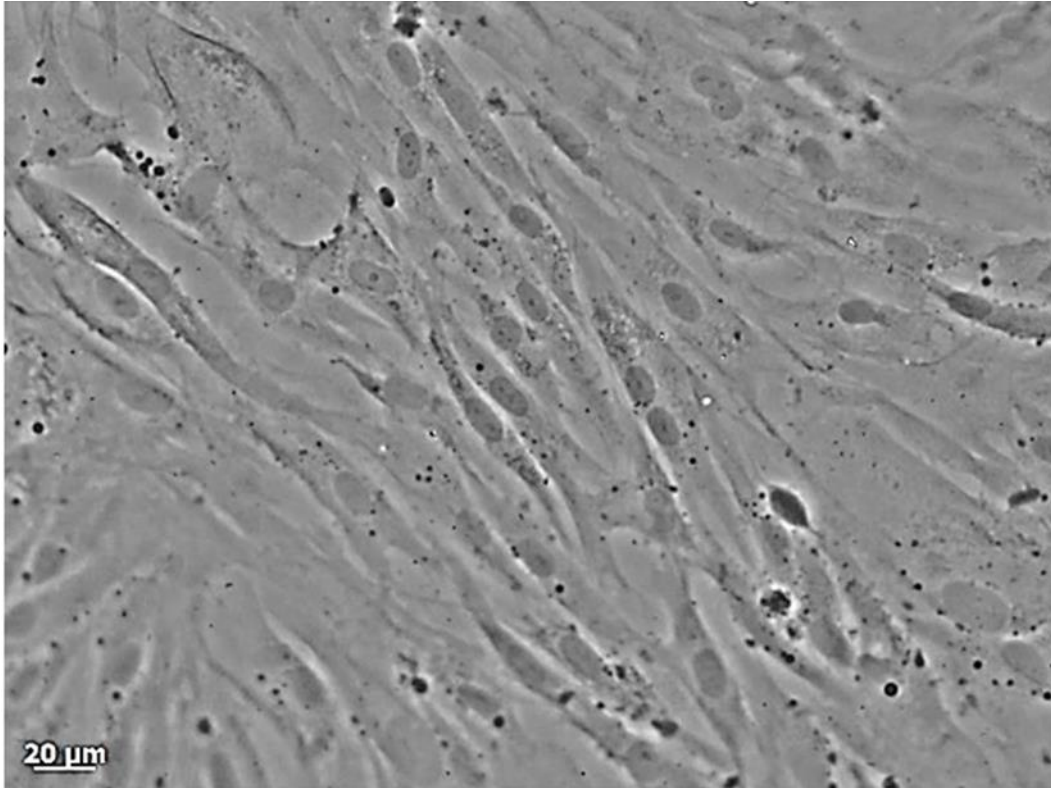
*B*

*Figure 6 : Détection de la protéine FSP sur les fibroblastes pulpaire.  
A : Fluorescence FSP sur fibroblastes pulpaire triés  
B : Isotype contrôle*

Après isolement des fibroblastes par tri magnétique, les cellules ont été marquées avec l'anticorps reconnaissant la protéine FSP (Fibroblast surface protein), couplé à un fluorochrome. La protéine FSP est spécifique des fibroblastes. La fluorescence verte traduit la présence de la protéine FSP à la surface des cellules. Le marquage au DAPI fait apparaître le noyau des cellules en bleu. Les cellules sont fluorescentes en vert, donc cette immunofluorescence réalisée sur les cellules pulpaire STRO- triées confirme que celles-ci sont bien des fibroblastes (Figure 6A). Un contrôle isotype a été réalisé en parallèle : l'immunofluorescence a été réalisée en absence de l'anticorps primaire. L'absence de fluorescence verte (Figure 6B) démontre la spécificité de l'immunofluorescence.

## B. Production du C3b par les fibroblastes pulpaire

Les fibroblastes ont été cultivés dans des flasques dans du milieu MEM full (Figure 7).



*Figure 7 : Fibroblastes triés, cultivés en milieu MEM full.*

Après isolement des fibroblastes et stimulation de ceux-ci au LTA, la récolte des surnageants a été faite au bout de 5h et de 24h, et a permis d'observer qu'il y a une augmentation significative de C3b, à la fois à 5h et à 24h, en comparaison avec le milieu sans sérum. En revanche, il n'y a pas de différence significative entre les milieux avec ou sans LTA (Figure 8). On en déduit donc que le LTA n'induit pas l'augmentation de C3b, il n'a pas d'impact sur sa sécrétion. Cette sécrétion est alors constitutive, non influencée par le LTA.

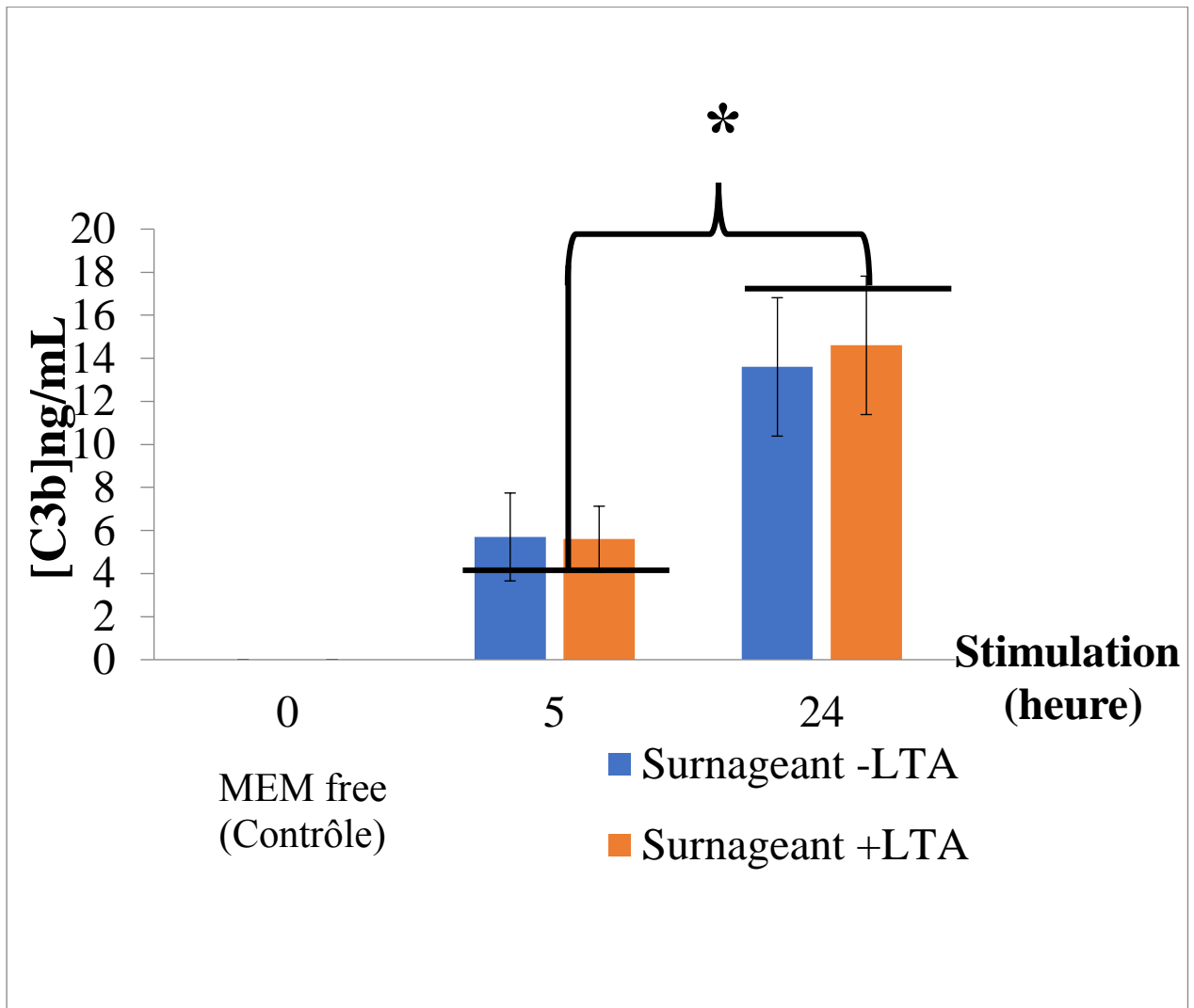
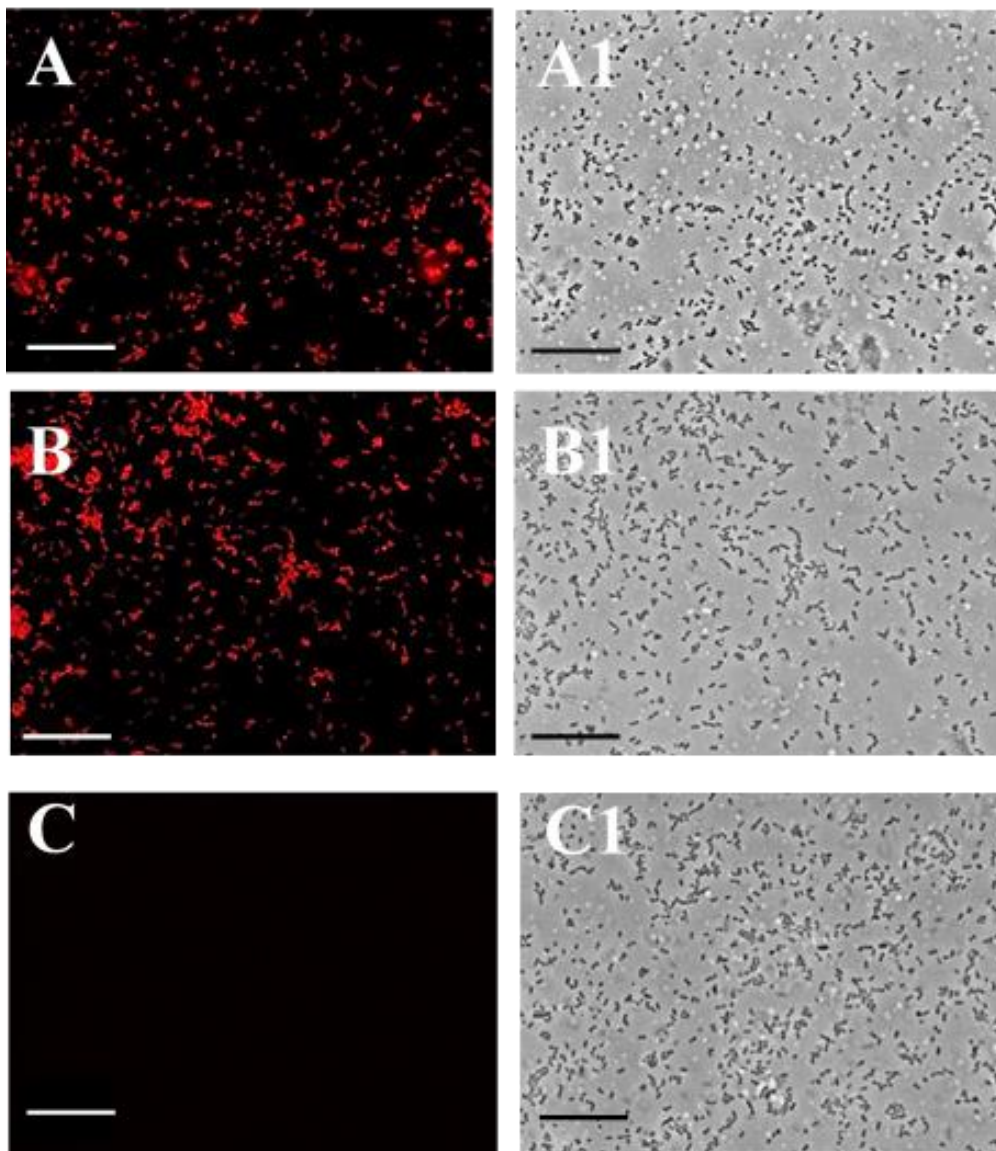


Figure 8 : Sécrétion de C3b par les fibroblastes à 5 heures et 24 heures en comparaison avec un milieu témoin. \* témoigne de deux résultats significativement différents ( $p < 0.05$ ).

**C. Opsonisation de *S. mutans* et *S. sanguis* par le C3b**



**Figure 9 : Fixation du C3b produit par les fibroblastes pulpaire sur *S. mutans* et *S. sanguis*.**

**A** *S. mutans* incubé avec le surnageant des fibroblastes pulpaire et marqué avec un complexe d'anticorps anti-C3b couplé à un fluorochrome. **A1**. *S. mutans* en contraste de phase. **B**. *S. sanguis* incubé avec le surnageant des fibroblastes pulpaire et marqué avec un complexe d'anticorps anti-C3b couplé à un fluorochrome. **B1**. *S. sanguis* en contraste de phase. **C**. Contrôle Isotype. **C1** le contrôle en contraste de phase.

Barre d'échelle : 10 $\mu$ m

Après incubation des bactéries cariogènes avec de l'IgG de souris anti-C3b humain puis incubation avec de l'Alexa fluor 594 anti-IgG de souris, on obtient une fluorescence visible. Cette fluorescence traduit la présence de la protéine C3b. Les bactéries cariogènes sont marquées par la fluorescence, ceci traduit la présence de C3b sur ces bactéries, ainsi que leur opsonisation par le C3b produit par les fibroblastes pulpaire (Figure 9).

La présence de C3b sur les bactéries permet de déduire que le C3b produit par les fibroblastes pulpaire est actif, il est capable d'opsoniser les bactéries cariogènes et donc de les rendre plus susceptibles à la phagocytose par les macrophages présents dans la pulpe. Le C3b facilite alors l'élimination de l'infection.



## **VIII. Discussion et perspectives sur l'implication anti-cariogène des fibroblastes**

Les fibroblastes constituent la population cellulaire la plus représentée dans la pulpe dentaire et de ce fait on peut se demander s'ils jouent un rôle dans la défense antibactérienne.

Comme nous l'avons vu, ils sont capables de produire tous les composants du Complément. Suite à des stimulations bactériennes, les fibroblastes produisent notamment des CAM, permettant l'élimination directe des pathogènes par lyse (Jeanneau et al. 2015). Mais à côté de cela, le fibroblaste est une cellule également capable de produire une opsonine, le C3b. En cas d'attaque, l'opsonisation permet alors la phagocytose de l'agent opsonisé et sa destruction par lyse.

En sécrétant le C3b, qui est l'opsonine active dans ce processus, le fibroblaste joue un rôle important dans la défense contre les bactéries cariogènes, en favorisant leur phagocytose et donc leur destruction. Cette sécrétion de C3b est constitutive, elle ne semble pas dépendre d'une stimulation bactérienne. Ceci est un atout majeur dans le rôle anti-cariogène joué par le fibroblaste pulpaire. Le fait que cette sécrétion soit constitutive permet une action rapide du C3b localement. Le C3, précurseur du C3b, est la molécule du Complément la plus massivement représentée dans le plasma (Lambris 1988). Après action de la C3 convertase, le C3 est dégradé en C3a et C3b. Un grand nombre de fragments C3b sont alors présents dans le plasma et dans les vaisseaux qui constituent la pulpe dentaire. Il y a donc un afflux de C3b par voie sanguine et une production locale par les fibroblastes. Ces deux origines du C3b, locale et plasmatique, permettent de renforcer les défenses sur le site lésé.

Nous avons donc vu que les fibroblastes pulpaires sont en première ligne vis-à-vis des lésions carieuses. Ils sont naturellement présents dans la pulpe dentaire et, en cas d'attaque, ils jouent un rôle non négligeable dans l'inflammation, elle-même nécessaire à la mise en place de la régénération.

Il est également clairement établi à présent que les fibroblastes jouent aussi un rôle prépondérant dans la régénération pulpo-dentinaire (Chmilewsky et al. 2014). Ce double rôle à la fois dans l'inflammation et dans la régénération en fait une cellule incontournable de la pulpe dentaire.

Ce travail de thèse a participé à une meilleure définition du rôle des fibroblastes au sein de la pulpe dentaire, dans le cadre de la lutte antibactérienne. Au niveau clinique, cela permet une meilleure compréhension des capacités de la pulpe dentaire à se défendre contre les attaques carieuses. La prise en charge de la pulpite irréversible est influencée par les connaissances acquises au fil du temps et cette prise en charge évolue. De nouvelles techniques se développent, allant vers le maintien de la vitalité pulpaire. Le tissu pulpaire est emprisonné dans la dent qui est constituée d'émail et de dentine rigide, faisant de la chambre pulpaire une cavité inextensible, contenant les nerfs et vaisseaux sanguins. Une lésion carieuse déclenche une réaction inflammatoire mettant en jeu le système du Complément. Cette inflammation est nécessaire à l'élimination des bactéries, avec l'intervention des cellules phagocytaires et de la synthèse du CAM. Ce nettoyage est un prérequis à la mise en place du processus de régénération. Cependant, si cette inflammation prend trop d'ampleur, la régénération pulpo-dentinaire ne peut avoir lieu et cela aboutit à la nécrose pulpaire.

Jusqu'à présent, seul le traitement endodontique était préconisé pour le traitement de la pulpite irréversible. Les connaissances actuelles démontrent que la pulpe dentaire contient des cellules souches, lui conférant un potentiel de régénération, et peut avoir une capacité anti-inflammatoire (Casagrande et al. 2011). Ces connaissances ont permis d'envisager d'autres voies thérapeutiques de la pulpite irréversible telle que la pulpotomie associée à un coiffage direct avec un matériau bioactif tel que le MTA (agrégat de trioxyde minéral) (Taha et Khazali 2017), ou le Biodentine (silicate) (Giraud et al. 2017) qui ont un réel effet anti-inflammatoire sur la pulpe, permettant de conserver la vitalité pulpaire.

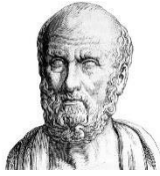
Dans cette thèse, nous nous sommes concentrés sur la sécrétion de C3b par les fibroblastes après stimulation par un motif bactérien (LTA) et l'implication de ce fragment bioactif dans l'opsonisation des bactéries cariogènes. Comme suite logique à ce travail, il serait important de déterminer si le C3b exerce un chimiotactisme sur les cellules immunitaires, permettant leur arrivée de manière plus rapide sur le site infecté. Par la suite, il serait intéressant de savoir si les fibroblastes pulpaires, en plus de sécréter du C3b, et après intervention de celui-ci, sont également capables de phagocyter les agents infectieux.

## IX. Bibliographie

- Alper CA, Johnson AM, Birtch AG, Moore FD. 1969. Human C<sub>3</sub>: evidence for the liver as the primary site of synthesis. *Science*. 163(3864):286–288.
- Andrade FA, Lidani KCF, Catarino SJ, Messias-Reason IJ. 2017. Serine Proteases in the Lectin Pathway of the Complement System. In: Chakraborti S, Dhalla NS, editors. *Proteases in Physiology and Pathology*. Singapore: Springer Singapore. 63(23):397–420.
- Botelho JN, Villegas-Salinas M, Troncoso-Gajardo P, Giacaman RA, Cury JA. 2016. Enamel and dentine demineralization by a combination of starch and sucrose in a biofilm - caries model. *Braz. Oral Res.* 30(1):145.
- Bubeck D. 2014. The making of a macromolecular machine: assembly of the membrane attack complex. *Biochemistry (Mosc.)*. 53(12):1908–1915.
- Casagrande L, Cordeiro MM, Nör SA, Nör JE. 2011. Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. *Odontology*. 99(1):1–7.
- Chmilewsky F, Jeanneau C, Laurent P, About I. 2014. Pulp fibroblasts synthesize functional complement proteins involved in initiating dentin-pulp regeneration. *Am. J. Pathol.* 184(7):1991–2000.
- Chmilewsky F, Jeanneau C, Laurent P, About I. 2015. LPS induces pulp progenitor cell recruitment via complement activation. *J. Dent. Res.* 94(1):166–174.
- Chmilewsky F, Jeanneau C, Laurent P, Kirschfink M, About I. 2013. Pulp progenitor cell recruitment is selectively guided by a C5a gradient. *J. Dent. Res.* 92(6):532–539.
- Colten HR. 1972. Ontogeny of the human complement system: in vitro biosynthesis of individual complement components by fetal tissues. *J. Clin. Invest.* 51(4):725–730.
- Cruvinel W de M, Mesquita D, Araújo JAP, Catelan TTT, de Souza AWS, da Silva NP, Andrade LEC. 2010. Immune system - part I. Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. *Rev. Bras. Reumatol.* 50(4):434–461.
- Domisch H, Winter J, Açil Y, Dunsche A, Tiemann M, Jepsen S. 2005. Human beta-defensin (hBD-1, -2) expression in dental pulp. *Oral Microbiol. Immunol.* 20(3):163–166.
- Durand SH, Flacher V, Roméas A, Carrouel F, Colomb E, Vincent C, Magloire H, Couble M-L, Bleicher F, Staquet M-J, et al. 2006. Lipoteichoic acid increases TLR and functional chemokine expression while reducing dentin formation in in vitro differentiated human odontoblasts. *J. Immunol. Baltim. Md 1950.* 176(5):2880–2887.
- Farges J-C, Alliot-Licht B, Renard E, Ducret M, Gaudin A, Smith AJ, Cooper PR. 2015. Dental Pulp Defence and Repair Mechanisms in Dental Caries. *Mediators Inflamm.* 2015(14):1–16.

- Gao X, Jiang S, Koh D, Hsu C-YS. 2016. Salivary biomarkers for dental caries. *Periodontol.* 2000. 70(1):128–141.
- Giraud T, Rufas P, Chmilewsky F, Rombouts C, Dejou J, Jeanneau C, About I. 2017. Complement Activation by Pulp Capping Materials Plays a Significant Role in Both Inflammatory and Pulp Stem Cells' Recruitment. *J. Endod.* 43(7):1104–1110.
- Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. 2011. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front. Biosci. Elite Ed.* 3(28):711–735.
- Gordon S. 2016. Phagocytosis: An Immunobiologic Process. *Immunity.* 44(3):463–475.
- Humphrey SP, Williamson RT. 2001. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J. Prosthet. Dent.* 85(2):162–169.
- Java A, Liszewski MK, Hourcade DE, Zhang F, Atkinson JP. 2015. Role of complement receptor 1 (CR1; CD35) on epithelial cells: A model for understanding complement-mediated damage in the kidney. *Mol. Immunol.* 67(2 Pt B):584–595.
- Jeanneau C, Rufas P, Rombouts C, Giraud T, Dejou J, About I. 2015. Can Pulp Fibroblasts Kill Cariogenic Bacteria? Role of Complement Activation. *J. Dent. Res.* 94(12):1765–1772.
- Keller J-F, Carrouel F, Colomb E, Durand SH, Baudouin C, Msika P, Bleicher F, Vincent C, Staquet M-J, Farges J-C. 2010. Toll-like receptor 2 activation by lipoteichoic acid induces differential production of pro-inflammatory cytokines in human odontoblasts, dental pulp fibroblasts and immature dendritic cells. *Immunobiology.* 215(1):53–59.
- Kissing S, Saftig P, Haas A. 2017. Vacuolar ATPase in phago(lyso)some biology. *Int. J. Med. Microbiol. IJMM.* 41(6):12-20 .
- Lambris JD. 1988. The multifunctional role of C3, the third component of complement. *Immunol. Today.* 9(12):387–393.
- Lubbers R, van Essen MF, van Kooten C, Trouw LA. 2017. Production of complement components by cells of the immune system: Production of complement components. *Clin. Exp. Immunol.* 188(2):183–194.
- Maurin J-C. 2007. Mécanismes moléculaires de la sensibilité dentinaire. In: *Bulletin de l'Académie nationale de chirurgie dentaire.* 7(6):16-34
- Morris KM, Aden DP, Knowles BB, Colten HR. 1982. Complement biosynthesis by the human hepatoma-derived cell line HepG2. *J. Clin. Invest.* 70(4):906–913.
- Murphy K, Travers P, Walport M, Janeway C. 2008. *Janeway's immunobiology.* 7th ed. New York: Garland Science
- Newman SL, Becker S, Halme J. 1985. Phagocytosis by receptors for C3b (CR1), iC3b (CR3), and IgG (Fc) on human peritoneal macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 38(2):267–278.
- Pangburn MK, Schreiber RD, Müller-Eberhard HJ. 1981. Formation of the initial C3 convertase of the alternative complement pathway. Acquisition of C3b-like activities

- by spontaneous hydrolysis of the putative thioester in native C3. *J. Exp. Med.* 154(3):856–867.
- Papp T, Hollo K, Meszar-Katona E, Nagy Z, Polyak A, Miko E, Bai P, Felszeghy S. 2016. TLR signalling can modify the mineralization of tooth germ. *Acta Odontol. Scand.* 74(4):307–314.
- Rufas P, Jeanneau C, Rombouts C, Laurent P, About I. 2016. Complement C3a Mobilizes Dental Pulp Stem Cells and Specifically Guides Pulp Fibroblast Recruitment. *J. Endod.* 42(9):1377–1384.
- Rutkowski MJ, Sughrue ME, Kane AJ, Ahn BJ, Fang S, Parsa AT. 2010. The complement cascade as a mediator of tissue growth and regeneration. *Inflamm. Res. Off. J. Eur. Histamine Res. Soc. Al.* 59(11):897–905.
- Taha NA, Khazali MA. 2017. Partial Pulpotomy in Mature Permanent Teeth with Clinical Signs Indicative of Irreversible Pulpitis: A Randomized Clinical Trial. *J. Endod.* 43(9):1417–1421.
- Torisu M, Yokoyama T, Kohler PF, Durst AL, Martineau G, Schroter G, Amemiya H, Groth CG, Starzl TE. 1972. Serum complement after orthotopic transplantation of the human liver. *Clin. Exp. Immunol.* 12(1):21–30.
- Uribe-Querol E, Rosales C. 2017. Control of Phagocytosis by Microbial Pathogens. *Front. Immunol.* 8:1368.
- Veerayutthwilai O, Byers MR, Pham T-TT, Darveau RP, Dale BA. 2007. Differential regulation of immune responses by odontoblasts. *Oral Microbiol. Immunol.* 22(1):5–13.
- Yumoto H, Hirao K, Hosokawa Y, Kuramoto H, Takegawa D, Nakanishi T, Matsuo T. 2018. The roles of odontoblasts in dental pulp innate immunity. *Jpn. Dent. Sci. Rev.* 54(3):105–117.



## SERMENT MEDICAL

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'HIPPOCRATE.

Je promets et je jure, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine Dentaire.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

J'informerai mes patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des connaissances pour forcer les consciences.

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

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois déshonoré et méprisé de mes confrères si j'y manque.

CARO Candice – Rôle antibactérien des fibroblastes pulpaire : Implication du Complément

Th. : Chir. dent. : Marseille : Aix –Marseille Université : 2019

Rubrique de classement : Sciences Biologiques

Résumé :

Le système du complément est une cascade protéique impliquée dans l'initiation de l'inflammation. De récentes études ont démontré que les fibroblastes pulpaire sécrètent toutes les protéines du Complément, permettant un contrôle local de l'inflammation. L'objectif de ce travail de thèse est de définir le rôle de l'opsonine C3b sécrétée par les fibroblastes lors d'une inflammation pulpaire consécutive à une lésion carieuse. La protéine C3b se fixe à la surface des pathogènes et les rend plus susceptible à la phagocytose par les macrophages. La première partie présente les systèmes de défenses pulpaire lors d'une infection bactérienne, le Complément et la phagocytose. La deuxième partie détaille les matériels et méthodes utilisés lors des expérimentations réalisées et les résultats obtenus sont présentés dans une troisième partie. Enfin, dans la quatrième partie, mes résultats sont placés dans les perspectives cliniques de la prise en charge de la pulpite irréversible.

Mots clés :

Fibroblastes pulpaire  
Bactéries cariogènes  
Système du Complément  
Opsonisation  
Inflammation  
Phagocytose

CARO Candice – Antibacterial role of pulp fibroblasts: Implication of the Complement

Abstract:

Complement system plays a major role in the initiation of the inflammation. Recent studies have demonstrated the secretion of all Complement molecules by pulp fibroblasts and its implication in local control of pulp inflammation. This work was designed to investigate the role of the Complement protein C3b, secreted by pulp fibroblasts under pulp inflammation after bacterial infection. C3b is an opsonin able to fix on bacteria and increase their phagocytosis by macrophages. The pulp defense system, Complement and phagocytose are explained in the first part. The second part details the materials and methods used in the experimental work and the obtained results are presented in the third part. Finally, in the fourth part data are explained in the the clinical perspectives that this knowledge opens in the management of irreversible pulpitis.

MeSH:

Pulp fibroblasts  
Cariogenic bacteria  
Complement system  
Opsonization  
Inflammation  
Phagocytosis

Adresse de l'auteur :

3 avenue Jacques Pillement  
83400 HYERES