



**HAL**  
open science

# Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes. Partie 1, Développement d'un modèle murin

Mathieu Lagorsse

► **To cite this version:**

Mathieu Lagorsse. Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes. Partie 1, Développement d'un modèle murin. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02486138

**HAL Id: dumas-02486138**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02486138>**

Submitted on 20 Feb 2020

**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

## **AVERTISSEMENT**

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'État de docteur en chirurgie dentaire. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

## UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

### FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année 2019

N° 085

#### THÈSE

#### POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le : 09 décembre 2019

Par

**Mathieu LAGORSSE**

### **Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes.**

#### **Partie 1, Développement d'un modèle murin**

Dirigée par Mme le Professeur Sibylle Vital

#### JURY

Mme le Professeur Tchilalo Boukpepsi

Président

Mme le Professeur Sibylle Vital

Assesseur

Mme le Docteur Claire Bardet

Assesseur

M. le Docteur Franck Decup

Assesseur

M. le Docteur Guillaume Jouanny

Invité





## Tableau des enseignants de la Faculté

DÉPARTEMENTS	DISCIPLINES	PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS	MÂÎTRES DE CONFÉRENCES
1. DÉVELOPPEMENT, CROISSANCE ET PRÉVENTION	ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE	Mme DAVIT-BÉAL Mme DURSUN Mme VITAL	M. COURSON Mme JEGAT Mme SMAIL-FAUGERON Mme VANDERZWALM
	ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE		Mme BENAHMED M. DUNGLAS Mme KAMOUN Mme LE NORCY
	PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ ET ODONTOLOGIE LÉGALE	Mme FOLLIGUET M. PIRNAY	Mme GERMA M. TAVERNIER
2. CHIRURGIE ORALE, PARODONTOLOGIE, BIOLOGIE ORALE	PARODONTOLOGIE	Mme COLOMBIER Mme GOSSET	M. BIOSSE DUPLAN M. GUEZ
	CHIRURGIE ORALE	M. MAMAN Mme RADOI	Mme EJEIL M. GAULTIER M. HADIDA M. MOREAU M. NGUYEN Mme TAÏHI
	BIOLOGIE ORALE	Mme CHAUSSAIN M. GOGLY Mme SÉGUIER Mme POLIARD	M. ARRETO Mme BARDET (MCF) Mme CHARDIN M. FERRE M. LE MAY
3. RÉHABILITATION ORALE	DENTISTERIE RESTAURATRICE ENDODONTIE	Mme BOUKPESSI Mme CHEMLA	Mme BERÈS Mme BESNAULT M. BONTE Mme COLLIGNON M. DECUP Mme GAUCHER
	PROTHÈSES	Mme WULFMAN	M. CHEYLAN M. DAAS M. DOT M. EID Mme FOUILLOUX-PATEY Mme GORIN M. RENAULT M. RIGNON-BRET M. TRAMBA
	FONCTION-DYSFONCTION, IMAGERIE, BIOMATÉRIAUX	M. SALMON	M. ATTAL Mme BENBELAID Mme BENOÎT A LA GUILLAUME (MCF) M. BOUTER M. CHARRIER M. CHERRUAU M. FLEITER Mme FRON CHABOUIS Mme MANGIONE Mme TILOTTA
	PROFESSEURS ÉMÉRITES	M. BÉRENHOLC Mme BRION M. LASFARGUES M. LAUTROU M. LEVY	M. PELLAT M. PIERRISNARD M. SAFFAR Mme WOLIKOW

Mise à jour le 04 novembre 2019



# Remerciements

---

**À Mme le Professeur Tchilalo BoukpeSSI**

*Docteur en Chirurgie dentaire*

*Docteur de l'Université Paris Descartes*

*Habilitée à Diriger des Recherches*

*Professeur des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes*

*Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris*

*Chef de Service de l'hôpital Charles Foix*

Qui me fait l'honneur et le plaisir de présider à ce jury de thèse d'exercice. Je suis vraiment heureux d'évoluer à vos côtés : je vous remercie pour toutes les connaissances que vous m'avez transmises et que je continue d'acquérir auprès de vous chaque mercredi. Je vous remercie de votre confiance et bienveillance, et suis ravi de pouvoir bénéficier de votre expertise et vos conseils qui me permettent de progresser en endodontie. Je vous remercie pour votre bonne humeur et ce que vous faites pour l'hôpital Charles Foix et ses étudiants. Vous trouverez ici, l'expression de ma sincère reconnaissance.





**À Mme le Professeur Sibylle Vital**

*Docteur en Chirurgie dentaire*

*Ancien Interne des Hôpitaux*

*Docteur de l'Université Paris Descartes*

*Habilitée à Diriger des Recherches*

*Professeur des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes*

*Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris*

*Vice-Doyen de la Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes*

Qui me fait l'honneur de diriger cette thèse, fruit de 2 ans de travail de recherche. Je vous remercie pour votre accompagnement et encadrement qui m'a donné la chance d'apprendre à vous connaître, pour votre expertise et connaissances ainsi que pour m'avoir fait porter un autre regard sur ma profession. Vous trouverez ici, l'expression de mon profond respect.



**À Mme le Docteur Claire Bardet**

*Docteur de l'Université Pierre et Marie Curie*

*Habilité à Diriger des Recherches*

*Maître de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes*

Qui me fait l'honneur de siéger à ce jury de thèse. Je vous remercie de m'avoir accompagné tout au long de ce petit parcours de chercheur et initié dans tous les différents domaines de la recherche. Je vous remercie pour votre bonne humeur et votre expertise d'un point de vue scientifique. Vous trouverez ici, l'expression de ma sincère gratitude.



**À M. le Docteur Franck Decup**

*Docteur en Chirurgie dentaire*

*Docteur de l'Université Paris Descartes*

*Maître de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes*

*Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris*

Qui me fait l'honneur de siéger à ce jury de thèse. Je vous remercie pour votre participation à ce projet avec votre expertise clinique et vos connaissances. Je vous remercie pour la passion que vous mettez à transmettre votre savoir à l'hôpital et en dehors, témoin de votre amour pour cette profession. Vous trouverez ici, l'expression de ma sincère gratitude.



**À M. le Docteur Guillaume Jouanny**

*Docteur en Chirurgie dentaire*

Qui me fait l'honneur de siéger à ce jury de thèse. Je vous remercie pour m'avoir porté vers ce projet de recherche ainsi que pour participation, en ayant apporté tout votre savoir en endodontie. Je vous remercie de m'avoir initié à cette discipline, c'est avec vous que j'y ai fait mes premiers pas, et de m'avoir transmis la notion d'excellence en endodontie. Vous trouverez ici, l'expression de ma sincère reconnaissance.





**A mes grands-parents** : Mami, Mimo, Pépé et Papi, je vous remercie pour tout votre amour et bienveillance, vous serez toujours dans mon cœur. Pensée particulière à Papi qui, auparavant médecin-chercheur, est fier que j'emprunte cette voie.

**A mes parents** : Maman, je te remercie pour tout l'amour que tu me donnes, pour ta présence et bienveillance au quotidien qui embellissent ma vie.

Papa, je te remercie pour tout l'amour que tu me portes, pour toutes les valeurs et principes que tu m'as transmis et que tu continues à me transmettre. Tu es un exemple pour moi.

Je vous aime de tout mon cœur.

**A mon petit frère** : Romi, tu es l'un des êtres les plus formidables de mon existence. Je suis parfois exigeant avec toi, mais toujours avec une pensée bienveillante. Je serai toujours là pour toi. Je t'aime de tout mon cœur.

**A ma petite sœur** : Marie, je suis heureux de notre complicité retrouvée et de notre amour grandissant, fier de ton parcours et de ton épanouissement. Je suis également ravi que l'on partage le même univers professionnel. Je serai toujours là pour toi. Je t'aime de tout mon cœur.

**A ma cousine préférée** : Charlotte, je te remercie pour l'amour que tu me portes. Je suis heureux et fier de notre belle complicité depuis ces nombreuses années et qui, j'en suis certain, ne changera jamais. Je serai toujours là pour toi. Je t'aime de tout mon cœur.

**A mon oncle** : Tonton Yann, je pense que c'est grâce à toi si je me suis dirigé dans cette voie. Malgré tes quelques mises en garde, je suis fier d'avoir suivi tes pas et je t'en remercie. A tous les moments passés et appréciés en ta compagnie. Je t'aime de tout mon cœur.

**A toute ma famille** : C'est toujours un bonheur de vous retrouver : à mes tantes, Maria et Marie ; à mes oncles Guy et Olivier ; à mes cousines Linette, Ambre et Lucile ; à mes cousins Thomas et Jean. Je vous aime de tout mon cœur.

**A Sylviane** : Ma nounou, qui est auprès de moi depuis toujours, tu fais partie de la famille. Je te remercie pour ta gentillesse et ton amour. Tu as encore été auprès de moi il y a peu : Nounou un jour, nounou toujours ! Je t'aime de tout mon cœur.

**A Clémence** : Qui aurait pu deviner qu'un jour de pré-rentree de P2 nous nous rencontrions pour ne plus jamais nous quitter : nous sommes très rapidement devenus amis, une amitié forte et sincère, remplie de rigolades, de taquineries, de dingeries, de beaux souvenirs. Cette amitié, s'est renforcée au cours des années, est devenue spéciale et a fini par devenir de l'amour. Aujourd'hui, tu partages ma vie pour l'embellir plus qu'elle ne pourrait l'être, contribues à mon bonheur, et tu contribueras à celui de demain. Je t'aime de tout mon cœur.

**A Matthieu** : Mon éternel binôme, je suis heureux que nous ayons avancé ensemble depuis toutes ces années jusqu'à faire notre thèse ensemble. Nous nous sommes tirés l'un et l'autre vers le haut et nous nous sommes toujours aidés mutuellement. Tu es un véritable ami, cela ne changera jamais. Je t'aime de tout mon cœur.



**A la Dream Team** : Tabatha, Mellier, Tonio, Verdot, Samson, Greg, Christiaan, Thomas, Gaetan, Moré, Simone, Spiroux, Bastos, Marx, Nicolas, Faro, Depoid, Fred, Vinc', Benito, Monti, Clément : Peu importe l'ordre, quelle équipe de rêve ! A tous ces beaux souvenirs créés et partagés ensemble, à tous ces rires et à toutes nos dingeries (Et dieu sait que l'on est pas prêt de s'arrêter). Je suis heureux de vous avoir à mes côtés, que cela ne change jamais. Je vous aime de tout mon cœur.

**A la Team Sheitan** : Jakub, Yohann, Ronan, Pauline, Maelle, Philippe, Vincent, Anna, Borane, Estelle, Jacqueline : Je suis heureux de vous soyez rentrés dans ma vie et de vous avoir à mes côtés. Que de beaux et bons souvenirs avec vous ! Que cela continue toujours ainsi. Je vous aime de tout mon cœur.

**A mes confrères qui ont ma sincère amitié** : Les potos de la série G, en particulier Jules, Claire, Agathe et Steph, à tous nos moments passés ensemble et à tous nos souvenirs ; vous avez contribué à mon bonheur de ces années universitaires.

A mes collègues d'Ivry, à de belles rencontres qui ont embelli ces années de clinique : Diane, Boyou, Yann, Kevin, David, les Célia, Bettina, Joséphine, Pauline, Carole, Anis (mon petit), Lise, Fred, Johana, Ouriel, Lea, Mailys, Clarence et Arthur ; ainsi qu'à ces personnes extérieures d'Ivry : Floriane, Charles-Henri, Noe, Pierga.

**Aux enseignants d'Ivry** : Je vous remercie de toutes les connaissances théoriques et pratiques que vous m'avez transmises, je vous remercie de la qualité de vos enseignements.

**A toute l'équipe du laboratoire EA2496** : Laboratoire où j'ai réalisé ce projet de recherche. Je vous remercie pour votre accompagnement, et pour cet enrichissement professionnel et personnel que vous m'avez apporté durant ces deux années de master.

**A Richard** : Mon premier praticien, mon premier cabinet. Je vous remercie de ce que vous m'avez apporté dans mon quotidien d'omnipraticien. Je vous remercie de votre confiance et de votre sympathie durant des deux années passées à vos côtés.

# Table des matières

---

<b>1 : INTRODUCTION</b> .....	<b>3</b>
1.1 LA RESORPTION RADICULAIRE .....	3
1.2 UN LIEN ENTRE LA PULPE ET LA RESORPTION RADICULAIRE EXTERNE ? .....	6
1.3. NLRP 3 ET INFLAMMATION PULPAIRE .....	7
1.4. OBJECTIF .....	11
<b>2 : MATERIELS ET METHODES</b> .....	<b>12</b>
2.1. SOURIS WILD TYPE (WT) ET KO- <i>NLRP3</i> .....	12
2.2. CHIRURGIE.....	12
2.2.1 <i>Protocole du traumatisme parodontal</i> .....	13
2.2.2 <i>Protocole du traumatisme pulpaire</i> .....	14
2.3. MICRO-CT .....	15
2.4. ANALYSE HISTOLOGIQUE .....	15
2.5. COLORATIONS HISTOLOGIQUES AU TRICHROME DE MASSON .....	15
2.6. ÉVALUATION DES RESORPTIONS .....	16
2.7. ANALYSES STATISTIQUES.....	18
2.8. COLORATION DE LA PHOSPHATASE ACIDE TARTRATE RESISTANCE (TRAP).....	18
2.9. IMMUNO-HISTOCHEMIE .....	19
<b>3 : RESULTATS</b> .....	<b>21</b>
3.1. DEVELOPPEMENT D'UN MODELE MURIN DE RESORPTION .....	21
3.1.1. <i>Le traumatisme pulpaire est nécessaire à l'obtention d'une résorption radiculaire</i> .....	21
3.1.2. <i>L'association d'un traumatisme pulpaire et parodontal conduit à une augmentation de la surface résorbée par résorptions inflammatoires</i> .....	25
3.1.3. <i>Les résorptions inflammatoires progressent au cours du temps</i> .....	26
3.1.4. <i>Expression d'OPG et de RANKL lors des résorptions</i> .....	26
3.1.5. <i>La résorption radiculaire est associée à l'inflammation pulpaire.</i> .....	28
3.1.6. <i>Implication des débris de Malassez dans les voies de la résorption</i> .....	30
3.2. CONTRIBUTION DU MODELE NLRP3 A LA COMPREHENSION DES MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES.....	32
3.2.1. <i>La modulation de l'inflammation via la suppression de l'inflammasome n'influence pas le processus des résorptions radiculaires</i> .....	32
3.2.2. <i>L'expression d'OPG et de RANKL lors des résorptions</i> .....	34
3.2.3. <i>Implication de l'inflammation pulpaire dans les résorptions</i> .....	36

<b>4 : DISCUSSION.....</b>	<b>41</b>
4.1. LE MODELE MURIN DE RESORPTION .....	41
4.2. L'IMPLICATION DE L'INFLAMMATION PULPAIRE DANS LE PROCESSUS DE RESORPTION .....	42
4.3. LE MODELE KO-NLRP3 .....	43
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>44</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>45</b>
<b>TABLE DES FIGURES.....</b>	<b>48</b>
<b>TABLE DES TABLEAUX.....</b>	<b>51</b>

# 1 : Introduction

---

## 1.1 La résorption radiculaire

La racine, par l'intermédiaire du ciment, permet à la dent d'être ancrée dans l'os alvéolaire environnant par l'intermédiaire du ligament alvéo-dentaire, et à eux trois, ils forment une unité fonctionnelle qui peut être le siège de lésions, dont les résorptions radiculaires. Une résorption est une disparition progressive, partielle ou totale d'un tissu, d'un corps étranger ou d'un produit pathologique, assimilé par les tissus environnants. Elle peut être physiologique ou pathologique<sup>1</sup>.

Chez l'homme, ce phénomène existe au niveau des dents temporaires, c'est un processus physiologique, appelé rhizolyse, la résorption radiculaire permettant l'exfoliation des dents lactéales, et ainsi la mise en place des dents permanentes.

A l'inverse, la résorption radiculaire en denture permanente est un processus pathologique, qui induit la perte du ciment, de la dentine et de l'os. Il peut concerner les dents vivantes ou dépulpées<sup>2</sup>.

Deux types de résorption sont différenciés en fonction de leur point de départ, elle peut être :

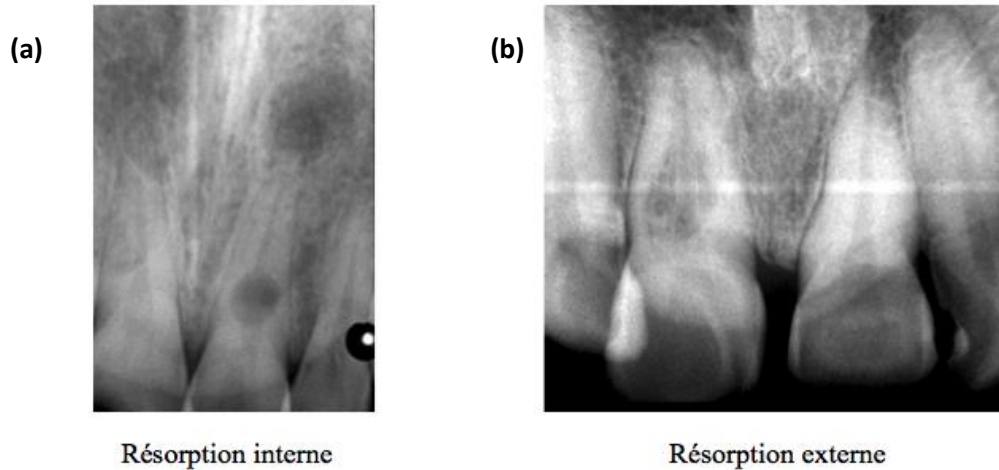
- Interne, quand le système canalaire n'est plus protégé par la prédentine (Figure 1a)
- Externe, lorsque la surface radiculaire n'est plus protégée par le précément (Figure 1b)

---

<sup>1</sup> Arana-Chavez et Bradaschia-Correa, « Clastic cells : mineralized tissue resorption in health and disease ».

<sup>2</sup> Trope, « Root resorption of dental and traumatic origin : classification based on etiology ».

Figure 1 : (a) Radiographie intra-orale rétro-alvéolaire d'une résorption radiculaire interne de l'incisive centrale maxillaire à gauche. (b) Radiographie intra-orale rétro-alvéolaire d'une résorption radiculaire externe de l'incisive centrale maxillaire droite



Source : Trope, « Root resorption of dental and traumatic origin : classification based on etiology », 1998.

Dans ce travail, nous nous intéressons aux résorptions radiculaires externes.

Contrairement à ceux observés en présence d'une lésion carieuse, les symptômes liés aux résorptions pathologiques sont discrets. Le diagnostic se fait donc généralement tardivement, lors de la signalisation d'une gêne par le patient ou lors de l'apparition d'une mobilité ou bien la survenue d'une fracture inopinée. Elles peuvent être découvertes lors d'un examen radiographique de suivi, même en l'absence de symptôme<sup>3</sup>.

Les résorptions radiculaires ont diverses étiologies, notamment les traumatismes dentaires, dont la résorption est une complication fréquente, difficile à gérer pour le clinicien<sup>4</sup>.

La fréquence des patients présentant des traumatismes dentaires est élevée, avec une incidence annuelle rapportée comprise entre 1,5 % et 2,8 %<sup>5</sup>. En fonction du type de traumatisme et du délai de prise en charge, les séquelles résultant d'une perturbation neurovasculaire, d'une nécrose de la pulpe et d'une contamination bactérienne sont fréquentes, conduisent à une résorption radiculaire pathologique, principalement externe, la résorption interne restant exceptionnelle.<sup>6</sup>

---

<sup>3</sup> Ahangari et al., « Interventions for the management of external root resorption ».

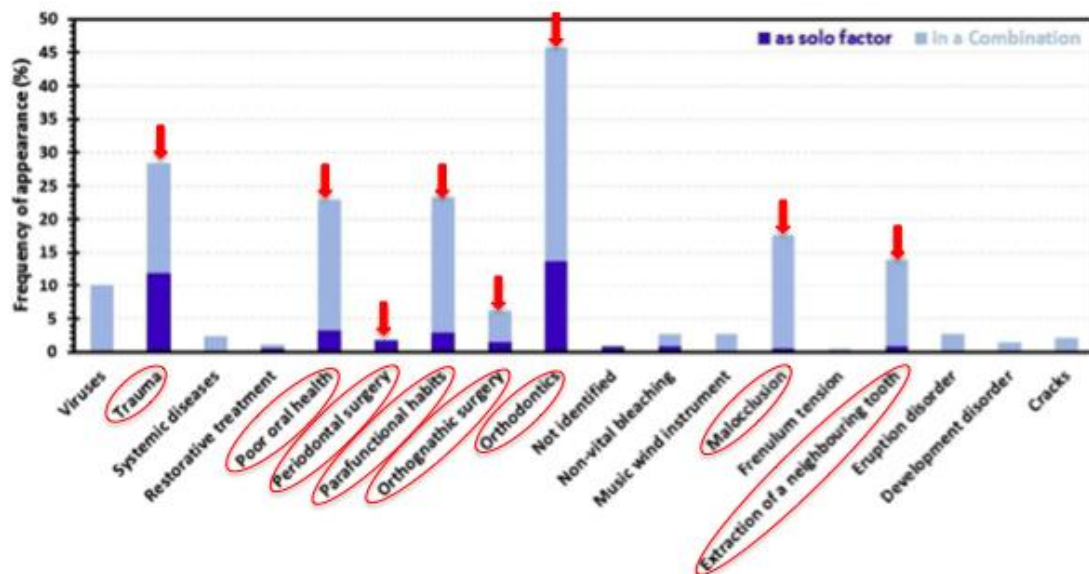
<sup>4</sup> Andreasen, Andreasen, et Andersson, *Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth*.

<sup>5</sup> Skaare et Jacobsen, « Dental injuries in Norwegians aged 7-18 years ».

<sup>6</sup> Soares et al., « Frequency of root resorption following trauma to permanent teeth ».

Par ailleurs, il existe un autre type de résorption, à point de départ cervical, c'est-à-dire immédiatement sous l'émail de la couronne : les résorptions cervicales externes. Elles sont associées, cette fois à un traumatisme parodontal répété, entraînant une inflammation, qui peut être d'origine septique, par exemple lors d'un brossage insuffisant entraînant la présence de plaque, ou d'origine aseptique par exemple lors d'un traitement orthodontique. Les deux origines peuvent se cumuler<sup>7</sup>.

Figure 2 : Histogramme représentant la fréquence (%) des principaux risques de facteurs de développement d'une résorption cervicale externe pour les dents étudiées



Source : Mavridou et al., « Descriptive analysis of factors associated with external cervical resorption », 2017.

A l'échelle cellulaire, la résorption des tissus dentaires minéralisés est la conséquence de l'activité de cellules plurinucléées, parfois appelées odontoclastes, par assimilation aux ostéoclastes<sup>8</sup>. Elles ont la même origine cellulaire, la même anatomie (présence d'une bordure en brosse) et ont des propriétés enzymatiques et métaboliques identiques. De plus, leur activité est également régulée par le système OPG/RANKL/RANK<sup>9</sup>.

Certains auteurs avancent quelques petites différences : au niveau de la taille inférieure des odontoclastes, qui possèderaient en outre moins de noyaux et formeraient des lacunes de résorption plus petites qu'au niveau de l'os<sup>10</sup>.

<sup>7</sup> Mavridou et al., « Descriptive analysis of factors associated with external cervical resorption ».

<sup>8</sup> Wang et McCauley, « Osteoclasts and odontoclasts : signaling pathways to development and disease ».

<sup>9</sup> Tyrovala et al., « Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system : a mini review ».

<sup>10</sup> Wang et McCauley, « Osteoclasts and odontoclasts : signaling pathways to development and disease ».

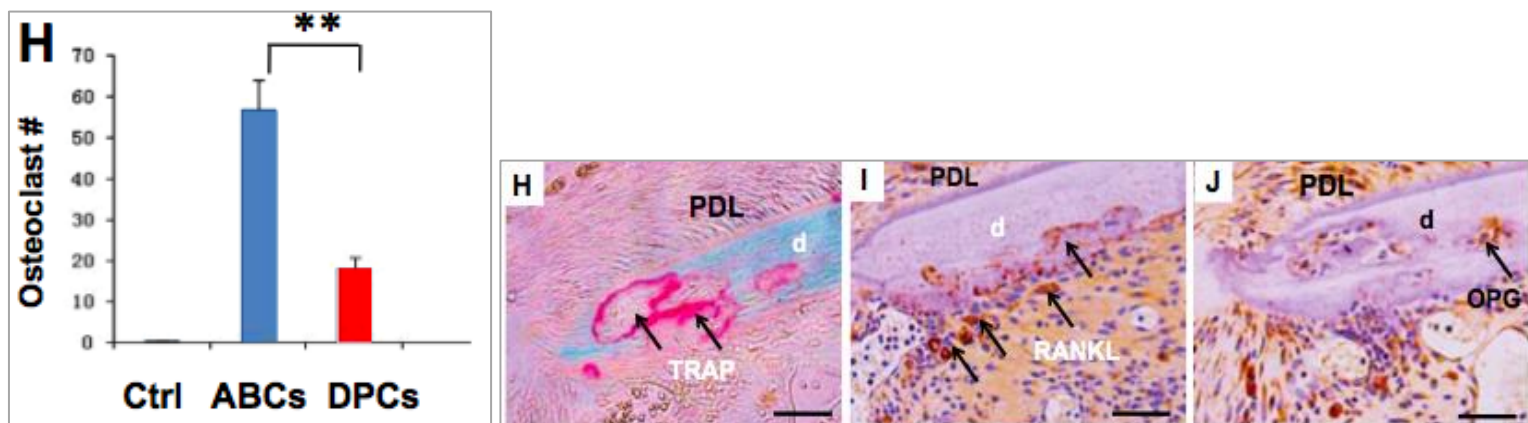


## 1.2 Un lien entre la pulpe et la résorption radiculaire externe ?

Bien que la pulpe soit à distance du cément, la pulpe pourrait jouer un rôle important dans les phénomènes de résorption. Ce rôle a notamment été mis en évidence, dans l'étude de Zheng et collaborateurs<sup>11</sup>. Des cellules issues de culture primaire d'os alvéolaire et des splénocytes murins ont été mis en culture, en présence ou non de cellules pulpaire. La présence de cellules pulpaire atténuait significativement l'ostéoclastogénèse.

Les auteurs ont également mis en évidence que des dents réimplantées étaient plus sujettes à des résorptions radiculaires lorsque la pulpe avait été éliminée. La pulpe protégerait donc la dent des cellules clastiques responsables de la résorption radiculaire.

Figure 3 : Histogramme de la quantification de cellules ostéoclastique à gauche et mise en évidence de la résorption radiculaire au niveau de l'incisive maxillaire de rat par une coloration TRAP (H), une immunohistochimie de RankL (I) et d'OPG (J) à gauche



Source : Zheng et al., « Mesenchymal dental pulp cells attenuate dentin resorption in homeostasis », 2015.

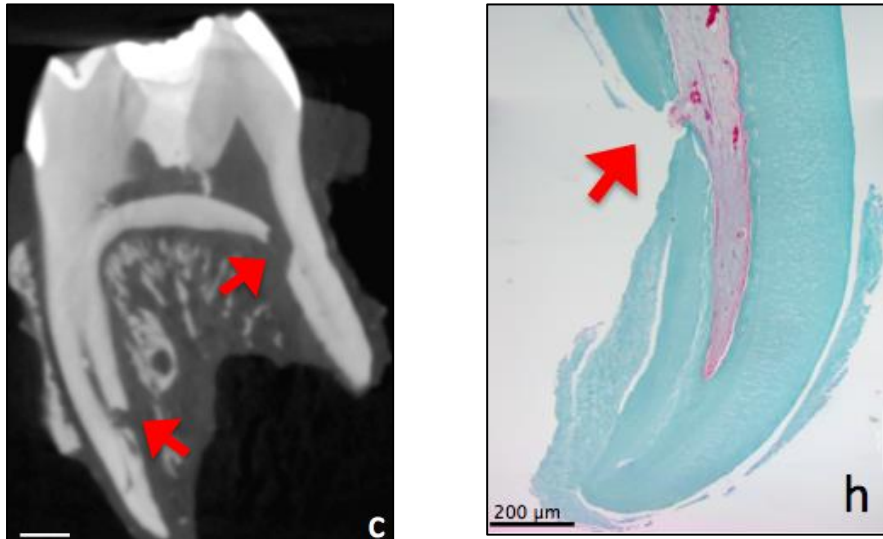
Par ailleurs, dans une étude menée au sein du laboratoire « Pathologies, Imagerie et Biothérapies orofaciales » du Professeur Chaussain, Mangione et ses collaborateurs<sup>12</sup> ont réalisé une effraction pulpaire au niveau de molaires chez le porc, puis implanté des hydrogels contenant ou non des cellules pulpaire de cochon afin d'étudier le potentiel régénératoire de la pulpe. Ils ont constaté des résorptions radiculaires externes systématiques, qui seraient dues au traumatisme pulpaire réalisé lors de la pulpotomie, puisqu'indépendantes de la présence de cellules implantées.

<sup>11</sup> Zheng et al., « Mesenchymal dental pulp cells attenuate dentin resorption in homeostasis ».

<sup>12</sup> Mangione et al., « Implanted dental pulp cells fail to induce regeneration in partial pulpotomies ».

La pulpe semblerait donc impliquée dans le processus physiopathologique conduisant à des résorptions radiculaires externes.

Figure 4 : Mise en évidence de résorption radiculaire externe de molaire de cochon nain par imagerie microCT à gauche et coupe histologique à droite



Source : Mangione et al., « Implanted dental pulp cells fail to induce regeneration in partial pulpotomies », 2017.

Très peu de modèles de résorptions radiculaires externes par traumatisme pulpaire ont été décrits, comme par exemple chez le chien<sup>13</sup>. Du fait des limites, notamment en terme de coût mais aussi de limites des études histologiques, il a semblé pertinent de poursuivre les investigations sur la résorption par lésion pulpaire, en développant un modèle expérimental murin de résorption radiculaire externe afin d'analyser au mieux les mécanismes physio-pathologique de la résorption radiculaire externe et du rôle de la pulpe.

### 1.3. NLRP 3 et inflammation pulpaire

L'inflammasome NLRP3 est un complexe macro-moléculaire qui a un rôle crucial dans la progression des réponses immunitaires inflammatoires et adaptatives en réponse à un large éventail de signaux microbiens ou de dangers<sup>14</sup>.

---

<sup>13</sup> da Silva et al., « Radiographic evaluation of pulpal and periapical response of dogs' teeth after pulpotomy and use of recombinant human bone morphogenetic protein-7 as a capping agent ».

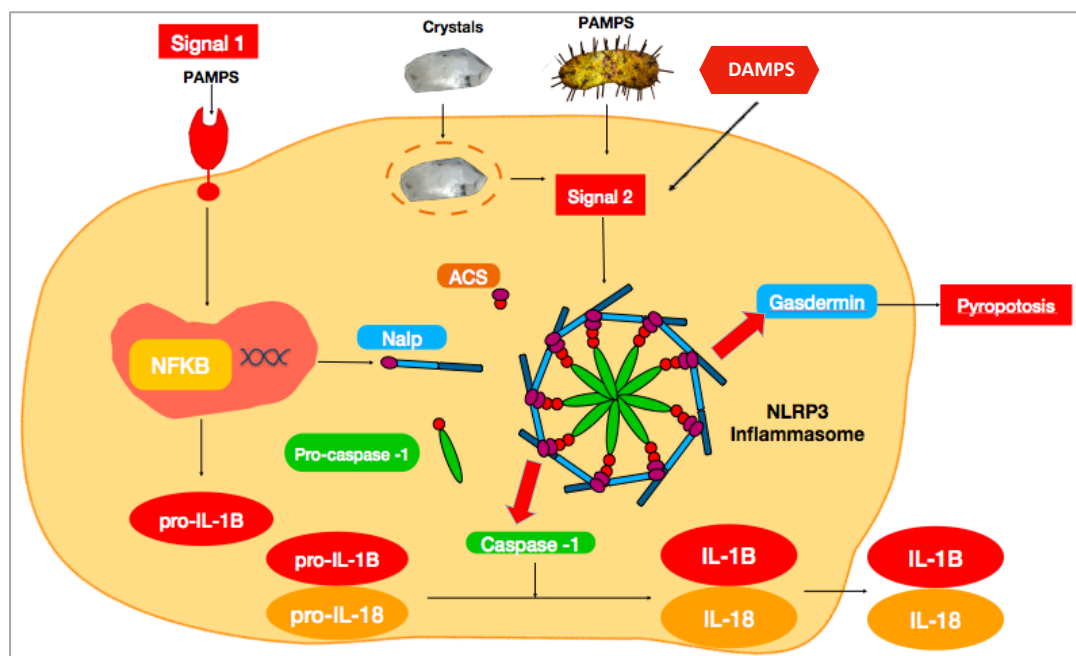
<sup>14</sup> Kejia et al., « Role and mechanism of the nod-like receptor family pyrin domain-containing 3 inflammasome in oral disease ».

Il est composé de 3 molécules :

- Le récepteur cytoplasmique Nalp ou NLRP3 pour NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3
- La protéine adaptatrice ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD domain)
- La pro-caspase 1.

Lorsqu'elles interagissent, le complexe inflammasome conduit à la libération des cytokines pro-inflammatoires IL-1 $\beta$  et IL-18 par l'activation de deux types : premièrement de la caspase-1 qui clive la proIL-1 $\beta$  et la proIL-18 en cytokines inflammatoires matures ; deuxièmement par l'activation de la gasdermine qui conduit à la pyroptose et donc à l'explosion de la cellule, libérant ainsi tous les contenus de la cellule en milieu extra-cellulaire<sup>15</sup>.

Figure 5 : Schéma de la libération d'IL-1B et IL-18 à partir de l'inflammasome NLRP3

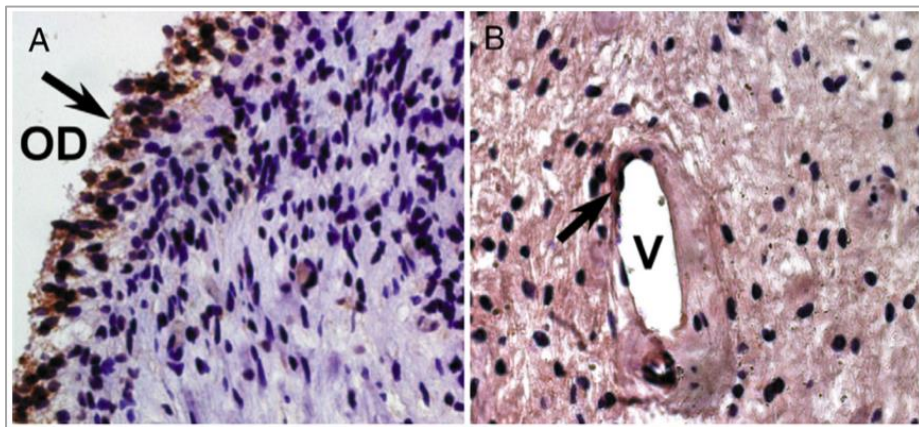


Source : Dr Gosset, 2018.

<sup>15</sup> Kejia et al.

Au niveau de la pulpe dentaire, NLRP3 semble jouer un rôle essentiel dans la détection des bactéries pathogènes et l'initiation de l'inflammation. En effet, l'équipe de Song<sup>16</sup> a observé *ex vivo* que les cellules de la pulpe dentaire humaine de 3<sup>ème</sup> molaire présentaient des taux élevés d'ARNm et de protéines NLRP3. Les protéines NLRP3 étaient principalement exprimées dans les odontoblastes et certaines cellules endothéliales vasculaires de la pulpe.

Figure 6 : Mise en évidence par immuno-histochimie de NLRP3 dans les odontoblastes à gauche et dans les cellules vasculaire à droite



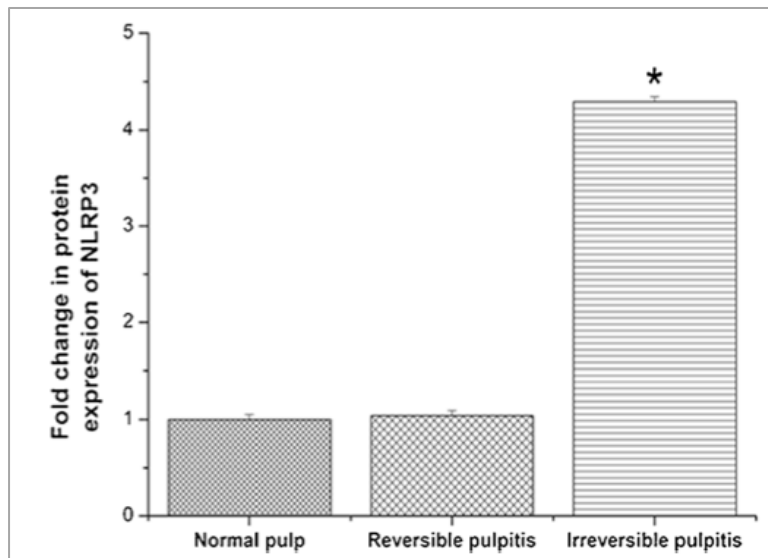
Source : Song et al., « NLRP3 is expressed in human dental pulp cells and tissues », 2012.

---

<sup>16</sup> Song et al., « NLRP3 is expressed in human dental pulp cells and tissues ».

De plus, l'expression de la protéine NLRP3 varie en fonction de l'inflammation pulpaire. Une expression plus importante est observée dans les tissus pulpaire atteints de pulpite irréversible, donc dans une pulpe très inflammatoire, que dans les tissus pulpaire normaux et dans les tissus atteints de pulpite réversible, c'est-à-dire pas ou moyennement inflammatoires<sup>17</sup>.

Figure 7 : Histogramme de l'expression de NLRP3 en fonction de l'état inflammatoire de la pulpe



Source : Jiang et al., « Activation of the NLRP3 / caspase-1 inflammasome in human dental pulp tissue and human dental pulp fibroblasts », 2015.

NLRP3 jouerait donc un rôle essentiel dans la signalisation inflammatoire de la pulpe. Un modèle KO-Nlrp3 est l'objet d'études du Professeur Gosset, au sein du laboratoire du Professeur Chaussain. Afin de déterminer un rôle de l'inflammation dans les mécanismes de la résorption radiculaire, ce modèle devrait permettre, par la modulation de l'inflammation pulpaire, d'étudier son rôle dans les résorptions radiculaires externes.

---

<sup>17</sup> Jiang et al., « Activation of the NLRP3 / caspase-1 inflammasome in human dental pulp tissue and human dental pulp fibroblasts ».

#### **1.4. Objectif**

Cette étude a pour but d'étudier le rôle de l'inflammation pulpaire dans la résorption radiculaire externe par :

1. La mise au point d'un modèle de résorption radiculaire externe chez la souris
2. L'étude de l'implication de l'inflammation pulpaire en utilisant le modèle murin KO-Nlrp3

## 2 : Matériels et Méthodes

---

### 2.1. Souris Wild Type (WT) et KO-Nlrp3

Les souris ont été maintenues dans des conditions normales avec un cycle de lumière et d'obscurité de 12 h à 25° C et leur ont été fourni de la nourriture et de l'eau ad libitum.

Les souris Nlrp3-KO, sur fond génétique C57BL6, ont été obtenues grâce au Professeur Gosset. Les souris WT ont été commandées au fournisseur Janvier.

Elles ont été génotypées par réaction en chaîne de la polymérase (PCR).

Tableau 1 : Caractéristiques des souris

Nombre de souris	Race	Âge
30	C57BL6	3 mois
9	KO-Nlrp3	3 mois

Source : Auteur, 2019.

### 2.2. Chirurgie

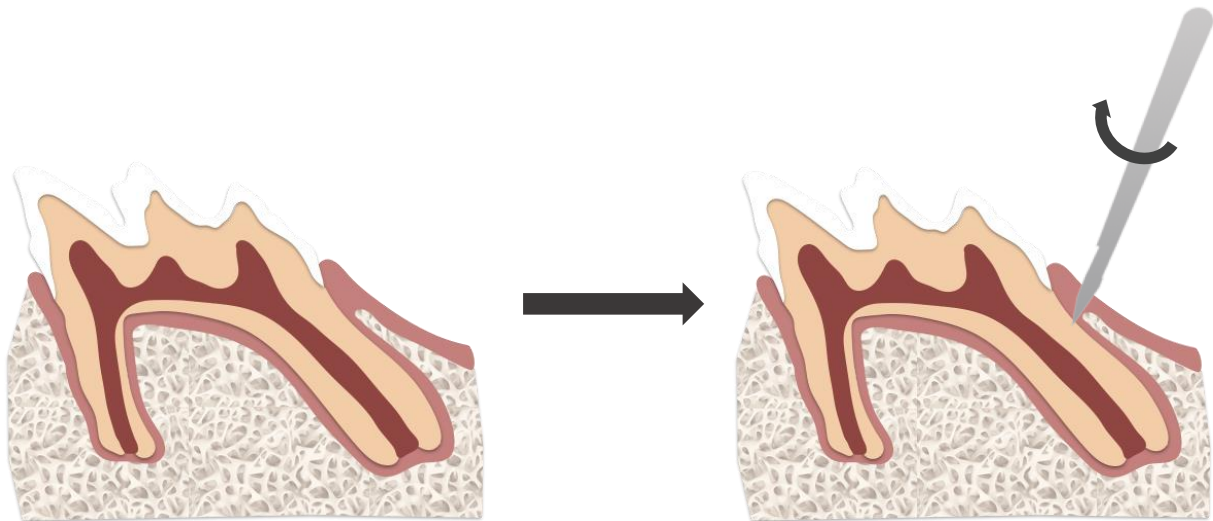
Trois protocoles chirurgicaux ont été réalisés sur la première molaire maxillaire de souris WT:

- Un traumatisme parodontal : n=9
- Un traumatisme pulpaire : n=9
- La combinaison du traumatisme parodontal et pulpaire : n=12

### 2.2.1 Protocole du traumatisme parodontal

- Sélection d'une souris
- Mesure du poids de la souris
- Anesthésie : injection intra-péritonéale de Kétamine-Xylazine (1ml/100mg)
- Positionnement de la souris et réglage du microscope opératoire
- Mobilisation de la première molaire maxillaire à l'aide d'un bistouri et d'une lame 11. La luxation est réalisée jusqu'à ce la molaire présente une mobilité axiale et latérale.

Figure 8 : Protocole du traumatisme parodontal



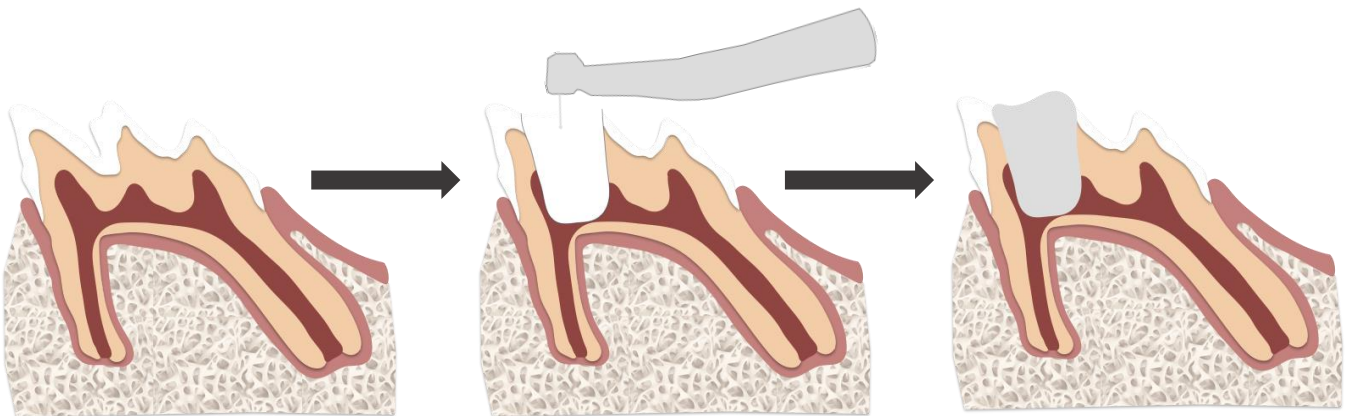
Source : Auteur, 2019.



## 2.2.2 Protocole du traumatisme pulpaire

- Sélection d'une souris
- Mesure du poids de la souris
- Anesthésie : injection intra-péritonéale de Kétamine-Xylazine (1ml/100mg)
- Positionnement de la souris et réglage du microscope opératoire
- Réalisation sur la première molaire maxillaire, de la cavité d'accès et de l'effraction pulpaire à l'aide d'un contre angle bague bleue et d'une frise LN col 004
- Introduction d'une lime K pour réaliser les finitions de l'effraction pulpaire
- Obtention d'une hémostase à l'aide de cône de papier
- Mise en place d'un matériau permettant un entretien de l'inflammation pulpaire : ciment d'oxyde de zinc – eugénoI (IRM<sup>®</sup>)

Figure 9 : Protocole du traumatisme pulpaire



Source : Auteur, 2019.

Les souris sont sacrifiées à 7 jours, 21 jours et 42 jours après la chirurgie et les héli-maxillaires sont fixés dans du paraformaldéhyde 4% pendant 48 heures.

Le protocole conduisant au modèle le plus pertinent a été réalisé sur les souris KO Nlrp3 (n=9) et comparées à des souris WT.

### 2.3. Micro-CT

Un suivi longitudinal à 7, 21 et 42 jours a été réalisé par microCT, Quantum FX PERKIN ELMER sur la « Plateforme d'Imagerie et du Vivant » (PIV). Pour chaque examen, les animaux ont été anesthésiés à l'isofluorane.

#### **Paramètres utilisés :**

- Voltage : 90 KV
- Intensité : 160 UA
- FOV : 5 mm
- Mode d'acquisition : 3 minutes (fine)

Pour chaque animal, la présence, la localisation et la taille des lacunes de résorptions ont été notées. Les tissus dentaires et les structures environnantes ont également été systématiquement observés, notamment la présence d'éventuelle lésion osseuse inter-radulaire. L'intégrité de plancher pulpaire après chirurgie a également été contrôlé.

L'analyse des images a été réalisée grâce au logiciel Osirix et la précision du Micro-CT n'a pas permis d'études quantitatives.

### 2.4. Analyse Histologique

Après sacrifice des animaux, les hémimaxillaires sont prélevés, puis fixés au paraformaldéhyde 4 %. Une déminéralisation par bains d'EDTA 4,13 % pendant 120 heures minimum au four à micro-ondes (chaleur humide) a été réalisée. Après rinçage au PBS, les échantillons ont été déshydratés par des bains successifs d'alcool 70°, 95° et 100° et passage dans le toluène. Les pièces ont ensuite été incluses en paraffine et des coupes histologiques de 7µm réalisées à l'aide d'un microtome.

### 2.5. Colorations histologiques au Trichrome de Masson

Afin de mettre en évidence les différentes structures, un trichrome de Masson associant un colorant nucléaire (Hémalum), un colorant cytoplasmique (orange G molybdique), et un colorant des fibres de collagène (vert lumière) a été réalisé.

**Protocole** : d'une lame paraffinée

- Déparaffinage :
  - Bain dans du Toluène, 2 fois 10 minutes
- Déshydratation : réalisation successive de bains

- Alcool Absolue pendant 10 minutes
- Alcool 95 pendant 10 minutes
- Bain d'eau distillé pendant 10 minutes
- Coloration : réalisation successive de bains
  - Hémalun, qui est à filtrer car il y a la présence de dépôt, pendant 5 min (pour colorer les noyaux)
  - Rinçage à l'eau courante, pendant 5 min
  - passage dans l'eau distillée
  - Ponceau Fuchsine, qui est à conserver au froid, pendant 2 min
  - Rinçages à l'eau acétique 2 %, pendant 2 min
  - Orange G molybdique, pendant 5 min
  - Rinçages à l'eau acétique 2 %, pendant 5min
  - Vert lumière, pendant 5 min
  - Rinçages à l'eau acétique 2 %, pendant 5min
  - Rinçage à l'eau courante, pendant 5 min
- Déshydratation : réalisation successive de bains
  - Alcool 95, 2 bains de 10 min puis un de 3 min
  - Alcool absolu, 2 bains de 5 min
  - Toluène, pendant 5 min
- Montage : des lames avec du Depex

## 2.6. Évaluation des résorptions

Des coupes sériées de 7µm de l'ensemble des échantillons ont été réalisées. L'ensemble des coupes colorées au trichrome de Masson, soit 1 toutes les 8 coupes, a servi pour l'évaluation des résorptions.

En se basant sur la classification d'Andreasson<sup>18</sup>, il a été considéré qu'il n'y a pas de résorption, quand aucune discontinuité radiculaire au niveau du ciment n'est objectivable sur l'ensemble des coupes colorées en trichrome de l'échantillon.

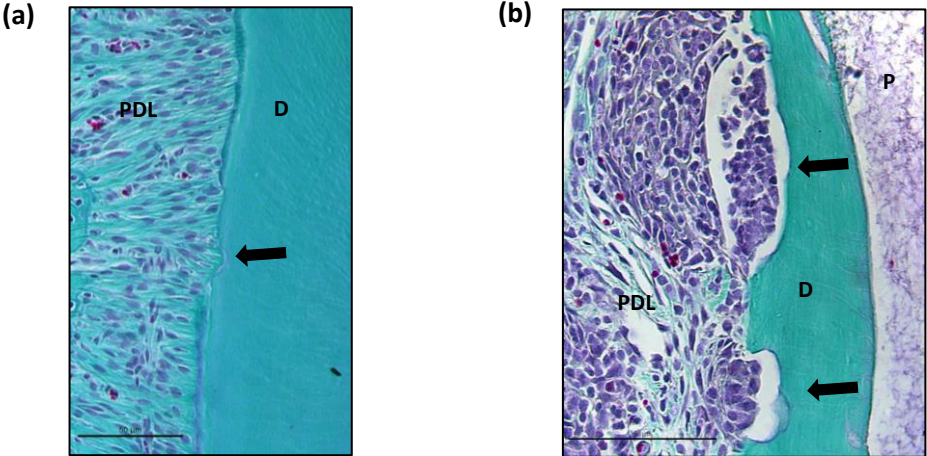
En présence d'une lacune de résorption, sous forme de discontinuité du ciment, sans autres modifications, il a été considéré qu'il s'agit d'une résorption de surface. (Figure 10a)

---

<sup>18</sup> Andreassen, « Luxation of permanent teeth due to trauma : a clinical and radiographic follow-up study of 189 injured teeth ».

En présence d'une lacune de résorption atteignant le cément et plus ou moins la dentine, et en présence de modifications cellulaires parodontales. Il a été considéré qu'il s'agit d'une résorption inflammatoire. (Figure 10b)

Figure 10 : Coupe sagittale colorée au Trichrome de Masson de M1 sur laquelle des lacunes de résorption de surface (a) et inflammatoire (b) sont visibles. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal



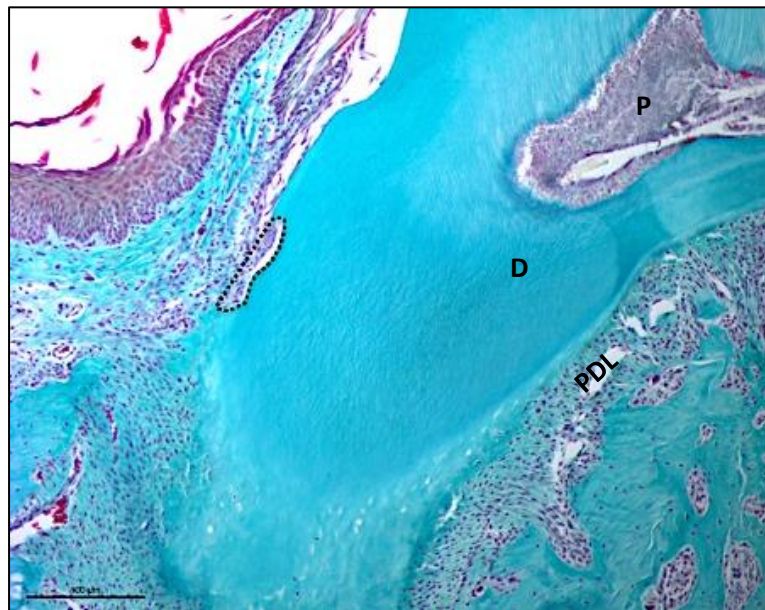
Source : Auteur, 2019.

## 2.7. Analyses statistiques

L'aire des lacunes de résorption étant plus représentatif de la sévérité de la résorption que le nombre de lacunes, L'aire des lacunes de résorption inflammatoire a été calculée pour 3 coupes de chaque dent ayant subit un traumatisme et sacrifié à 21 jours, grâce au logiciel Image J®.

Une analyse statistique à l'aide d'un test de Wilcoxon – Mann Whitney a ensuite été effectuée.

Figure 11 : Coupe sagittale colorée au Trichrome de Masson de M1 présentant une résorption inflammatoire. La surface de la dent résorbée (pointillé) est calculée afin de comparer les différents échantillons. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal



Source : Auteur, 2019.

## 2.8. Coloration de la Phosphatase Acide Tartrate Resistance (TRAP)

Afin de mettre en évidence l'activité ostéoclastique, des colorations de la Phosphatase Acide Tartrate Resistance (TRAP) ont été réalisées sur des coupes d'intérêt, sélectionnées d'après les observations des coupes colorées au Trichrome de Masson.

### **Protocole :**

- Préparation du tampon acétate 0,1 M pH 5,2
  - 64 mg d'acétate de sodium anhydre (Sigma S-2889)
  - 10 ml d'eau distillée
  - 100 µl d'acide acétique glacial
  - Vérification du pH à 5,2
- Préparation du réactif : à l'abri de la lumière
  - 10 mg de naphol AS-MX phosphate (Sigma 6000) dissout dans
  - 50 µl de NN diméthylformamide
  - 10 ml de tampon acétate pH 5,2
  - 230 mg de tartrate de sodium (Sigma S-4797)
  - 10 mg de Fast Red TR salt (Aldrich 368881)
  - Contrôle du pH à 5,2 et filtration
- Incubation des coupes : 1 heure à 37°C
- Rinçage : à l'eau distillée
- Contre-coloration : au vert de Methyl
  - Vert de Methyl sur coupe, 1 min
  - Rinçage eau distillé
- Deshydratation et montage des lames au Depex

## **2.9. Immuno-histochimie**

Des marqueurs spécifiques de l'inflammation et de la voie OPG/RANK/RANKL ont été mis en évidence par immunohistochimie.

Tableau 2 : Caractéristiques des anticorps

Anticorps primaire	Anti-IL1 $\beta$ (ab9722) polyclonal de lapin	Anti-TNF $\alpha$ (ab34674) polyclonal de lapin	Anti-OPG (ab9986) polyclonal de lapin	Anti-RANKL (ProSci, 3963) polyclonal de lapin
Concentration	1/100	1/100	1/10	1/200
Anticorps secondaire	Anti-lapin	Anti-lapin	Anti-lapin	Anti-lapin
Concentration	1/100	1/100	1/100	1/100

Source : Auteur, 2019

**Protocole :**

Après déparaffinage et réhydratation, les sites antigéniques ont été démasqués au BD RETRIVAGEN (PHARMIGEN) (45 min). Brièvement, selon les indications du fabricant, les coupes ont été immergées dans la solution, chauffée au bain marie entre 80 et 85°C, pendant 10 minutes. Après refroidissement à température ambiante pendant 20 minutes, les coupes ont été rincées à l'eau distillée.

Après blocage des peroxydases à l'acide ortho-périodique 5mM pendant 10 minutes et incubation pendant 1 heure au PBS 1X - BSA 5%, l'anticorps primaire a été incubé pendant 24 heures. Après rinçage au PBS, l'anticorps secondaire a été incubé à son tour, sous agitation pendant 1 heure. La visualisation des peroxydases a été réalisée à température ambiante, en chambre noire, en utilisant la 3.3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (Dab, Sigma-Aldrich), après 3 à 5 minutes.

Une contre-coloration au vert de Méthyl a été réalisée avant déshydratation et montage des coupes au Dépex.

## **3 : Résultats**

---

### **3.1. Développement d'un modèle murin de résorption**

#### **3.1.1. Le traumatisme pulpaire est nécessaire à l'obtention d'une résorption radiculaire**

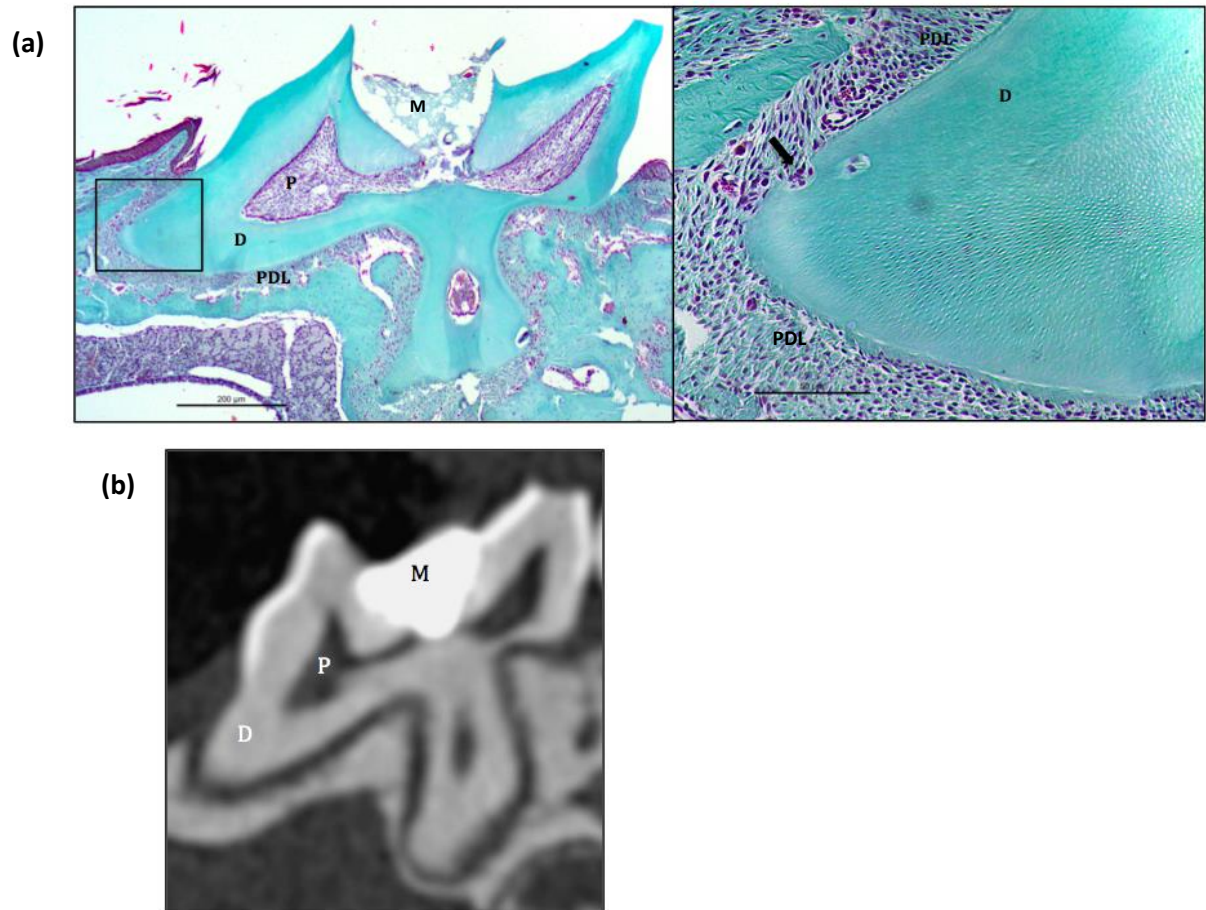
L'analyse histologique, complétée par l'analyse microCT, des échantillons de souris WT ont permis de mettre en évidence qu'un traumatisme pulpaire était nécessaire à l'induction d'une résorption radiculaire.

En effet, aucune destruction du ciment n'est objectivable sur les dents ayant subi seulement un traumatisme parodontal par luxation, quelque soit la durée entre le traumatisme et l'observation.

Sur les dents ayant subi un traumatisme pulpaire ou l'association des deux traumatismes, des résorptions de surface (Figure 12) et des résorptions inflammatoires (Figure 13) sont visibles à 21 et 42 jours après la chirurgie. Les résorptions de surface ne sont pas visibles en microCT, à l'inverse des résorptions inflammatoires.

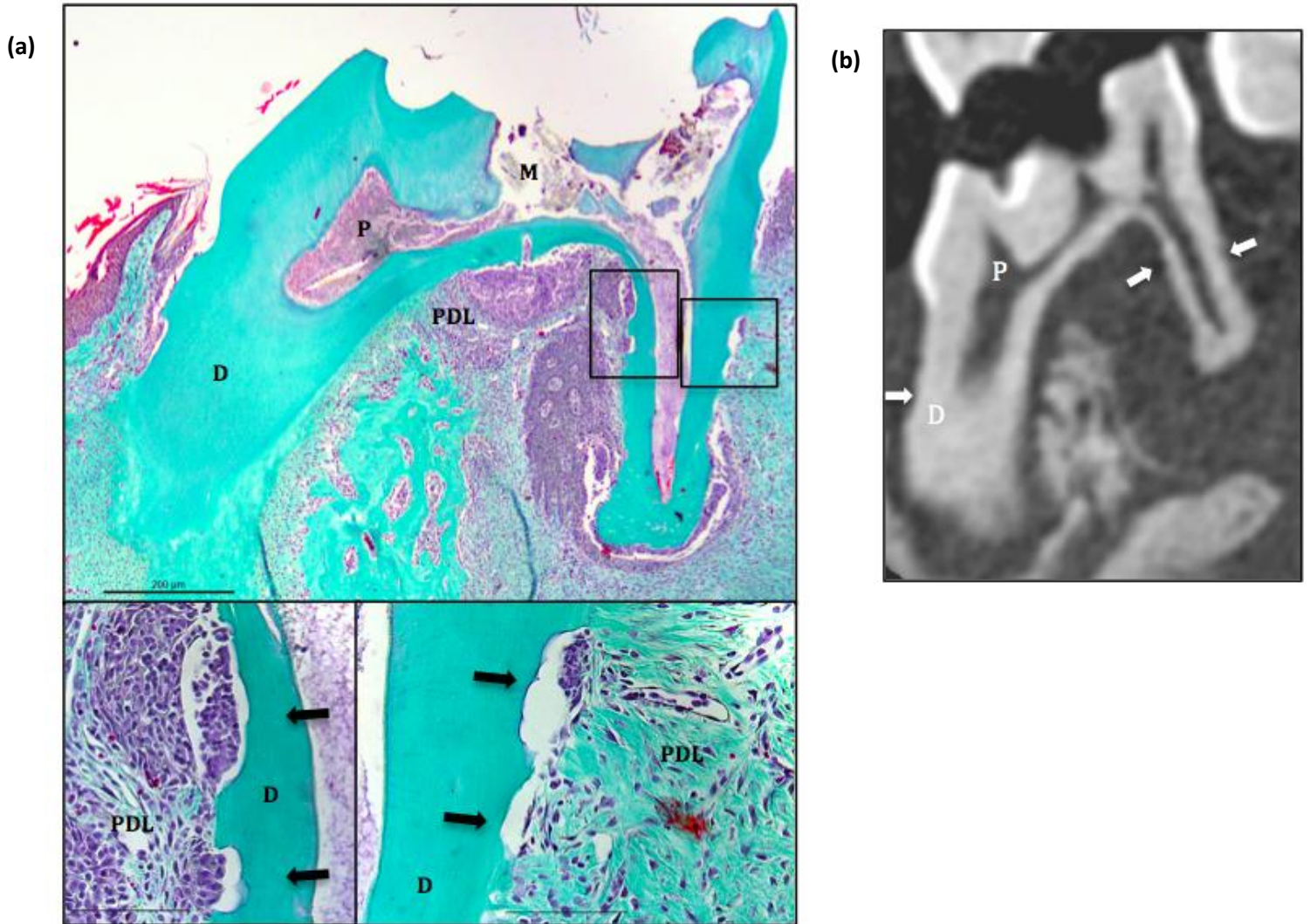


Figure 12 : Coloration au Trichrome de Masson d'une coupe sagittale de M1 maxillaire WT ayant subi un traumatisme pulpaire, 7 jours après chirurgie, sur laquelle une résorption de surface est visible (flèche noire) (a). L'analyse de la dent en microCT ne permet pas de l'objectiver (b). P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal, M Matériau d'obturation



Source : Auteur, 2019.

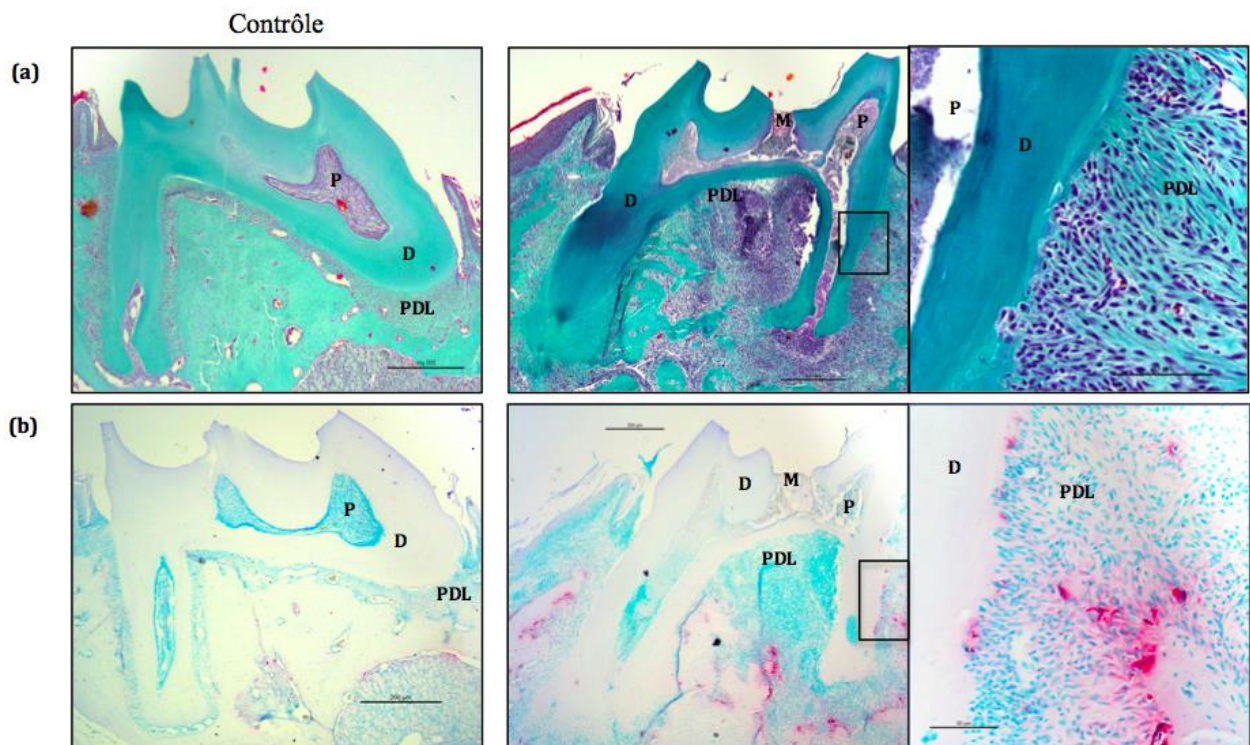
Figure 13 : Coupe sagittale colorée au Trichrome de Masson de M1 maxillaire WT ayant subi un traumatisme pulpaire et parodontal, 21 jours après chirurgie, sur laquelle des lacunes de résorption inflammatoire sont visibles (flèches noires) (a). Ces résorptions sont visibles également sur les images microCT (flèches blanches) (b). P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal, M Matériau d'obturation



Source : Auteur, 2019.

La présence de cellules resorbantes, marquées positivement à la TRAP, est notée au niveau de la surface radiculaire dans les lacunes de résorption des dents traumatisées par un traumatisme pulpaire ou la combinaison des deux modalités. (Figure 14)

Figure 14 : Coupes sagittales de M1 maxillaire WT saine à gauche et ayant subi un traumatisme pulpaire et parodontal, 42 jours après chirurgie, à faible grossissement au milieu et fort grossissement à droite (a) colorées au Trichrome de Masson et (b) colorées par la coloration enzymatique TRAP mettant en évidence la présence d'une activité ostéoclastique (en rouge). P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal, M Matériau d'obturation

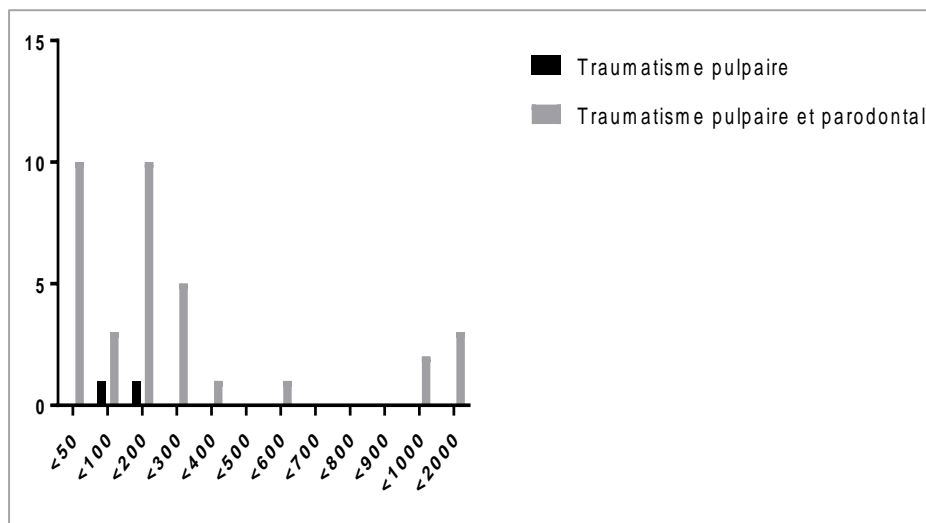


Source : Auteur, 2019.

### 3.1.2. L'association d'un traumatisme pulpaire et parodontal conduit à une augmentation de la surface résorbée par résorptions inflammatoires

A 21 jours, en comparant les aires des lacunes de résorption, il apparaît clairement que le processus pathologique est significativement plus marqué, sur les racines des dents ayant subi la combinaison du traumatisme parodontal et pulpaire, que le traumatisme pulpaire seul ( $p : 0.04$ ).

Figure 15 : Comparaison des aires des lacunes de résorption inflammatoire entre la modalité avec traumatisme pulpaire et la combinaison des 2 traumatismes ( $p : 0.04$ )



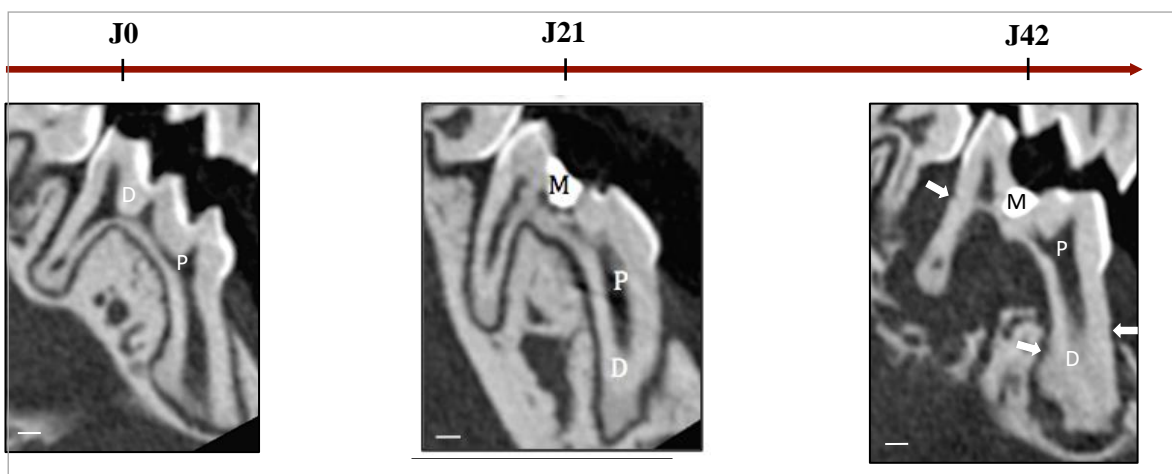
Source : Auteur, 2019.

### 3.1.3. Les résorptions inflammatoires progressent au cours du temps

L'ensemble de nos observations des coupes histologiques montre que les résorptions inflammatoires ne sont pas visibles à 7 jours mais qu'elles sont présentes à 21 jours et 42 jours.

Le suivi longitudinal réalisé par microCT a permis de mettre en évidence une augmentation de taille des lacunes au cours du temps. Parallèlement, une augmentation de la résorption osseuse est observée avec le temps et aucune cicatrisation n'est observée à 42 jours.

Figure 16 : Suivi longitudinal par microCT d'une première molaire ayant subi un traumatisme pulpaire et parodontal, avant la chirurgie et à 21 jours et 42 jours. Une lacune (flèche blanche) est visible sur la face externe de la racine distale à 21 jours. A 42 jours, elle est plus prononcée, d'autres lacunes sont visibles sur la racine mésiale sur les faces interne et externe. P pulpe, D dentine, M Matériau d'obturation



Source : Auteur, 2019.

### 3.1.4. Expression d'OPG et de RANKL lors des résorptions

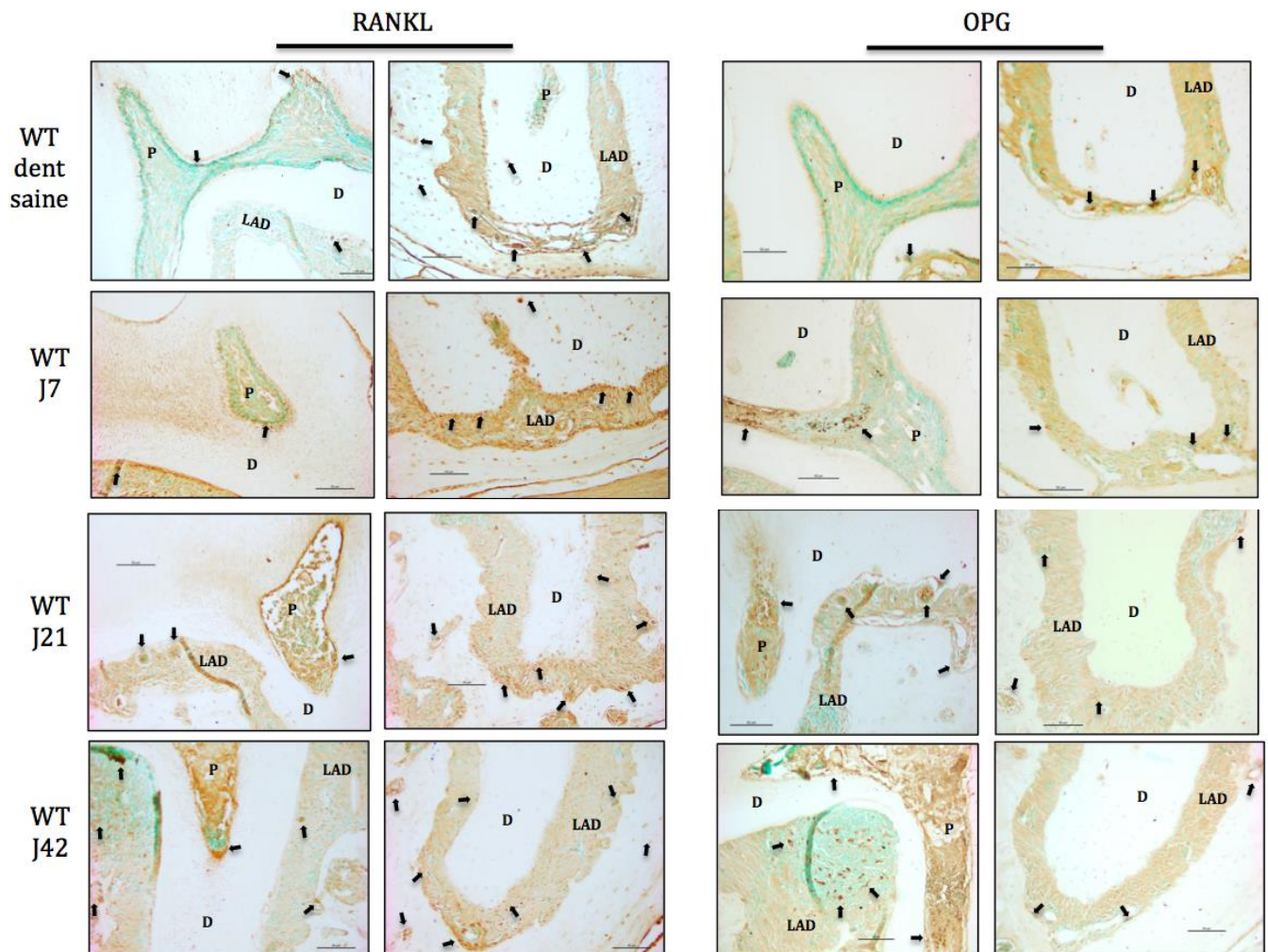
Dans les cas de dents ayant subi l'association des deux traumatismes, un signal RANKL est présent au niveau pulpaire dès 7 jours, de manière plus importante que sur une dent témoin, n'ayant pas subi de traumatisme. Ce signal pulpaire augmente au cours du temps à 21 et 42 jours après la chirurgie.

Concernant OPG, le marquage est assez comparable, avec un signal positif pulpaire dès 7 jours, qui augmente avec le temps.

Au niveau parodontal, un marquage positif, à la fois pour OPG et RANKL est retrouvé dans les cémentocytes, les ostéocytes et les cellules du ligament à l'apex des dents indemnes de traumatisme. Ce marquage résulte du remaniement osseux lié à la mastication répétée caractéristique du rongeur.

Sur les dents traumatisées, un signal positif similaire est noté, mais en plus, un marquage est observé au niveau des lacunes de résorption et dans les cellules environnantes.

Figure 17 : Marquage immunohistochimique anti-RANKL (panel gauche) et anti-OPG (panel droit) sur des coupes sagittales sur dent saines, sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 et 42 jours chez la souris WT. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal

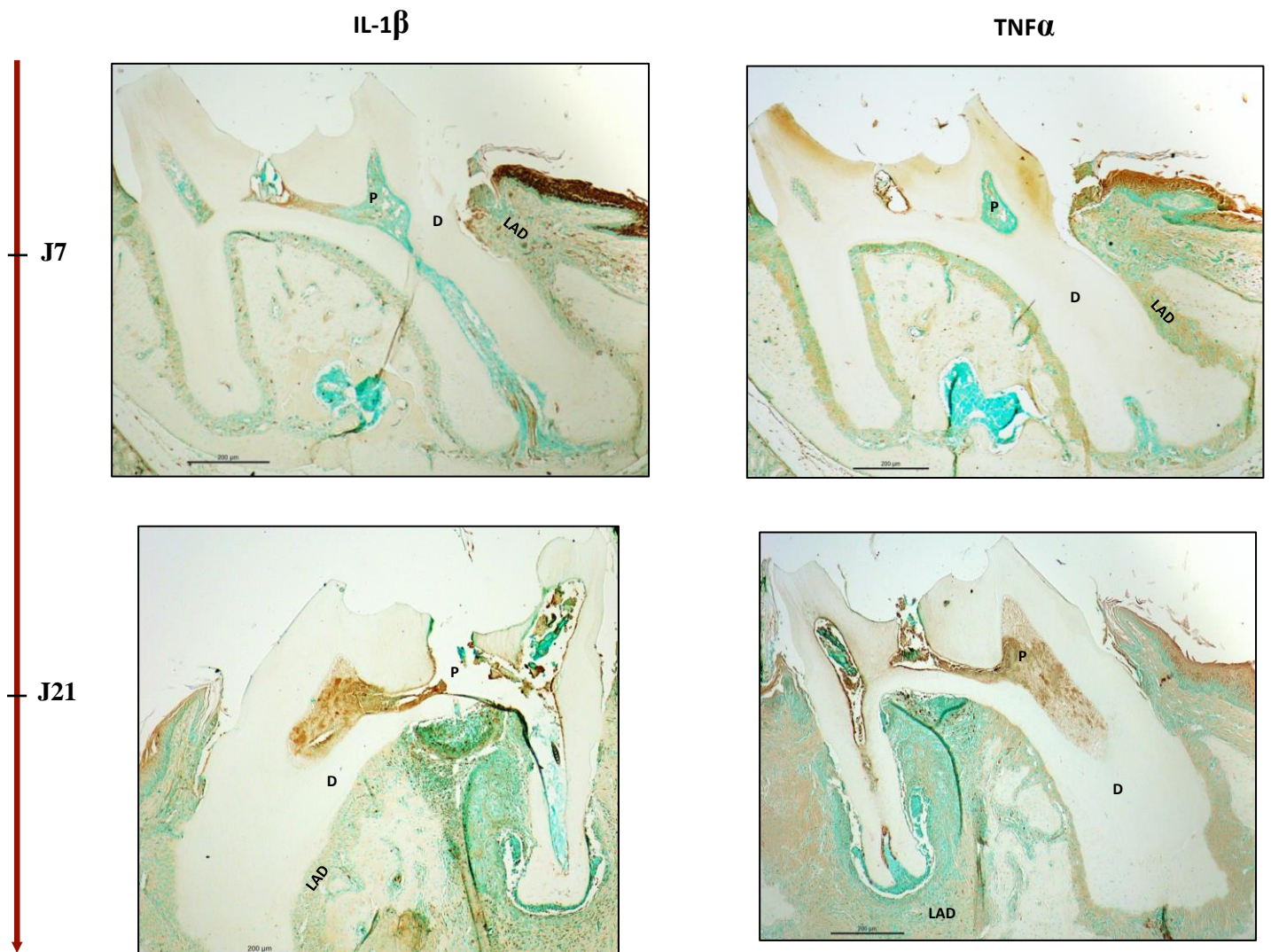


Source : Auteur, 2019.

### 3.1.5. La résorption radiculaire est associée à l'inflammation pulpaire.

A 7 jours, alors qu'aucune résorption n'est décelable, le marquage pour IL-1 $\beta$  et TNF $\alpha$  est principalement retrouvé en regard de l'effraction pulpaire. A 21 jours, le marquage semble s'étendre au niveau pulpaire, il est observable au niveau caméral et dans les 2/3 de la pulpe radiculaire. (Figure 18)

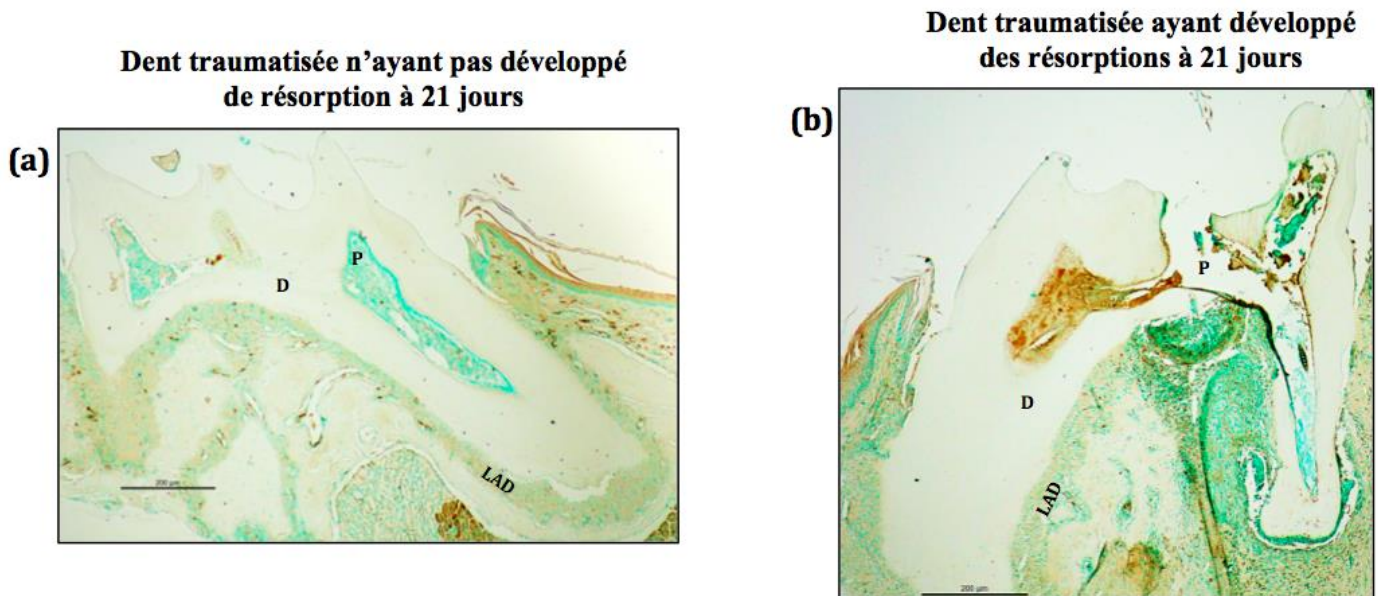
Figure 18 : Marquage immunohistochimique anti-IL1 $\beta$  à gauche et anti-TNF $\alpha$  à droite sur des coupes sagittales sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 jours chez la souris WT. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal



Source : Auteur, 2019.

Sur des dents doublement traumatisées à 21 jours, un fort marquage pulpaire pour IL-1 $\beta$  est présent lorsqu'il y a des résorptions, alors qu'il est très faible sur les dents traumatisées qui ne présentent pas de résorption. (Figure 19)

Figure 19 : Marquage immunohistochimique anti-IL1 $\beta$  sur des coupes sagittales sur dents traumatisées à 21 jours au niveau (a) d'une dent ne présentant pas de résorption radiculaire inflammatoire et (b) d'une dent présentant une résorption inflammatoire chez la souris WT. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal



Source : Auteur, 2019.



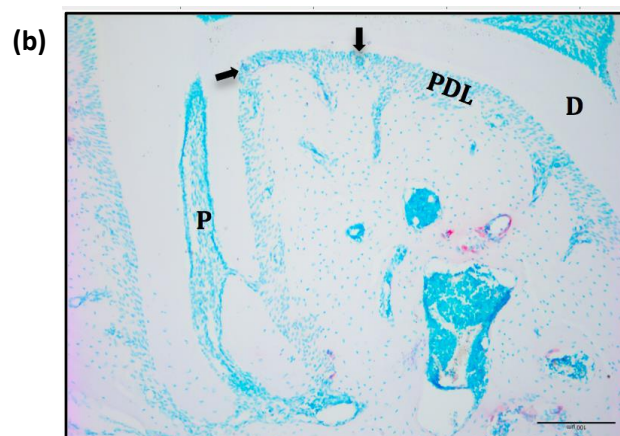
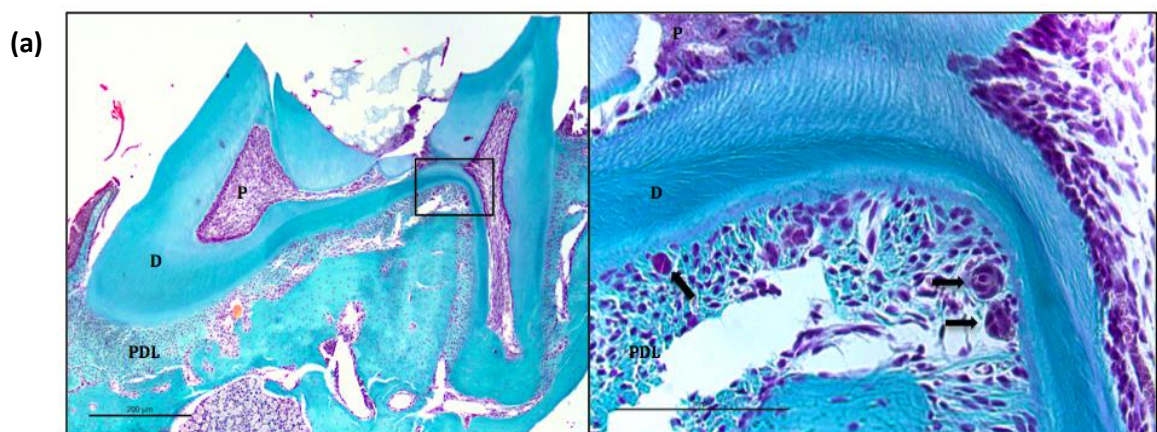
### 3.1.6. Implication des débris de Malassez dans les voies de la résorption

Des cellules avec amas de noyaux sont visibles au contact des racines, préférentiellement au niveau de la furcation sur les dents ne présentant pas de résorption radiculaire inflammatoire. Quelques-unes de ces cellules sont visibles sur les dents présentant des résorptions radiculaires. (Figure 20a)

Ces cellules ne sont pas marquées positivement à la TRAP, ce qui exclut que ce soit des ostéoclastes et suggère qu'il s'agirait de débris de Malassez, structures épithéliales odontogènes présentes dans le parodonte. (Figure 20b)

Figure 20 : Coupes sagittales de 2 dents de WT ayant subi un traumatisme pulpaire, 7 jours après chirurgie (a) colorées au Trichrome de Masson à faible grossissement à gauche et fort grossissement à droite mettant en évidence la présence de cellules avec un amas de noyaux au contact des racines

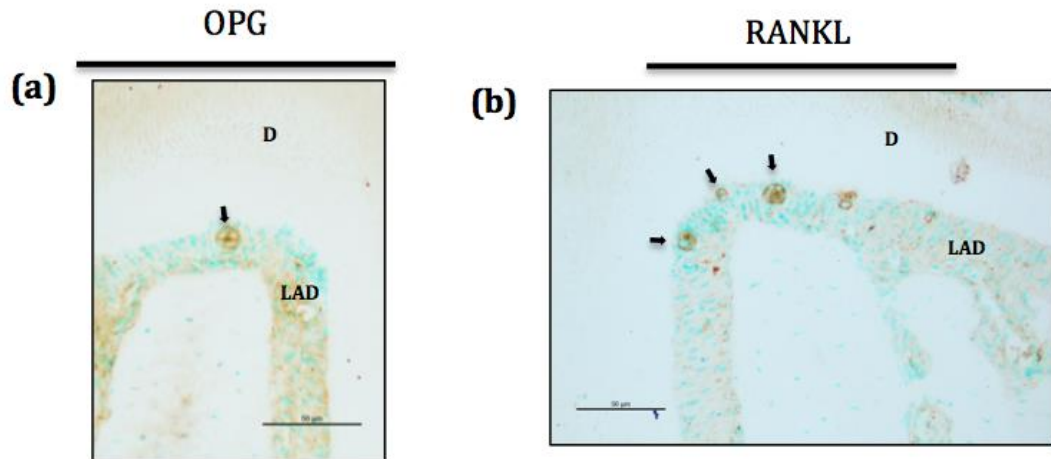
(b) colorées par coloration enzymatique TRAP mettant en évidence l'absence d'une activité ostéoclastique (en rouge) de ces cellules avec un amas de noyaux. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal



Source : Auteur, 2019.

Ces cellules avec un amas de noyaux présentent un marquage positif pour OPG et RANKL. (Figure 21)

Figure 21 : (a) Marquage immunohistochimique anti-OPG mettant en évidence des cellules plurinucléées et (b) Marquage immunohistochimique anti-RANKL mettant en évidence des cellules plurinucléées à gauche et des ostéocytes et cementocytes à droite, sur des coupes sagittales sur dents traumatisées à 7 jours chez la souris WT. P pulpe, D dent, LAD ligament parodontal



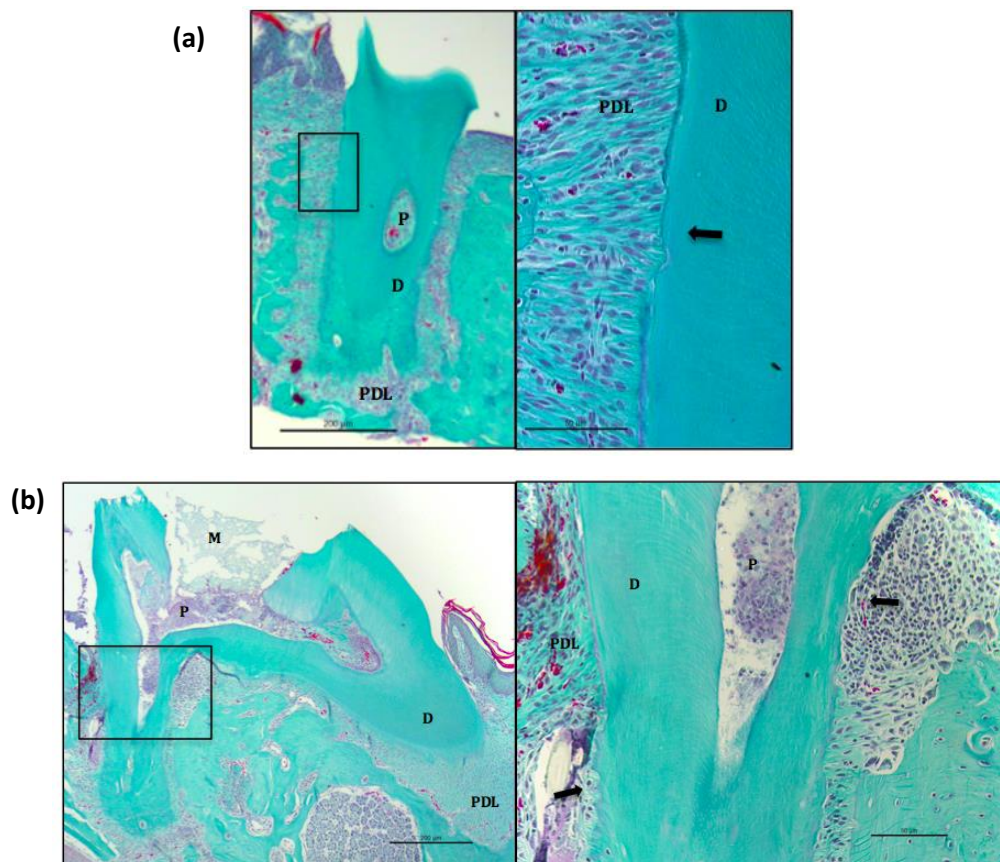
Source : Auteur, 2019.

## 3.2. Contribution du modèle Nlrp3 à la compréhension des mécanismes physiopathologiques

### 3.2.1. La modulation de l'inflammation via la suppression de l'inflammasome n'influence pas le processus des résorptions radiculaires

L'association du traumatisme pulpaire et parodontal conduit à des résorptions radiculaires de surface et inflammatoires chez les souris KO-Nlrp3.

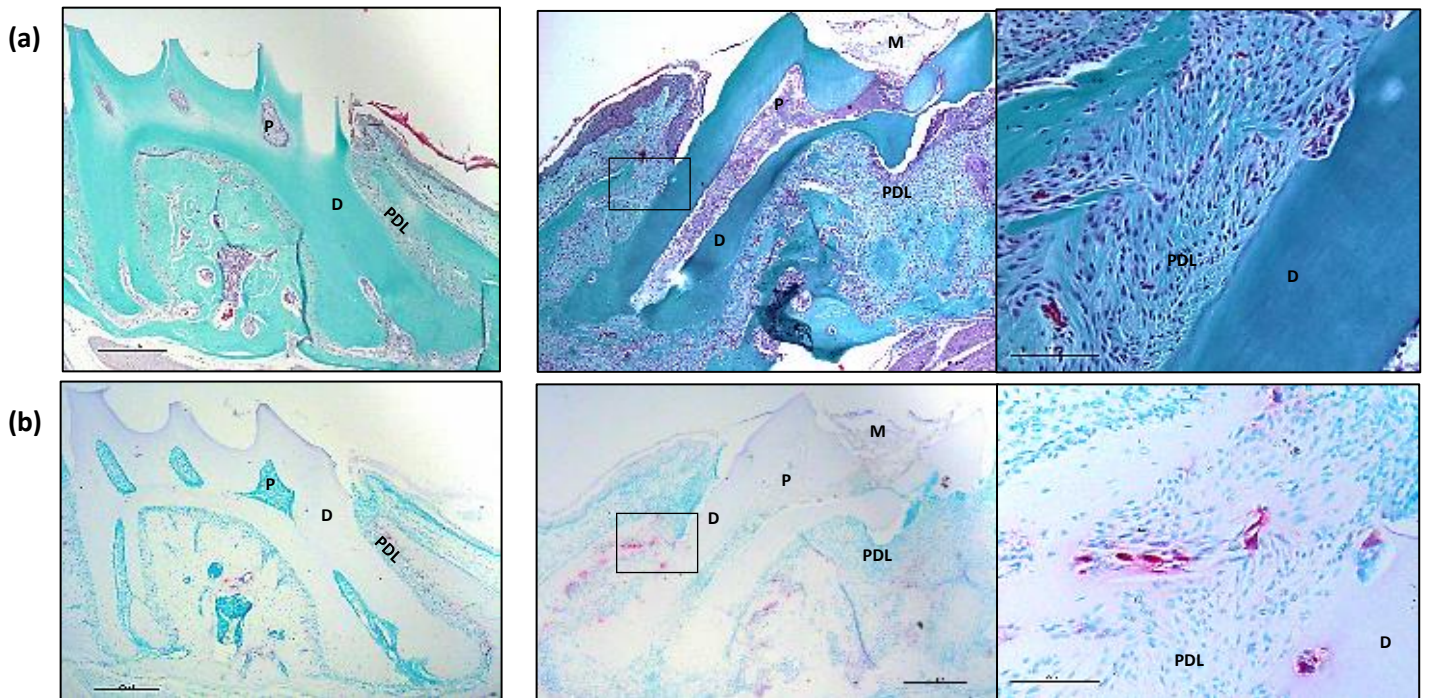
Figure 22 : Coupes sagittales de dents ayant subi un traumatisme pulpaire et parodontal, colorées au Trichrome de Masson à faible grossissement à gauche et fort grossissement à droite mettant en évidence (a) la présence de résorption de surface (flèche noire), 21 jours après chirurgie et (b) la présence de résorption inflammatoire (flèche noire), 21 jours après chirurgie. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal, M Matériau d'obturation



Source : Auteur, 2019.

La présence de cellules clastiques, marquées positivement à la TRAP, est notée au niveau de la surface radriculaire dans les lacunes de résorption inflammatoire chez les souris KO-Nlrp3 (figure 23), alors qu'elle n'est présente qu'au niveau de l'os alvéolaire en remaniement sur la dent saine.

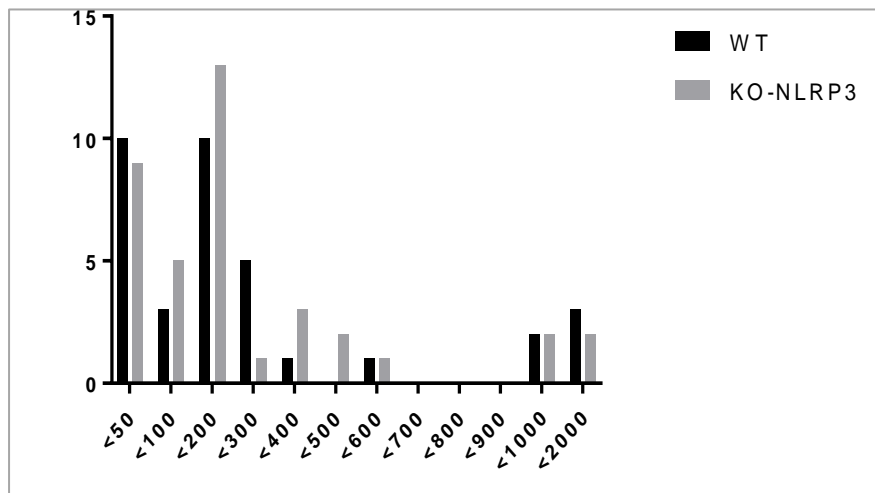
Figure 23 : Coupes sagittales d'une dent saine à gauche et d'une dent ayant subi un traumatisme pulpaire et parodontal, 21 jours après chirurgie, à faible grossissement au milieu et fort grossissement à droite (a) colorées au Trichrome de Masson et (b) coloré par la coloration enzymatique TRAP mettant en évidence la présence d'une activité ostéoclastique (en rouge). P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal, M Matériau d'obturation



Source : Auteur, 2019.

La comparaison des aires des lacunes de résorption inflammatoires des dents ayant subi à la fois un traumatisme parodontal et un traumatisme pulpaire à 21 jours ne montre pas de différence significative entre les KO et les WT ( $p= 0.61$ ). (Figure 24)

Figure 24 : Comparaison des aires des lacunes de résorption inflammatoire des dents ayant subi une association de traumatismes pulpaire et parodontal, chez les souris KO-Nlrp3 et WT à 21 jours.  
Aucune différence significative n'est mise en évidence ( $p= 0.61$ )



Source : Auteur, 2019.

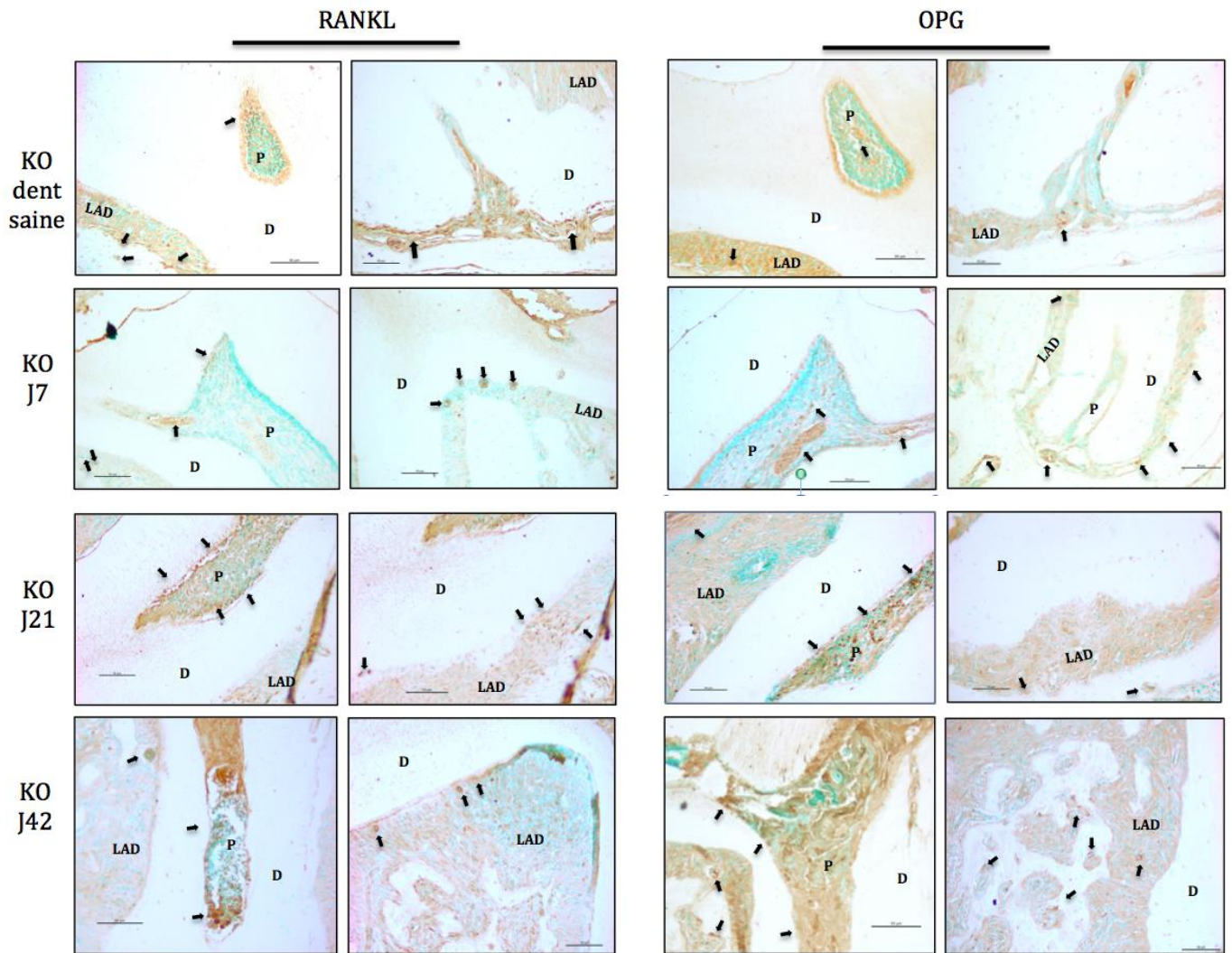
### 3.2.2. L'expression d'OPG et de RANKL lors des résorptions

De manière similaire à ce qui est observé chez les souris WT, l'expression de RANKL se retrouve au niveau pulpaire dès 7 jours, de manière plus importante que sur une dent non traumatisée. Ce signal pulpaire augmente au cours du temps à 21 et 42 jours après la chirurgie.

Concernant OPG, le marquage est comparable, avec un signal positif pulpaire dès 7 jours, qui augmente avec le temps.

Au niveau parodontal, de nouveau comme sur les WT, un marquage positif, à la fois pour OPG et RANKL est retrouvé dans les cémentocytes, les ostéocytes et les cellules du ligament à l'apex des dents indemnes de traumatisme. Sur les dents traumatisées, un marquage positif est observé au niveau des lacunes de résorption et dans les cellules environnantes.

Figure 25 : Marquage immunohistochimique anti-RANKL à gauche et anti-OPG à droite sur des coupes sagittales sur dents saines, sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 et 42 jours chez la souris KO-Nlrp3. P pulpe, D dentine, LAD ligament parodontal



Source : Auteur, 2019.

### 3.2.3. Implication de l'inflammation pulpaire dans les résorptions

L'inflammation pulpaire, mise en évidence par un marquage IL-1 $\beta$  et TNF $\alpha$ , augmente parallèlement à la présence de résorptions, chez les KO de manière similaire aux WT.

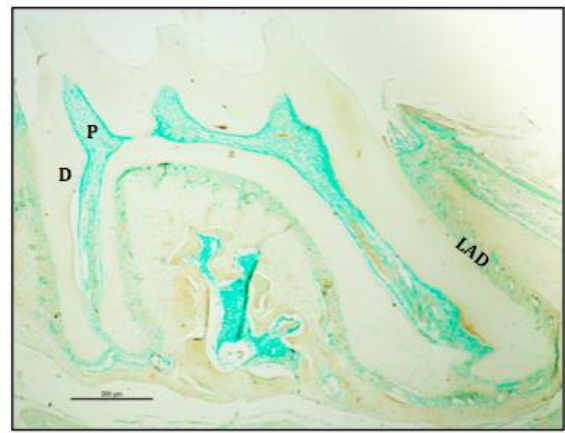
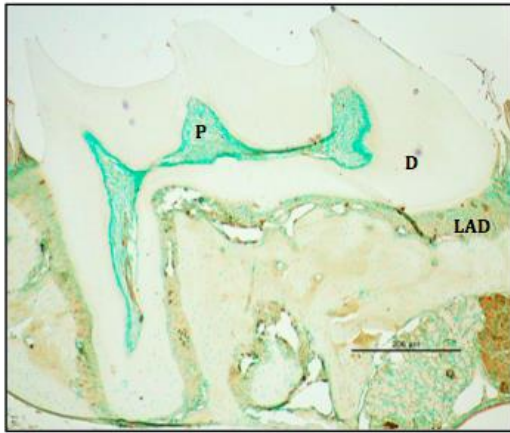
Plus spécifiquement, le signal TNF $\alpha$  est plus intense au niveau pulpaire chez les souris KO, à 21 jours et 42 jours. Par contre, cette différence n'est pas retrouvée avec le marquage anti-IL1 $\beta$ .

Figure 26 : Marquage immunohistochimique anti-IL1 $\beta$  sur des coupes sagittales sur dents saines, sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 et 42 jours chez la souris WT et KO-Nlrp3. P pulpe, D dentine, LAD ligament parodontal

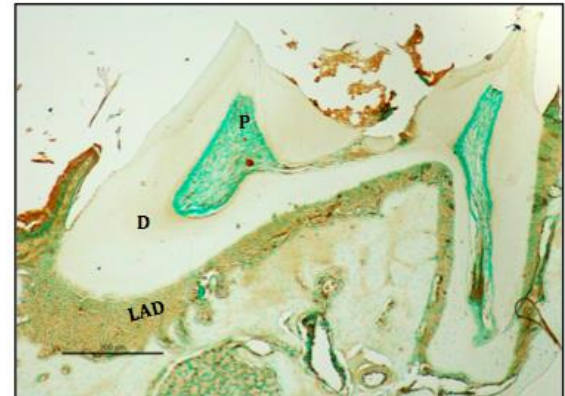
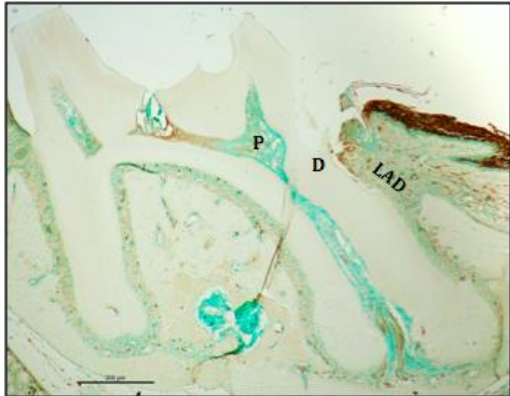
**WT**

**KO-NLRP3**

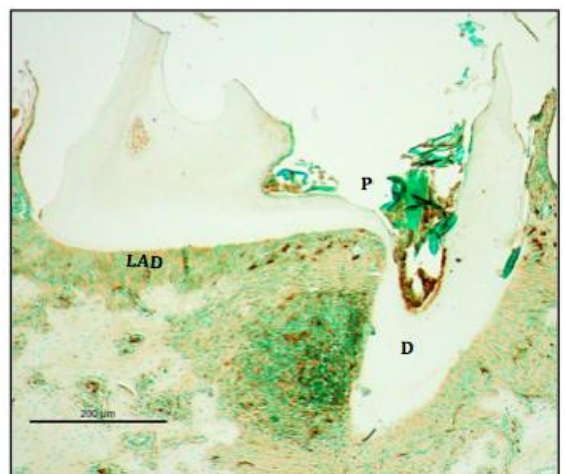
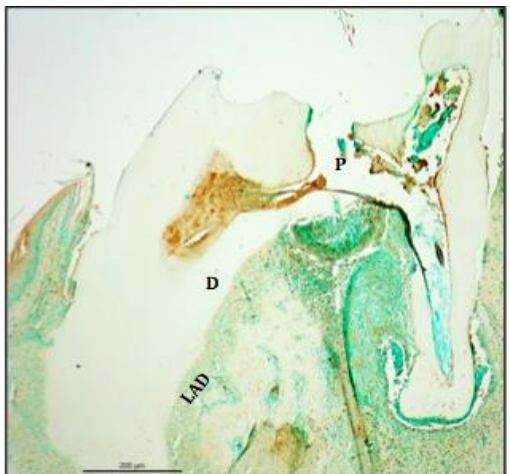
**Dent  
saine**



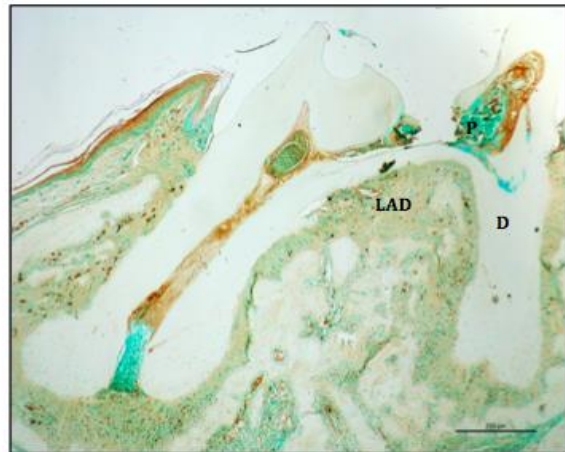
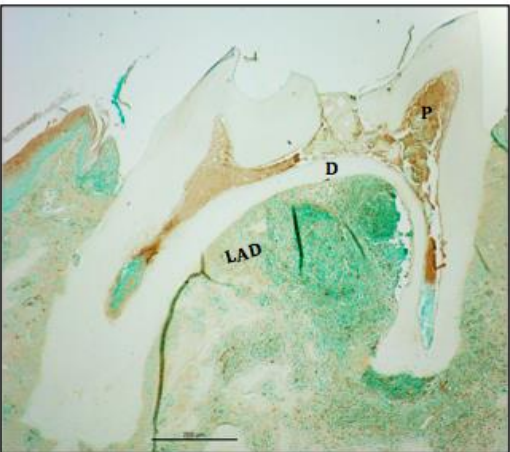
**J7**



**J21**



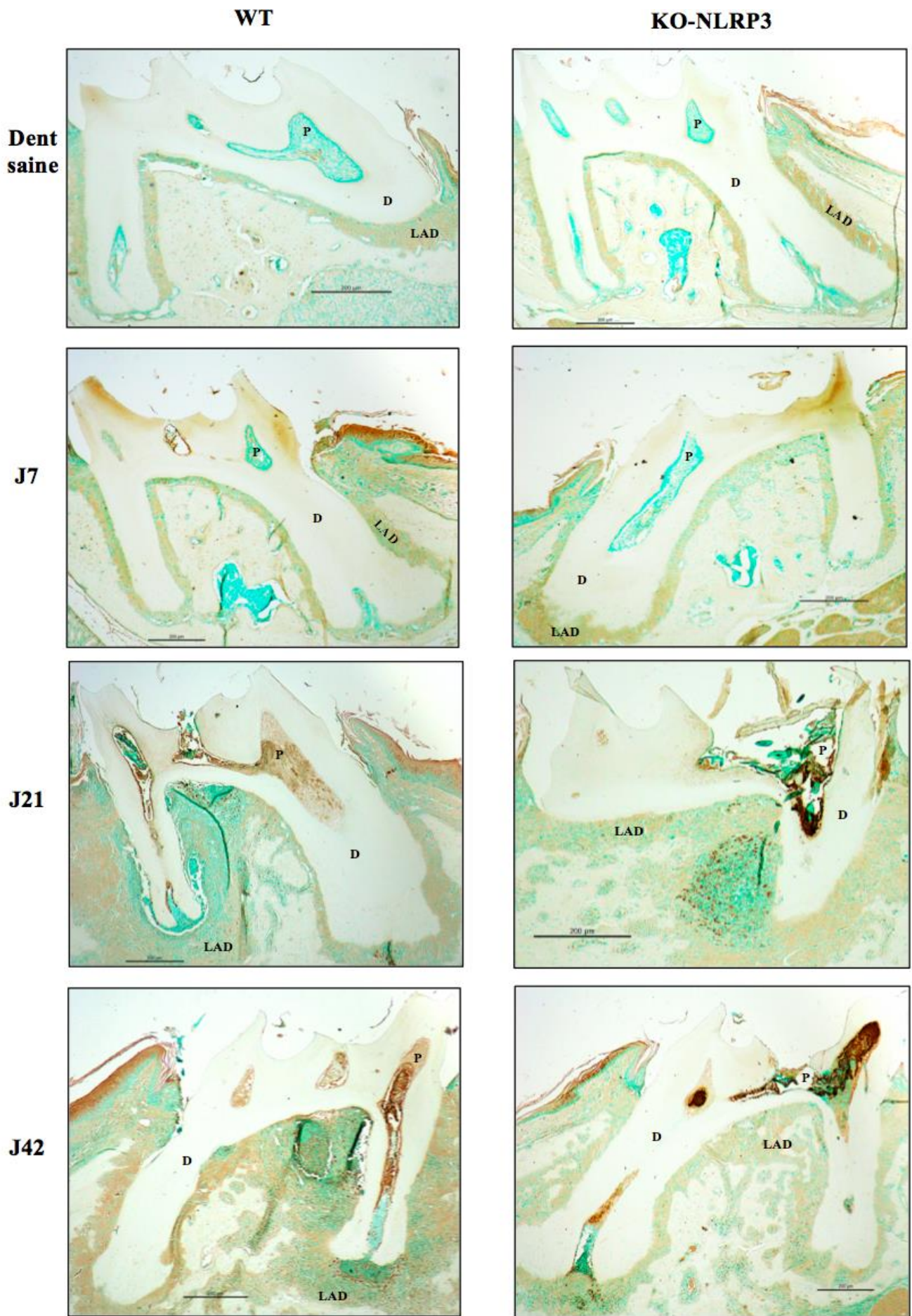
**J42**



Source : Auteur, 2019.



Figure 27 : Marquage immunohistochimique anti-TNF $\alpha$  sur des coupes sagittal sur dent saines, sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 et 42 jours chez la souris WT et KO-Nlrp3. P pulpe, D dentine, LAD ligament parodontal



Source : Auteur, 2019.



## 4 : Discussion

---

### 4.1. Le modèle murin de résorption

Notre étude a permis de développer un modèle de résorption radiculaire externe chez la souris, afin de mieux appréhender un processus pathologique fréquent chez l'homme, mais pour lequel les mécanismes physiopathologiques restent peu connus.

Il est intéressant de constater que le simple traumatisme parodontal par luxation n'a pas été à l'origine de résorption radiculaire externe. Des mécanismes de défense, qu'il conviendrait d'explorer, sont certainement suffisants pour permettre de conserver l'intégrité radiculaire. Par contre, dans un modèle murin de traumatisme par ingression de la première molaire maxillaire, les lésions parodontales sévères entraînent des résorptions radiculaires<sup>19</sup>.

L'implication de l'inflammation pulpaire dans les résorptions est fréquemment constatée chez l'homme, puisque la résorption constitue une des complications majeures des traumatismes dentaires avec atteinte pulpaire<sup>20</sup>. Dans notre modèle, la lésion mécanique de pulpe, suivie d'un coiffage par un matériau à base d'oxyde de Zinc Eugénol entraîne des résorptions. Les modèles de lésion pulpaire suivie d'un coiffage par un matériau bioactif ne sont pas connus pour entraîner des résorptions<sup>21 22</sup>. L'eugénol étant un irritant pour la pulpe, en induisant *in vitro* une augmentation d'expression d'IL-1 $\beta$  et TNF $\alpha$ <sup>23</sup>, il pourrait entretenir un certain degré d'inflammation.

A l'opposé, une lésion pulpaire entraînant la nécrose ne conduit pas non plus à des résorptions chez la souris, comme l'a montré l'étude de Shah<sup>24</sup>.

Enfin, d'après nos résultats, l'association des deux types de traumatisme conduisait à des résorptions inflammatoires plus importantes. Dans le cas de traumatisme chez l'homme, cette double atteinte est fréquemment rencontrée sur une même dent. Cette modalité nous est apparue comme la plus pertinente pour le développement d'un modèle de résorption inflammatoire radiculaire.

---

<sup>19</sup> Wang et al., « Osteoprotegerin deficiency causes morphological and quantitative damage in epithelial rests of Malassez ».

<sup>20</sup> Soares et al., « Frequency of root resorption following trauma to permanent teeth ».

<sup>21</sup> Tran et al., « Effect of a calcium-silicate-based restorative cement on pulp repair ».

<sup>22</sup> Collignon et al., « Sclerostin deficiency promotes reparative dentinogenesis ».

<sup>23</sup> Martínez-Herrera et al., « Effect of 4-Allyl-1-hydroxy-2-methoxybenzene (Eugenol) on inflammatory and apoptosis processes in dental pulp fibroblasts ».

<sup>24</sup> Shah et al., « Clastic cells are absent around the root surface in pulp-exposed periapical periodontitis lesions in mice ».

Nous avons constaté un développement des résorptions dans le temps, qui n'étaient qu'exceptionnellement présentes à 7 jours, mais visibles à 21 et 42 jours en cas de traumatismes pulpaire ou d'association du traumatisme pulpaire et parodontal. Avant 21 jours, il s'agirait de la phase d'initiation, nécessaire au recrutement et à l'activation des odontoclastes, avant la phase de résorption proprement dite<sup>25</sup>.

Une troisième phase de cicatrisation des résorptions est décrite<sup>26</sup>, que nous n'avons pas observée, probablement du fait d'un temps trop court d'observation. Un suivi longitudinal de souris traitées pourrait s'avérer très pertinent pour mettre ce phénomène en évidence. Le suivi longitudinal par microCT n'a pas permis de quantifier la résorption, du fait de l'insuffisance de résolution des acquisitions, l'utilisation de nanoCT pourrait être nécessaire<sup>27</sup>.

## 4.2. L'implication de l'inflammation pulpaire dans le processus de résorption

Nos analyses ont permis de mettre en évidence un lien entre l'inflammation pulpaire, caractérisée par l'expression de TNF $\alpha$  et IL-1 $\beta$ , et le processus de résorption. Depuis des années, les recommandations cliniques de prise en charge des traumatismes dentaires préconisent un traitement endodontique en cas de diagnostic de résorption radiculaire<sup>28 29</sup>. De plus, l'utilisation de médicaments anti-inflammatoires dans l'espace endodontique augmenterait le taux de réussite de traitement des dents présentant des résorptions radiculaires<sup>30</sup>.

Au niveau des voies de signalisation, il a été montré qu'IL-1 $\beta$  et TNF $\alpha$  stimulent l'expression de RANKL<sup>31</sup>, et par conséquent le recrutement d'odontoclastes. Nous avons pu mettre en évidence une augmentation du marquage de RANKL au cours du temps dans la pulpe, dans les lacunes et les cellules environnantes du parodonte, dans les cas de dents avec résorption. L'ostéoclastogénèse est

---

<sup>25</sup> Wang et McCauley, « Osteoclasts and odontoclasts : signaling pathways to development and disease ».

<sup>26</sup> European society of endodontology et al., « European society of endodontology position statement: external cervical resorption ».

<sup>27</sup> Kerckhofs et al., « Contrast-enhanced nanofocus computed tomography images the cartilage subtissue architecture in three dimensions ».

<sup>28</sup> Diangelis et al., « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 1, Fractures and luxations of permanent teeth ».

<sup>29</sup> Andersson et al., « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 2, Avulsion of permanent teeth ».

<sup>30</sup> Machado et al., « Management of progressive apical root resorption 13 years after dental trauma and primary endodontic treatment ».

<sup>31</sup> Tyrovolá et al., « Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system : a mini review ».

également régulée par OPG, dont la production est stimulée par TNF $\alpha$ <sup>32</sup>, dont nous avons observé l'expression par les cellules pulpaire et parodontales.

Parallèlement au rôle de la pulpe, nos résultats montrent une expression d'OPG et RANKL au niveau des débris de Malassez. Ces structures épithéliales odontogènes présentes dans le parodonte, tout au long de la vie, ont été associées à une protection contre la résorption radiculaire<sup>33</sup>, notamment via l'expression d'OPG<sup>34</sup>. Mais leur rôle exact reste encore méconnu.

### 4.3. Le modèle KO-Nlrp3

L'association des deux traumatismes provoque des résorptions inflammatoires chez les souris KO-Nlrp3, de manière similaire aux souris WT. Or, la suppression de la voie NLRP3 aurait pu conduire à une diminution de l'inflammation et donc à moins de résorptions radiculaires. L'expression d'IL-1 $\beta$  dans la pulpe était également comparable chez les deux types de souris, et celle de TNF $\alpha$  augmentée chez les KO, suggérant que d'autres voies alternatives ont été activées afin de permettre l'expression d'IL-1 $\beta$ . Une augmentation de l'inflammation a été rapportée dans un modèle d'inflammation parodontale chez les souris KO-Nlrp3<sup>35</sup>.

Nos investigations doivent être poursuivies, car malgré une inflammation pulpaire plus importante chez les souris KO, nous n'avons pas mis en évidence de différence au niveau des résorptions. Ceci pourrait être expliqué par une modulation insuffisante de l'inflammation, ou par un nombre d'échantillons trop faible. D'autres voies que celle de l'inflammasome ont pu être également activées.

---

<sup>32</sup> Tyrovolas et al.

<sup>33</sup> Xiong, Gronthos, et Bartold, « Role of the epithelial cell rests of Malassez in the development, maintenance and regeneration of periodontal ligament tissues ».

<sup>34</sup> Wang et al., « Osteoprotegerin deficiency causes morphological and quantitative damage in epithelial rests of Malassez ».

<sup>35</sup> Olsen et Yilmaz, « Modulation of inflammasome activity by Porphyromonas gingivalis in periodontitis and associated systemic diseases ».

## Conclusion

---

La mise au point d'un modèle par traumatisme pulpaire nous a permis de confirmer l'implication de la pulpe dans ce processus de résorption pathologique. Il serait maintenant intéressant de réaliser des études quantitatives afin d'étudier le gradient OPG/RANKL en fonction de l'inflammation pulpaire.

Cependant, nous n'avons pas réussi, à travers le modèle KO-Nlrp3, à moduler l'inflammation pulpaire de façon suffisante pour observer une différence significative au niveau des résorptions. Il serait intéressant de réaliser ce modèle sur des temps plus longs et un nombre d'échantillon plus grand afin d'en préciser les mécanismes. Par ailleurs, ce modèle de résorption pourrait être testé sur d'autres souris KO, afin d'apporter des éléments complémentaires sur les voies de contrôle des résorptions.

## Bibliographie

---

- Ahangari, Z., M. Nasser, M. Mahdian, Z. Fedorowicz, et Melissa A. Marchesan. « Interventions for the management of external root resorption ». *The Cochrane database of systematic reviews*, n° 11 (2015): CD008003. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008003.pub3>.
- Andersson, L., J. O. Andreasen, P. Day, G. Heithersay, M. Trope, A. J. DiAngelis, D. J. Kenny, et al. « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 2, Avulsion of permanent teeth ». *Pediatric dentistry* 39, n° 6 (2017): 412- 19. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2012.01125.x>.
- Andreasen, J. O. « Luxation of permanent teeth due to trauma : a clinical and radiographic follow-up study of 189 injured teeth ». *European journal of oral sciences* 78, n° 1- 4 (1970): 273- 86. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1970.tb02074.x>.
- Andreasen, J. O., F. M. Andreasen, et L. Andersson, éd. *Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth*. 5th ed. Oxford : Wiley-Blackwell, 2019.
- Arana-Chavez, V., et V. Bradaschia-Correa. « Clastic cells : mineralized tissue resorption in health and disease ». *The international journal of biochemistry & cell biology* 41, n° 3 (2009): 446- 50. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.09.007>.
- Collignon, A.-M., N. Amri, J. Lesieur, J. Sadoine, S. Ribes, S. Menashi, S. Simon, et al. « Sclerostin deficiency promotes reparative dentinogenesis ». *Journal of dental research* 96, n° 7 (2017): 815- 21. <https://doi.org/10.1177/0022034517698104>.
- Diangelis, A., J. Andreasen, Kurt A. Ebeleseder, D. Kenny, M. Trope, A. Sigurdsson, L. Andersson, et al. « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 1, Fractures and luxations of permanent teeth ». *Pediatric dentistry* 39, n° 6 (2017): 401- 11. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2011.01103.x>.
- European society of endodontology, S. Patel, P. Lambrechts, H. Shemesh, et A. Mavridou. « European society of endodontology position statement: external cervical resorption ». *International endodontic journal* 51, n° 12 (2018): 1323- 26. <https://doi.org/10.1111/iej.13008>.
- Jiang, W., H. Lv, H. Wang, D. Wang, S. Sun, Q. Jia, P. Wang, B. Song, et L. Ni. « Activation of the NLRP3 / caspase-1 inflammasome in human dental pulp tissue and human dental pulp fibroblasts ». *Cell and tissue research* 361, n° 2 (2015): 541- 55. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2118-7>.
- Kejia, L.V., G. Wang, C. Shen, Xia Zhang, et H. Yao. « Role and mechanism of the nod-like receptor family pyrin domain-containing 3 inflammasome in oral disease ». *Archives of oral biology*, n° 97 (2019): 1- 11. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.10.003>.



Kerckhofs, G., J. Sainz, M. Wevers, T. Van de Putte, et J. Schrooten. « Contrast-enhanced nanofocus computed tomography images the cartilage subtissue architecture in three dimensions ». *European cells & materials* 25 (2013): 179- 89. <https://doi.org/10.22203/eCM.v025a13>.

Machado, R., L. F. Tomazinho, R. Magagnin, E. J. Leal Silva, et L. P. Vansan. « Management of progressive apical root resorption 13 years after dental trauma and primary endodontic treatment ». *General dentistry* 64, n° 4 (2016): 74- 76. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a38736>.

Mangione, F., M. EzEldeen, C. Bardet, J. Lesieur, M. Bonneau, F. Decup, B. Salmon, R. Jacobs, C. Chaussain, et S. Opsahl-Vital. « Implanted dental pulp cells fail to induce regeneration in partial pulpotomies ». *Journal of dental research* 96, n° 12 (2017): 1406- 13. <https://doi.org/10.1177/0022034517725523>.

Martínez-Herrera, A., A. Pozos-Guillén, S. Ruiz-Rodríguez, A. Garrocho-Rangel, A. Vértiz-Hernández, et D. M. Escobar-García. « Effect of 4-Allyl-1-hydroxy-2-methoxybenzene (Eugenol) on inflammatory and apoptosis processes in dental pulp fibroblasts ». *Mediators of inflammation* 2016 (2016): 9371403. <https://doi.org/10.1155/2016/9371403>.

Mavridou, A., L. Bergmans, D. Barendregt, et P. Lambrechts. « Descriptive analysis of factors associated with external cervical resorption ». *Journal of endodontics* 43, n° 10 (2017): 1602- 10. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.05.026>.

Olsen, I., et O. Yilmaz. « Modulation of inflammasome activity by Porphyromonas gingivalis in periodontitis and associated systemic diseases ». *Journal of oral microbiology* 8 (2016): 30385. <https://doi.org/10.3402/jom.v8.30385>.

Shah, A., D. Lee, M. Song, S. Kim, M. K. Kang, et R. H. Kim. « Clastic cells are absent around the root surface in pulp-exposed periapical periodontitis lesions in mice ». *Oral diseases* 24, n° 1- 2 (2018): 57- 62. <https://doi.org/10.1111/odi.12824>.

Silva, L. da, F. de Paula e Silva, M. R. Leonardo, et S. Assed. « Radiographic evaluation of pulpal and periapical response of dogs' teeth after pulpotomy and use of recombinant human bone morphogenetic protein-7 as a capping agent ». *Journal of dentistry for children* 75, n° 1 (2008): 14- 19. <https://doi.org/10.1590/S1516-14392006000200012>.

Skaare, A. B., et I. Jacobsen. « Dental injuries in Norwegians aged 7-18 years ». *Dental traumatology* 19, n° 2 (2003): 67- 71. <https://doi.org/10.1034/j.1600-9657.2003.00133.x>.

Soares, A., G. Souza, A. Pereira, J. Vargas-Neto, A. Zaia, et E. Silva. « Frequency of root resorption following trauma to permanent teeth ». *Journal of oral science* 57, n° 2 (2015): 73- 78. <https://doi.org/10.2334/josnusd.57.73>.

Song, Z., Z. Lin, F. He, L. Jiang, W. Qin, Y. Tian, R. Wang, et S. Huang. « NLRP3 is expressed in human dental pulp cells and tissues ». *Journal of endodontics* 38, n° 12 (2012): 1592- 97. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.09.023>.

Tran, X. V., C. Gorin, C. Willig, B. Baroukh, B. Pellat, F. Decup, S. Opsahl Vital, C. Chaussain, et T. Boukpepsi. « Effect of a calcium-silicate-based restorative cement on pulp repair ». *Journal of dental research* 91, n° 12 (2012): 1166- 71. <https://doi.org/10.1177/0022034512460833>.

Trope, M. « Root resorption of dental and traumatic origin : classification based on etiology ». *Practical periodontics and aesthetic dentistry* 10, n° 4 (1998): 515- 22. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.431>.

Tyrovola, J. B., M. M. Spyropoulos, M. Makou, et D. Perrea. « Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system : a mini review ». *Journal of oral science* 50, n° 4 (2008): 367- 76. <https://doi.org/10.2334/josnusd.50.367>.

Wang, Y., M. Liu, S. Deng, X. Sui, L. Fan, et Q. Zhang. « Osteoprotegerin deficiency causes morphological and quantitative damage in epithelial rests of Malassez ». *Journal of molecular histology* 49, n° 3 (2018): 329- 38. <https://doi.org/10.1007/s10735-018-9771-6>.

Wang, Z., et L. McCauley. « Osteoclasts and odontoclasts : signaling pathways to development and disease ». *Oral diseases* 17, n° 2 (2011): 129- 42. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2010.01718.x>.

Xiong, J, S Gronthos, et P. M. Bartold. « Role of the epithelial cell rests of Malassez in the development, maintenance and regeneration of periodontal ligament tissues ». *Periodontology 2000* 63, n° 1 (2013): 217- 33. <https://doi.org/10.1111/prd.12023>.

Zheng, Y., M. Chen, L. He, H. F. Marão, D. M. Sun, J. Zhou, S. G. Kim, S. Song, S. L. Wang, et J. J. Mao. « Mesenchymal dental pulp cells attenuate dentin resorption in homeostasis ». *Journal of dental research* 94, n° 6 (2015): 821- 27. <https://doi.org/10.1177/0022034515575347>.

## Table des figures

---

Figure 1 : (a) Radiographie intra-orale rétro-alvéolaire d'une résorption radiculaire interne de l'incisive centrale maxillaire à gauche. (b) Radiographie intra-orale rétro-alvéolaire d'une résorption radiculaire externe de l'incisive centrale maxillaire droite .....	4
Figure 2 : Histogramme représentant la fréquence (%) des principaux risques de facteurs de développement d'une résorption cervicale externe pour les dents étudiées.....	5
Figure 3 : Histogramme de la quantification de cellules ostéoclastique à gauche et mise en évidence de la résorption radiculaire au niveau de l'incisive maxillaire de rat par une coloration TRAP (H), une immunohistochimie de RankL (I) et d'OPG (J) à gauche .....	6
Figure 4 : Mise en évidence de résorption radiculaire externe de molaire de cochon nain par imagerie microCT à gauche et coupe histologique à droite.....	7
Figure 5 : Schéma de la libération d'IL-1B et IL-18 à partir de l'inflammasome NLRP3.....	8
Figure 6 : Mise en évidence par immuno-histochimie de NLRP3 dans les odontoblastes à gauche et dans les cellules vasculaire à droite .....	9
Figure 8 : Protocole du traumatisme parodontal.....	13
Figure 9 : Protocole du traumatisme pulpaire .....	14
Figure 10 : Coupe sagittale colorée au Trichrome de Masson de M1 sur laquelle des lacunes de résorption de surface (a) et inflammatoire (b) sont visibles. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal.....	17
Figure 11 : Coupe sagittale colorée au Trichrome de Masson de M1 présentant une résorption inflammatoire. La surface de la dent résorbée (pointillé) est calculée afin de comparer les différents échantillons. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal .....	18
Figure 12 : Coloration au Trichrome de Masson d'une coupe sagittale de M1 maxillaire WT ayant subi un traumatisme pulpaire, 7 jours après chirurgie, sur laquelle une résorption de surface est visible (flèche noire) (a). L'analyse de la dent en microCT ne permet pas de l'objectiver (b). P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal, M Matériau d'obturation.....	22
Figure 13 : Coupe sagittale colorée au Trichrome de Masson de M1 maxillaire WT ayant subi un traumatisme pulpaire et parodontal, 21 jours après chirurgie, sur laquelle des lacunes de résorption inflammatoire sont visibles (flèches noires) (a). Ces résorptions sont visibles également sur les images microCT (flèches blanches) (b). P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal, M Matériau d'obturation .....	23

Figure 14 : Coupes sagittales de M1 maxillaire WT saine à gauche et ayant subi un traumatisme pulpaire et parodontal, 42 jours après chirurgie, à faible grossissement au milieu et fort grossissement à droite (a) colorées au Trichrome de Masson et (b) colorées par la coloration enzymatique TRAP mettant en évidence la présence d'une activité ostéoclastique (en rouge). P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal, M Matériau d'obturation.....	24
Figure 15 : Comparaison des aires des lacunes de résorption inflammatoire entre la modalité avec traumatisme pulpaire et la combinaison des 2 traumatismes (p : 0.04) .....	25
Figure 16 : Suivi longitudinal par microCT d'une première molaire ayant subi un traumatisme pulpaire et parodontal, avant la chirurgie et à 21 jours et 42 jours. Une lacune (flèche blanche) est visible sur la face externe de la racine distale à 21 jours. A 42 jours, elle est plus prononcée, d'autres lacunes sont visibles sur la racine mésiale sur les faces interne et externe. P pulpe, D dentine, M Matériau d'obturation .....	26
Figure 17 : Marquage immunohistochimique anti-RANKL (panel gauche) et anti-OPG (panel droit) sur des coupes sagittales sur dent saines, sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 et 42 jours chez la souris WT. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal .....	27
Figure 18 : Marquage immunohistochimique anti-IL1 $\beta$ à gauche et anti-TNF $\alpha$ à droite sur des coupes sagittal sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 jours chez la souris WT. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal .....	28
Figure 19 : Marquage immunohistochimique anti-IL1 $\beta$ sur des coupes sagittal sur dents traumatisées à 21 jours au niveau (a) d'une dent ne présentant pas de résorption radiculaire inflammatoire et (b) d'une dent présentant une résorption inflammatoire chez la souris WT. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal.....	29
Figure 20 : Coupes sagittales de 2 dents de WT ayant subi un traumatisme pulpaire, 7 jours après chirurgie (a) colorées au Trichrome de Masson à faible grossissement à gauche et fort grossissement à droite mettant en évidence la présence de cellules avec un amas de noyaux au contact des racines (b) colorées par coloration enzymatique TRAP mettant en évidence l'absence d'une activité ostéoclastique (en rouge) de ces cellules avec un amas de noyaux. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal.....	30
Figure 21 : (a) Marquage immunohistochimique anti-OPG mettant en évidence des cellules plurinucléées et (b) Marquage immunohistochimique anti-RANKL mettant en évidence des cellules plurinucléées à gauche et des ostéocytes et cementocytes à droite, sur des coupes sagittales sur dents traumatisées à 7 jours chez la souris WT. P pulpe, D dent, LAD ligament parodontal .....	31

Figure 22 : Coupes sagittales de dents ayant subi un traumatisme pulpaire et parodontal, colorées au Trichrome de Masson à faible grossissement à gauche et fort grossissement à droite mettant en évidence (a) la présence de résorption de surface (flèche noire), 21 jours après chirurgie et (b) la présence de résorption inflammatoire (flèche noire), 21 jours après chirurgie. P pulpe, D dentine, PDL ligament parodontal, M Matériau d'obturation ..... 32

Figure 24 : Comparaison des aires des lacunes de résorption inflammatoire des dents ayant subi une association de traumatismes pulpaire et parodontal, chez les souris KO-Nlrp3 et WT à 21 jours. Aucune différence significative n'est mise en évidence ( $p= 0.61$ ) ..... 34

Figure 25 : Marquage immunohistochimique anti-RANKL à gauche et anti-OPG à droite sur des coupes sagittales sur dents saines, sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 et 42 jours chez la souris KO-Nlrp3. P pulpe, D dentine, LAD ligament parodontal..... 35

Figure 26 : Marquage immunohistochimique anti-IL1 $\beta$  sur des coupes sagittal sur dent saines, sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 et 42 jours chez la souris WT et KO-Nlrp3. P pulpe, D dentine, LAD ligament parodontal..... 36

Figure 27 : Marquage immunohistochimique anti-TNF $\alpha$  sur des coupes sagittal sur dent saines, sur dents traumatisées à 7 jours, et sur dents traumatisées présentant une résorption radiculaire inflammatoire à 21 et 42 jours chez la souris WT et KO-Nlrp3. P pulpe, D dentine, LAD ligament parodontal..... 38

## Table des tableaux

---

Tableau 1 : Caractéristiques des souris .....	12
Tableau 2 : Caractéristiques des anticorps.....	19



Vu, le Directeur de thèse

Vu, le Doyen de la Faculté de Chirurgie dentaire  
de l'Université Paris Descartes

Professeur Sibylle VITAL

Professeur Louis MAMAN

Au non et pour le compte de l'administratrice  
provisoire de l'Université Paris Descartes,

Le Doyen Louis MAMAN





# Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes.

## Partie 1, Développement d'un modèle murin

### Résumé :

Introduction : la résorption radiculaire externe est une complication majeure du traumatisme dentaire. Cette perte progressive de ciment et de dentine est initiée au niveau du parodonte et est due à l'action des cellules clastiques responsables de la résorption des tissus minéralisés. De manière similaire aux ostéoclastes, leur recrutement est déterminé par une inflammation et est contrôlé par le système OPG/RANK/RANKL. Plusieurs études suggèrent un rôle de l'inflammation pulpaire dans le processus de résorption externe, notamment dans l'initiation et la régulation du recrutement des cellules de résorption. L'inflammasome NLRP3 (NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3) joue un rôle crucial dans la progression des réponses immunitaires inflammatoires par la libération de cytokines pro-inflammatoires. De plus, plusieurs études suggèrent qu'il serait impliqué dans la signalisation inflammatoire de la pulpe. Son inactivation permet une modulation de l'inflammation. L'objectif de notre étude est de préciser le rôle joué par la pulpe dans ce processus, *via* i) la mise au point d'un modèle murin de résorption radiculaire, par traumatisme pulpaire et/ou parodontal, et ii) en utilisant le modèle murin invalidé (*Knockout* ; KO) pour *Nlrp3* de déterminer le rôle de l'inflammation pulpaire dans la résorption radiculaire externe. Matériels et Méthodes : trois protocoles expérimentaux ont été réalisés au niveau de la première molaire maxillaire (M1) de souris de 3 mois : 1) traumatisme parodontal par luxation dentaire, 2) traumatisme pulpaire par effraction de la pulpe et obturation avec un ciment oxyde de zinc / eugénol (IRM) et 3) association des deux modalités. Les sacrifices ont été réalisés à 7, 21 et 42 jours après traumatisme. Le modèle de résorptions radiculaires externes le plus pertinent a été réalisé chez des souris KO-*Nlrp3*. Un suivi longitudinal a été réalisé par micro-CT (Quantum fx Perkin Imer) et des analyses histologiques effectuées à 7, 21 et 42 jours. Des marqueurs spécifiques de l'inflammation et de la résorption ont été étudiés par immuno-histochimie (IHC). Résultats : le traumatisme pulpaire est essentiel à l'obtention de résorptions radiculaires externes, qui peuvent être de surface ou inflammatoires. L'association du traumatisme pulpaire et parodontal conduit à des résorptions externes inflammatoires les plus marquées ( $p=0,04$ ). Chez les souris KO-*Nlrp3*, la combinaison des deux traumatismes aboutit à des résorptions externes inflammatoires similaires. Chez les deux types de souris, une expression pulpaire de RANKL et OPG est retrouvée sur les dents traumatisées, expression qui augmente au cours du temps. Les marqueurs spécifiques de l'inflammation sont sensiblement les mêmes pour IL1B mais plus important pour TNFA au niveau de la pulpe et du parodonte chez les souris KO-*Nlrp3*. Discussion : notre étude présente un modèle murin original de résorption radiculaire associant un traumatisme parodontal à un traumatisme de la pulpe. Nos résultats confirment l'implication de la pulpe dans ce processus de résorption pathologique. Les voies de l'inflammation mises en jeu restent encore à être précisées : l'étude des KO-*Nlrp3*, inhibant une voie spécifique de l'inflammation, n'a pas permis de les déterminer clairement. Ce modèle de résorption pourrait être à l'avenir appliqué sur d'autres types de souris KO, afin de contribuer à la compréhension des mécanismes physiopathologique sous-jacents.

### Discipline :

Endodontie

### Mots clés français (fMeSH et Rameau) :

Résorption dentaire -- Dissertation universitaire ; Plan de recherche -- Dissertation universitaire ; Pulpe de la dent -- Thèses et écrits académiques ; Modèles animaux -- Thèses et écrits académiques

### English keywords (MeSH) :

Tooth Resorption -- Academic Dissertation ; Research Design -- Academic Dissertation

Université Paris Descartes  
Faculté de Chirurgie dentaire  
1, rue Maurice Arnoux  
92120 Montrouge