



HAL
open science

Développement des résorptions radiculaires post-traumatiques : étude de l'inflammation dans un modèle animal

Sara Khedhir

► **To cite this version:**

Sara Khedhir. Développement des résorptions radiculaires post-traumatiques : étude de l'inflammation dans un modèle animal. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03549721

HAL Id: dumas-03549721

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03549721>

Submitted on 31 Jan 2022

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
de Paris

UNIVERSITÉ DE PARIS

UFR D'ODONTOLOGIE - MONTROUGE

Année 2021

N° M015

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le : 15 février 2021

Par

Sara KHEDHIR

**Développement des résorptions radiculaires post-traumatiques :
étude de l'inflammation dans un modèle animal**

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



Remerciements

À Mme le Professeur Tchilalo Boukpepsi ; Docteur en Chirurgie dentaire ; Docteur de l'Université Paris Descartes ; Habilitée à Diriger des Recherches ; Professeur des Universités, UFR d'Odontologie - Montrouge ; Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury. Votre investissement enthousiaste dans la transmission de vos compétences et votre rigueur ont été d'une grande inspiration pour moi. Vous trouverez ici l'expression de mon profond respect.

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, UFR d'Odontologie - Montrouge ; Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Vice-Doyen de l'UFR d'Odontologie - Montrouge

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de m'encadrer tout au long de ce projet. Vos conseils et votre expertise ont été précieux et j'ai eu beaucoup de plaisir à découvrir le monde de la recherche à vos côtés. Je vous remercie de vos encouragements et de votre patience durant tout ce parcours. Vous trouverez ici l'expression de mon respect et de ma gratitude les plus sincères.

À Mme le Docteur Claire Bardet ; Docteur de l'Université Pierre et Marie Curie ; Habilitée à Diriger des Recherches ; Maître de Conférences des Universités, UFR d'Odontologie - Montrouge ; Vice-Doyen de l'UFR d'Odontologie - Montrouge

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury. Merci de votre expertise et de votre aide qui ont été précieux et déterminants dans l'élaboration de ce travail. J'ai eu beaucoup de plaisir à apprendre à vos côtés. Vous trouverez ici l'expression de ma considération la plus sincère.

À M. le Docteur Franck Decup ; Docteur en Chirurgie dentaire ; Docteur de l'Université Paris Descartes, Maître de Conférences des Universités, UFR d'Odontologie - Montrouge ; Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury. Vous m'avez transmis l'engouement et la passion pour l'excellence dans la pratique de notre métier tout au long de ma formation. Merci de prodiguer votre pédagogie avec générosité à vos étudiants. Vous trouverez ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

À M. le Docteur Guillaume Jouanny ; Docteur en Chirurgie Dentaire ; Praticien Hospitalier,
Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury. Merci de m'avoir prodigué votre précieux enseignement au cours de ces années et fait découvrir le goût de l'excellence en endodontie. Je suis heureuse d'avoir eu la chance d'apprendre à vos côtés. Vous trouverez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Résumé et indexation en français et anglais

Résumé : Introduction. La résorption radiculaire externe est une destruction non bactérienne par des cellules clastiques des tissus minéralisés radiculaires dentaires. Ce phénomène pouvant mener à la perte de la dent par manque de moyen thérapeutique. Les deux conditions préalables initiateurs de la résorption sont une lésion de la couche protectrice (pré-cément) et une inflammation. Les cellules clastiques sont ensuite recrutées via le système OPG/RANKL/RANK pour résorber les tissus radiculaires. Le rôle joué par l'inflammation pulpaire dans le processus des résorptions est méconnu. Notre objectif est de proposer un modèle murin de résorption externe permettant d'étudier le rôle de l'inflammation de la pulpe et de le situer dans la littérature scientifique contemporaine. Matériels et méthodes. Un protocole expérimental a été appliqué à la première molaire maxillaire de la souris. Trois groupes ont été comparés. La première modalité a consisté à appliquer un traumatisme pulpaire, la 2^{ème} un traumatisme parodontal, la 3^{ème} est une combinaison des deux traumatismes. Les animaux ont été sacrifiés à 7, 21 et 42 jours. Une analyse histologique et morphométrique a été réalisée pour comparer statistiquement les différents groupes et temps. Une recherche bibliographique a permis de mettre en perspective ce modèle. Résultats. La résorption est un phénomène progressif dans le temps. Le groupe ayant subi un traumatisme parodontal seul montre une hausse significative dans le temps entre J7 et J42 de la quantité de résorptions. Le traumatisme parodontal seul engendre plus de résorptions que le traumatisme pulpaire seul. On observe en effet une hausse significative entre les deux groupes à J21 et J42. Il n'existe pas de différence significative pour le groupe associant les deux traumatismes. Discussion. Nous proposons un modèle animal original de résorption externe permettant d'analyser le rôle de l'inflammation pulpaire. Le protocole élaboré est reproductible et permet de comparer les échantillons selon le mode opératoire et longitudinalement. Une exploration des marqueurs spécifiques de l'inflammation pulpaire et du système OPG/RANKL/RANK rendrait possible la compréhension des voies de signalisation empruntées par l'inflammation pulpaire et déterminer ainsi son rôle dans les résorptions radiculaires. Ce modèle répond à une problématique encore d'actualité en matière de thérapeutique et de physiopathologie.

Discipline ou spécialité :

Endodontie

Mots clés français (fMeSH et Rameau) :

fMeSH : Résorption dentaire ; Modèles animaux

Rameau : Pulpe de la dent ; Inflammation

Forme ou Genre :

fMeSH : Dissertation universitaire

Rameau : Thèses et écrits académiques

Abstract :

Introduction. External root resorption is a non bacterial destruction of the dental radicular mineralized tissues. This phenomenon can lead to the tooth loss by lack of therapeutic means. Two requirements are needed to initiate the resorption : the alteration of the protective layer (pre-cementum) and inflammation. Clastic cells are then recruited via the OPG/RANKL/RANK to resorb the radicular tissues. The role played by the pulp inflammation in this process is unknown. Our objective is to propose a murine model of external root resorption to study the role of pulp inflammation and to set it in the contemporary scientific litterature. Materials and methods. An experimental protocol has been applied to the first maxillary molar of mice. The first modality consisted in applying a pulpal traumatism, the second a periodontal traumatism and the third combined both traumatisms. The animals had been sacrificed at 7, 21 and 42 days. A histological and morphometric analysis has been realized to statistically compare the different groups and times. A bibliographic research enabled to put in perspective this model. Results. The resorption is a time progressive phenomenon. The group which underwent the periodontal traumatism only shows a significant increase of quantity of resorption through time between d7 and d42. The periodontal traumatism only breeds more resorption than pulpal traumatism only. Indeed, we observed a significant difference between the two groups at d21 and d42. There is no significative difference for the group which combined the two traumatisms. Discussion. We propose an original animal model of external root resorption that enable the analysis of pulp inflammation's role. The developped protocol is reproducible and permits the comparison of the samples according to the operating mode and through time. An exploration of specific inflammation markers and the OPG/RANKL/RANK system could enable the understanding of the signaling pathways used by the pulp inflammation and thus determining its role in root resorption. This model meets a topical problematic regarding therapeutics and physiopathology.

Branches or specialty :

Endodontics

English keywords (MeSH) :

Tooth Resorption ; Models, Animal

Publication type (MeSH) :

Academic Dissertation

Liste des abréviations

- IADT : International Association of Dental Trauma
- CBCT : Cone Beam Computed Tomography
- OPG : Osteoprotegerine
- RANKL : Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B - Ligand
- RANK : Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B
- hPDLs : human Periodontal Ligament Cells
- NLRP3 : NOD-Like Receptor family, Pyrin domain containing 3
- IL : Interleukine
- DPSCs : Dental Pulp Stem Cells
- ARNm : Acide Ribonucléique messenger
- ABCs : Alveolar Bone Cells
- DPCs : Dental Pulp Cells
- IRM : Intermediate Restorative Material
- WT : Wild Type
- Micro-CT : Micro Computed-Tomography
- FOV : Field of View
- TRAP : Tartrate Resistant Acid Phosphatase
- PBS : Phosphate Buffered Saline
- DAB : 3,3'-diaminobenzidine
- Nano-CT : Nano Computed Tomography
- KO : Knock Out
- TNF- α : Tumor Necrosis Factor α
- M-CSF : Macrophage Colony Stimulating Factor
- PGE2 : Prostaglandine E2

Table des matières

INTRODUCTION	3
1 : CONTEXTE ET OBJECTIFS	4
1.1 LES RESORPTIONS RADICULAIRES EXTERNES.....	4
1.2 MECANISME BIOLOGIQUE.....	6
1.3 LIEN AVEC LA PULPE.....	7
1.4 OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	10
2 : MATERIELS ET METHODES	11
2.1 ANIMAUX.....	11
2.2 CHIRURGIE.....	11
2.3 MICRO-CT.....	13
2.4 ANALYSES HISTOLOGIQUES.....	13
2.4.1. Coloration au trichrome de Masson.....	13
2.4.2 Coloration enzymatique de la Phosphatase Acide Tartrate-Résistante.....	14
2.4.3 Immunohistochimie.....	14
2.5 QUANTIFICATION DES RESORPTIONS.....	14
2.5.1 Histomorphométrie.....	15
2.5.2 Analyses statistiques.....	18
2.6 RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE.....	18
3 : RESULTATS	19
3.1 VALIDATION D'UN MODELE MURIN DE RESORPTION RADICULAIRE EXTERNE.....	19
3.1.1 Différentes chirurgies ont permis d'obtenir des résorptions objectivables à partir de J7.....	19
3.1.2 Les lacunes de résorptions sont associées à des cellules clastiques.....	22
3.1.3 Mise en évidence d'une inflammation pulpaire et parodontale par marquage IL-1 β	23
3.2 MISE EN PERSPECTIVE DU MODELE MURIN DE RESORPTION EXTERNE.....	24
3.2.1 Modèles de résorptions sur grands animaux induites par extraction-réimplantation.....	24
3.2.2 Modèles de résorptions induites par forces orthodontiques.....	26
3.2.3 Modèles de résorptions induites par extraction-réimplantation.....	28
3.2.4 Modèles de résorptions induites par atteinte pulpaire.....	29
3.3 ÉVOLUTION DES RESORPTIONS DANS LE TEMPS SELON LES DIFFERENTES MODALITES DE TRAUMATISME.....	32
3.3.1 La résorption externe est un phénomène progressif dans le temps.....	32
3.3.2 La luxation seule engendre plus de résorptions que l'effraction seule à J21 et J42.....	32
3.3.3 Le traumatisme parodontal est nécessaire à l'induction de résorptions.....	33

4 : DISCUSSION.....	34
4.1 LE MODELE MURIN DE RESORPTION	34
4.2 ROLE DE L'INFLAMMATION ET IMPLICATION DU SYSTEME OPG/RANKL/RANK AU SEIN DE LA PULPE.....	35
4.3 PERSPECTIVES	36
CONCLUSION.....	38
BIBLIOGRAPHIE	39
TABLE DES FIGURES.....	43
TABLE DES TABLEAUX.....	45

Introduction

Les traumatismes dento-alvéolaires ont une incidence annuelle estimée à 4,5 %. Près d'un tiers des enfants en denture temporaire et un cinquième des adolescents et des adultes subissent un traumatisme dentaire.¹

Ils peuvent conduire à une fracture, un déplacement jusqu'à l'expulsion dentaire. Dans de nombreuses situations, ils sont à l'origine de pathologies pulpaire et de lésions parodontales pouvant entraîner une résorption radiculaire. Ces conséquences peuvent compromettre l'organe dentaire et de par leur incidence, représentent un enjeu de santé publique majeur.

La résorption radiculaire est une destruction non bactérienne des tissus minéralisés de la racine dentaire, cément et dentine, par l'interaction de cellules clastiques à sa surface.^{2 3}

Les cellules clastiques ne pouvant adhérer à une surface non minéralisée, ces tissus sont protégés des ostéoclastes par la prédentine, le précément ainsi que le ligament parodontal, qui les entourent.⁴ Une lésion du cément, associée à une inflammation locale, est nécessaire à l'apparition d'une résorption radiculaire externe.^{5 6}

Ce phénomène représente un véritable défi pour le chirurgien-dentiste car le mécanisme physiopathologique sous-jacent et par là-même les propositions thérapeutiques restent en partie un mystère. La recherche des mécanismes impliqués dans la résorption, par la mise au point de modèles animaux, est toujours d'actualité.

Notamment le rôle de l'inflammation pulpaire fréquemment retrouvée lors de ces traumatismes, associée à une inflammation parodontale systématique. Le rôle exact de l'inflammation du tissu pulpaire reste donc à être précisé, afin de proposer des thérapeutiques adaptées.

Ce travail reprend le modèle développé par Lagorsse⁷ et Grosborne⁸ en 2019 et y fait suite.

¹ Lam, « Epidemiology and outcomes of traumatic dental injuries : a review of the literature ».

² Darcey et Qualtrough, « Resorption. Part 1, Pathology, classification and aetiology ».

³ Patel et Saberi, « The ins and outs of root resorption ».

⁴ Trope, « Root resorption due to dental trauma ».

⁵ Fuss, Tsesis, et Lin, « Root resorption – diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors ».

⁶ Andreasen, « External root resorption : its implication in dental traumatology, paedodontics, periodontics, orthodontics and endodontics ».

⁷ Lagorsse, « Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes. Partie 1, Développement d'un modèle murin ».

⁸ Grosborne, « Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes. Partie 2, Étude des mécanismes physiopathologiques de la résorption cervicale externe ».

1 : Contexte et objectifs

1.1 Les résorptions radiculaires externes

Les résorptions radiculaires externes sont classées en trois catégories. Les **résorptions de surface**, provoquent une destruction localisée du cément et de la couche superficielle dentinaire. Elles sont la conséquence d'une lésion localisée de la surface radiculaire et du ligament parodontal par un stimulus mécanique traumatique, orthodontique ou de la présence d'un kyste. Si le facteur étiologique est supprimé, et en l'absence de facteur d'entretien inflammatoire, celle-ci reste limitée et peut être réparée par du cément.⁹

Si le stimulus inflammatoire persiste, des **résorptions inflammatoires** apparaissent, qui peuvent provoquer une destruction importante de la structure radiculaire. Les tissus dentaires peuvent être remplacés par du tissu osseux et engendrer une **résorption de remplacement ou ankylose**. Le tissu osseux se développe dans le ligament parodontal, entre en contact des tissus radiculaires et les cellules osseuses vont envahir les tissus dentaires et les remplacer par de l'os.¹⁰

Ce phénomène inflammatoire peut conduire à la perte de la dent car il existe peu de thérapeutiques fiables pour prévenir ni arrêter le phénomène.

En effet, l'IADT (International Association of Dental Trauma) met à jour régulièrement les recommandations de gestion des différents types de traumatismes dento-alvéolaires, pour la première fois publiées en 1965 par l'équipe danoise d'Andreasen. Et la seule recommandation pour éviter les résorptions radiculaires qui y apparaissent est la réalisation d'un traitement endodontique en cas d'apparition d'une nécrose pulpaire.^{11 12}

⁹ Andreasen, « External root resorption : its implication in dental traumatology, paedodontics, periodontics, orthodontics and endodontics ».

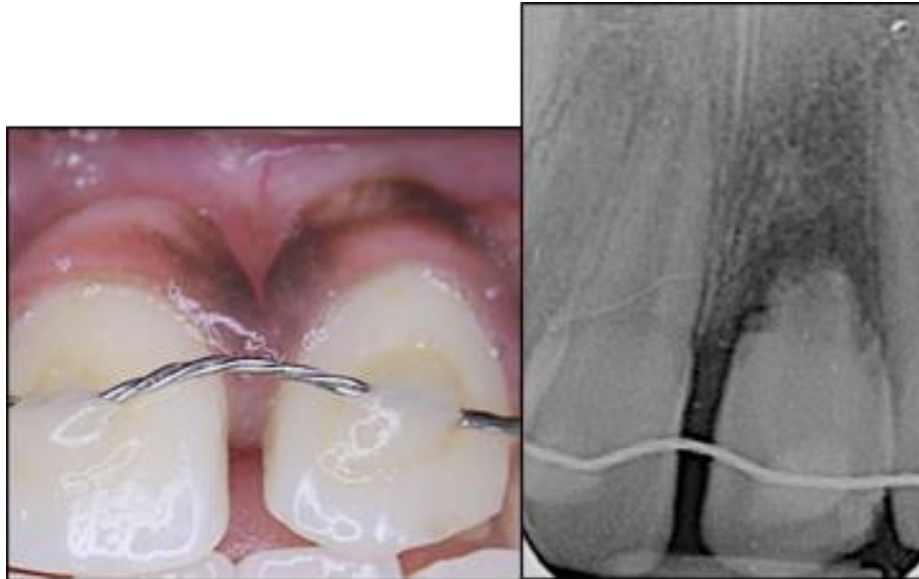
¹⁰ Fuss, Tsesis, et Lin, « Root resorption – diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors ».

¹¹ Diangelis et al., « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 1, Fractures and luxations of permanent teeth ».

¹² Andersson et al., « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 2, Avulsion of permanent teeth ».

Figure 1 : Photographie intrabuccale et radiographie rétro-alvéolaire d'une incisive maxillaire réimplantée après une avulsion traumatique

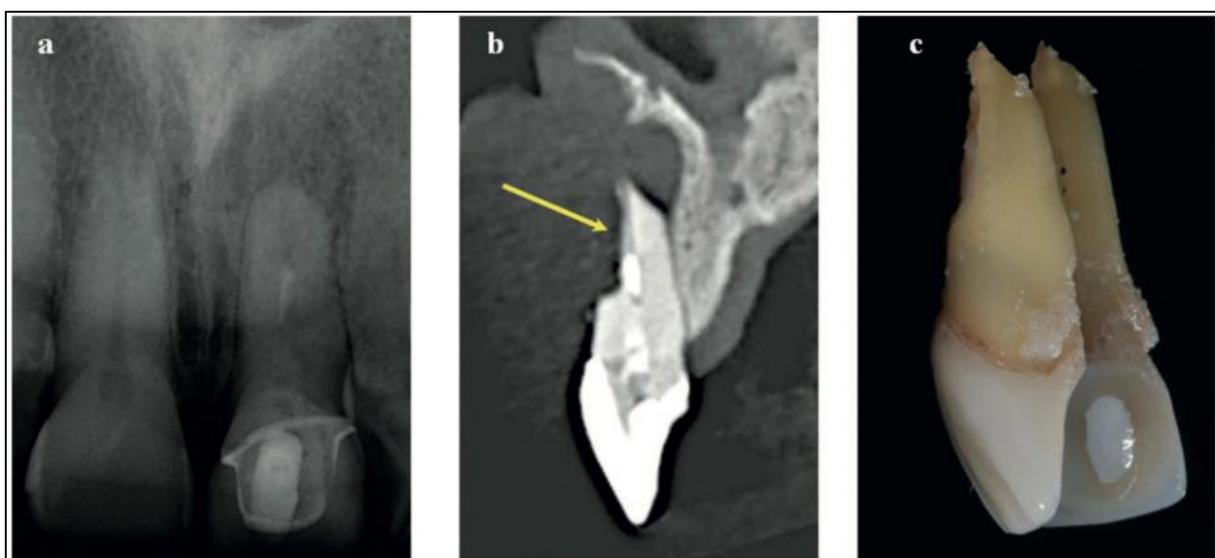
On observe le développement d'une résorption de remplacement. Celle-ci a détruit la totalité de la racine et conduit à la perte de la dent chez cet enfant de 12 ans



Source : Pr Vital, 2018.

Figure 2 : Résorption radiculaire externe inflammatoire

a. Radiographie rétro-alvéolaire d'une incisive maxillaire résorbée à cause d'une infection périapicale. b. CBCT de la dent objectivant l'étendue de la destruction des tissus radiculaires ainsi que la lésion périapicale associée. c. Photographie de la dent extraite.

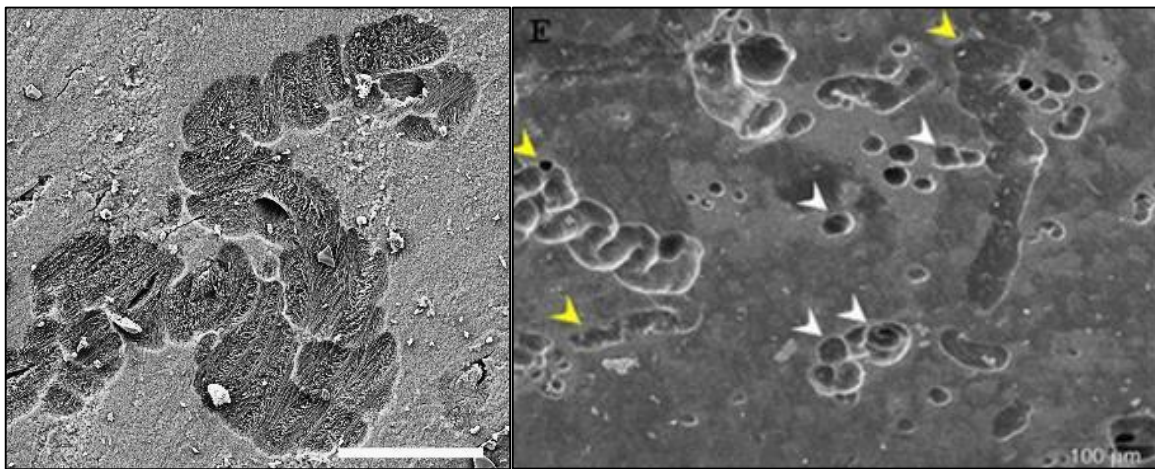


Source : Patel et Saberi, « The ins and out of root resorption » , 2018.

1.2 Mécanisme biologique

Le mécanisme régissant la résorption des tissus dentaires est le même que celui du remodelage osseux : le système OPG/RANKL/RANK.¹³ En effet l'homéostasie du tissu osseux implique un remodelage constant du tissu. La dentine présentant une similitude avec le tissu osseux et elle peut être résorbée par les ostéoclastes de la même manière.¹⁴

Figure 3 : Photographies en microscopie électronique à balayage de lacunes de résorptions de tissu osseux (à gauche) et de tissu dentinaire (à droite)



Source : Hefti, « A comparison of osteoclast resorption pits on bone with titanium and zirconia surfaces », 2010 ; Abdallah, « An optimized method to generate human active osteoclasts from peripheral blood monocytes », 2018.

Les cellules clastiques, parfois appelées « odontoclastes » s'attaquant aux tissus radiculaires semblent provenir du ligament parodontal d'après Shiraishi.¹⁵ Dans une expérimentation, il procède à l'extraction d'une racine distale de molaire chez le rat, qu'il implante de manière ectopique au niveau du dos du rongeur, en retirant le ligament alvéolo-dentaire dans un groupe et en le laissant intact dans l'autre groupe. Il observe la formation de résorptions externes uniquement dans le groupe ayant conservé le ligament alvéolo-dentaire. Les cellules parodontales sont donc essentielles à la formation de la résorption.

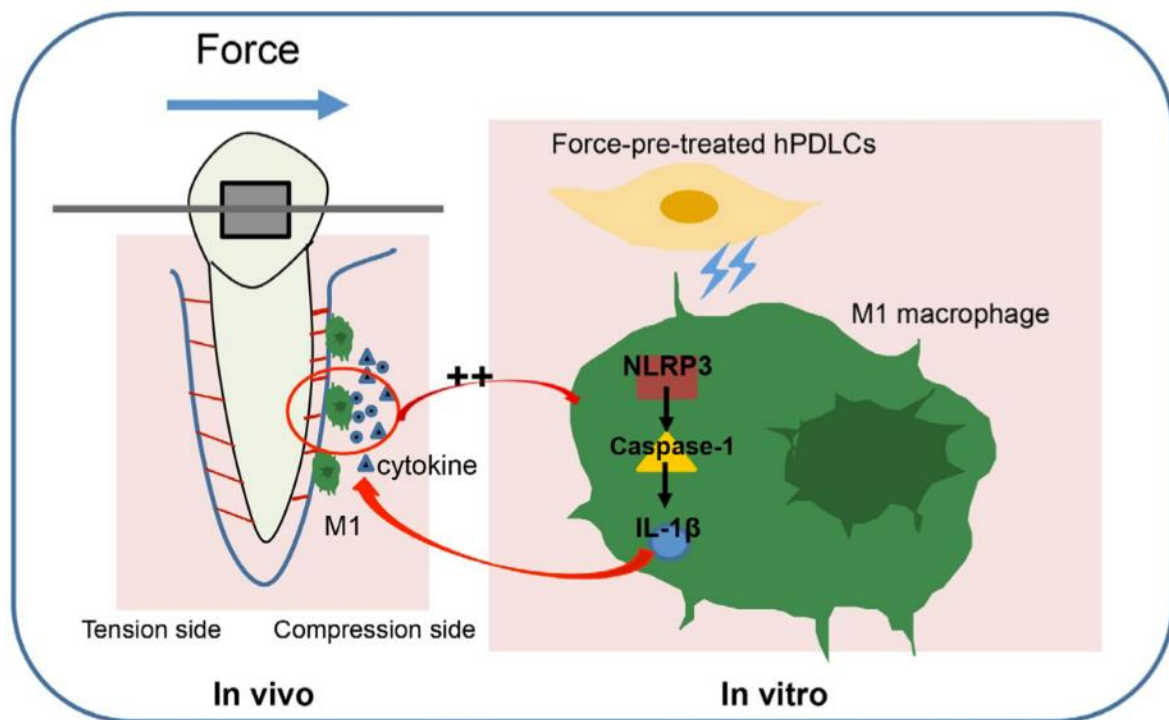
¹³ Tyrovolas et al., « Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system : a mini review ».

¹⁴ Abdallah et al., « An optimized method to generate human active osteoclasts from peripheral blood monocytes ».

¹⁵ Shiraishi et al., « A histopathological study of the role of periodontal ligament tissue in root resorption in the rat ».

Les cellules parodontales seraient à l'origine du recrutement et de la polarisation des macrophages en phénotype M1 pro-inflammatoire. C'est ce que Zhang observe *in vitro* sur des cellules humaines de ligament alvéolo-dentaire pré-traitées par une force mécanique. Les macrophages en co-culture avec les hPDLCs pré-traitées vont exprimer en plus grande quantité les protéines NLRP3, caspase-1 et IL-1 β .¹⁶

Figure 4 : Schéma récapitulatif de l'activation de la polarisation des macrophages en phénotype M1 pro-inflammatoire par les cellules hPDLCs pré-traitées par une force mécanique



Source : Zhang, « NLRP3 inflammasome mediates M1 macrophage polarization and IL-1 β production in inflammatory root resorption », 2020.

1.3 Lien avec la pulpe

Le complexe pulpo-dentaire est en constante homéostasie. Lors d'une lésion de la couche cémentaire, les tubulis dentinaires vont être exposés, mettant en relation la surface externe radiculaire avec la pulpe. Ce qui explique que les résorptions radiculaires externes inflammatoires peuvent être

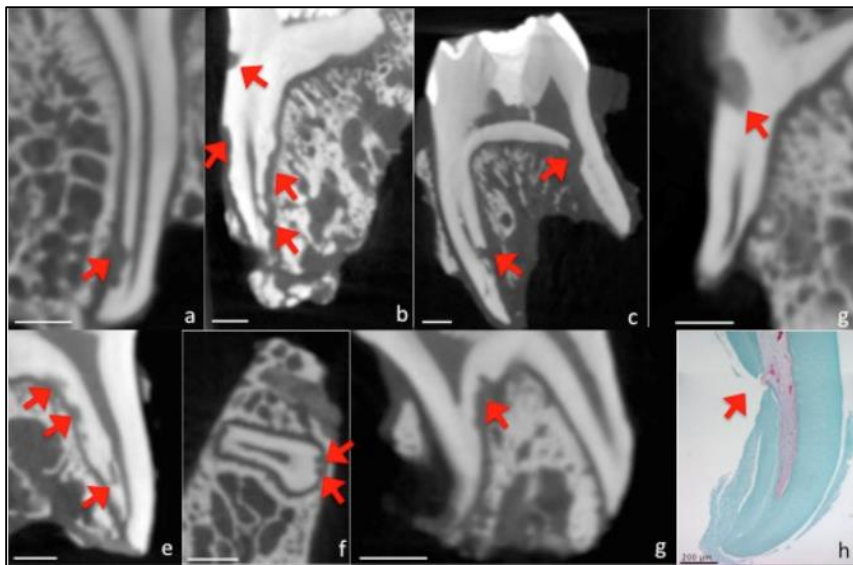
¹⁶ Zhang et al., « NLRP3 inflammasome mediates M1 macrophage polarization and IL-1 β production in inflammatory root resorption ».

entretenues par une pulpe inflammatoire ou nécrosée par le passage de molécules et métabolites à travers les tubulis.¹⁷

In vivo, Mangione retrouve des résorptions radiculaires chez le mini-pig après la réalisation d'une pulpotomie et de la mise en place d'une matrice contenant des cellules souches dentaires DPSC alors que la pulpe n'est pas infectée.¹⁸

Figure 5 : Observation de résorptions radiculaires externes chez le cochon nain (mini-pig)

Trois semaines après pulpotomie partielle et mise en place d'une matrice de cellules souches dentaires DPSC. Le tissu pulpaire n'a pas subi d'infection.



Source : Mangione, « Cell-based partial pulp regeneration in a porcine preclinical model », 2019.

In vitro, Zheng montre que les cellules pulpaires chez le rat atténuent l'ostéoclastogénèse. Il retrouve en effet une transcription d'ARNm RANKL/OPG favorable à l'inhibition des ostéoclastes dans les cellules pulpaires comparées aux cellules osseuses.¹⁹

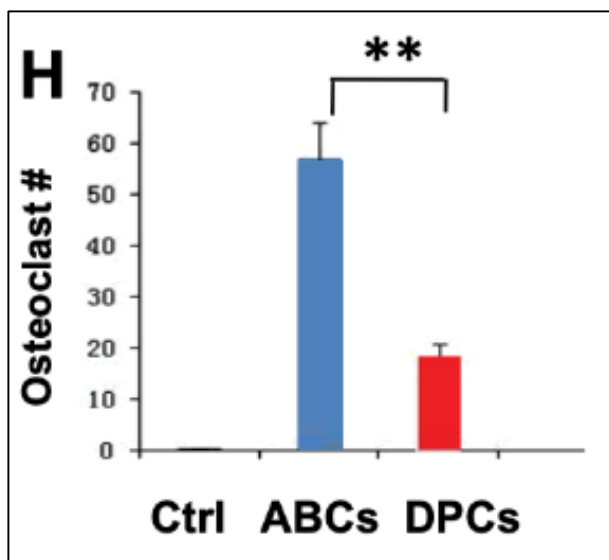
¹⁷ Heithersay, « Management of tooth resorption ».

¹⁸ Mangione, « Cell-based partial pulp regeneration in a porcine preclinical model ».

¹⁹ Zheng et al., « Mesenchymal dental pulp cells attenuate dentin resorption in homeostasis ».

Figure 6 : Nombre d'ostéoclastes après mise en culture de splénocytes seuls, avec des cellules osseuses alvéolaires (ABCs=Alveolar Bone Cells) ou des cellules pulpaire (DPCs=Dental Pulp Cells)

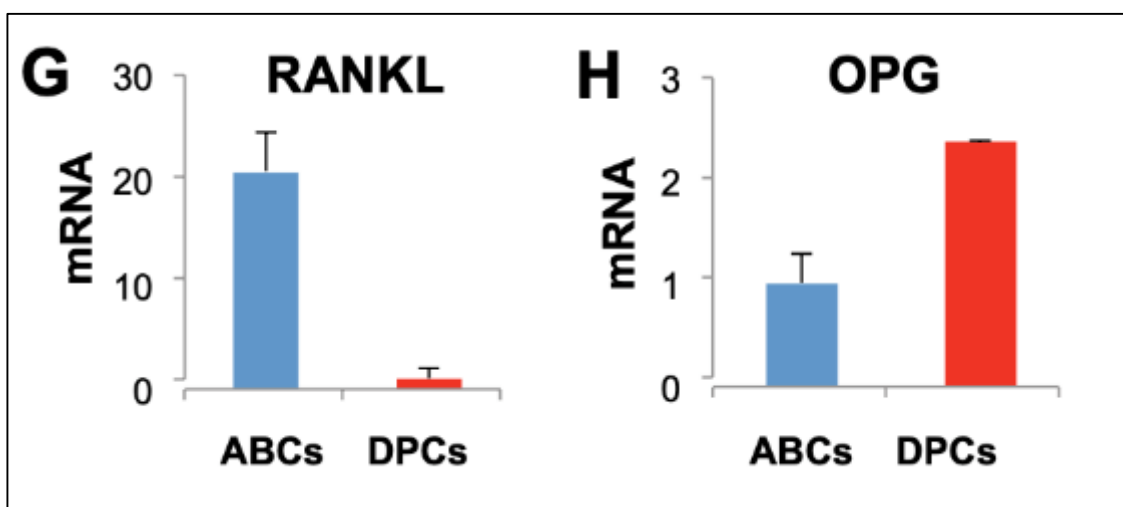
Le nombre d'ostéoclastes est significativement inférieur en présence des cellules pulpaire.



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

Figure 7 : Comparaison de la transcription d'ARNm RANKL et OPG dans les cellules dentaire de la pulpe (DPCs= Dental Pulp Cells) et dans les cellules osseuse alvéolaires (ABCs=Alveolar Bone Cells)

On observe une balance RANKL/OPG favorable à l'inhibition des ostéoclastes dans les cellules pulpaire.



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

La présence des molécules du système OPG/RANKL/RANK dans le tissu pulpaire est très peu étudiée que ce soit chez l'animal ou chez l'homme car une attention plus particulière est faite au phénomène qu'il implique dans le périapex lors d'une infection endodontique.²⁰ Cependant, il est prouvé qu'une expression d'OPG est retrouvée dans la palissade odontoblastique.²¹

Ces éléments convergent vers une implication majeure de la pulpe, notamment *via* la modulation de l'inflammation, dans le contrôle des mécanismes régissant le recrutement des cellules clastiques dans la résorption radiculaire.

1.4 Objectifs de l'étude

Cette étude a pour but premier d'étudier le rôle de l'inflammation pulpaire dans la résorption radiculaire externe par la mise au point d'un modèle de résorption radiculaire chez la souris.

Le second objectif a été la mise en perspective de notre modèle murin parmi les modèles animaux de résorptions radiculaires externes par approche bibliographique.

²⁰ Belibasakis, Rechenberg, et Zehnder, « The receptor activator of NF-κB ligand-osteoprotegerin system in pulpal and periapical disease ».

²¹ Kuntz et al., « An immunohistochemical study of osteoprotegerin in the human dental pulp ».

2 : Matériels et Méthodes

Le modèle animal est le même que celui développé par Lagorsse et Grosborne, le protocole des chirurgies, des analyses d'imagerie et d'histologie est ici résumé.^{22 23}

2.1 Animaux

28 souris de race C57BL/6 ont été utilisées pour les chirurgies.

Tableau 1 : Caractéristiques des animaux

Nombre de souris	Race	Âge
28	WT C57BL/6	3 mois

Source : Auteur, 2020.

2.2 Chirurgie

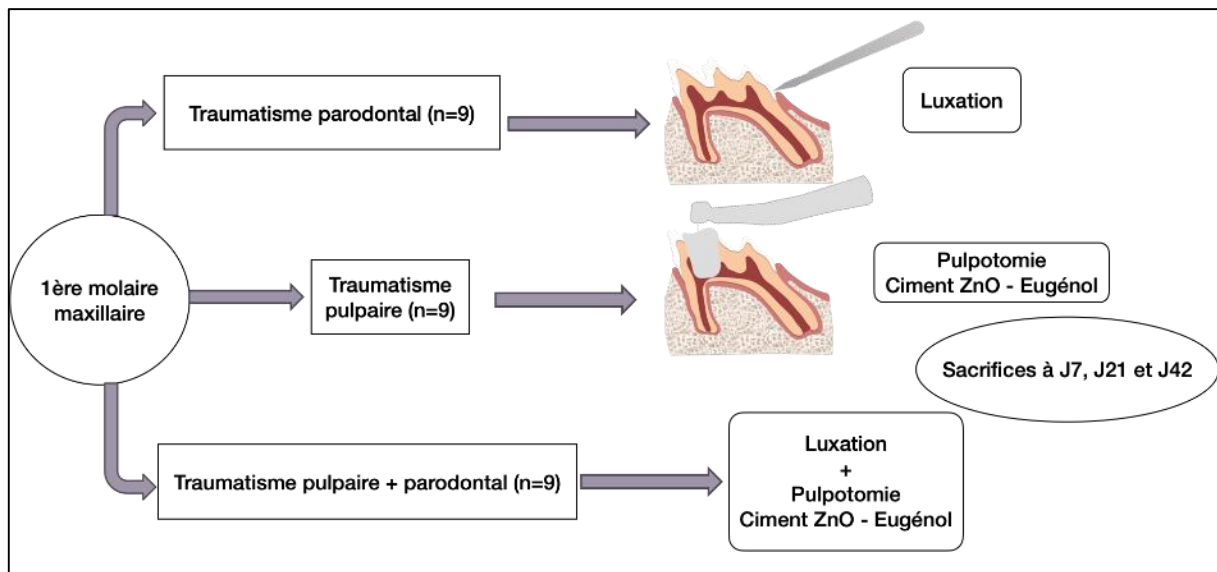
Le modèle développé chez la souris est constitué de trois modalités différentes, un traumatisme pulpaire, un traumatisme parodontal et la combinaison des deux traumatismes. L'étude de ces différentes modalités permet de mieux saisir le rôle et la part prise par l'aspect parodontal et pulpaire dans le mécanisme des résorptions.

Trois chirurgies ont été effectuées sur les premières molaires maxillaires des souris. La première modalité a consisté à appliquer une luxation de la molaire pour induire un traumatisme parodontal. La deuxième modalité a consisté à réaliser une pulpotomie partielle et la mise en place d'un matériau à base d'oxyde de zinc et eugénol (IRM) entretenant l'inflammation du tissu pulpaire. La troisième modalité a consisté en la combinaison de ces deux traumatismes. Les sacrifices ont été réalisés à 7, 21 et 42 jours (cf. figure 8)

²² Lagorsse, « Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes. Partie 1, Développement d'un modèle murin ».

²³ Grosborne, « Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes. Partie 2, Étude des mécanismes physiopathologiques de la résorption cervicale externe ».

Figure 8 : Modèle murin de résorption radulaire externe



Source : Auteur, 2020.

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

- Un traumatisme parodontal
- Un traumatisme pulpaire
- La combinaison des deux traumatismes

Le traumatisme parodontal a été induit grâce à une luxation mécanique avec la lame d'un bistouri jusqu'à l'obtention d'une mobilité III (Classification de Muhlemann).

Le traumatisme pulpaire a été induit grâce à une pulpotomie puis la mise en place d'un matériau à base d'oxyde de zinc et eugéno permettant d'entretenir l'inflammation du parenchyme pulpaire.

Les souris sont sacrifiées à 7, 21 et 42 jours après la chirurgie et les héli-maxillaires sont prélevés et fixés.

2.3 Micro-CT

Un suivi longitudinal radiologique en trois dimensions a été réalisé à 7, 21 et 42 jours à l'aide d'un micro-CT Quantum FX Perkin Elmer sur la « Plateforme d'Imagerie et du Vivant » (PIV).²⁴

Tableau 2 : Paramètres d'acquisition d'imagerie Micro-CT

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

Source : Auteur, 2020.

L'analyse des images a été réalisée grâce au logiciel Osirix.

Les tissus dentaires et environnants ont été observés pour détecter la présence de résorptions radiculaires, résorption osseuse, l'intégrité du plancher pulpaire et de la dent ont été évalués.

2.4 Analyses histologiques

Après sacrifice, les prélèvements des hémimaxillaires ont été fixés et déminéralisés pour permettre leur inclusion en paraffine. Des coupes histologiques de 7 μm ont été ensuite réalisées au microtome.

2.4.1. Coloration au trichrome de Masson

Pour une analyse des différentes structures présentes, le trichrome de Masson a été utilisé associant l'hémalun (coloration nucléaire), l'orange G molybdique et Fuchsine Ponceau (coloration cytoplasmique) et le vert lumière (coloration des fibres de collagène).

Protocole pour une lame paraffinée : un déparaffinage au toluène et une déshydratation par bains successifs d'alcool est réalisé. Une réhydratation et un passage dans les différents colorants sont effectués. Une déshydratation à l'alcool et au toluène est ensuite réalisée pour monter les lames.

²⁴ Université de Paris, « Plateforme d'imageries du vivant ».

2.4.2 Coloration enzymatique de la Phosphatase Acide Tartrate-Résistante

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

Protocole : le réactif à pH basique est réalisé dans un tampon d'acétate à l'aide de tartrate de sodium, naphthol AS-MX et Fast Red TR salt. Les coupes y sont incubées pendant 1 heure à 37°C puis un rinçage est effectué. Une contre-coloration au vert de méthyle est réalisée puis les coupes sont déshydratées et montées.

2.4.3 Immunohistochimie

Tableau 3 : Caractéristiques des anticorps

Anticorps	Référence	Concentration
Primaire	Anti-IL-1 β (ab9722) polyclonal de lapin	1/100
Secondaire	Anti-lapin	1/100

Source : Auteur, 2020.

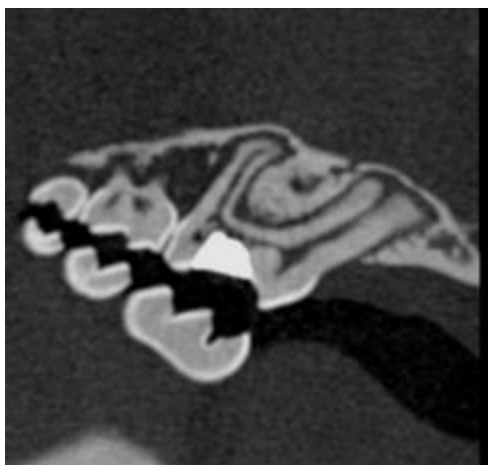
Après déparaffinage, les sites antigéniques sont démasqués au BD ReTrivagen. Les sites non spécifiques de l'anticorps primaire sont bloqués par un sérum, puis l'anticorps primaire est incubé pendant une nuit. L'anticorps secondaire biotinilé est ensuite incubé pendant 90 minutes. Les peroxydases endogènes sont inhibées à l'H₂O₂ pendant 30min. Après rinçage, le complexe avidine-biotine est incubé pendant 1 heure. Les lames sont ensuite rincées au PBS 1X avant d'être révélées par coloration DAB pendant 3 à 5 minutes. Une contre-coloration au vert de méthyle est ensuite réalisée et les lames montées.

2.5 Quantification des résorptions

Afin de quantifier la résorption radiculaire, nous avons mis au point une méthode de quantification par histomorphométrie.

En effet, l'acquisition en microCT n'a pas permis de mettre en évidence le volume des lacunes de résorption radiculaire par manque de définition de l'image.

Figure 9 : Image d'une coupe micro-CT d'une molaire maxillaire de souris ayant subi une effraction pulpaire avec mise en place de matériau IRM



Source : Auteur, 2020.

2.5.1 Histomorphométrie

Pour chaque modalité, à chaque temps, trois échantillons ont été sélectionnés aléatoirement pour la quantification des résorptions.

Tableau 4 : Histomorphométrie

	Traumatisme pulpaire	Traumatisme parodontal	Combinaison des deux traumatismes
J7	n = 3	n = 3	n = 3
J21	n = 3	n = 3	n = 3
J42	n = 3	n = 3	n = 3

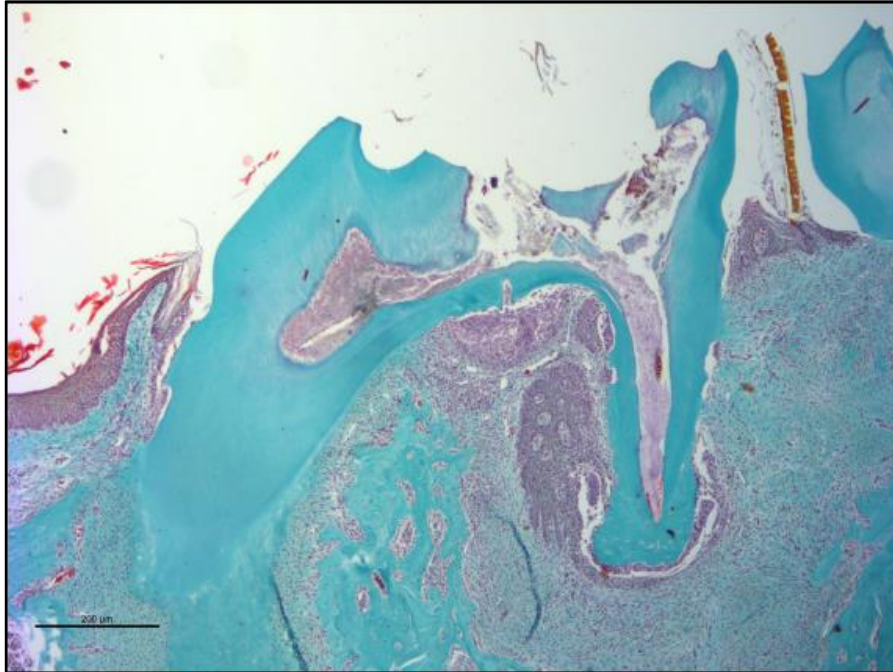
Source : Auteur, 2020.

Dans chaque échantillon, trois lames de deux coupes espacées d'une dizaine de coupes (10 x 7 = 70 μm) ont été colorées par un Trichrome de Masson et prises en photo sous microscope optique à un grossissement x5.

A l'aide du logiciel Image J®, chaque image a été analysée pour déterminer l'aire des lacunes de résorptions dentinaires et l'aire de la surface dentinaire radiculaire visible sur la coupe histologique et ainsi établir un ratio.

Figure 10 : Trichrome de Masson d'une première molaire maxillaire chez une souris, opérée des traumatismes pulpaire et parodontal, à J21

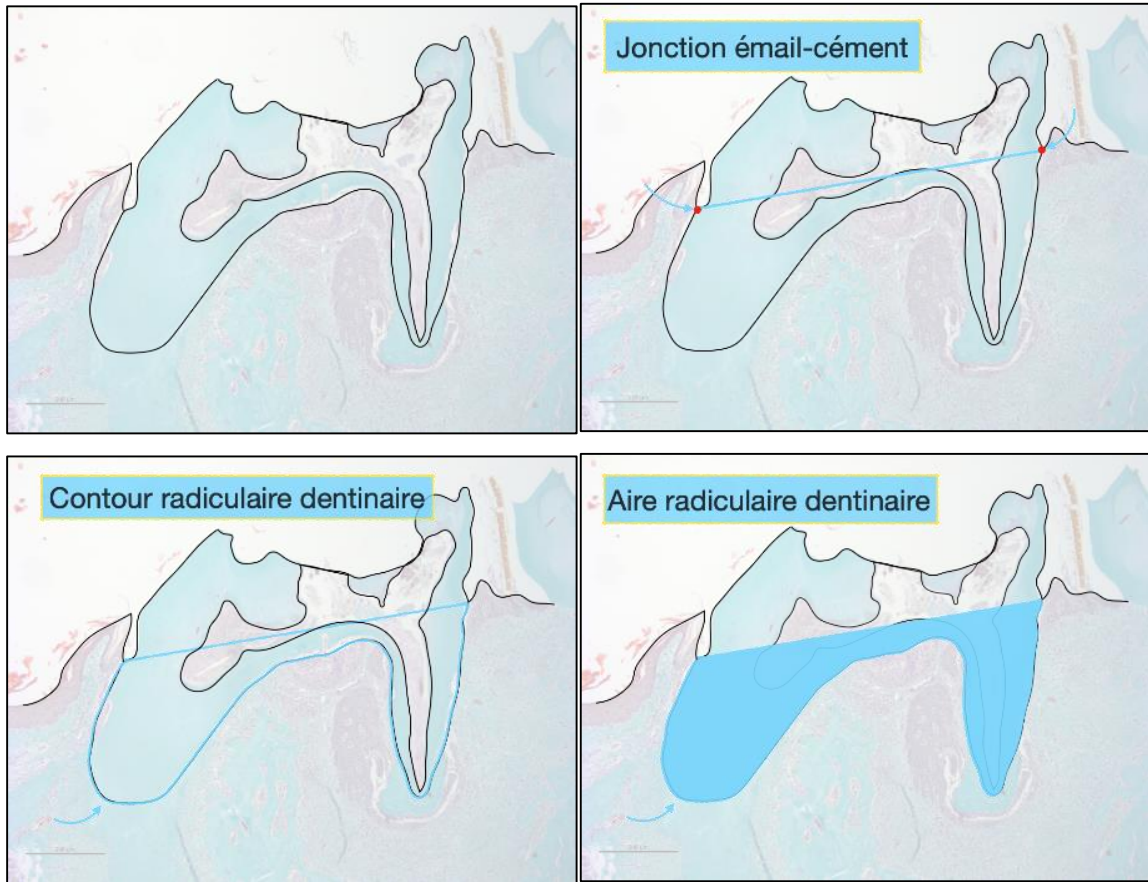
On peut observer la dégénérescence du tissu pulpaire, un infiltrat inflammatoire parodontal et l'apparition de lacunes de résorptions radiculaires externes.



Source : Auteur, 2020.

Figure 11 : Méthodologie de quantification de l'aire de la surface dentinaire radiculaire

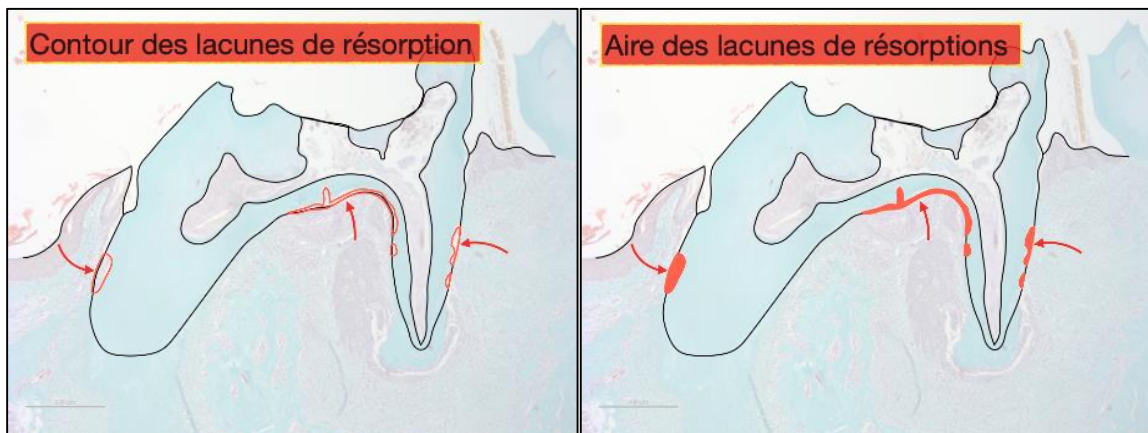
Pour délimiter cette zone : une droite a été tracée entre les 2 jonctions émail-cément, puis le contour radiculaire dentinaire a été délimité. L'aire de la surface a été ensuite calculée.



Source : Auteur, 2020.

Figure 12 : Méthodologie de quantification de l'aire des lacunes de résorptions

Les zones des lacunes de résorptions dentinaires externes présentes ont été délimitées et leur aire a été calculée.



Source : Auteur, 2020.

2.5.2 Analyses statistiques

Pour chaque échantillon, la moyenne des six valeurs du ratio (aire des lacunes de résorption/aire de la surface radiculaire dentinaire) a été déterminée. Un test non paramétrique Kruskal-Wallis a été réalisé ensuite à l'aide du logiciel « Graph Pad Prism 8 ». Six tests comparatifs de Kruskal-Wallis des moyennes du ratio de résorption ont été réalisés selon chaque temps J7, J21 et J42 et selon chaque modalité opératoire Effraction, Luxation et Effraction + Luxation.

2.6 Recherche bibliographique

Une recherche bibliographique a été réalisée en anglais sur la base de données PubMed/MEDLINE pour les publications depuis janvier 1972.

Les MeSH Terms « Root Resorption » AND « Models, Animal » ont été utilisés.

Les MeSH Terms « Orthodontics » « Tooth Replantation » et « Dental Implants » ont été ensuite exclus pour éliminer les modèles animaux concernant les modalités orthodontiques et de réimplantation dentaire.

3 : Résultats

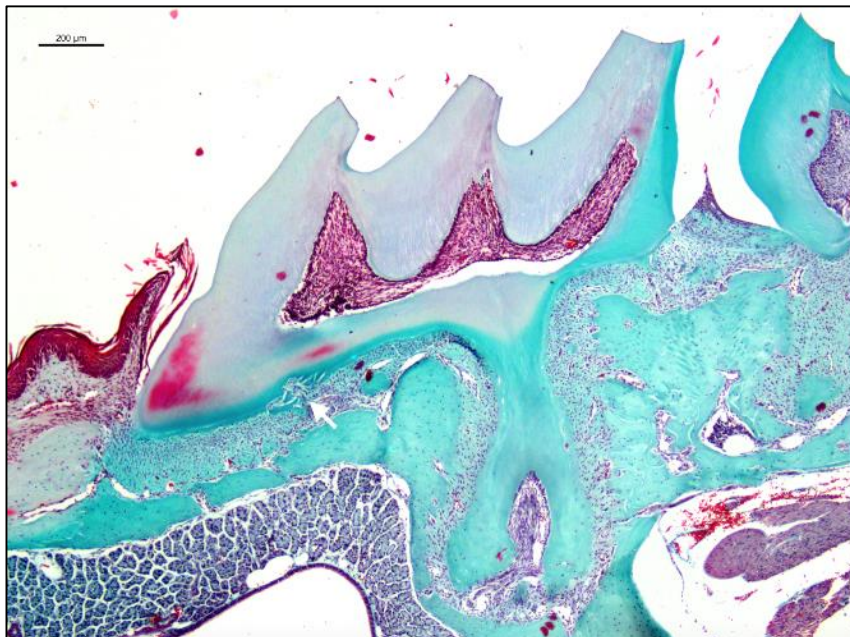
3.1 Validation d'un modèle murin de résorption radiculaire externe

3.1.1 Différentes chirurgies ont permis d'obtenir des résorptions objectivables à partir de J7

A partir de J7, nous observons sur les coupes histologiques des lacunes de résorption externes de surface ou inflammatoires. Elles sont dans certains cas associées à des cellules plurinucléées, témoignant d'un processus actif. Ces résorptions observables en histologie, ne sont décelables au micro-CT qu'à des stades avancés.

Figure 13 : Trichrome de Masson d'une coupe histologique de première molaire maxillaire de souris à J7 ayant subi **un traumatisme parodontal**

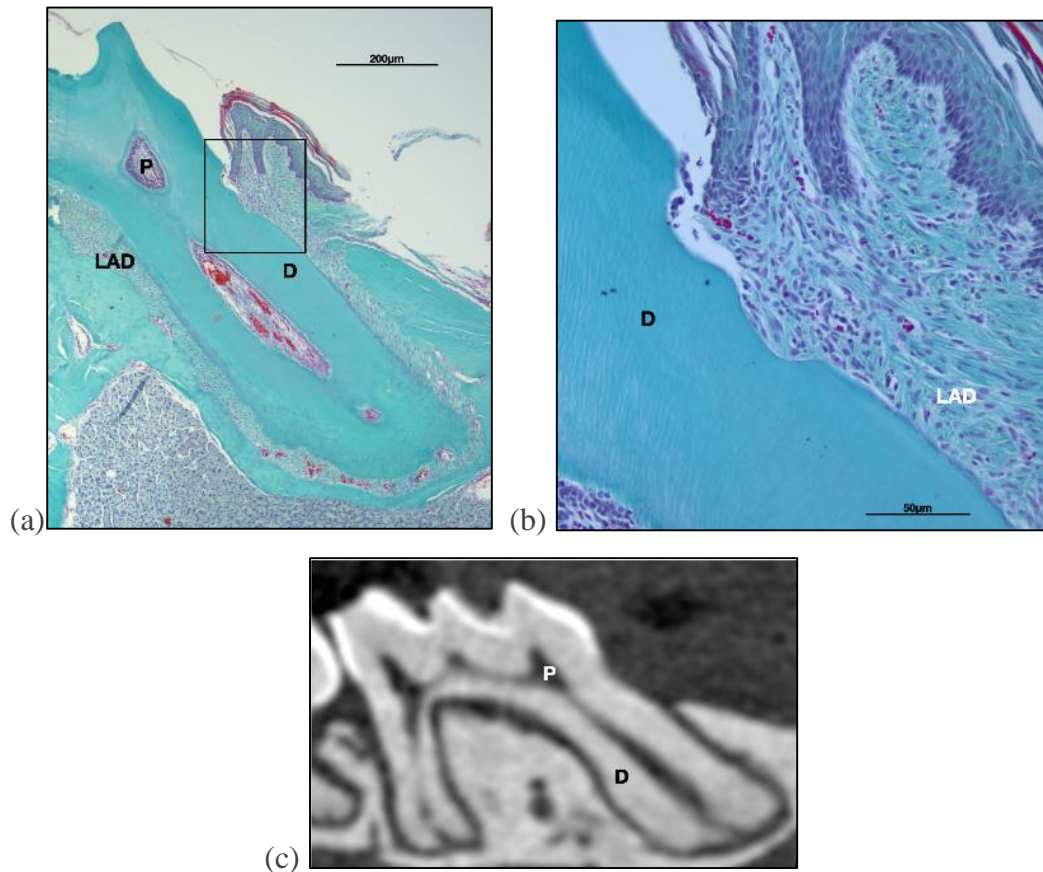
On observe la présence d'une résorption radiculaire inflammatoire dentinaire (flèche blanche) associé à une inflammation du tissu parodontal en regard.



Source : Auteur, 2020.

Figure 14 : Étude d'une première molaire maxillaire ayant subi un traumatisme parodontal, présentant une résorption de surface, à J21

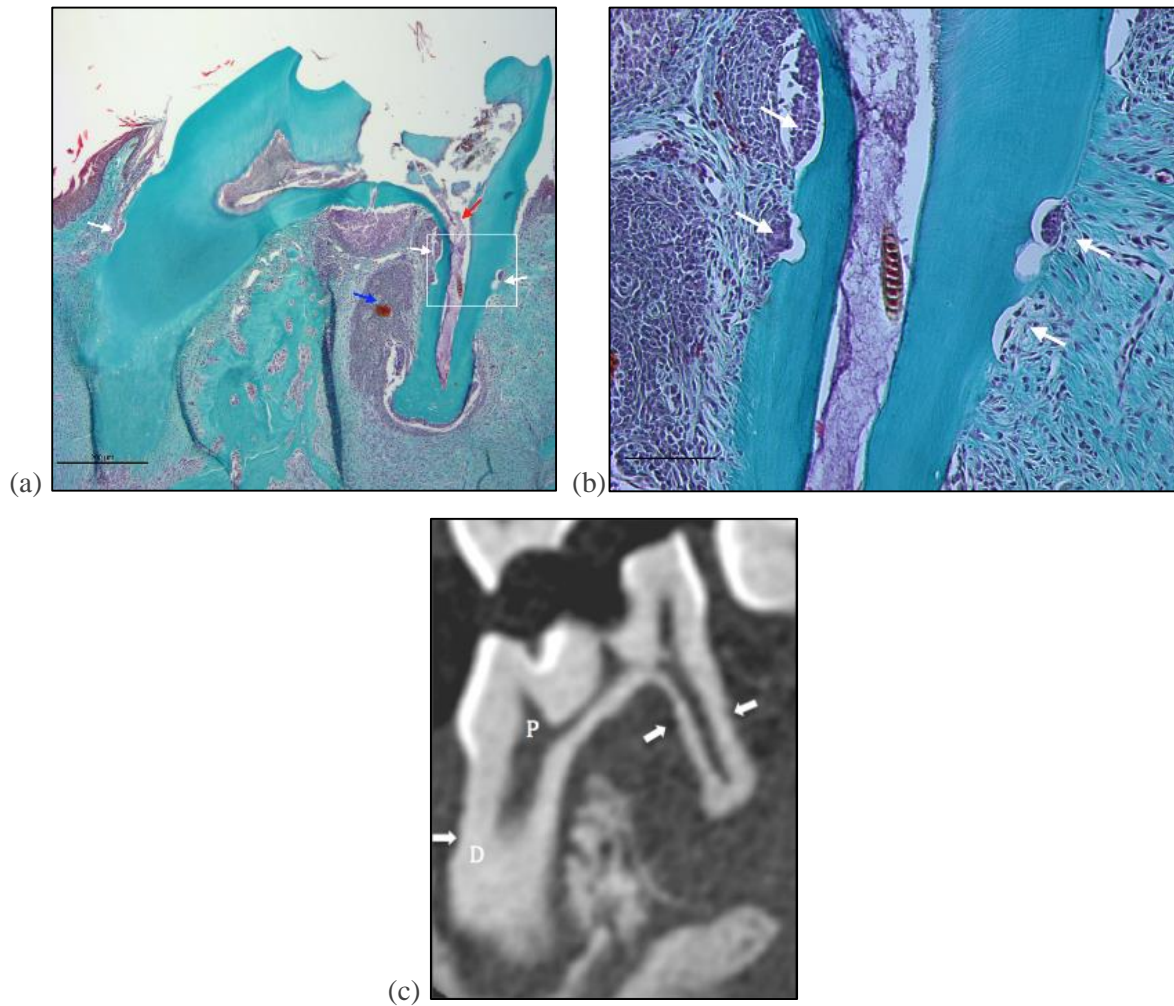
Trichrome de Masson de la molaire (a,b). La même dent visible au micro-CT (c), la résolution de l'acquisition ne permet pas d'observer la lacune de résorption. P : pulpe ; D : dentine ; LAD : ligament alvéolo-dentaire.



Source : Auteur, 2020.

Figure 15 : Étude d'une première molaire maxillaire ayant subi un double traumatisme, à J21

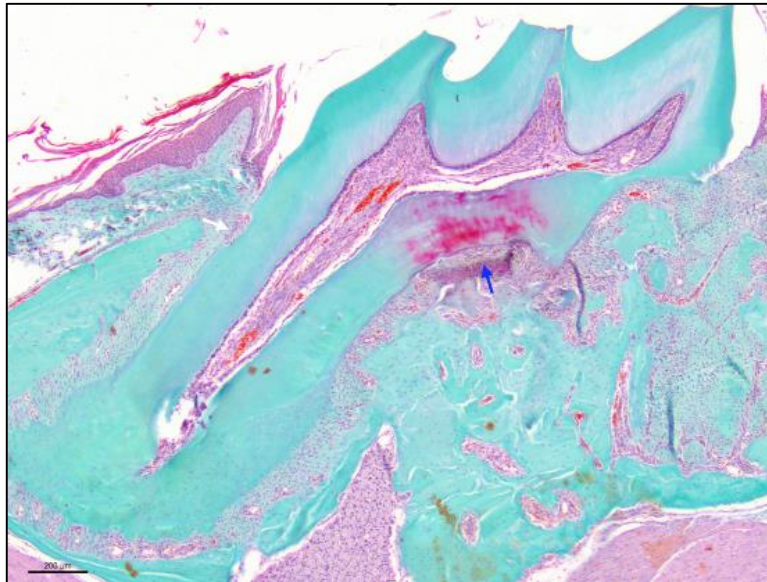
Trichrome de Masson (a,b). On observe une dégénérescence pulpaire (a, flèche rouge), un infiltrat inflammatoire parodontal (a, flèche bleue) et l'apparition de lacunes de résorptions inflammatoires visibles à plus fort grossissement le long du contour radiculaire (a et b, flèches blanches). Acquisition micro-CT de la même dent (c), les lacunes de résorption sont difficilement décelables (flèches blanches).



Source : Auteur, 2020.

Figure 16 : Trichrome de Masson d'une coupe histologique d'une première molaire maxillaire ayant subi un traumatisme parodontal, à J42

On observe la présence de résorptions radiculaire inflammatoires dentinaires (flèche blanche). On note l'apparition d'un infiltrat inflammatoire dans les tissus parodontaux en interradiculaire (flèche bleue).



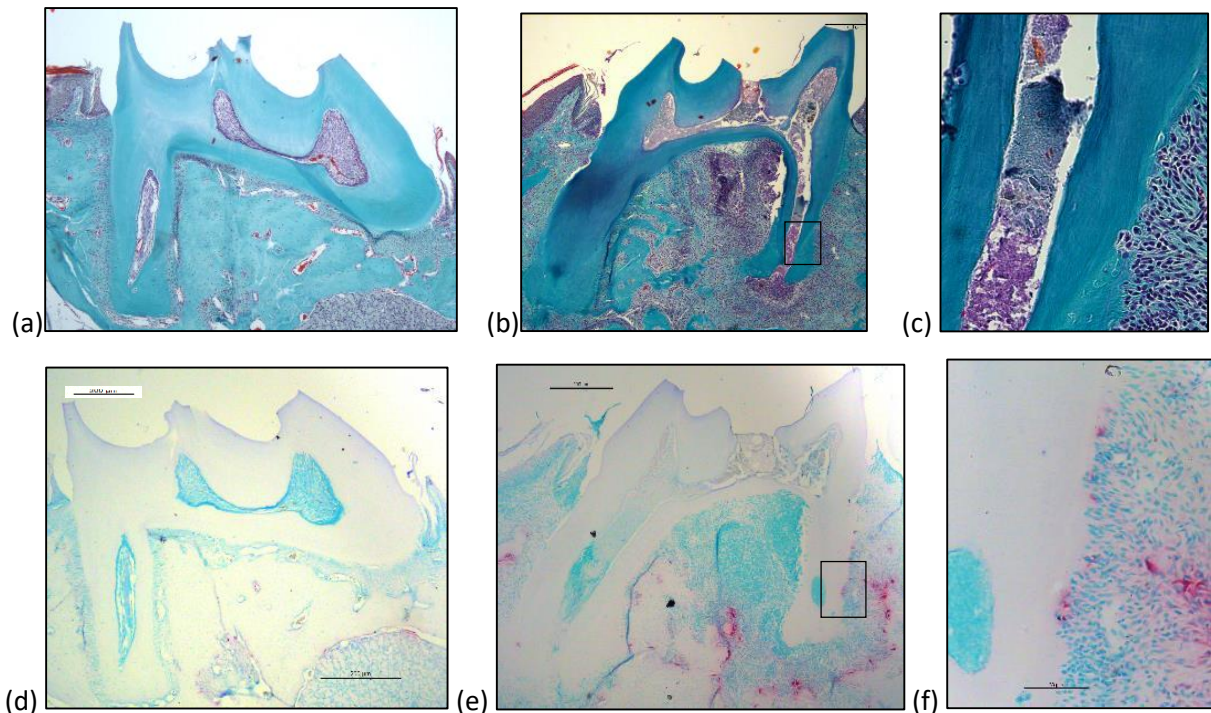
Source : Auteur, 2020.

3.1.2 Les lacunes de résorptions sont associées à des cellules clastiques

Grâce à la coloration enzymatique TRAP, nous mettons en évidence les odontoclastes responsables de lacunes de résorption dentinaire.

Figure 17 : Coloration enzymatique TRAP en rapport avec les lacunes de résorptions

Trichromes de Masson d'une première molaire maxillaire témoin n'ayant pas subi de chirurgie (a), d'une première molaire maxillaire ayant subi un double traumatisme, à J42 (b) ; grossissement x20 de la même coupe (c). Colorations enzymatiques TRAP d'une première molaire maxillaire témoin n'ayant pas subi de chirurgie (d) ; d'une première molaire maxillaire ayant subi un double traumatisme, à J42 (e) ; grossissement x20 de la même coupe (f) on observe le marquage de cellules clastiques en rapport avec les lacunes de résorption.



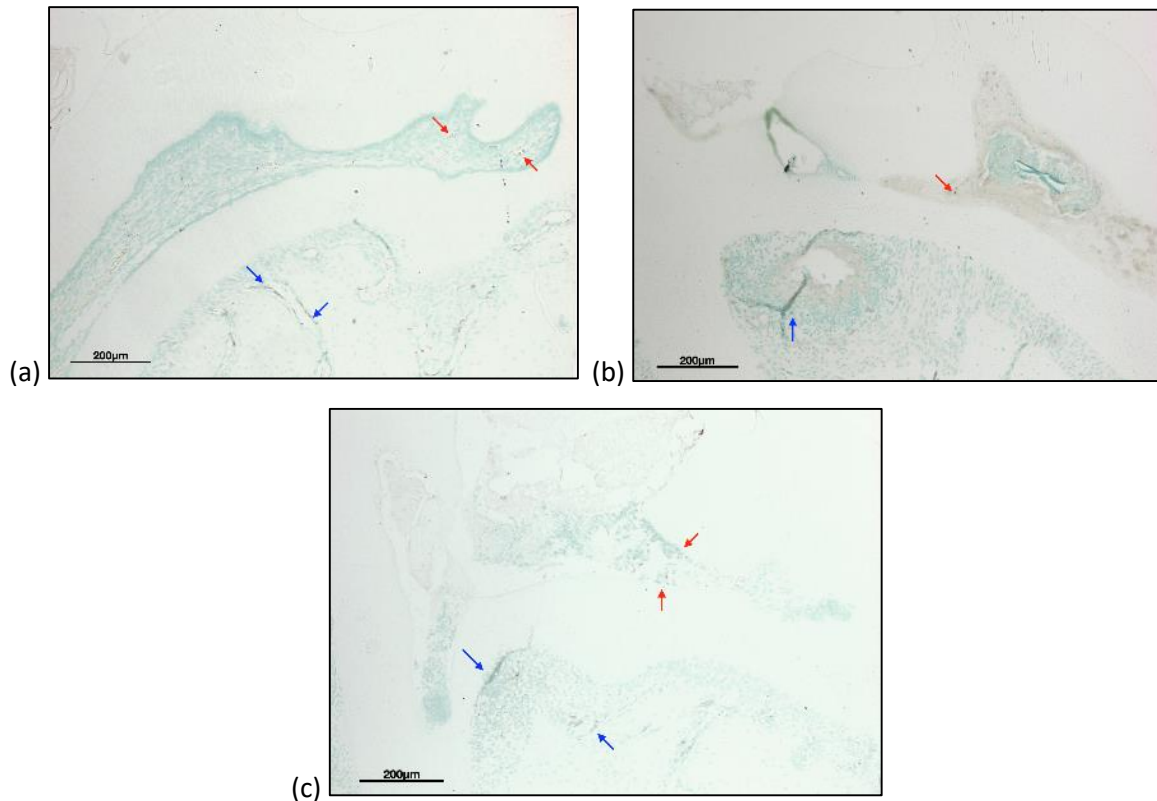
Source : Auteur, d'après Lagorsse, « Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaire externes. Partie 1, Développement d'un modèle murin », 2019.

3.1.3 Mise en évidence d'une inflammation pulpaire et parodontale par marquage IL-1 β

Nous mettons en évidence une inflammation des tissus pulpaire et parodontaux dans chacune des modalités à J21, grâce au marquage immunohistochimique de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β .

Figure 18 : Marquages immunohistochimiques de IL-1 β sur les premières molaires maxillaires de souris à J21

Ayant subi un traumatisme parodontal, à J21 (a). Ayant subi un traumatisme pulpaire, à J21 (b). Ayant subi la combinaison des deux traumatismes, à J21 (c). On observe dans chaque modalité, un marquage parodontal (flèches bleues) et un marquage pulpaire (flèches rouges).



Source : Auteur, 2020.

3.2 Mise en perspective du modèle murin de résorption externe

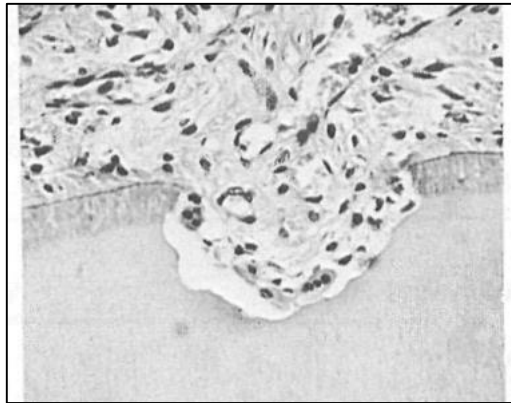
Différents modèles de résorption radiculaire externe ont été décrits dans la littérature, témoignant d'un intérêt scientifique et clinique de ce sujet.

3.2.1 Modèles de résorptions sur grands animaux induites par extraction-réimplantation

Historiquement, Andreasen en 1987 a développé un modèle animal de résorptions radiculaires externes chez le singe. La modalité de chirurgie a consisté à réaliser des extractions-réimplantations de molaires et d'incisives. Son travail a permis de mieux connaître cette pathologie et d'en établir la classification.

Il observe notamment l'apparition de moins de résorptions lorsque la dent est traitée endodontiquement avant réimplantation, servant de base aux recommandations cliniques, toujours en vigueur.^{25 26 27}

Figure 19 : Coupe histologique d'une lacune de résorption radiculaire inflammatoire active chez le singe



Source : Andreasen, « Experimental dental traumatology : development of a model for external root resorption », 1987.

Levin en 2001, reproduit ce modèle d'extraction-réimplantation chez le chien pour déterminer l'effet de l'alendronate (bisphosphonate) sur les résorptions.²⁸ L'étude montre des effets positifs de l'application topique d'alendronate qui inhibe l'apparition de résorptions. Mais l'utilisation de bisphosphonates chez l'homme présente des risques de dérégulation du remodelage osseux et ne semble pas appropriée pour la gestion des résorptions radiculaires externes.

²⁵ Andreasen, « Experimental dental traumatology : development of a model for external root resorption ».

²⁶ Andersson et al., « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 2, Avulsion of permanent teeth ».

²⁷ Diangelis et al., « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 1, Fractures and luxations of permanent teeth ».

²⁸ Levin et al., « Effect of topical alendronate on root resorption of dried replanted dog teeth ».

Figure 20 : Coupe histologique d'une dent ayant développé une résorption externe inflammatoire après une extraction-réimplantation chez le chien



Source : Levin, « Effect of topical alendronate on root resorption of dried replanted dog teeth », 2001.

Ces modèles sur les grands animaux représentent un coût financier élevé et des considérations éthiques qui les rendent difficilement envisageables. C'est pourquoi nous nous sommes penchés sur les modèles développés chez le rongeur - le rat et la souris - qui sont plus facilement disponibles.

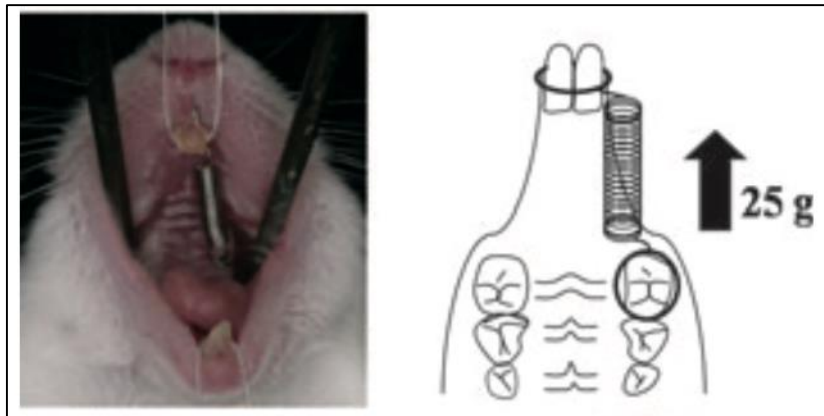
3.2.2 Modèles de résorptions induites par forces orthodontiques

Des modèles de résorptions radiculaires résultants de forces orthodontiques ont été étudiées chez la souris²⁹ et le rat.³⁰ Un appareil orthodontique est mis en place sur les rongeurs, constitué d'un ressort en nickel ligaturé à la première molaire maxillaire ainsi qu'à l'incisive maxillaire pour induire le déplacement mésial de la première molaire maxillaire.

²⁹ Shimizu et al., « Interleukin-17/T-helper 17 cells in an atopic dermatitis mouse model aggravate orthodontic root resorption in dental pulp ».

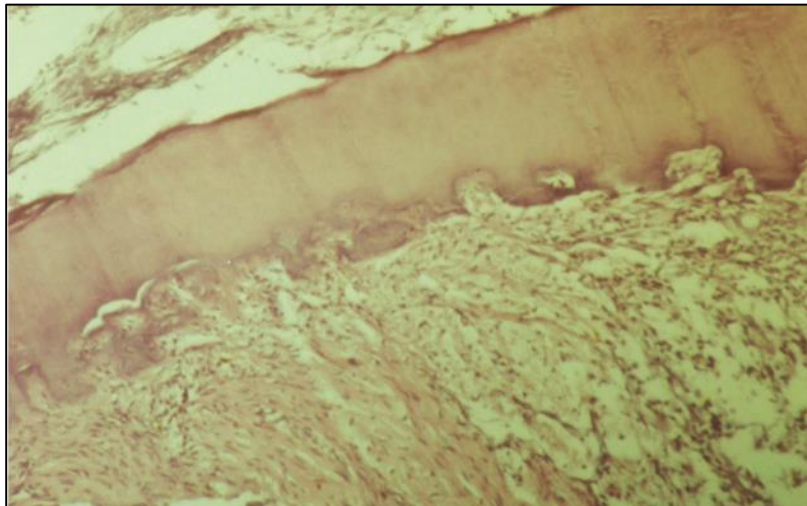
³⁰ Seifi et al., « Analysis of transforming growth factor- β 1 gene expression in resorptive lacunae following orthodontic tooth movement : an animal survey ».

Figure 21 : Dispositif orthodontique chez la souris



Source : Shimizu, « Interleukin-17/T-helper 17 cells in an atopic dermatitis mouse model aggravate orthodontic root resorption in dental pulp », 2013.

Figure 22 : Coupe histologique de lacunes de résorptions externes chez le rat après application de forces orthodontiques



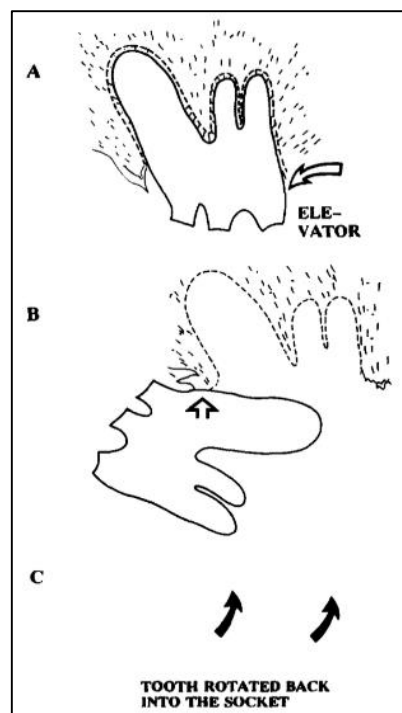
Source : Seifi, « Analysis of transforming growth factor- β 1 gene expression in resorptive lacunae following orthodontic tooth movement », 2017.

L'application de forces orthodontiques entraîne l'apparition de résorptions. Mais ces forces sont appliquées de manière continue et étalées dans le temps ne permettant pas d'évaluer l'effet d'un traumatisme ponctuel et limité dans le temps. Par ailleurs, elles ne mettent pas en jeu le rôle de la pulpe.

3.2.3 Modèles de résorptions induites par extraction-réimplantation

Des modèles d'extraction-réimplantation dentaire ont été développés chez le rongeur la première fois par Kvinnsland en 1991.³¹ Il propose un modèle d'extraction-réimplantation de molaire chez le rat. Il observe des changements dans le tissu pulpaire à partir de J20 (jusqu'à J90), qui se transforme en tissu minéralisé de type pseudo-dentinaire, ou pseudo-osseux. Les résorptions semblent plus extensives en présence de tissu de réparation pulpaire pseudo-osseux.

Figure 23 : Modèle d'extraction réimplantation chez le rat



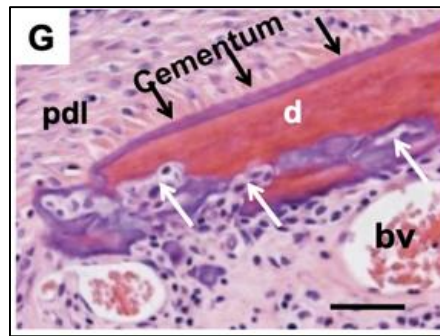
Source : Kvinnsland, « Regeneration of calcitonin gene-related peptide immunoreactive nerves in replanted rat molars and their supporting tissues », 1991.

Zheng a réalisé en 2015 le même protocole sur une incisive dépulpée chez le rat.³² Il a observé l'apparition de résorptions. Le contrôle opératoire retenu est l'incisive adjacente non opérée, ne permettant pas de conclure sur l'impact de la présence du tissu pulpaire sur l'apparition des résorptions.

³¹ Kvinnsland, Heyeraas, et Byers, « Regeneration of calcitonin gene-related peptide immunoreactive nerves in replanted rat molars and their supporting tissues ».

³² Zheng et al., « Mesenchymal dental pulp cells attenuate dentin resorption in homeostasis ».

Figure 24 : Coupe histologique de lacunes de résorptions chez le rat



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

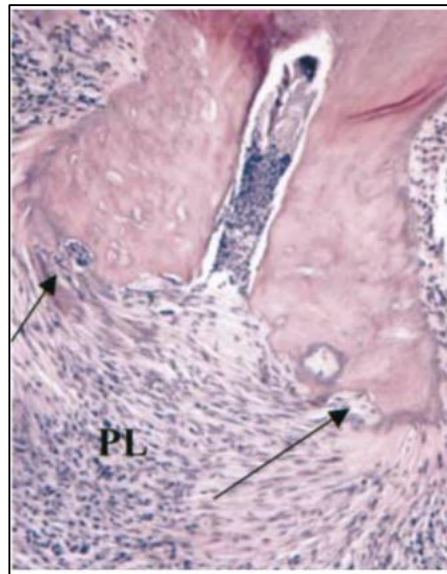
Ce modèle représente la réalité clinique d'un traumatisme parodontal extrême, celui de l'avulsion d'une dent suite à un choc. Dans cette situation, la pulpe est privée de son apport vasculaire et se nécrosera forcément, ce qui ne permet pas d'étudier son comportement à des stades précoces d'inflammation. De plus, le protocole proposé avec la molaire semble complexe à mettre en œuvre pour réaliser une extraction atraumatique, repositionner correctement la dent ainsi que la mise en place d'une contention. L'incisive du rat étant continuellement en croissance, avec un apex ouvert sur le parodonte, elle constitue une extrapolation des dents immatures, mais ne semble pas convenir pour les traumatismes sur dents matures.

3.2.4 Modèles de résorptions induites par atteinte pulpaire

Balto en 2002 a créé un modèle d'infection périapicale chez la souris.³³ Une pulpectomie associée à une inoculation de bactéries endodontiques a été réalisée pour induire l'infection périapicale, les sacrifices sont réalisés à J21. Cette infection a induit des résorptions externes apicales.

³³ Balto et al., « A mouse model of inflammatory root resorption induced by pulpal infection ».

Figure 25 : Lacunes de résorption apicales, après infection endodontique chez la souris



Source : Balto, « A mouse model of inflammatory root resorption induced by pulpal infection », 2002.

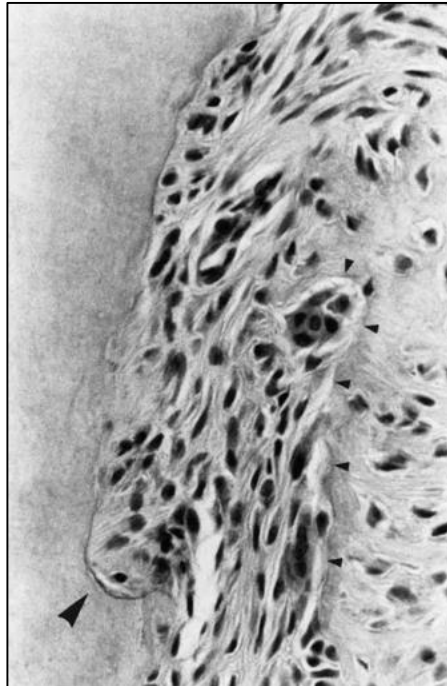
Dans ce modèle, le tissu pulpaire est entièrement envahi par les germes bactériens et subit une dégénérescence conduisant à la nécrose. Les stades précoces de d'inflammation ne sont pas identifiables et la présence de bactéries multiplie les signaux qui pourraient entretenir les résorptions.

En 2000, Dreyer développe un modèle de résorption radiculaire aseptique, se rapprochant le plus de notre modèle.³⁴

Il a effectué une application de froid sur les molaires de rats pour générer un traumatisme hypothermique du tissu pulpaire. Il a observé que plus l'intensité de ces chocs hypothermiques était élevée, plus il y avait de résorptions présentes. Donc le traumatisme appliqué serait suffisant pour générer ces résorptions. Il associe même une luxation de la molaire dans une dernière modalité dans laquelle il observe le plus de résorptions.

³⁴ Dreyer, Pierce, et Lindskog, « Hypothermic insult to the periodontium : a model for the study of aseptic tooth resorption ».

Figure 26 : Coupe histologique d'une lacune de résorption radiculaire chez le rat après choc hypothermique pulpaire



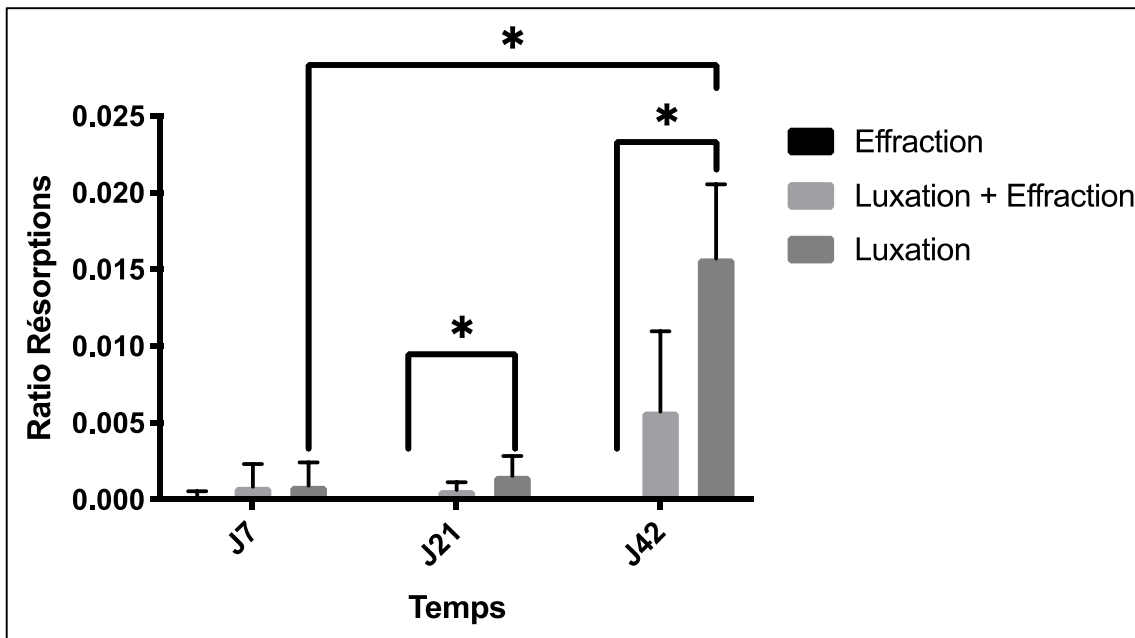
Source : Dreyer, « Hypothermic insult to the periodontium : a model for the study of aseptic tooth resorption », 2002.

Ce modèle est intéressant car il permet d'induire de manière aseptique des résorptions externes grâce à un traumatisme hypothermique pulpaire. Les observations faites par les auteurs sont uniquement descriptives et il n'y a pas de quantification des résorptions qui permettrait une comparaison statistique des différentes modalités.

Les différents modèles pour étudier les résorptions externes sont extrêmement variés. Ils proposent des forces orthodontiques, des traumatismes parodontaux extrêmes avec l'extraction-réimplantation ainsi que des infections pulpaires à des stades avancés pour pouvoir induire ces résorptions pour mieux les étudier. Nous proposons un modèle permettant d'étudier les mécanismes mis en œuvre de manière longitudinale, dans les stades précoces d'initiation mais aussi dans l'entretien des résorptions. Notre modèle a pour but de comprendre l'implication de la pulpe, du parodonte et l'échange de signaux qui s'opère entre les deux tissus et les conséquences sur les résorptions.

3.3 Évolution des résorptions dans le temps selon les différentes modalités de traumatisme

Figure 27 : Résultats des quantifications statistiques de lacunes de résorptions selon les différents temps et modalités de chirurgie (moyennes avec écart-types. * : $p < 0,05$)



Source : Auteur, 2020.

3.3.1 La résorption externe est un phénomène progressif dans le temps

A J7, nous n'observons pas de différence significative de quantité de résorption entre les différentes modalités opératoires. A partir de J21, nous observons que la modalité de la luxation seule présente une hausse significative de la quantité de résorption par rapport à l'effraction seule ($p = 0,0458$), un écart qui se creuse au temps J42 ($p = 0,0306$).

De plus, il existe une hausse significative pour la modalité opératoire de la luxation seule entre J7 et J42 ($p = 0,0498$).

Nous pouvons ainsi affirmer qu'il y a une progressivité à la hausse de la quantité de résorption avec le temps dans notre modèle de résorption

3.3.2 La luxation seule engendre plus de résorptions que l'effraction seule à J21 et J42

A J7, nous n'observons pas de différence significative entre les 3 modalités chirurgicales. Il existe une hausse significative de quantité de résorption radiculaire entre l'effraction seule et la luxation seule à J21 ($p = 0,0458$) et qui se creuse à J42 ($p = 0,0306$).

3.3.3 Le traumatisme parodontal est nécessaire à l'induction de résorptions

On observe à J42, que la quantité de résorption est nulle lorsque le traumatisme pulpaire seul a été induit alors que les deux modalités impliquant un traumatisme parodontal sont significativement supérieures. Il semble donc que le traumatisme parodontal soit nécessaire à l'induction de résorption jusqu'à J42.

L'interruption du stage de laboratoire ne m'a pas permis de poursuivre les investigations initialement prévues, notamment la caractérisation de l'inflammation pulpaire et sa participation éventuelle dans le système OPG/RANKL/RANK.

4 : Discussion

4.1 Le modèle murin de résorption

Nous proposons un modèle murin original de résorption radiculaire externe en traumatologie qui nous permet d'étudier cette pathologie et de mieux la comprendre. Ce modèle animal reproductible peut être utilisé pour approfondir un peu plus le rôle de l'inflammation pulpaire. Nous observons dans la littérature qu'il répond à une problématique biologique et thérapeutique contemporaine encore partiellement élucidée.

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 traumatisme parodontal, avec ou sans atteinte pulpaire. 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.³⁵

Une troisième phase de cicatrisation est décrite,³⁶ qu'il serait pertinent d'explorer, éventuellement sur des échantillons observés à des temps plus à distance de la chirurgie.

L'induction de résorptions externes dans notre modèle animal a été significativement positive à partir de J21 dans les modalités chirurgicales impliquant un traumatisme parodontal. La nécessité de la lésion parodontale est en concordance avec les travaux de Dreyer.³⁷

Effectivement, les ostéoclastes proviendraient ou seraient recrutés par le ligament parodontal comme le suggère l'étude de Shiraishi³⁸ et celles de Zhang³⁹.

Lors de cette étude, nous avons mis au point une méthode originale de quantification de la résorption radiculaire sur coupes histologiques. En effet, si la quantification de la résorption osseuse a été décrite⁴⁰, elle ne pouvait s'appliquer dans notre modèle, car elle ne permettait pas de prendre en compte la profondeur des résorptions dans la dentine. Or, le pronostic d'une dent atteinte de

³⁵ Wang et McCauley, « Osteoclasts and odontoclasts : signaling pathways to development and disease ».

³⁶ European society of endodontology et al., « European society of endodontology position statement : external cervical resorption ».

³⁷ Dreyer, Pierce, et Lindskog, « Hypothermic insult to the periodontium : a model for the study of aseptic tooth resorption ».

³⁸ Shiraishi et al., « A histopathological study of the role of periodontal ligament tissue in root resorption in the rat ».

³⁹ Zhang et al., « NLRP3 inflammasome mediates M1 macrophage polarization and IL-1 β production in inflammatory root resorption ».

⁴⁰ Baroukh et al., « Osteoclasts differentiate from resident precursors in an in vivo model of synchronized resorption : a temporal and spatial study in rats ».

résorption en clinique est directement lié à l'importance de la destruction du tissu dentinaire, les résorptions de surface ne mettant pas en péril la pérennité de la dent sur l'arcade.

Le ratio de la destruction tissulaire sur la quantité de dentine visible permet de s'affranchir de l'influence de l'axe de la coupe histologique. Naturellement, une analyse volumique par imagerie 3D serait encore plus pertinente, car elle permettrait un suivi longitudinal chez le même animal, ce qui réduirait le nombre d'animaux nécessaires. Les propriétés du micro-CT utilisé PERKIN ELMER n'ont pas permis une telle quantification. L'utilisation des nouveaux nano-CT ^{41 42} pourrait éventuellement permettre d'objectiver et quantifier les résorptions. Il pourrait également être intéressant de transposer notre modèle chez le rat, dont la taille des dents est supérieure. Toutefois, l'intérêt du modèle chez la souris réside dans la possibilité de le tester sur des souris KO, permettant à l'avenir d'explorer des éléments complémentaires sur les voies de contrôle des résorptions.

4.2 Rôle de l'inflammation et implication du système OPG/RANKL/RANK au sein de la pulpe

Il est intéressant de constater que l'effraction pulpaire, suivie d'un coiffage par un matériau à base d'oxyde de Zinc Eugénol n'est pas à l'origine de résorptions radiculaires externes. Ce résultat s'ajoute à ceux des modèles de lésion pulpaire suivie d'un coiffage par un matériau bioactif, qui ne sont pas connus pour entraîner des résorptions.^{43 44} A l'inverse, en cas d'induction de nécrose pulpaire, des résorptions radiculaires sont décrites.⁴⁵

Dans le cas où l'effraction pulpaire s'ajoute au traumatisme parodontal, il y a apparition de résorptions, mais dans une moindre mesure que lors d'un traumatisme parodontal seul, suggérant des propriétés modulatrices de l'inflammation pulpaire. Ce résultat n'est pas significatif et nécessiterait d'augmenter le nombre d'animaux pour être confirmé.

En effet, une immunomodulation pulpaire sur le recrutement des odontoclastes et de l'entretien de leur activité via le système OPG/RANKL/RANK semble plausible.

⁴¹ Torres-Ramos et al., « Root canal conicity estimation of primary maxillary central and lateral incisors-A study by Nano-CT ».

⁴² Orhan et al., « Evaluation of threshold values for root canal filling voids in micro-CT and nano-CT images ».

⁴³ Tran et al., « Effect of a calcium-silicate-based restorative cement on pulp repair ».

⁴⁴ Collignon et al., « Sclerostin deficiency promotes reparative dentinogenesis ».

⁴⁵ Dreyer, Pierce, et Lindskog, « Hypothermic insult to the periodontium : a model for the study of aseptic tooth resorption ».

La présence d'OPG dans la pulpe dentaire a très peu été étudiée, mais Kuntz a montré ex vivo sur des dents humaines un marquage à l'état basal dans la palissade odontoblastique, qui est accentué et plus diffus dans le tissu pulpaire à l'état inflammatoire sur les dents ayant subi un processus carieux.⁴⁶

In vitro, Kim montre que les cellules pulpaires humaines vont sécréter en présence de IL-1 α et TNF- α des marqueurs de l'ostéoclastogénèse tels que RANKL, M-CSF ou de la TRAP. Cette sécrétion semble passer par la voie de synthèse de la PGE2 car elle est inhibée en présence d'un inhibiteur de la phospholipase A2 impliquée dans la biosynthèse de la PGE2.⁴⁷

4.3 Perspectives

Il serait intéressant de caractériser précisément l'état pulpaire dans les trois modalités de traumatisme. En effet, il semble pertinent de mettre en corrélation le degré d'inflammation pulpaire, notamment en caractérisant l'expression de TNF- α et IL-1 β , 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 nécrose pulpaire pour éviter le développement des résorptions radiculaires.^{48,49} 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.⁵⁰

Au niveau des voies de signalisation, il a été montré qu'IL-1 β et TNF- α stimulent l'expression de RANKL, et par conséquent le recrutement d'odontoclastes.⁵¹ Il conviendrait donc de mettre en évidence le 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 étant également régulée par OPG, dont la production est stimulée par TNF- α , des analyses immunohistochimiques pour en vérifier l'expression au niveau des cellules pulpaires et parodontales seraient intéressantes.

⁴⁶ Kuntz et al., « An immunohistochemical study of osteoprotegerin in the human dental pulp ».

⁴⁷ Kim et al., « Effect of cytosolic phospholipase A2 on proinflammatory cytokine-induced bone resorptive genes including receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in human dental pulp cells ».

⁴⁸ Diangelis et al., « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 1, Fractures and luxations of permanent teeth ».

⁴⁹ Andersson et al., « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 2, Avulsion of permanent teeth ».

⁵⁰ Machado et al., « Management of progressive apical root resorption 13 years after dental trauma and primary endodontic treatment ».

⁵¹ Tyrovola et al., « Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system : a mini review ».

Enfin, un transfert du protocole du modèle vers des souris de type KO pourrait nous apporter davantage de réponses sur les voies de signalisation impliquées. Notamment sur les souris KO-OPG qui ont montré le développement de résorptions radiculaires précoces.⁵²

⁵² Liu et al., « Osteoprotegerin-knockout mice developed early onset root resorption ».

Conclusion

Ce travail propose un modèle de résorptions radiculaires chez la souris, qui pourrait permettre, en complétant ces résultats préliminaires de préciser le rôle de l'inflammation pulpaire dans le processus de résorptions, *via* la voie OPG/RANKL/RANK et éventuellement conduire à une meilleure prise en charge des traumatismes dentaires en clinique.

Bibliographie

- Abdallah, D., M.-L. Jourdain, J. Braux, C. Guillaume, S.-C. Gangloff, J. Jacquot, et F. Velard. « An optimized method to generate human active osteoclasts from peripheral blood monocytes ». *Frontiers in immunology* 9 (2018): 632. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00632>.
- 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 ». *Dental traumatology* 39, n° 6 (2012): 8. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2012.01125.x>.
- Andreasen, J. O. « Experimental dental traumatology : development of a model for external root resorption ». *Dental traumatology* 3, n° 6 (1987): 269-87. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.1987.tb00636.x>.
- . « External root resorption : its implication in dental traumatology, paedodontics, periodontics, orthodontics and endodontics ». *International endodontic journal* 18, n° 2 (1985): 109-18. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1985.tb00427.x>.
- Balto, K., R. White, R. Mueller, et P. Stashenko. « A mouse model of inflammatory root resorption induced by pulpal infection ». *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontology* 93, n° 4 (2002): 461-68. <https://doi.org/10.1067/moe.2002.122641>.
- Baroukh, B., M. Cherruau, C. Dobigny, D. Guez, et J. L. Saffar. « Osteoclasts differentiate from resident precursors in an in vivo model of synchronized resorption : a temporal and spatial study in rats ». *Bone* 27, n° 5 (2000): 627-34. [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(00\)00372-0](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(00)00372-0).
- Belibasakis, G. N., D. K. Rechenberg, et M. Zehnder. « The receptor activator of NF- κ B ligand-osteoprotegerin system in pulpal and periapical disease ». *International endodontic journal* 46, n° 2 (2013): 99-111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2012.02105.x>.
- 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>.
- Darcey, J., et A. Qualtrough. « Resorption. Part 1, Pathology, classification and aetiology ». *British dental journal* 214, n° 9 (2013): 439-51. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.431>.
- Diangelis, A. J., J. O. Andreasen, K. A. Ebeleseder, D. J. Kenny, M. Trope, A. Sigurdsson, L. Andersson, et al. « Guidelines for the management of traumatic dental injuries. 1, Fractures and luxations of permanent teeth ». *Dental traumatology* 39, n° 6 (2012): 11. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2011.01103.x>.

Dreyer, C. W., A. M. Pierce, et S. Lindskog. « Hypothermic insult to the periodontium : a model for the study of aseptic tooth resorption ». *Dental traumatology* 16, n° 1 (2000): 9-15. <https://doi.org/10.1034/j.1600-9657.2000.016001009.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>.

Fuss, Z., I. Tsesis, et S. Lin. « Root resorption – diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors ». *Dental traumatology* 19, n° 4 (2003): 175-82. <https://doi.org/10.1034/j.1600-9657.2003.00192.x>.

Grosborne, M. « Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes. Partie 2, Étude des mécanismes physiopathologiques de la résorption cervicale externe ». HAL CCSD, 2019.

Heithersay, G. S. « Management of tooth resorption ». *Australian dental journal* 52, n° Suppl. 1 (2007): S105-21.

Kim, Y.-S., H.-D. Lee, H.-W. Oh, E.-C. Kim, et K.-S. Min. « Effect of cytosolic phospholipase A2 on proinflammatory cytokine-induced bone resorptive genes including receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in human dental pulp cells ». *Journal of endodontics* 36, n° 4 (2010): 636-41. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.12.009>.

Kuntz, K. A., C. E. Brown, J. J. Legan, et A. H. Kafrawy. « An immunohistochemical study of osteoprotegerin in the human dental pulp ». *Journal of endodontics* 27, n° 11 (2001): 666-69. <https://doi.org/10.1097/00004770-200111000-00003>.

Kvinnslund, I., K. J. Heyeraas, et M. R. Byers. « Regeneration of calcitonin gene-related peptide immunoreactive nerves in replanted rat molars and their supporting tissues ». *Archives of oral biology* 36, n° 11 (1991): 815-26. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(91\)90031-O](https://doi.org/10.1016/0003-9969(91)90031-O).

Lagorsse, M. « Implication de la pulpe dans les résorptions radiculaires externes. Partie 1, Développement d'un modèle murin ». Thèse d'exercice, Université Paris Descartes, 2019. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02486138>.

Lam, R. « Epidemiology and outcomes of traumatic dental injuries : a review of the literature ». *Australian dental journal* 61, n° S1 (2016): 4-20. <https://doi.org/10.1111/adj.12395>.

Levin, L., E. C. Bryson, D. Caplan, et M. Trope. « Effect of topical alendronate on root resorption of dried replanted dog teeth ». *Dental traumatology* 17, n° 3 (2001): 120-26. <https://doi.org/10.1034/j.1600-9657.2001.017003120.x>.

Liu, Y., H. Du, Y. Wang, M. Liu, S. Deng, L. Fan, L. Zhang, Y. Sun, et Q. Zhang. « Osteoprotegerin-knockout mice developed early onset root resorption ». *Journal of endodontics* 42, n° 10 (2016): 1516-22. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.07.008>.

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.

Mangione, F. « Cell-based partial pulp regeneration in a porcine preclinical model ». Thèse de doctorat, Université Sorbonne Paris Cité, 2017. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02117873>.

Orhan, K., R. Jacobs, B. Celikten, Y. Huang, K. de Faria Vasconcelos, L. F. Nicolielo, A. Buyuksungur, et J. Van Dessel. « Evaluation of threshold values for root canal filling voids in micro-CT and nano-CT images ». *Scanning* 2018 (2018): 9437569. <https://doi.org/10.1155/2018/9437569>.

Patel, S., et N. Saberi. « The ins and outs of root resorption ». *British dental journal* 224, n° 9 (2018): 691-99. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2018.352>.

Seifi, M., B. Kazemi, S. Kabiri, et M. Badiie. « Analysis of transforming growth factor- β 1 gene expression in resorptive lacunae following orthodontic tooth movement : an animal survey ». *Cell journal (Yakhteh)* 19, n° 2 (2017). <https://doi.org/10.22074/cellj.2017.4218>.

Shimizu, M., M. Yamaguchi, S. Fujita, T. Utsunomiya, H. Yamamoto, et K. Kasai. « Interleukin-17/T-helper 17 cells in an atopic dermatitis mouse model aggravate orthodontic root resorption in dental pulp ». *European journal of oral sciences* 121, n° 2 (2013): 101-10. <https://doi.org/10.1111/eos.12024>.

Shiraishi, C., Y. Hara, Y. Abe, T. Ukai, et I. Kato. « A histopathological study of the role of periodontal ligament tissue in root resorption in the rat ». *Archives of oral biology* 46, n° 2 (2001): 99-107. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(00\)00112-6](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(00)00112-6).

Torres-Ramos, G., M. P. Lucisano, D. J. Blanco-Victorio, L. R. Ramírez-Sotelo, P. Nelson-Filho, R. A. B. Silva, et L. A. B. Silva. « Root canal conicity estimation of primary maxillary central and lateral incisors- A study by Nano-CT ». *International journal of paediatric dentistry* 30, n° 6 (2020): 764-74. <https://doi.org/10.1111/ipd.12642>.

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 due to dental trauma ». *Endodontic topics* 1, n° 1 (2002): 79-100. <https://doi.org/10.1034/j.1601-1546.2002.10106.x>.

Tyrovola, J. B., M. N. 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.

Université de Paris. « Plateforme d'imageries du vivant ». Consulté le 20 janvier 2021. <http://piv.parisdescartes.fr/>.

Wang, Z., et L. K. 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>.

Zhang, J., X. Liu, C. Wan, Y. Liu, Y. Wang, C. Meng, Y. Zhang, et C. Jiang. « NLRP3 inflammasome mediates M1 macrophage polarization and IL-1 β production in inflammatory root resorption ». *Journal of clinical periodontology* 47, n° 4 (2020): 451-60. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13258>.

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 : Photographie intrabuccale et radiographie rétro-alvéolaire d'une incisive maxillaire réimplantée après une avulsion traumatique.....	5
Figure 2 : Résorption radiculaire externe inflammatoire.....	5
Figure 3 : Photographies en microscopie électronique à balayage de lacunes de résorptions de tissu osseux (à gauche) et de tissu dentinaire (à droite).....	6
Figure 4 : Schéma récapitulatif de l'activation de la polarisation des macrophages en phénotype M1 pro-inflammatoire par les cellules hPDLs pré-traitées par une force mécanique	7
Figure 5 : Observation de résorptions radiculaires externes chez le cochon nain (mini-pig)	8
Figure 6 : Nombre d'ostéoclastes après mise en culture de splénocytes seuls, avec des cellules osseuses alvéolaires (ABCs=Alveolar Bone Cells) ou des cellules pulpaire (DPCs=Dental Pulp Cells)	9
Figure 7 : Comparaison de la transcription d'ARNm RANKL et OPG dans les cellules dentaires de la pulpe (DPCs= Dental Pulp Cells) et dans les cellules osseuses alvéolaires (ABCs=Alveolar Bone Cells)	9
Figure 8 : Modèle murin de résorption radiculaire externe.....	12
Figure 9 : Image d'une coupe micro-CT d'une molaire maxillaire de souris ayant subi une effraction pulpaire avec mise en place de matériau IRM	15
Figure 10 : Trichrome de Masson d'une première molaire maxillaire chez une souris, opérée des traumatismes pulpaire et parodontal, à J21	16
Figure 11 : Méthodologie de quantification de l'aire de la surface dentinaire radiculaire	17
Figure 12 : Méthodologie de quantification de l'aire des lacunes de résorptions.....	17
Figure 13 : Trichrome de Masson d'une coupe histologique de première molaire maxillaire de souris à J7 ayant subi un traumatisme parodontal	19
Figure 14 : Étude d'une première molaire maxillaire ayant subi un traumatisme parodontal, présentant une résorption de surface, à J21	20
Figure 15 : Étude d'une première molaire maxillaire ayant subi un double traumatisme, à J21	21
Figure 16 : Trichrome de Masson d'une coupe histologique d'une première molaire maxillaire ayant subi un traumatisme parodontal, à J42.....	22
Figure 17 : Coloration enzymatique TRAP en rapport avec les lacunes de résorptions	23
Figure 18 : Marquages immunohistochimiques de IL-1 β sur les premières molaires maxillaires de souris à J21.....	24
Figure 19 : Coupe histologique d'une lacune de résorption radiculaire inflammatoire active chez le singe	25

Figure 20 : Coupe histologique d'une dent ayant développé une résorption externe inflammatoire après une extraction-réimplantation chez le chien	26
Figure 21 : Dispositif orthodontique chez la souris	27
Figure 22 : Coupe histologique de lacunes de résorptions externes chez le rat après application de forces orthodontiques.....	27
Figure 23 : Modèle d'extraction réimplantation chez le rat	28
Figure 24 : Coupe histologique de lacunes de résorptions chez le rat.....	29
Figure 25 : Lacunes de résorption apicales, après infection endodontique chez la souris.....	30
Figure 26 : Coupe histologique d'une lacune de résorption radiculaire chez le rat après choc hypothermique pulpaire	31
Figure 27 : Résultats des quantifications statistiques de lacunes de résorptions selon les différents temps et modalités de chirurgie (moyennes avec écart-types. * : $p < 0,05$)	32

Table des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des animaux.....	11
Tableau 2 : Paramètres d'acquisition d'imagerie Micro-CT	13
Tableau 3 : Caractéristiques des anticorps.....	14
Tableau 4 : Histomorphométrie	15

Vu, le Directeur de thèse

Vu, le Doyen de l'UFR d'Odontologie - Montrouge

Professeur Sibylle VITAL

Professeur Louis MAMAN

Vu, le Président d'Université de Paris

Professeur Christine CLERICI

Pour le Président et par délégation,

Le Doyen Louis MAMAN

**Développement des résorptions radiculaires post-traumatiques :
étude de l'inflammation dans un modèle animal**

Sara Khedhir. Développement des résorptions radiculaires post-traumatiques : étude de l'inflammation dans un modèle animal. 45 p. : ill., tabl. Réf. bibliographiques p. 39-42.

Sous la direction de Mme le Professeur Sibylle Vital

Université de Paris
UFR d'Odontologie - Montrouge
1, rue Maurice Arnoux - 92120 Montrouge