



HAL
open science

L'impact de la thrombospondine 2 sur la cicatrisation osseuse et muqueuse du patient diabétique et sa prise en charge en chirurgie dentaire

Edgar Sobol

► **To cite this version:**

Edgar Sobol. L'impact de la thrombospondine 2 sur la cicatrisation osseuse et muqueuse du patient diabétique et sa prise en charge en chirurgie dentaire. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03866523

HAL Id: dumas-03866523

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03866523>

Submitted on 22 Nov 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
FACULTÉ DE SANTÉ
UFR D'ODONTOLOGIE - MONTROUGE

Année 2021

N° M060

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE
Présentée et soutenue publiquement le : 29 juin 2021

Par

Edgar SOBOL

**L'impact de la thrombospondine 2 sur la cicatrisation osseuse et
muqueuse du patient diabétique et sa prise en charge en chirurgie
dentaire**

Dirigée par Mme le Docteur Anne-Laure Ejeil

JURY

M. le Professeur Benjamin Salmon
Mme le Professeur Loredana Radoi
Mme le Docteur Anne-Laure Ejeil
M. le Docteur Sébastien Jungo

Président
Assesseur
Assesseur
Assesseur



Tableau des enseignants de l'UFR (Montrouge)

DÉPARTEMENTS	DISCIPLINES	PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS	MAÎTRES DE CONFÉRENCES
1. DÉVELOPPEMENT, CROISSANCE ET PRÉVENTION	ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE	Mme DURSUN Mme VITAL	Mme BONNET M. COURSON Mme VANDERZWALM
	ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE	Mme LE NORCY	Mme BENAHMED M. DUNGLAS Mme KAMOUN
	PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ ET ODONTOLOGIE LÉGALE	M. PIRNAY	Mme GERMA Mme SMAIL-FAUGERON
2. CHIRURGIE ORALE, PARODONTOLOGIE, BIOLOGIE ORALE	PARODONTOLOGIE	Mme COLOMBIER Mme GOSSET	M. BIOSSE DUPLAN M. BRUN (MCU associé) M. GUEZ
	CHIRURGIE ORALE	M. MAMAN Mme RADOÏ	Mme EJEIL M. GAULTIER M. HADIDA M. MOREAU M. NGUYEN Mme TAÏHI
	BIOLOGIE ORALE	Mme CHAUSSAIN M. GOGLY Mme SÉGUIER Mme POLIARD (PR)	Mme ANDRIQUE (MCU associée) M. ARRETO Mme BARDET (MCF) M. BOUCHET (MCF) Mme CHARDIN M. FERRE Mme GORIN 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. DUPAGNE (MCU associé) M. EID Mme FOUILLOUX-PATEY M. RENAULT M. RIGNON-BRET M. TRAMBA
	FONCTION-DYSFONCTION, IMAGERIE, BIOMATÉRIAUX	M. SALMON	M. ATTAL Mme BENBELAÏD 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 Mme FOLLIGUET M. LASFARGUES M. LAUTROU	M. LEVY M. PELLAT M. PIERRISNARD M. SAFFAR Mme WOLIKOW

Liste mise à jour le 25 mars 2021

Remerciements

À M. le Professeur Benjamin Salmon ; Docteur en Chirurgie dentaire ; Spécialiste qualifié en Chirurgie orale ; Docteur de l'Université Paris Descartes ; Habilité 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 ; Chef de service de l'hôpital Bretonneau

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites de présider mon jury de thèse d'exercice. Je tiens à vous remercier pour la qualité de votre enseignement et votre accompagnement tout au long de ma scolarité et de mon externat. Ce fut un plaisir et un honneur d'avoir pu apprendre et travailler à vos côtés dans votre service clinique.

À Mme le Professeur Loredana Radoï ; Docteur en Chirurgie dentaire ; Spécialiste qualifiée en Chirurgie orale ; Ancien Interne des Hôpitaux ; Docteur de l'Université Paris-Sud ; Habilitée à Diriger des Recherches ; Professeur des Universités, UFR d'Odontologie – Montrouge ; Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Je vous suis très reconnaissant d'avoir accepté de siéger à ce jury de thèse d'exercice. Je vous remercie pour la qualité de votre enseignement et l'intérêt que vous portez à mon travail. Veuillez trouver dans ce dernier l'expression de toute ma gratitude et de mon profond respect.

À Mme le Docteur Anne-Laure Ejeil ; 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

Vous m'avez fait l'immense honneur d'accepter la direction de ma thèse. Je vous suis très reconnaissant pour votre rigueur, votre aide, votre pédagogie et votre accompagnement tout au long de mes études. Je vous remercie de m'avoir transmis vos connaissances et votre passion de la chirurgie orale. Je me souviendrai de l'excellence de votre enseignement et de vos qualités humaines. J'espère pouvoir suivre au mieux l'exemple que vous êtes pour moi au cours de ma pratique. Que ce travail soit l'occasion pour moi de vous témoigner ma plus profonde reconnaissance.

**À M. le Docteur Sébastien Jungo ; Docteur en Chirurgie dentaire ; Assistant Hospitalo-Universitaire,
UFR d'Odontologie - Montrouge**

Je vous remercie chaleureusement d'avoir accepté de m'aider dans la rédaction de cette thèse. Je vous suis reconnaissant pour la gentillesse, le soutien et la confiance dont vous avez fait preuve à mon égard dans la direction de ce travail. Je souhaite, par ce travail, vous exprimer le témoignage de ma plus profonde gratitude pour votre enseignement clinique et théorique ainsi que pour votre grande participation à ma prise de confiance en moi et mon gain d'assurance au cours de ma pratique quotidienne.

Résumé et indexation en français et anglais

Résumé :

La réparation des plaies est l'un des processus biologiques les plus complexes qui se produit au cours de la vie humaine. Les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent la réparation tissulaire et son échec sont encore mal compris et les thérapeutiques actuelles sont limitées. Une mauvaise cicatrisation après un traumatisme, une chirurgie, une maladie aiguë ou chronique, affecte des millions de personnes dans le monde chaque année. Le diabète est l'une des maladies endocriniennes les plus répandues pouvant entraîner une altération de la cicatrisation des plaies. Malgré les risques associés à cette complication majeure du diabète, les stratégies de traitement des plaies diabétiques restent limitées. Des études réalisées en 2018 ont révélé que l'expression de la thrombospondine 2 induite par l'hyperglycémie au cours du diabète contribue à altérer la cicatrisation et la maturation des vaisseaux sanguins. Des travaux récents ont également démontré que sur des animaux manipulés génétiquement, certains matériaux peuvent entraîner un effet favorisant la cicatrisation. Le chirurgien dentiste sera de plus en plus souvent confronté à la prise en charge des patients diabétiques. De par ses actes plus ou moins invasifs, il devra régulièrement gérer la cicatrisation de ces patients et faire en sorte que celle-ci soit la meilleure possible. La cavité buccale étant un environnement complexe composé de plusieurs types de tissus, une compréhension approfondie de la biologie de la réparation et de la régénération sera nécessaire afin de comprendre comment optimiser la cicatrisation du patient diabétique. Cette thèse a pour but d'analyser comment la thrombospondine 2 altère la cicatrisation lors du diabète afin d'envisager le développement de matériaux permettant une amélioration de la cicatrisation chez les patients diabétiques. L'intérêt est également de définir une prise en charge optimale de ces patients par le chirurgien dentiste.

Discipline ou spécialité :

Médecine buccale

Mots clés français (fMeSH et Rameau) :

fMeSH : Cicatrisation de plaie ; Diabète

Rameau : Thrombospondines ; Maladies chroniques – Soins dentaires

Forme ou Genre :

fMeSH : Dissertation universitaire

Rameau : Thèses et écrits académiques

Abstract :

Wound repair is one of the most complex biological processes that occurs in human life. The cellular and molecular mechanisms that underlie tissue repair and its failure are still poorly understood and current therapies are limited. Poor healing after a trauma, a surgery and an acute or chronic disease affects millions of people worldwide each year. Diabetes is one of the most common endocrine diseases that can lead to impaired wound healing. Despite the risks associated with this major complication of diabetes, treatment strategies for diabetic wounds remain limited. Studies conducted in 2018 revealed that hyperglycaemia-induced thrombospondin-2 expression in diabetes contributes to impaired wound healing and blood vessel maturation. Recent work has also shown that in genetically manipulated animals, certain materials can have a healing effect. The dental surgeon will increasingly be confronted with the management of diabetic patients. Due to their more or less invasive procedures, they will regularly have to manage the healing of these patients and ensure that it is as good as possible. As the oral cavity is a complex environment composed of several types of tissues, a thorough understanding of the biology of repair and regeneration will be necessary in order to understand how to optimise the healing of the diabetic patient. The aim of this academic dissertation is to analyse how thrombospondin 2 alters wound healing in diabetes in order to consider the development of materials to improve wound healing in diabetic patients. The point of this study is also to define an optimal management of these patients by the dental surgeon.

Branches or specialty :

Oral Medicine

English keywords (MeSH) :

Wound Healing ; Diabetes Mellitus

Publication type (MeSH) :

Academic Dissertation

Liste des abréviations

- α -SMA : α -Smooth Muscle Actin
- Ad-DN Rac1 : Surexpression Dominante Négative de Rac1
- ADN : Acide Désoxyribonucléique
- AGEs : Produits finaux de glycation avancée
- ANXA5 : Annexin A5
- ANXA6 : Annexin A6
- ARNm : Acide Ribonucléique messenger
- β -Gal : β -Galactosidase
- BMAC : Bone Marrow-derived Angiogenic Cells
- BMP : Bone Morphogenetic Protein
- BMP2 : Bone Morphogenetic Protein 2
- BMP4 : Bone Morphogenetic Protein 4
- BMP7 : Bone Morphogenetic Protein 7
- BMU : Basic Multicellular Unit
- C-FMS : Macrophage Colony-Stimulating Factor Receptor 1
- CD31 : Cluster of Differentiation 31
- CD36 : Cluster of Differentiation 36
- CD47 : : Cluster of Differentiation 47
- CSF-1 : Colony Stimulation Factor 1
- DHE : Dihydroéthidium
- DN Rac1 : Dominant Négatif Rac1
- EGF : Epidermal Growth Factor
- eNOS : Oxyde Nitrique Synthase endothéliale
- FGF-1 : Fibroblast Growth Factor 1
- FGF-2 : Fibroblast Growth Factor 2
- FOXO1 : Forkhead Box Protein O1
- FT-MS : Spectométrie de Masse à Résonance Cyclotronique Ionique
- GDIR1 : Rho-GDP-Dissociation Inhibitor 1
- GDIR2 : Rho-GDP-Dissociation Inhibitor 2

- HbA1c : Hémoglobine glyquée
- HIF-1 : Hypoxia Inducible Factor 1
- IGF-1 : Insulin-like Growth Factor 1
- IL-1 : Interleukine 1
- IL-1 β : Interleukine 1 β
- IL-1R : Interleukine 1 Receptor
- IL-6 : Interleukine 6
- IL-18 : Interleukine 18
- JNK : c-Jun N-terminal Kinase
- KGF : Keratinocyte Growth Factor
- M-CSF : Macrophage Colony-Stimulating Factor
- MAP : Mitogen Activated Protein
- MCP-1 : Monocyte Chemoattractant Protein 1
- MEC : Matrice Extracellulaire
- MMP : Métalloprotéase Matricielle
- MMP1 : Métalloprotéase Matricielle 1
- MMP2 : Métalloprotéase Matricielle 2
- MMP8 : Métalloprotéase Matricielle 8
- MMP9 : Métalloprotéase Matricielle 9
- MnSOD : Mitochondrial Antioxidant Manganese Superoxide Dismutase
- MudPIT : Technologie d'Identification Multidimensionnelle des Protéines
- NF-kB : Nuclear Factor-kappa B
- NO : Oxyde Nitrique
- ODF : Osteoclast Differentiation Factor
- OPG : Ostéoprotégérine
- PDGF : Platelet Derived Growth Factor
- PTH : Parathormone
- RANK : Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B
- RANKL : Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand
- RBP4 : Retinol Binding Protein 4
- RGD : Tripeptide Arg-Gly-Asp
- ROS : Dérivés Réactifs de l'Oxygène
- RUNX2 : Runt-related Transcription Factor 2

- SAMU : Service d'Aide Médicale Urgente
- SDF1 : Stromal Cell-Derived Factor 1
- TGF- β : Transforming Growth Factor β
- TGF- β 1 : Transforming Growth Factor β 1
- TIMP : Tissue Inhibitor of Metalloproteinase
- TNF : Tumor Necrosis Factor
- TNF- α : Tumor Necrosis Factor α
- TNFR1 : Tumor Necrosis Factor Receptor 1
- TNFR2 : Tumor Necrosis Factor Receptor 2
- TSP : Thrombospondine
- TSP-1 : Thrombospondine 1
- TSP-2 : Thrombospondine 2
- TSP-3 : Thrombospondine 3
- TSP-4 : Thrombospondine 4
- TSP-5 : Thrombospondine 5
- VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
- Wnt : Wingless-related Integration site
- WT : contrôle
- WT/KO : Contrôle/Knock-Out

Table des matières

INTRODUCTION	3
1 : LA CICATRISATION MUQUEUSE ET OSSEUSE	6
1.1 LES ETAPES DE LA CICATRISATION	6
1.1.1 Généralités	6
1.1.2 La phase inflammatoire	8
1.1.3 La phase de prolifération ou néoformation tissulaire	11
1.1.4 La phase de remodelage tissulaire et de maturation	15
2 : DIABETE ET CICATRISATION	23
2.1 MECANISMES PATHOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES INFLUENÇANT LA CICATRISATION	23
2.2 LE DIABETE	25
2.2.1 Définition	25
2.2.2 Diabète de type 1	26
2.2.3 Diabète de type 2	26
2.2.4 Diabète gravidique, altération de la tolérance au glucose et de la glycémie à jeun	27
2.2.5 Changements pathogènes induits par les diabètes de type 1 et 2	27
2.2.6 Complications du diabète	29
2.2.7 Impact du diabète sur la cicatrisation	32
2.2.8 Prévention et traitement	41
2.3 PRISE EN CHARGE DES PATIENTS DIABETIQUES EN CHIRURGIE DENTAIRE	42
3 : THROMBOSPONDINE 2, DIABETE ET CICATRISATION	48
3.1 LES THROMBOSPONDINES : GENERALITES	48
3.2 LA THROMBOSPONDINE 2	49
3.2.1 Structure de la thrombospondine 2	49
3.2.2 Rôle de la thrombospondine 2 dans divers processus pathologiques	51
3.2.3 Régulation de l'expression de la thrombospondine 2	56
3.3 IMPACT DE LA THROMBOSPONDINE 2 SUR LA CICATRISATION DES PATIENTS DIABETIQUES	58
3.4 OPTIMISATION DE LA CICATRISATION DES PLAIES DIABETIQUES A L'AIDE DE MATERIAUX PRIVES DE THROMBOSPONDINE 2 : L'EXEMPLE DES HYDROGELS DERIVES DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE DECELLULARISEE TSP-2 KO	64
CONCLUSION	71
BIBLIOGRAPHIE	73
TABLE DES FIGURES	77

TABLE DES TABLEAUX.....	78
ANNEXES.....	79

Introduction

La réparation des plaies est l'un des processus biologiques les plus complexes qui se produit au cours de la vie humaine. Après une blessure, plusieurs voies biologiques sont immédiatement activées et sont synchronisées pour y répondre.

Les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent la réparation tissulaire et son échec sont encore mal compris et les thérapeutiques actuelles sont limitées. Une mauvaise cicatrisation après un traumatisme, une chirurgie, une maladie aiguë ou une maladie chronique affecte des millions de personnes dans le monde chaque année. Elle est la conséquence d'éléments mal régulés de la réponse de réparation des tissus sains, notamment l'inflammation, l'angiogenèse, le dépôt de matrice et le recrutement cellulaire. L'échec d'un ou plusieurs de ces processus cellulaires est généralement lié à une condition clinique sous-jacente, telle qu'une maladie vasculaire, un diabète ou un vieillissement, qui sont tous fréquemment associés à un retard de cicatrisation.

Le diabète est l'une des maladies endocriniennes les plus répandues ainsi que la troisième cause d'invalidité et de morbidité dans le monde occidental. En 2019, plus de 463 millions de personnes souffraient de diabète dans le monde et le nombre de diabétiques devrait encore augmenter dans les années à venir, atteignant les 700 millions en 2045.¹²

L'altération de la cicatrisation des plaies est une complication majeure du diabète et, malgré les risques associés, les stratégies de traitement des plaies diabétiques restent limitées. Cela est dû, en partie, à une compréhension incomplète des mécanismes physiopathologiques sous-jacents, y compris les effets de l'hyperglycémie sur les composants de la matrice extracellulaire. Cependant, des études ont été réalisées sur un des composants de la matrice extracellulaire impliqué dans la cicatrisation des plaies : la thrombospondine 2. Ces travaux ont révélé que l'expression de la thrombospondine 2 induite par l'hyperglycémie contribue à altérer la cicatrisation et la maturation des vaisseaux sanguins. Malgré son rôle dans la cicatrisation des plaies, l'expression de la thrombospondine 2 dans le diabète et sa fonction dans les plaies diabétiques restent encore mal connues.

¹ Organisation mondiale de la santé, « Diabète ».

² Fédération internationale du diabète, *Atlas du diabète de la FID*.

Des progrès significatifs ont tout de même été accomplis dans l'identification des molécules de signalisation impliquées dans la cicatrisation et de leurs mécanismes d'action dans les états sains et pathologiques. Par conséquent, il y a également un grand intérêt à utiliser ces signaux en thérapeutique afin d'accélérer ou de permettre une guérison qui autrement ne se produirait jamais naturellement. La limitation actuelle des thérapies impliquant des protéines, des gènes et des médicaments à petites molécules est en partie de trouver un vecteur permettant d'obtenir un bénéfice thérapeutique optimal. Aujourd'hui, les hydrogels sont l'un des vecteurs les plus utilisés.

Des travaux récents ont démontré que sur des animaux manipulés génétiquement, certains matériaux peuvent entraîner un effet favorisant la cicatrisation. Il est particulièrement intéressant de noter que le derme acellulaire dérivé d'animaux knock-out de thrombospondine 2 permet une colonisation cellulaire importante ainsi qu'une meilleure prolifération des cellules impliquées dans la cicatrisation par rapport à des contrôles non traités. Grâce à ces découvertes, des hydrogels ont été conçus à partir de peau décellularisée issue d'animaux knock-out de thrombospondine 2. Ces matériaux présentent des propriétés modifiées comme une amélioration de l'invasion cellulaire et de la cicatrisation des plaies diabétiques *in vivo*.³

Le chirurgien dentiste sera de plus en plus amené à prendre en charge des patients diabétiques. Plusieurs recommandations ont été établies afin d'adopter une prise en charge optimale de ces patients vis-à-vis des risques liés à leur pathologie. De par ses actes plus ou moins invasifs, le chirurgien dentiste devra régulièrement gérer la cicatrisation de ces patients et faire en sorte que celle-ci soit la meilleure possible.

La cavité buccale est un environnement complexe composé de plusieurs types de tissus, comprenant les tissus mous, les muscles, les os, la peau, les muqueuses et les dents. L'organe dentaire représente entre autres un exemple unique de tissu d'origine épithéliale qui traverse un conjonctif. L'orchestration de la cicatrisation des plaies et de la régénération des tissus dans ce milieu est difficile, car ces processus nécessitent la coordination de structures qui sont spatialement proches mais physiologiquement et structurellement disparates.

La recherche clinique est ralentie par un manque d'essais cliniques de haute qualité et à grande échelle pour démontrer l'efficacité des produits actuels sur une population de patients poly-pathologiques.

³ Morris et al., « Tunable hydrogels derived from genetically engineered extracellular matrix accelerate diabetic wound healing ».

En s'intéressant au lien entre la cicatrisation et le diabète, il est possible d'espérer optimiser la cicatrisation chez ces patients. La recherche de thérapeutiques additionnelles susceptibles d'améliorer les mécanismes physiologiques de réparation de l'organisme devra être basée sur une compréhension approfondie de la biologie de la réparation et de la régénération.

Le processus de cicatrisation muqueuse et osseuse en chirurgie dentaire mérite d'être explicité et fera l'objet d'une première partie afin de servir de support au déroulement de la suite de cette thèse.

Puis, le diabète et le lien entre cette pathologie et la cicatrisation seront analysés afin de comprendre comment le diabète conduit à des modifications et des perturbations des différents processus et mécanismes intervenant lors du phénomène physiologique de réparation tissulaire. La prise en charge du patient diabétique en chirurgie dentaire sera également abordée dans cette deuxième partie afin de rappeler les spécificités et les recommandations de la prise en charge de ces patients lors la réalisation de soins dentaires.

Enfin, la thrombospondine 2 et son rôle dans l'altération de la cicatrisation des patients diabétiques seront exposés dans une dernière partie. Il apparaît donc légitime d'étudier des hydrogels conçus à partir de la peau décellularisée issus d'animaux knock out en thrombospondine 2 pouvant améliorer la cicatrisation des plaies chez les diabétiques. Ces matériaux seraient une avancée prometteuse permettant une cicatrisation améliorée chez ces patients.⁴⁵

⁴ Morris et al.

⁵ Morris et al., « Decellularized materials derived from TSP2-KO mice promote enhanced neovascularization and integration in diabetic wounds ».

1 : La cicatrisation muqueuse et osseuse

1.1 Les étapes de la cicatrisation

1.1.1 Généralités

Initialement, une blessure provoque une rupture de la continuité vasculaire et donc une hémorragie (cf. figure 1). Cette dernière implique une extravasation de sérum et d'éléments figurés du sang et est suivie d'une agrégation plaquettaire lors de la coagulation dont l'aboutissement est la mise en place d'un caillot, matrice provisoire chimiotactique pour de nombreux types cellulaires.⁶

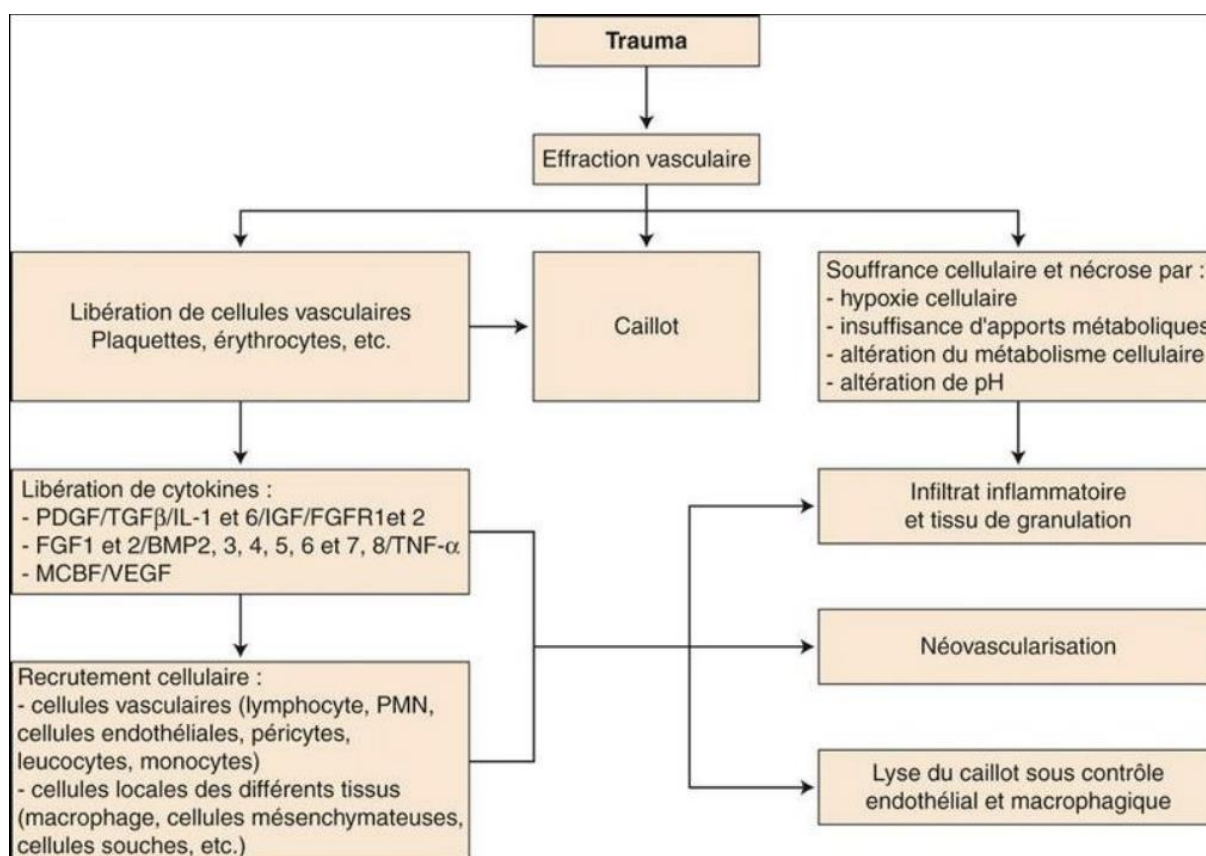
La cicatrisation est l'ensemble des processus biologiques dont le rôle est de permettre une reconstruction au moins partielle des tissus lésés. Déclenchée par de nombreux types d'événements locaux et / ou systémiques endommageant les organes et les tissus, elle suit une succession coordonnée de trois étapes bien définies : l'inflammation aiguë, la néoformation tissulaire (ou prolifération) et le remodelage tissulaire (ou maturation). Ces étapes impliquent la migration, la prolifération et l'expression phénotypique de nombreux types cellulaires, mais aussi de molécules jouant un rôle dans l'anabolisme général de l'organisme (glycosaminoglycanes, collagène, fibronectine...) ainsi que de nombreux messagers intracellulaires. Ce sont les facteurs de croissance ainsi que les interactions entre les cellules inflammatoires et la matrice extracellulaire (MEC) qui vont réguler toutes ces étapes.⁷ Elle est donc plus ou moins prévisible étant donné la multitude de mécanismes qu'elle implique : un défaut au niveau d'un des éléments de ces processus peut avoir un impact sur le pronostic de la cicatrisation et la réponse apportée au traumatisme.⁸

⁶ Reinke et Sorg, « Wound repair and regeneration ».

⁷ Diegelmann et Evans, « Wound healing ».

⁸ Eming, Martin, et Tomic-Canic, « Wound repair and regeneration ».

Figure 1 : Réaction après un traumatisme



PDGF = produit de dégradation du fibrinogène ; TGF = transforming growth factor ; IL = interleukine ; IGF = insulin-like growth factor ; FGF = fibroblast growth factor ; FGFR = FGF receptor ; BMP = bone morphogenetic protein ; TNF = tumor necrosis factor ; MCBF = M-CAT binding factor ; VEGF = vascular endothelial growth factor ; PMN = leucocytes polymorphonucléaires

Source : Nefussi, « Biologie de la réparation osseuse : technique d'augmentation du volume osseux implantable », 2011.

Généralement, après une blessure, on obtient une formation de tissu cicatriciel ne nuisant pas à la fonction du tissu concerné : cela correspond à la cicatrisation normale, la réparation. Elle ne permet pas le retour à l'état initial comme dans le cas de la régénération, rarement atteinte en pratique, où les tissus lésés sont reconstruits ad integrum.

La cicatrisation peut aussi se dérouler anormalement et être pathologique, c'est-à-dire qu'il y a une modification voire une perte de la fonction du tissu. C'est le cas lorsque la cicatrisation est hypertrophique, avec une cicatrice volumineuse, ou bien déficiente lorsqu'il y a une insuffisance de néoformation tissulaire.⁹

⁹ Diegelmann et Evans, « Wound healing ».

Dans le cadre de l'exercice de la chirurgie dentaire, la cicatrisation va concerner deux types de tissus : les tissus mous (muqueux) et les tissus durs (osseux). Bien que ces tissus soient anatomiquement distincts et impliquent par conséquent des mécanismes de cicatrisation différents, ces derniers suivent les trois grandes étapes de la cicatrisation qui sont les mêmes dans tous les organes et ne sont pas spécifiques à la cavité orale.¹⁰

1.1.2 La phase inflammatoire

1.1.2.1 Généralités

La phase inflammatoire non spécifique, débutant 24 à 48 heures après la blessure et caractérisée par une rougeur, un œdème, une chaleur et une douleur, est précédée par la phase hémorragique consistant à empêcher la perte de sang ainsi que l'expansion de la plaie. C'est lors d'une première phase exsudative qu'un caillot sanguin va être formé grâce aux plaquettes et aux cellules endothéliales lors du processus de coagulation permettant, en association avec une vasoconstriction induite par l'histamine, d'arrêter l'hémorragie. Le caillot formé et sa stabilité sont un des éléments clés pour une bonne cicatrisation. Il est composé d'un réseau de fibrine ainsi que de protéines de la MEC comme la fibronectine, la vitronectine mais aussi la thrombospondine (TSP) qui fera l'objet d'une partie de cette thèse, étant étroitement liée au bon déroulement de la cicatrisation.¹¹

Une fois le saignement arrêté, une seconde phase de résorption, va permettre à l'organisme d'empêcher la survenue d'une infection en assurant la détersion de la plaie pour une cicatrisation optimale. Pour ce faire, le caillot constitue un réservoir de facteurs de croissance et une matrice provisoire chimiotactique pour de nombreux types cellulaires : c'est la structure d'échafaudage pour la migration des leucocytes, kératinocytes, fibroblastes et cellules endothéliales.¹² Les cellules détruites vont libérer des cytokines pro-inflammatoires permettant la vasodilatation et ainsi l'arrivée de granulocytes qui, tout comme les neutrophiles et les monocytes, vont phagocyter les éléments endommagés. En plus d'être actrices de la phagocytose, ces cellules vont empêcher la plaie d'être envahie par des micro-organismes en fabriquant des protéases et des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS). Le caillot devient alors un tissu de granulation et les cellules inflammatoires ayant envahi ce

¹⁰ Gurtner et al., « Wound repair and regeneration ».

¹¹ Reinke et Sorg, « Wound repair and regeneration ».

¹² Reinke et Sorg.

dernier vont sécréter de nombreuses cytokines et facteurs de croissance recrutant ainsi les cellules nécessaires à l'étape suivante de la cicatrisation.¹³

Les perturbations vasculaires et la consommation élevée en oxygène par les cellules métaboliquement actives de la plaie conduisent à un microenvironnement hypoxique de la plaie. En réponse à l'hypoxie, l'expression du facteur de transcription HIF-1 (hypoxia inducible factor), principal régulateur de l'homéostasie de l'oxygène, est augmentée et permet d'induire l'expression de nombreux gènes stimulant la production de facteurs de croissance et de cytokines par les macrophages, les kératinocytes et les fibroblastes. L'expression accrue de HIF-1 favorise ainsi le processus de cicatrisation lors de plusieurs étapes essentielles telles que l'inflammation, l'angiogenèse, la néovascularisation, la fibroplasie et le remodelage tissulaire.¹⁴

Ces étapes intègrent des processus locaux multi-cellulaires incluant des réseaux de capillaires et de lymphatiques, différents types de cellules précurseurs et facteurs de croissance, des éléments de la MEC comme les différentes TSPs, des fibres nerveuses, un système local de communication à travers le chimiotactisme, des cytokines et chémokines, ainsi que des molécules d'adhésion interagissant avec les éléments matriciels. Tous ces éléments ont un effet combiné qui peut être additif, synergique ou antagoniste. C'est la MEC en régulant l'expression génique des facteurs de croissance et de leurs récepteurs qui va diriger l'ensemble de ces mécanismes lors des différentes phases. Une anomalie au niveau d'un de ces éléments, souvent des mécanismes régulant le chimiotactisme ou la prolifération et l'expression phénotypique des populations cellulaires mises en jeu, peut entraîner une altération voire l'échec de la cicatrisation d'un tissu.¹⁵

1.1.2.2 La phase inflammatoire concernant les tissus mous

Les études se basent sur la cicatrisation cutanée afin de comprendre comment celle-ci se déroule dans les tissus mous. Bien que la cicatrisation muqueuse soit légèrement différente de son homologue cutanée de part les aspects histologiques spécifiques propres à chaque structure, elle comporte des étapes analogues et suit les mêmes processus cellulaires et moléculaires précédemment décrits.

Dans les tissus muqueux, la cicatrisation se rapproche d'une régénération. Cela peut être dû à plusieurs particularités, comme un phénotype fibroblastique différent, la présence de bactéries stimulant la

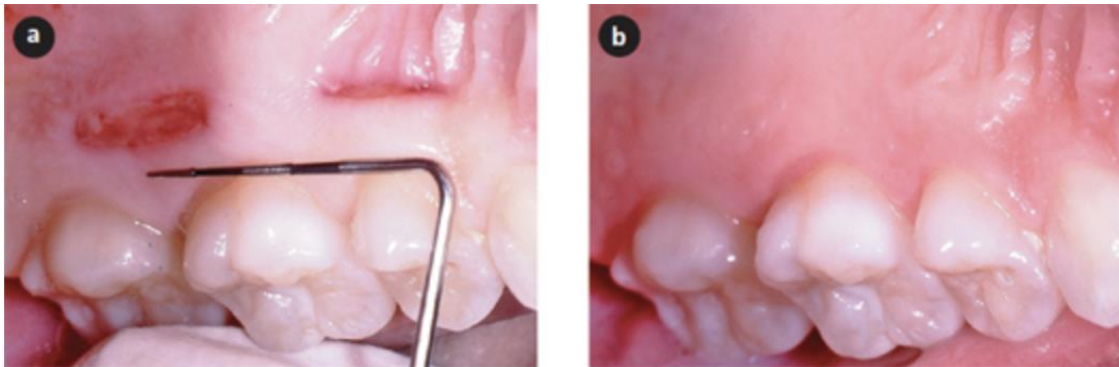
¹³ Diegelmann et Evans, « Wound healing ».

¹⁴ Stolzenburg-Veeser et Golubnitschaja, « Mini-encyclopaedia of the wound healing - opportunities for integrating multi-omic approaches into medical practice ».

¹⁵ Frost, « The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I ».

cicatrisation, ou encore l'environnement buccal humide ainsi que la présence de salive et la concentration élevée de facteurs de croissance comme l'EGF (epidermal growth factor) présents dans cette dernière. De plus, cette différence peut s'expliquer par le fait que la réponse inflammatoire est rapide et transitoire dans les plaies buccales tandis qu'elle est plus durable dans les plaies cutanées. La signalisation du TGF- β 1 (transforming growth factor β 1) est elle aussi plus transitoire dans la muqueuse buccale par rapport à la peau.¹⁶

Figure 2 : Les plaies palatines chez l'Homme guérissent vite et impliquent des cicatrices minimales



A = Guérison des plaies palatines humaines (10 x 2 mm), 3 jours (postérieur) et 7 jours (antérieur) après la blessure ; B = Guérison des mêmes blessures après 60 jours.

Source : Hannu et al., « Exploring scarless healing of oral soft tissues », 2011.

Larjava et al. (cf. figure 2) suggèrent que sur des tissus muqueux, dans l'environnement buccal, la cicatrisation est similaire à celle chez l'embryon et le fœtus du fait d'une réaction inflammatoire à résolution rapide. En effet, chez le fœtus, la peau guérit sans cicatrices jusqu'à la fin du troisième trimestre de la gestation. Les études montrent que la réparation des plaies sans cicatrice n'est pas induite par l'environnement embryonnaire mais plutôt par le tissu lui-même, permettant une guérison des plaies embryonnaires sans inflammation, à l'inverse de chez l'adulte. De plus, la peau embryonnaire favorise l'expression de molécules comme l'hyaluronane, la ténascine-C et une grande variété de collagènes, ainsi qu'une activité protéolytique élevée associée à de faibles niveaux de TGF- β 1. L'ensemble de ces constatations peuvent donc expliquer pourquoi les muqueuses orales semblent cicatriser plus vite que la peau.¹⁷

¹⁶ Larjava et al., « Exploring scarless healing of oral soft tissues ».

¹⁷ Larjava et al.

1.1.2.3 La phase inflammatoire concernant les tissus osseux

L'os alvéolaire est un tissu conjonctif calcifié constitué d'un os cortical (os compact) qui limite son volume externe et d'un os spongieux, moins dense, se situant dans ce volume. Etant une unité squelettique à part entière, son métabolisme est le même que celui de l'ensemble du tissu osseux, bien que présentant des particularités propres liées à la présence de dents, à son origine embryologique et à son mode d'ossification.¹⁸ En continuité avec l'os basal du maxillaire et celui de la mandibule, l'os alvéolaire se forme et se développe autour des germes dentaires : une agénésie dentaire entraînera une absence de formation d'os alvéolaire.

En plus des acteurs et des mécanismes intervenant lors du traumatisme des tissus mous, d'autres cellules vont être recrutées par les cellules immunitaires et inflammatoires suite à la rupture des espaces médullaires : des cellules-souches mésenchymateuses provenant du périoste, de la moelle osseuse, de la circulation et des tissus mous environnants. Ce recrutement s'effectue sous le contrôle de plusieurs facteurs (SDF1 (stromal cell-derived factor 1), BMP2 (bone morphogenetic protein 2), BMP7 (bone morphogenetic protein 7) et TGF- β (transforming growth factor β)). Le périoste, enveloppe blanchâtre, fibreuse et adhérente, recouvrant la corticale externe, est la source cellulaire la plus importante en précurseurs mésenchymateux recrutés sous le contrôle de récepteurs aux chémokines. C'est dans sa couche interne que l'on retrouve ces cellules, ainsi que les ostéoblastes, les ostéoclastes et les cellules pré-ostéoblastiques. Sa couche externe est quant à elle composée d'un réseau dense de fibres de collagène de type I. Le périoste joue un rôle clé dans la cicatrisation de l'os alvéolaire étant donné l'absence de muscles à proximité immédiate et le faible nombre d'espaces médullaires.¹⁹

1.1.3 La phase de prolifération ou néoformation tissulaire

1.1.3.1 Généralités

Au bout de deux ou trois jours après le traumatisme, la phase de prolifération débute. C'est lors de cette phase que le tissu de granulation est remplacé par un tissu cicatriciel et que la plaie est fermée. Cette étape, durant généralement 2 à 10 jours, est caractérisée par son intense mobilité du fait de nombreux mouvements cellulaires sur le site. Elle est spécifique et nécessite la disponibilité des types cellulaires requis ainsi que la présence des stimuli et des signaux pour recruter et stimuler ces cellules.²⁰

¹⁸ Marieb et Hoehn, *Anatomie et physiologie humaines. adaptation de la 8e éd. américaine.*

¹⁹ Lin et al., « Periosteum ».

²⁰ Reinke et Sorg, « Wound repair and regeneration ».

1.1.3.2 La néoformation tissulaire concernant les tissus mous

La migration précoce des fibroblastes est favorisée par la présence de récepteurs spécifiques à la surface de leur membrane cellulaire, les intégrines, et par l'angiogenèse fortement stimulée grâce aux macrophages. Cela permet d'attirer un grand nombre de fibroblastes, nécessaires à la formation du collagène, ainsi que des protéoglycanes et des myofibroblastes au niveau de la plaie.

Différents facteurs de croissance comme l'EGF, le PDGF (platelet derived growth factor), le TNF- α (tumor necrosis factor α) et le TGF- β , libérés principalement par les plaquettes et les macrophages et présents dans la zone cicatricielle, vont encadrer ce processus et permettre la synthèse de la MEC et son remodelage par les fibroblastes.²¹ A ces facteurs s'ajoute l'action agoniste des différents enzymes protéolytiques produits majoritairement par les fibroblastes ainsi que des dérivés de la plasmine. La MEC est alors composée dans un premier temps de collagène de type III puis progressivement de collagène de type I.

En même temps que la fibroplasie a lieu, de nombreux vaisseaux sanguins vont se former et vont permettre ainsi la restauration de la perfusion vasculaire : c'est l'angiogenèse. Cette dernière est induite par l'hypoxie du tissu et est stimulée, via la migration ainsi que la prolifération et la maturation des cellules endothéliales à partir des vaisseaux sains les plus proches de la zone cicatricielle, par des facteurs proangiogéniques (comme le VEGF (vascular endothelial growth factor)) et les cytokines produites par les plaquettes.²² Les cellules de l'infiltrat inflammatoire et les cellules endothéliales vont lyser le caillot en transformant le plasminogène en plasmine. La moelle osseuse participe aussi à la néovascularisation du site car elle fournit les cellules progénitrices endothéliales. Dès le cinquième jour de la cicatrisation, un néo-réseau vasculaire indifférencié se développe.²³

La matrice transitoire formée, n'ayant pas encore l'organisation de celle du tissu mature, va servir de support à la migration des cellules et va permettre au tissu de retrouver progressivement sa structure ainsi que sa fonction. Elle correspond initialement à une fibrose comportant de nombreux fibroblastes et une trame fibrillaire lâche en périphérie.

Le bourgeon charnu, ou infiltrat cellulaire cicatriciel, est constitué d'une trame fibrillaire œdémateuse lâche associée à un néo-réseau vasculaire, des fibroblastes, et un infiltrat inflammatoire résiduel composé des monocytes, des lymphocytes et des polynucléaires emprisonnés dans la fibrine.

²¹ Diegelmann et Evans, « Wound healing ».

²² Diegelmann et Evans.

²³ Reinke et Sorg, « Wound repair and regeneration ».

S'ensuit une contraction de la plaie permise grâce à certains fibroblastes se différenciant en myofibroblastes. Ces derniers sont capables d'initier une contraction et, par le biais d'interactions complexes entre les protéines de la MEC et leur cytosquelette, de la transmettre au tissu. On obtient ainsi le rapprochement des berges de la plaie.

Dans le même temps, une épithélialisation des berges est obtenue suite à la migration et à la prolifération des cellules épithéliales sous le contrôle de l'EGF, le KGF (keratinocyte growth factor) ainsi que les TGF- α et TGF- β produits par les kératinocytes ou bien les fibroblastes eux-mêmes. La fermeture épithéliale de la plaie est alors obtenue grâce à la mise en place d'une monocouche de kératinocytes. Ces derniers vont se multiplier et se différencier afin de former progressivement une membrane basale, aboutissant à la formation d'un pont épithélial.²⁴

Les propriétés du tissu mature seront acquises lors de la troisième phase, dite de maturation, au cours de laquelle le tissu cicatriciel résultant de la phase de néoformation tissulaire sera remodelé.

1.1.3.3 La néoformation tissulaire concernant les tissus osseux

Dans le cas des tissus osseux, des cellules provenant de deux grandes lignées vont entrer en jeu, en plus des différents acteurs précédemment cités pour les tissus mous, afin de remplacer le tissu de granulation par de l'os immature.

La première lignée, ostéoblastique, est celle des cellules ostéoprogénitrices dérivant des cellules mésenchymateuses primitives et formant une population de cellules souches. Ces cellules pourront par la suite se différencier en ostéoblastes, ostéocytes et cellules bordantes. Elles recouvrent les surfaces osseuses et sont plus actives lors de la formation osseuse ou du remaniement osseux.

La deuxième lignée, ostéoclastique, implique des cellules issues de la lignée myéloïde du système hématopoïétique dont le rôle principal est la résorption osseuse : les ostéoclastes. C'est dans la lacune de Howship créée par ces derniers afin de limiter un changement de pH à une zone précise que la déminéralisation va se produire. La portion minérale de l'os est dissoute par des acides organiques à l'intérieur des vacuoles des ostéoclastes tandis que la portion organique est dissoute par des hydrolases acides sécrétées par ces mêmes cellules.²⁵

²⁴ Sorbonne université, « Orthopédie - questions d'internat ».

²⁵ Tatsumi et al., « Targeted ablation of osteocytes induces osteoporosis with defective mechanotransduction ».

Chacune de ces deux lignées vont impliquer des précurseurs communs à d'autres types cellulaires, et donc des facteurs de transcription et des voies de signalisation : les chondrocytes, les myocytes et les adipocytes pour la lignée ostéoblastique, ainsi que les macrophages et les cellules dendritiques pour la lignée ostéoclastique.

Les ostéoblastes, qui synthétisent aussi l'ostéocalcine, l'ostéopontine, des molécules d'adhésion, des protéoglycane et des facteurs de croissance, ont pour principale fonction de synthétiser une matrice osseuse puis de la minéraliser. Cela ne sera possible que si la plaie osseuse est parfaitement immobile et pas trop étendue.

De plus, l'inflammation doit pouvoir être résolue : la phase inflammatoire précède la phase de néoformation tissulaire doit être brève et intense. En effet, la persistance de l'inflammation favorise la résorption osseuse rendant impossible une bonne cicatrisation.

De même, la réponse immunitaire innée associée à l'inflammation va entretenir et amplifier cette dernière par la libération de médiateurs inflammatoires, augmentant le recrutement de neutrophiles et macrophages, eux-mêmes produisant des cytokines pro-inflammatoires.²⁶ Une forte activité ostéoclastique, stimulée par l'accumulation locale de cytokines favorisant l'inflammation ainsi que par une concentration élevée de RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) provenant des lymphocytes B et T, est contraire à l'activité ostéoblastique nécessaire au remplacement du tissu de granulation par de l'os immature.²⁷

Même si ces conditions sont satisfaites, l'activité et la différenciation des ostéoblastes peut être modulée par de nombreuses molécules.

Certaines, comme la parathormone (PTH) sont impliquées dans l'augmentation de la formation osseuse en agissant directement sur les ostéoblastes tout comme les molécules de la famille des BMPs (bone morphogenetic protein) qui permettent de réguler leur différenciation et leur apoptose. Quelques protéines de cette famille vont par ailleurs pouvoir favoriser le processus d'élaboration de tissu osseux en travaillant en synergie avec le VEGF.

D'autres régulations peuvent s'effectuer en amont, au niveau de la prolifération et de la différenciation des cellules ostéoprogénitrices sous l'action du TGF- β , ou encore de façon indirecte via des voies de signalisation dans le cas de la famille Wingless-related integration site (voie Wnt) où les protéines Wnt jouent un rôle paracrine par leur liaison à un récepteur complexe. En inhibant cette cascade de signalisation, la sclerostine va diminuer la formation osseuse. Enfin, plusieurs facteurs de croissance,

²⁶ Liu et al., « Inflammation, mesenchymal stem cells and bone regeneration ».

²⁷ Teng et al., « Functional human t-cell immunity and osteoprotegerin ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection ».

comme l'EGF ou l'IGF-1 (insulin-like growth factor 1), ou d'autres cytokines peuvent modifier et moduler l'élaboration de la matrice osseuse par les ostéoblastes lors de cette étape.²⁸

A la fin de cette phase, du fait d'une ossification majoritairement membranaire, l'os obtenu est un os non lamellaire et immature.

1.1.4 La phase de remodelage tissulaire et de maturation

1.1.4.1 Généralités

Cette troisième et dernière phase est tardive et longue. Elle implique, après la fermeture de la plaie, un remodelage constant et progressif de la MEC durant plusieurs mois, parfois des années. Le tissu cicatriciel va diminuer de plus en plus, bien qu'il en subsiste souvent au niveau de la plaie, et une structure collagénique plus dense ainsi qu'un réseau vasculaire mieux organisé vont être élaborés.²⁹

Le remodelage matriciel fait intervenir différentes métalloprotéinases ainsi que plusieurs enzymes et leurs inhibiteurs. Ce phénomène est rendu possible par l'équilibre entre les phénomènes cataboliques et anaboliques au niveau de la zone cicatricielle. Dans le cas du remodelage osseux, c'est lors de cette phase que l'os immature sera remplacé par de l'os mature et que le tissu osseux sera réorganisé en os cortical et trabéculaire grâce aux lignées ostéoblastiques et ostéoclastiques ainsi qu'aux autres mécanismes auxquelles elles sont associées.

1.1.4.2 Le remodelage tissulaire concernant les tissus mous

Durant cette phase débutant deux semaines après le trauma et pouvant s'étaler sur plusieurs mois, les métalloprotéases matricielles (MMPs) sous contrôle de leurs inhibiteurs physiologiques appelés TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases) vont intervenir dans la synthèse et la maturation de MEC en dégradant progressivement l'acide hyaluronique et la fibronectine.³⁰ En parallèle, le diamètre des faisceaux de collagène va augmenter et ce dernier, jusqu'alors majoritairement de type III, est remplacé progressivement par du type I.

²⁸ Liu et al., « Inflammation, mesenchymal stem cells and bone regeneration ».

²⁹ Reinke et Sorg, « Wound repair and regeneration ».

³⁰ Rivera et al., « Le système MMP/TIMP dans le système nerveux ».

Pendant sa maturation, le collagène nouvellement formé va subir des modifications rendant ce dernier plus orienté et organisé en maillage structuré : on obtient un réseau de fibres stabilisé plus difficile à dégrader composé de glycosaminoglycanes et de protéoglycanes.

Enfin, suite à la diminution de la prolifération cellulaire et au départ ou à l'apoptose des cellules endothéliales, des macrophages et des myofibroblastes, le nombre de cellules présentes dans la zone cicatricielle va fortement chuter. Les capillaires sanguins nouvellement formés vont régresser permettant de retrouver ainsi un niveau normal de densité vasculaire tandis que la formation d'un nouveau réseau de neurones sensoriels donne lieu à une restauration de la sensibilité.

Au cours du processus de cicatrisation, on obtient le plus souvent une réparation plutôt qu'une régénération. C'est pour cela qu'un tissu cicatriciel subsiste généralement au niveau de la plaie, tissu compatible toutefois avec une fermeture rapide, durable et performante de cette dernière empêchant la diffusion de micro-organismes.³¹

1.1.4.3 Le remodelage tissulaire concernant le tissu osseux

Cette dernière étape implique la succession de phases de résorption et d'apposition de manière coordonnée dans le temps et l'espace. Afin d'initier le remodelage osseux, les ostéoclastes vont pouvoir suivre deux voies de différenciation : la voie physiologique ou la voie des cytokines.

Dans le cas de la voie physiologique (cf. figure 3), les ostéoblastes et les cellules stromales de la moelle osseuse stimulés par différents facteurs (comme la PTH par exemple) vont synthétiser une molécule de la famille du TNF (tumor necrosis factor) ligand. Cette molécule, exprimée au niveau de la surface membranaire des ostéoblastes, présente une forme soluble sRANKL ainsi qu'une forme membranaire RANKL ou ODF (osteoclast differentiation factor).

Les ostéoblastes et les cellules stromales vont de plus sécréter une protéine chémoattractive pour les précurseurs ostéoclastiques, la chémokine MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1), ainsi qu'une cytokine appelée M-CSF (macrophage colony-stimulating factor). Les précurseurs vont quitter la circulation afin de rejoindre l'environnement osseux. C'est au contact de l'os que l'ostéoclaste inactif, résultant de la fusion des précurseurs en une cellule multinucléée, va devenir actif et ainsi être capable

³¹ Gurtner et al., « Wound repair and regeneration ».

de résorber le tissu osseux grâce à certaines molécules, comme la cathepsine K, qu'on ne retrouve en grande quantité que chez ces cellules.

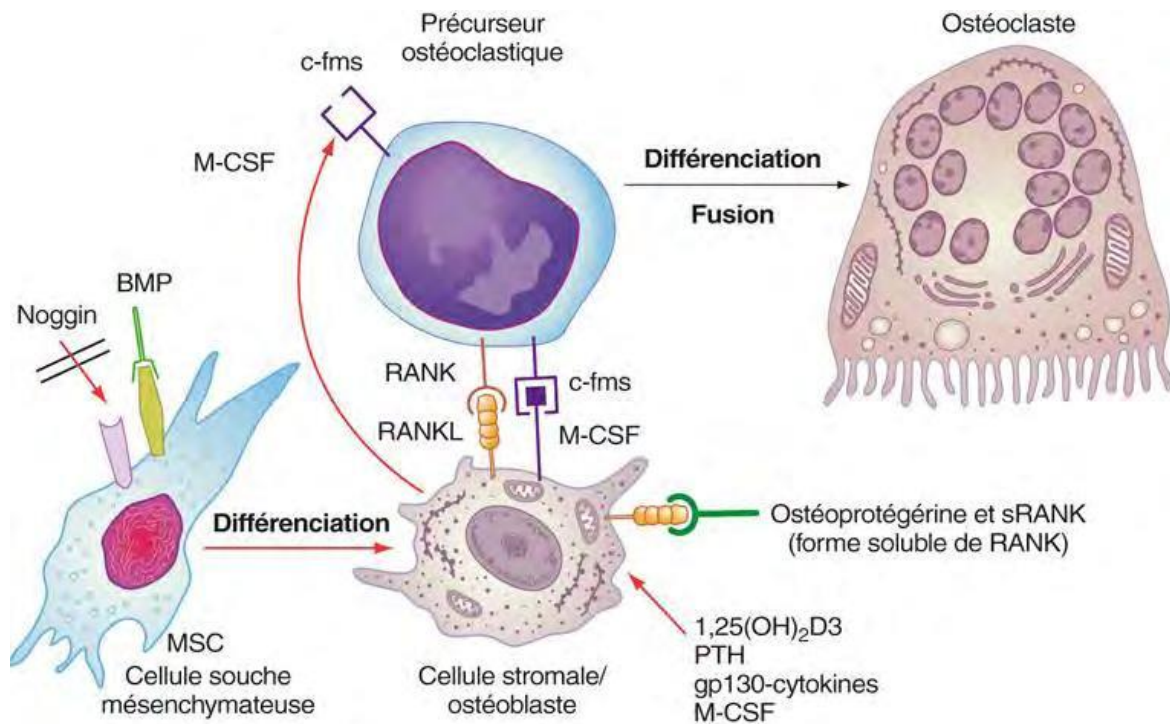
La différenciation ostéoclastique s'effectue grâce à la liaison de RANKL au récepteur RANK (receptor activator of nuclear factor kappa-B), de la famille des récepteurs TNF, ainsi que celle de M-CSF au récepteur C-FMS (macrophage colony-stimulating factor receptor 1). Ces deux récepteurs sont présents à la surface membranaire des précurseurs ostéoclastiques. RANKL et M-CSF vont augmenter la prolifération des précurseurs ostéoclastiques et stimuler leur différenciation afin d'obtenir des ostéoclastes matures et efficaces dans leur rôle de résorption.

La forme soluble sRANKL ainsi que l'ostéoprotégérine (OPG), en se liant au récepteur RANK, vont quant à elles permettre aux ostéoblastes qui les synthétisent d'inhiber la différenciation des précurseurs ostéoclastiques. En synthétisant la forme membranaire RANKL, activant la différenciation, et la forme soluble sRANKL, l'inhibant, les ostéoblastes régulent ce processus via le ratio RANKL/OPG. Ce ratio peut aussi être modifié par de nombreuses molécules pro ou anti-resorbantes.³²

Enfin, ces mécanismes sont aussi sous l'influence des molécules de la famille des BMPs notamment BMP4 (bone morphogenetic protein 4) dont une concentration élevée favorise une prolifération cellulaire tandis qu'une concentration faible favorise une différenciation cellulaire. Noggin, protéine inhibitrice de plusieurs BMPs, influera elle aussi sur ces mécanismes en se liant et en inactivant les protéines de cette famille, comme BMP4 par exemple.

³² Raggatt et Partridge, « Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling ».

Figure 3 : Différenciation et activation des ostéoclastes par couplage ostéoblaste / ostéoclaste au cours du remaniement physiologique



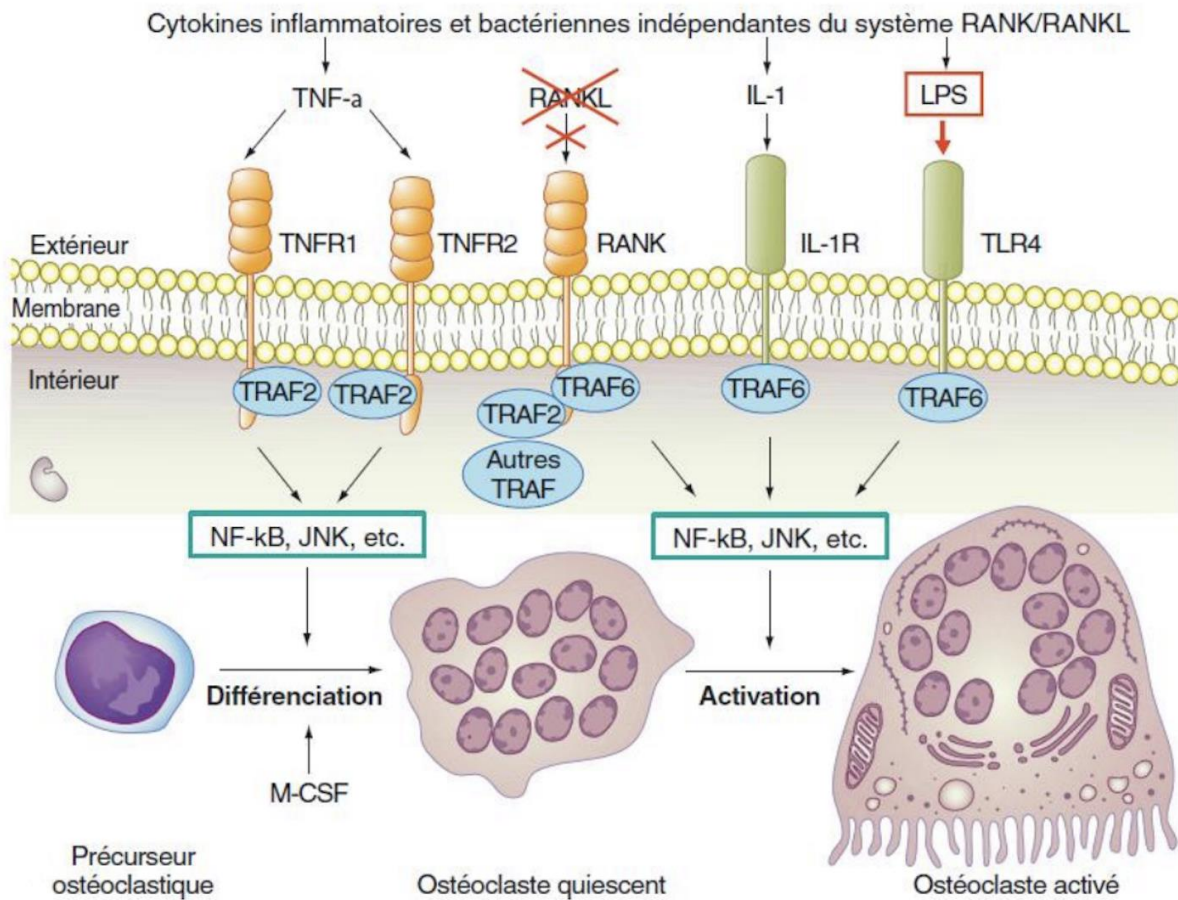
Source : Takahashi et al., *Principles of bone biology*. 2nd ed., 2002.

Certaines molécules pro-résorbantes sont des cytokines présentes durant l'inflammation et vont entraîner l'activation de la cellule ostéoclastique à travers la voie des cytokines (cf. figure 4). Le TNF- α ou encore l'interleukine 1 (IL-1) vont être libérés par les lymphocytes et les macrophages présents lors des phénomènes inflammatoires. Le TNF- α se lie à un de ses récepteurs TNFR1 (tumor necrosis factor receptor 1) et TNFR2 (tumor necrosis factor receptor 2)³³ et provoque, en présence de M-CSF, la différenciation du précurseur ostéoblastique en ostéoclaste inactif. Ce dernier devient alors actif suite à l'activation de protéines comme NF- κ B (nuclear factor-kappa B) ou JNK (c-Jun N-terminal kinase) due à la liaison de l'IL-1 à son récepteur de type 1 (IL-1R).³⁴

³³ Thomas et Puleo, « Infection, inflammation, and bone regeneration ».

³⁴ Feng et McDonald, « Disorders of bone remodeling ».

Figure 4 : Différenciation et activation des ostéoclastes par des cytokines inflammatoires



Source : Takahashi et al., *Principles of bone biology*. 2nd ed., 2002.

Les ostéoblastes vont quant à eux se différencier sous le contrôle des facteurs de transcription RUNX2 (runt-related transcription factor 2) et Ostérix. Permettant l'activation de la sialoprotéine, l'ostéopontine et le collagène de type 1, RUNX2 est, au stade embryonnaire, un facteur de différenciation pour l'ostéoblaste et le chondroblaste ainsi que, à l'âge adulte, un activateur de la fonction ostéoblastique.

L'ensemble de ces processus est orchestré par les ostéocytes. Ce sont des ostéoblastes qui sont incorporés au sein même du tissu osseux, dans des lacunes appelées ostéoplastes, et qui composent majoritairement le tissu mature. Ils forment un réseau cellulaire et sont sensibles aux stimuli mécaniques : ce sont eux qui vont communiquer aux autres cellules osseuses le besoin d'augmenter ou de diminuer la formation osseuse lors de l'adaptation fonctionnelle ou de lésions traumatiques. Grâce à leurs prolongements dendritiques, ils traduisent le message mécanique dû aux potentiels

électriques générés par les déformations cellulaires suite aux contraintes en signal biologique. Ils ont aussi pour rôle de maintenir l'homéostasie du calcium plasmatique.

Afin de contrôler le remodelage osseux lors de la cicatrisation, les ostéocytes synthétisent RANKL qui, comme précédemment décrit, favorise l'activité ostéoclastique, mais aussi la sclérostine, protéine inhibant la formation osseuse. Ils peuvent aussi sécréter du TGF- β augmentant ainsi la synthèse d'OPG par les ostéoblastes afin d'inhiber la différenciation ostéoclastique. Le tissu est donc adapté aux contraintes mécaniques environnantes : une augmentation de celles-ci entraîne une formation osseuse supérieure à la résorption, et inversement dans le cas de leur diminution.³⁵

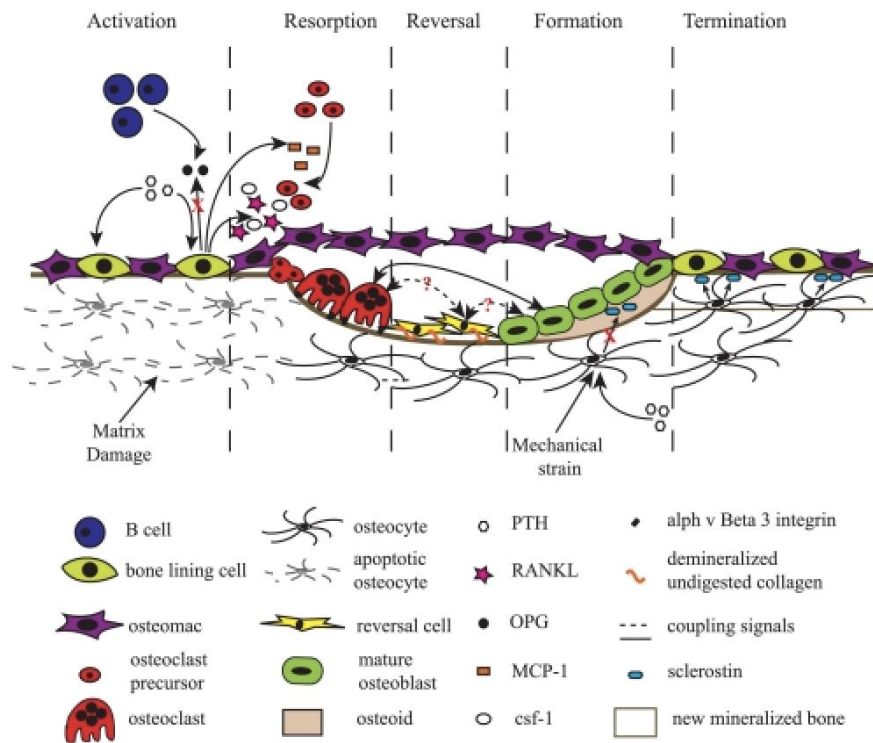
Le remodelage osseux se déroule en 5 phases : Activation, Résorption, Inversion, Formation et Quiescence (cf. figure 5). Il implique la formation de BMUs (basic multicellular unit) qui correspondent à la structure anatomique temporaire composée d'ostéoclastes et d'ostéoblastes. Les ostéoclastes se trouvent à l'avant de la BMU et constituent le front de résorption. Le milieu de la BMU est occupé par des cellules de reversion qui ont pour rôle de préparer la surface osseuse à une nouvelle apposition osseuse. Le tissu ostéoïde est sécrété par les ostéoblastes se trouvant à la fin de la BMU, puis il est minéralisé par ces derniers.³⁶

Avant l'activation, la surface de l'os au repos est recouverte de cellules de revêtement osseux, y compris des préostéoblastes intercalés avec des ostéomacs (macrophages tissulaires résidents des surfaces endo-osseuses ou périostées). Les lymphocytes B sont présents dans la moelle osseuse et sécrètent de l'OPG supprimant ainsi l'ostéoclastogénèse.

³⁵ Raggatt et Partridge, « Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling ».

³⁶ Raggatt et Partridge.

Figure 5 : Représentation schématique d'une BMU et du processus de remodelage osseux associé



Source : Raggatt et Partridge, « Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling », 2010.

Lors de l'activation, les ostéocytes vont capter le signal indiquant une nécessité de remodelage osseux. C'est un signal endocrinien impliquant la liaison de la PTH à son récepteur sur les préostéoblastes. En transmettant ce signal, les ostéocytes induisent la synthèse de MCP-1 par les ostéoblastes ce qui entraîne la cascade d'activation précédemment décrite aboutissant à l'activation des ostéoclastes. De plus, la dégradation de la matrice osseuse minéralisée entraîne une apoptose ostéocytaire localisée, réduisant la concentration locale de TGF- β et donc l'inhibition de l'ostéoclastogénèse.

La phase de résorption débute alors avec la dégradation du tissu ostéoïde, fine couche non minéralisée à la surface osseuse. Cette couche est dégradée par les MMPs produites par les ostéoblastes car les ostéoclastes ne peuvent la résorber. L'expression d'OPG par les ostéoblastes est diminuée tandis que celle du facteur de stimulation des colonies de macrophages CSF-1 (colony stimulation factor 1) et de RANKL est augmentée, favorisant ainsi la prolifération des précurseurs ostéoclastiques et la différenciation des ostéoclastes matures. Une fois le tissu ostéoïde résorbé, les ostéoclastes vont pouvoir accéder à l'os minéralisé et y adhérer grâce aux séquences RGD (tripeptide Arg-Gly-Asp) de certaines protéines comme la TSP et la fibronectine. Ces séquences sont un tripeptide permettant la fixation de certaines intégrines.

Suite à l'adhésion des ostéoclastes, une zone de scellement est créée entre la matrice osseuse et la bordure en brosse de ces derniers. Lors de la phase de résorption active, ils vont relarguer des ions H⁺ au niveau de la zone de scellement et ainsi acidifier et dissoudre la phase minérale de l'os. Les ostéoclastes vont aussi sécréter des collagénases et des MMPs afin de résorber la phase organique. La lacune osseuse alors créée est appelée lacune de Howship. Lors de phases migratoires, les ostéoclastes vont se déplacer sur la surface osseuse jusqu'au prochain site à résorber. Enfin, après un certain nombre de cycles, ils rentrent en apoptose.³⁷

Puis, la phase d'inversion débute et consiste à nettoyer la surface résorbée des produits de résorption (collagène déminéralisé non digéré majoritairement). Ce nettoyage, réalisé par les ostéoblastes et les macrophages, permet à la BMU de passer à la phase suivante suite à la génération de signaux de transition inhibant la résorption au profit de la formation osseuse.³⁸

Lors de la phase de formation, la PTH et l'activation mécanique des ostéocytes réduisent l'expression de la sclérostine, ce qui favorise la formation osseuse dirigée par la voie Wnt. Les cellules ostéoprogénitrices vont former la ligne cémentante, couche monocellulaire, après avoir été attirées dans la lacune osseuse par différents médiateurs. Elles se différencient ensuite en ostéoblastes qui, lors de l'apposition, vont sécréter un tissu ostéoïde non minéralisé ainsi que différents facteurs de croissance et des protéines comme l'OPG et l'ostéopontine. Lorsque le tissu ostéoïde aura atteint une épaisseur d'environ 6 microns, les ostéoblastes vont le minéraliser en y incorporant des cristaux d'hydroxyapatite. Pour ce faire, ils vont déverser des phosphatases alcalines dans la MEC provoquant une augmentation locale de la concentration en ions phosphates et calcium.³⁹

Pendant la phase de quiescence, la sclérostine est de nouveau exprimée et la formation osseuse cesse. Plusieurs ostéoblastes entrent en apoptose, d'autres deviennent des cellules bordantes libérant minute par minute le calcium des os tandis que certains deviennent des ostéocytes en se retrouvant inclus dans la matrice minéralisée. L'environnement de surface osseuse au repos est rétabli et maintenu jusqu'à ce que la prochaine vague de remodelage soit initiée.⁴⁰ Le remaniement osseux prend fin, aboutissant à des espaces médullaires plus importants, au dépend du volume osseux.⁴¹

³⁷ Raggatt et Partridge.

³⁸ Raggatt et Partridge.

³⁹ Raggatt et Partridge.

⁴⁰ Raggatt et Partridge.

⁴¹ Schropp et al., « Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction ».

2 : Diabète et cicatrisation

2.1 Mécanismes pathologiques et biologiques influençant la cicatrisation

La cicatrisation suite à une lésion est le résultat d'interactions complexes entre les cellules souches, les cellules différenciées, les composants de la MEC et les forces mécaniques. Elle implique une multitude de facteurs et mécanismes qui s'entrecroisent : une seule anomalie au niveau d'un des paramètres impliqués dans le processus peut entraîner une prolongation ou une dérégulation d'une des phases de la cicatrisation et être à l'origine d'une cicatrisation retardée ou pathologique conduisant à des cicatrices hypertrophiques ou des plaies chroniques. Dans le cas de la chirurgie orale, ce sont deux types de tissus qui sont lésés et la cicatrisation, bien qu'étant assez similaire dans les tissus mous et osseux, est complexifiée du fait de l'intervention de mécanismes supplémentaires différents.⁴²

De plus, la cicatrisation peut être influencée par plusieurs facteurs physiopathologiques, de façon indépendante ou additionnelle.

Certains facteurs locaux peuvent influencer la cicatrisation, tels que l'infection de la plaie, la présence de corps étrangers dans cette dernière, la présence de tissu nécrotique, des complications post-chirurgicales, l'ischémie, un excès de forces mécaniques au niveau de la zone traumatisée ou encore la présence d'œdèmes.⁴³

Les effets secondaires de différents médicaments peuvent également ralentir la cicatrisation, comme les immunosuppresseurs diminuant le nombre de polynucléaires neutrophiles, les corticoïdes ayant eux aussi une action immunosuppressive, ou encore ceux administrés dans le cadre de la chimiothérapie anti-cancéreuse.⁴⁴ Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les hydantoïnes et la D-penicillamine retardent la cicatrisation en modifiant le métabolisme du collagène. Dans le cas de la radiothérapie, les échanges gazeux au niveau des vaisseaux sont limités du fait de l'épaississement des membranes basales de ces derniers suite aux radiations ionisantes pouvant entraîner une fibrose. La

⁴² Stolzenburg-Veeser et Golubnitschaja, « Mini-encyclopaedia of the wound healing - opportunities for integrating multi-omic approaches into medical practice ».

⁴³ Stolzenburg-Veeser et Golubnitschaja.

⁴⁴ Springfield, « Surgical wound healing ».

radiothérapie implique aussi une diminution des dépôts de collagène, de la résistance de la plaie, et de l'angiogenèse du fait de lésions vasculaires.⁴⁵

La cicatrisation peut être modifiée par des facteurs généraux, comme des dérégulations hormonales ou encore les facteurs nutritionnels. Ces derniers jouent un rôle très important car le collagène est la protéine la plus abondante de l'organisme et est synthétisé par les fibroblastes à l'aide de vitamines (A, C, D, E), d'oligo-éléments (magnésium, zinc, cuivre, fer) et d'acides aminés. La cicatrisation implique un état d'hypercatabolisme caractérisé par une augmentation de la dépense énergétique et la mobilisation des réserves nutritionnelles de l'organisme afin de fournir aux cellules les nutriments dont elles ont besoin pour la réparation tissulaire. Des carences en calories et en protéines peuvent donc altérer la phagocytose, la réponse inflammatoire ou la production de collagène.⁴⁶

Les pathologies affectant la vascularisation tissulaire et son oxygénation vont retarder la cicatrisation, comme c'est le cas pour l'hypertension artérielle, le lymphoedème ou l'artérite oblitérante des membres inférieurs.

L'artériosclérose entraîne une hypoxie des membres inférieurs qu'on retrouve chez les patients âgés ou fumeurs. Chez ces derniers, le tabagisme modifie lui aussi la cicatrisation car la plaie est moins bien oxygénée et la coagulation est altérée. Dans le cas de l'insuffisance veineuse, la diffusion de l'oxygène est altérée par la formation de manchons fibrineux autour des capillaires associés à un ralentissement circulatoire avec hypoxie de stase. Enfin, chez les patients atteints d'obésité, la tension dans la plaie est augmentée et la vascularisation du tissu adipeux est diminuée.⁴⁷

L'anémie sévère, un âge avancé, la consommation d'alcool, le stress ou encore la dépression peuvent être associés à un déficit immunitaire, et donc une baisse des neutrophiles et macrophages, avec des répercussions sur le bon déroulement de la cicatrisation.⁴⁸

Enfin, les maladies héréditaires et les prédispositions génétiques peuvent altérer la cicatrisation, comme toute pathologie affectant une de ses étapes ou un de ses éléments. C'est le cas dans les cancers où plusieurs voies clés partagées par la cicatrisation, le cancer et la progression métastatique sont modifiées, mais aussi pour la maladie parodontale dans laquelle on retrouve un état

⁴⁵ Dormand, Banwell, et Goodacre, « Radiotherapy and wound healing ».

⁴⁶ Stolzenburg-Veeser et Golubnitschaja, « Mini-encyclopaedia of the wound healing - opportunities for integrating multi-omic approaches into medical practice ».

⁴⁷ Stolzenburg-Veeser et Golubnitschaja.

⁴⁸ Stolzenburg-Veeser et Golubnitschaja.

inflammatoire chronique. Certaines pathologies impliquant des atteintes métaboliques comme chez les patients souffrant d'insuffisance rénale ou hépatique, de maladies neurologiques, de maladies du tissu interstitiel (collagénoses ou autres), ou encore de maladies endocrinologiques comme le syndrome de Cushing ou le diabète, influent sur la cicatrisation.⁴⁹

2.2 Le diabète

2.2.1 Définition

Le diabète est un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres apportés par l'alimentation caractérisé par une glycémie élevée. C'est une pathologie chronique non transmissible due à une production insuffisante d'insuline (hormone hypoglycémisante) par le pancréas ou à une utilisation incorrecte par l'organisme de l'insuline produite par le pancréas. Un patient est considéré comme diabétique s'il présente une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/L sur deux prises de sang consécutives à quelques jours d'intervalle ou une glycémie égale ou supérieure à 2 g/L à n'importe quel moment de la journée. Les différents types de diabète peuvent être classés en quatre groupes : le diabète de type 1, le diabète de type 2, le diabète gravidique et les autres types spécifiques de diabète (selon l'Association américaine du diabète). Le diabète de type 1 et de type 2 sont les plus fréquents.⁵⁰

Cette pathologie en constante progression concerne de plus en plus d'individus : 108 millions de malades en 1980 pour une prévalence mondiale chez les adultes de 4,7 % à 422 millions de malades en 2014 pour une prévalence de 8,5 % (avec une augmentation plus rapide de la prévalence pour les pays défavorisés ou en voie de développement). La mortalité prématurée due au diabète a augmenté de 5 % entre 2000 et 2016. Il a été estimé en 2016 que le diabète était la 7^e cause de décès et la 1^{ère} cause d'insuffisance rénale chronique terminale, de cécité avant 65 ans et d'amputation non traumatique en France. En 2019, plus de 463 millions de personnes souffraient de diabète et le nombre de diabétiques devrait encore augmenter dans les années à venir, atteignant les 700 millions en 2045.⁵¹

52

⁴⁹ Nauta, Gurtner, et Longaker, « Wound healing and regenerative strategies ».

⁵⁰ Organisation mondiale de la santé, « Diabète ».

⁵¹ Organisation mondiale de la santé.

⁵² Fédération internationale du diabète, *Atlas du diabète de la FID*.

2.2.2 Diabète de type 1

Le diabète de type 1 (insulino-dépendant ou juvénile) est une maladie auto-immune polygénique caractérisée par la destruction ou l'altération fonctionnelle des cellules β du pancréas qui sécrètent l'insuline. En résulte une carence absolue en insuline d'origine immunitaire ou d'origine idiopathique. Une rupture de la régulation immunitaire entraîne une expansion des lymphocytes T CD4 et CD8, des lymphocytes B et du système immunitaire inné participant à la destruction des cellules productrices d'insuline. Des prédispositions génétiques ainsi que des facteurs environnementaux peuvent contribuer au développement du diabète de type 1. Cliniquement, ce diabète se manifeste par une polyurie, une glycosurie (quand la glycémie dépasse 1,8 g/L), une polydipsie, une déshydratation et une faim constante, une perte de poids, une sensation de fatigue et des troubles de la vision. L'accumulation de corps cétoniques dans le sang provoque quant à elle une cétonémie, une cétonurie et une acidose métabolique. Le diabète de type 1 représente 5 à 10 % du nombre total de cas de diabète dans le monde et concerne majoritairement les jeunes (85 % des cas de diabète chez les moins de 20 ans dans le monde).⁵³

2.2.3 Diabète de type 2

Le diabète de type 2 (non insulino-dépendant) est un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie et une altération du métabolisme lipidique causée par l'incapacité des cellules β des îlots du pancréas à sécréter une insuline adéquate en réponse à différents degrés de résistance à l'insuline causée par une surnutrition, une obésité ou une inactivité. Les cellules musculaires, adipeuses et autres deviennent résistantes aux actions de l'insuline. Les cellules β vont alors sécréter plus d'insuline afin de compenser cette résistance. Si l'augmentation compensatoire d'insuline est insuffisante pour maintenir la glycémie dans une plage physiologique normale, le diabète de type 2 se déclare. Ce type de diabète peut être renforcé par d'autres anomalies métaboliques, comme une augmentation de la sécrétion de glucagon et une production d'incrétines réduite, une altération de l'expansion du tissu adipeux sous-cutané, une hypoadiponectinémie, une inflammation du tissu adipeux, une augmentation de la production endogène de glucose ou encore un développement d'une résistance périphérique à l'insuline. Chez des individus avec des prédispositions génétiques, le développement du diabète de type 2 est principalement causé par l'excès calorique chronique. Ce diabète représente la majorité des diabètes rencontrés dans le monde (presque 90 %) et ses symptômes sont les mêmes que ceux du type 1, bien que souvent moins marqués. Traditionnellement

⁵³ Wu, Xiao, et Graves, « Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease ».

considéré comme trouble métabolique des adultes, il devient de plus en plus fréquent chez les adolescents et les jeunes adultes.⁵⁴

2.2.4 Diabète gravidique, altération de la tolérance au glucose et de la glycémie à jeun

Le diabète gravidique est caractérisé par la survenue, au cours de la grossesse, d'une hyperglycémie ayant des valeurs supérieures aux valeurs normales mais inférieures à celles amenant à diagnostiquer un diabète. Ce diabète entraîne une augmentation du risque de complications lors de la grossesse et de l'accouchement, ainsi qu'une augmentation du risque d'être atteint d'un diabète de type 2 à un stade ultérieur de leur vie pour la femme et son enfant.

La dernière catégorie de diabète regroupe les formes spécifiques comme l'altération de la tolérance au glucose et de la glycémie à jeun. Situées à la frontière entre la normalité et le diabète, elles ont un risque élevé d'évoluer en diabète de type 2 pour les personnes qui en sont atteintes.⁵⁵

2.2.5 Changements pathogènes induits par les diabètes de type 1 et 2

L'hyperglycémie est la conséquence directe de l'altération de la sécrétion d'insuline dans le diabète de type 1 et la résistance à l'insuline dans le diabète de type 2. Elle est causée par la destruction des cellules β pour le diabète de type 1 et par l'expression inadaptée du transporteur de glucose 2 pour le diabète de type 2. Le déficit en insuline perturbe le métabolisme glucido-lipidique : les organes régulateurs de ce métabolisme sont altérés et agissent comme si les apports étaient insuffisants pour les besoins énergétiques en augmentant la production du glucose et en diminuant la captation de ce dernier par les muscles afin de l'économiser pour le cerveau. L'organisme agit alors comme s'il était en manque constant d'énergie et entraîne le stockage dans le sang du glucose fourni par l'alimentation et celui fabriqué par le foie. L'hyperglycémie a pour effet d'augmenter l'activation du pro-facteur de transcription inflammatoire NF-kB.

Une concentration anormalement élevée de glucose dans le sang entraîne également la formation de produits finaux de glycation avancée (AGEs, advanced glycation end products) intracellulaires et extracellulaires via la réaction non enzymatique du glucose et d'autres composés de glycation dérivés

⁵⁴ Wu, Xiao, et Graves.

⁵⁵ Organisation mondiale de la santé, « Diabète ».

du glucose et d'une oxydation des acides gras. Les AGEs vont modifier les protéines intracellulaires et les composants de la MEC par glycosylation ainsi qu'altérer leurs fonctions de sorte que les composants de la MEC modifiés interagissent anormalement avec les autres protéines de la matrice et leurs récepteurs. En se liant à leurs récepteurs, plusieurs AGEs vont entraîner l'activation de NF- κ B et augmenter de la production de ROS et de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , provoquant une inflammation accrue.⁵⁶

La lipotoxicité, augmentée dans les états de résistance à l'insuline du fait de la présence d'acides gras libres à longue chaîne dans le plasma, altère la fonction de sécrétion des cellules β et entraîne leur apoptose. Les quantités excessives d'acides gras affectent les cellules musculaires et les hépatocytes, augmentent la production de ROS (renforçant ainsi l'apoptose) et activent les voies inflammatoires.⁵⁷

Le stress oxydatif joue un rôle essentiel dans les complications du diabète. Il est provoqué par une activité fortement augmentée de la NADPH oxydase (système enzymatique majoritairement responsable de la génération de dérivés réactifs de l'oxygène dans les tissus vasculaires) menant à une surproduction de superoxydes dans les mitochondries suite à l'hyperglycémie. La hausse de la production de superoxydes implique l'augmentation de la formation d'AGEs et de celle de leurs récepteurs. Les ROS vont épuiser les défenses antioxydantes des cellules et rendre ces dernières plus sensibles aux dommages oxydatifs. Ainsi, les ROS jouent un rôle dans la destruction des cellules et des tissus, mais sont aussi impliqués dans la régulation des cascades de transduction de signal. En effet, les voies NF- κ B et JNK sont sensibles au stress oxydatif : c'est pour cela que les ROS peuvent altérer la capacité de l'insuline à stimuler l'activation de protéines et le transport du glucose, provoquant ainsi le développement de complications diabétiques.⁵⁸

Le diabète a des répercussions sur la réponse immunitaire, notamment le diabète de type 1 dans lequel le nombre de neutrophiles circulants est probablement diminué par une altération de la différenciation des neutrophiles et de leur production par la moelle osseuse, une augmentation de leur apoptose, la présence d'anticorps spécifiques anti-neutrophiles ou encore par une augmentation de leur recrutement dans les différents tissus. La phagocytose est donc affectée par ces modifications auxquelles se rajoutent des altérations de la fonction des phagocytes mononucléaires, de la production des superoxydes et de la chimiotaxie.

⁵⁶ Wu, Xiao, et Graves, « Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease ».

⁵⁷ Wu, Xiao, et Graves.

⁵⁸ Wu, Xiao, et Graves.

L'inflammation est entretenue par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les monocytes infiltrants et plus généralement à cause d'un défaut de communication entre les cellules adipeuses, les macrophages et d'autres cellules immunitaires faisant du tissu adipeux un site majeur de production de médiateurs inflammatoires. Ce sont ces facteurs pro-inflammatoires, comme le TNF- α , l'IL-1 β , l'IL-6 et l'IL-18 (respectivement interleukines 1 β , 6 et 18), qui sont majoritairement à l'origine du développement de complications lors du diabète à cause de leur implication dans l'apoptose des cellules β du pancréas et dans la résistance à l'insuline à travers les voies NF-kB et JNK. De plus, activés de manière classique, les macrophages entraînent l'apoptose des cellules β du pancréas dans le cas des patients atteints de diabète de type 1 et sont impliqués dans la résistance à l'insuline chez les patients atteints de diabète de type 2.⁵⁹

Il existe cependant un effet inverse provoqué par l'activation alternative des macrophages et diminuant l'inflammation tissulaire. D'autres facteurs contribuent à diminuer l'inflammation, comme l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 qui permet de bloquer les signaux de l'IL-1 β , réduisant ainsi l'expression des cytokines inflammatoires et limitant la destruction des cellules β tout en améliorant le contrôle de la glycémie. De même, l'adiponectine, hormone sensible à l'insuline, diminue le risque de diabète de type 2 grâce à ses propriétés anti-inflammatoires.⁶⁰

2.2.6 Complications du diabète

Le diabète peut entraîner des complications à court terme comme à long terme. Les premières regroupent l'hypoglycémie, l'acido-cétose diabétique, l'hyperglycémie hyperosmolaire et l'acidose lactique. L'hypoglycémie peut survenir dans les diabètes de type 1 et 2 et est due à une insulinothérapie excessive par rapport aux besoins en insuline. Le malaise hypoglycémique, pouvant être précipité par le stress ou encore l'exercice physique, regroupe des signes cliniques variés : sueurs profuses, pâleur, anxiété et irritabilité, sensation de faim impérieuse, tremblements, paresthésie des extrémités, tachycardie ou encore trouble de la conscience. L'acido-cétose diabétique, existant dans les diabètes de type 1 et 2, implique une utilisation des acides gras par l'organisme à la place du glucose du fait du manque d'insuline. L'acidité du sang est alors augmentée suite à l'accumulation de corps cétoniques dans ce dernier. L'état d'hyperglycémie hyperosmolaire concerne principalement les patients atteints du diabète de type 2 et, à cause du manque d'insuline, est caractérisé par une déshydratation importante et une perte excessive d'eau suite à l'augmentation de la fréquence et du

⁵⁹ Wu, Xiao, et Graves.

⁶⁰ Wu, Xiao, et Graves.

volume des urines du fait de l'accumulation du glucose dans le sang. L'acidose lactique est une complication iatrogène et ne concerne que les patients diabétiques de type 2 traités par biguanide. L'acido-cétose diabétique et l'hyperglycémie hyperosmolaire sont de réelles urgences et peuvent être fatales pour les patients.^{61 62}

Les complications à long terme sont quant à elles plus nombreuses et leur gravité varie généralement proportionnellement avec l'importance de l'hyperglycémie : elle atteint les parois des vaisseaux sanguins approvisionnant tous les tissus en oxygène et en nutriments. Le diabète peut donc être responsable de complications dans tout l'organisme. Les complications macrovasculaires sont la principale cause de la survenue de maladies cardiovasculaires chez les patients diabétiques. Le diabète va provoquer chez ces derniers une stimulation importante de l'oxydation lipidique des lipoprotéines de basse densité qui vont s'accumuler dans la paroi endothéliale des artères. Ce processus entraîne une calcification et une inflammation chronique de la paroi artérielle du système vasculaire, augmentant ainsi le risque d'accident d'athérosclérose, mécanisme central de la maladie macrovasculaire. Les complications microvasculaires sont responsables des rétinopathies, neuropathies et néphropathies diabétiques et sont dues à une altération des cellules endothéliales tapissant les vaisseaux sanguins provoquée par l'hyperglycémie. La membrane basale devient plus épaisse et moins efficace et, sous l'action du TNF, certaines cellules endothéliales microvasculaires et péricytes sont éliminés.⁶³

Le diabète peut entraîner des troubles oculaires menant à une détérioration progressive de la vision. Au niveau du globe oculaire, il provoque, en plus de l'épaississement de la membrane basale vasculaire et de l'apoptose des cellules endothéliales et des péricytes, des microanévrismes, une occlusion vasculaire ainsi qu'une néovascularisation pathologique. Au cours de la rétinopathie diabétique, l'ensemble de ces phénomènes évolue vers une hémorragie rétinienne et un décollement de la rétine aboutissant à une perte de la vision. La stimulation des premiers stades de la rétinopathie diabétique est sous l'influence du TNF. Le diabète peut également être à l'origine d'autres troubles ophtalmologiques comme la cataracte, des paralysies oculomotrices, des névrites optiques, un glaucome chronique à angle ouvert ou encore une maculopathie.⁶⁴

⁶¹ Équipe de professionnels de la santé de Diabète Québec, « Les urgences hyperglycémiques ».

⁶² Fricain et al., *Chirurgie orale*.

⁶³ Wu, Xiao, et Graves, « Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease ».

⁶⁴ Wu, Xiao, et Graves.

Dans le cas de la neuropathie diabétique, les vaisseaux sanguins irriguant les nerfs sont lésés par les phénomènes précédemment décrits. Cette pathologie peut aussi être due à des lésions oxydatives, à la carence en insuline ou encore à l'action des AGEs impliqués dans le diabète. La structure de tout type de fibre nerveuse peut être affectée, qu'elles soient sensorielles, motrices ou autonomes, et ce dans toute partie de l'organisme. La neuropathie diabétique se définit par une perte progressive des neurones, par une démyélinisation ainsi qu'une régénération nerveuse altérée et peut aboutir à un dysfonctionnement total des fibres nerveuses, entraînant des répercussions sur les différents organes innervés par les fibres altérées.⁶⁵

La néphropathie diabétique est due à l'action des AGEs, à l'hyperglycémie et à l'inflammation vasculaire. Cette pathologie progressive atteignant les reins est causée par l'angiopathie des capillaires des glomérules rénaux. La fibrose et la sclérose tubulo-interstitielle et glomérulaire sont dues à une hypertrophie glomérulaire, à un épaississement des membranes basales, glomérulaires et tubulaires, ainsi qu'à l'accumulation de MEC dans ces membranes. Elle peut aboutir à une insuffisance rénale plus ou moins sévère. Les infections urinaires font également partie des complications néphrologiques du diabète.⁶⁶

Parmi les manifestations cliniques générales, les microangiopathies peuvent être révélées par l'insuffisance rénale chronique ou par les rétinopathies qu'elles provoquent. Un patient avec des antécédents d'infarctus du myocarde ou d'AVC, possiblement causés par une augmentation du risque cardiovasculaire, peut être concerné par des formations de plaques d'athéromes à l'origine de macroangiopathies.

Du fait des phénomènes précédemment décrits, notamment l'altération de la réponse immunitaire, le diabète entraîne également une sensibilité aux infections et à leurs complications. Si elles sont couplées aux modifications de la cicatrisation provoquées par le diabète ainsi qu'à la neuropathie diabétique, ces infections peuvent devenir récalcitrantes au niveau des plaies, s'accompagner d'ulcères et évoluer vers une gangrène nécessitant une amputation (par exemple dans le cas du pied diabétique où ces infections sont les plus fréquentes).⁶⁷

⁶⁵ Wu, Xiao, et Graves.

⁶⁶ Wu, Xiao, et Graves.

⁶⁷ Wu, Xiao, et Graves.

Enfin, le diabète est l'un des principaux facteurs de risque de parodontite et le niveau de contrôle de la glycémie est directement lié à la gravité de la maladie parodontale. Des études ont montré que les sujets diabétiques ont un risque environ 3 à 4 fois plus élevé de développer une parodontite par rapport aux sujets sains.⁶⁸ Les taux d'inflammation gingivale chez les patients diabétiques sont significativement plus élevés que chez les patients sains. Lors de l'infection parodontale, l'apoptose des fibroblastes des cellules épithéliales et du tissu conjonctif est augmentée. Dans le cas du diabète, cette augmentation est renforcée par la production accrue de TNF dans l'épithélium et le tissu conjonctif ainsi que par un mécanisme dépendant de la caspase 3 (enzyme jouant un rôle essentiel dans l'apoptose). La perte de fonction de barrière épithéliale de la gencive et l'altération de ses processus de réparation sont dues à une inflammation et à une apoptose qui, chez les patients diabétiques, sont accrues. La perte d'attache et de tissu osseux étant des conséquences de la parodontite, les études démontrent également leur association significative avec le diabète. Les études réalisées rapportent un odds ratio des sujets diabétiques présentant une perte d'attache de 3,84 par rapport aux sujets sains et un pourcentage de sites présentant une perte osseuse de 44 % chez les sujets diabétiques contre respectivement 28 % et 24 % chez les sujets dont le diabète est équilibré et chez les sujets sains. Le diabète potentialise la gravité de la parodontite.⁶⁹

2.2.7 Impact du diabète sur la cicatrisation

Les complications précédemment citées sont liées à un mauvais pronostic de la cicatrisation des plaies étant donné que le diabète altère fortement le processus de guérison. En effet, on retrouve un environnement hypoxique et pro-inflammatoire dans la plaie, des niveaux très élevés de cytokines pro-inflammatoires avec un échec de l'élimination des cellules inflammatoires nuisant à une phase inflammatoire intense et brève nécessaire à une cicatrisation optimale, une activation retardée et modifiée des neutrophiles et des macrophages, une altération de la phagocytose, une dégradation de la MEC et de ses composants, une sécrétion excessive de ROS dénaturant et dérégulant les facteurs de croissance, une altération fonctionnelle des granulocytes ainsi que de la chimiotaxie, une détérioration de la néovascularisation, une diminution du collagène, une fonction de barrière épidermique et une quantité de tissu de granulation réduites, une réduction de la migration et de la prolifération des kératinocytes et des fibroblastes, une production augmentée des AGEs, une hausse de l'apoptose des fibroblastes ainsi qu'une activité importante de MMPs avec un faible taux de TIMPs pour les réguler.⁷⁰

⁶⁸ Lalla et Papapanou, « Diabetes mellitus and periodontitis ».

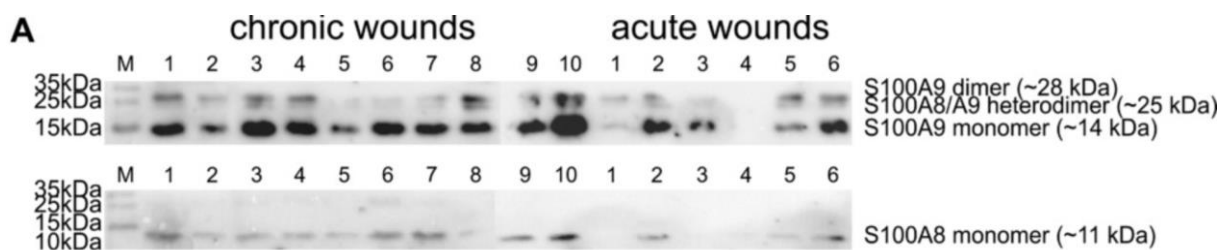
⁶⁹ Wu, Xiao, et Graves, « Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease ».

⁷⁰ Stolzenburg-Veeser et Golubnitschaja, « Mini-encyclopaedia of the wound healing - opportunities for integrating multi-omic approaches into medical practice ».

En 2013, une étude employant la technologie d'identification multidimensionnelle des protéines (MudPIT) couplée à la FT-MS (spectrométrie de masse à résonance cyclotronique ionique) a été réalisée afin d'étudier et de comparer la composition en protéines de fluides provenant de plaies cutanées chroniques de patients diabétiques de type 2 avec des fluides provenant de la peau de donneurs victimes de brûlures, ces derniers étant autrement en bonne santé. 672 protéines ont été identifiées et une expression différentielle de 186 protéines a été retrouvée dans les plaies des patients diabétiques. La majorité de ces protéines joue un rôle majeur dans le contrôle de l'inflammation, l'angiogenèse ainsi que la motilité et la mortalité cellulaire (cf. figure 8).⁷¹

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré, dans les plaies des patients diabétiques, une expression plus élevée de protéines ayant pour action de stimuler la réponse inflammatoire locale : les isoformes de protéines S100 étaient 3,6 à 4,5 fois plus exprimées dans les plaies chroniques par rapport aux plaies impliquant une cicatrisation normale (cf. figure 6). En se liant aux récepteurs des AGEs, ces protéines provoquent la libération de cytokines pro-inflammatoires (la cytokine pro-inflammatoire IL-6 a été retrouvée dans 8 plaies diabétiques sur 10 contre 1 plaie saine sur 6).⁷²

Figure 6 : Analyse Western blot de S100A8 et S100A9 humaines dans les plaies chroniques et aiguës



Source : Krisp et al., « Proteome analysis reveals antiangiogenic environments in chronic wounds of diabetes mellitus type 2 patients », 2013.

Les chiffres de cette étude prouvent aussi que les plaies des patients diabétiques présentent une altération majeure des processus antioxydants ayant pour conséquence de provoquer un stress oxydatif important. Les oxydoréductases permettant de limiter l'action des ROS et ainsi d'éviter des lésions tissulaires excessives étaient plus faiblement exprimées dans les plaies pathologiques : la superoxyde dismutase extracellulaire et la RBP4 (retinol binding protein 4, protéine délivrant le rétinol

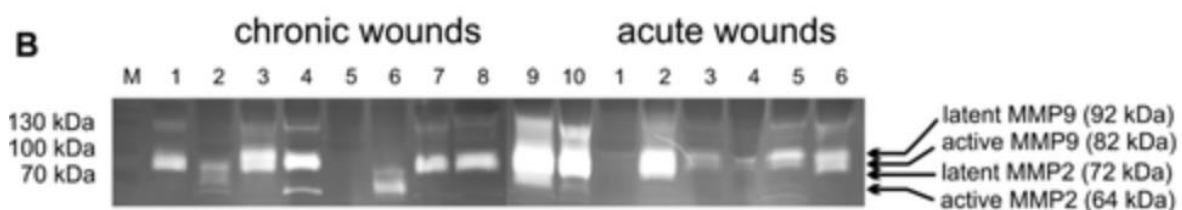
⁷¹ Krisp et al., « Proteome analysis reveals antiangiogenic environments in chronic wounds of diabetes mellitus type 2 patients ».

⁷² Krisp et al.

antioxydant) étaient respectivement 3,3 et 3,8 fois moins exprimées. La Myéloperoxydase a une action antagoniste aux oxydoréductases et avait quant à elle un niveau d'expression 2,5 fois plus élevé dans ces plaies, impliquant un stress oxydatif accru endommageant les tissus sains.⁷³

L'étude apporte également des éléments de précision au sujet de la modification de la vasculogénèse et de l'angiogénèse chez les patients diabétiques. Les MMPs permettent d'augmenter et de stimuler la migration et la mobilité cellulaire en dégradant la MEC, favorisant ainsi l'angiogénèse. Cependant, MMP1, 2 et 8 (métalloprotéases matricielles 1, 2 et 8) ont été retrouvées à des niveaux d'expression significativement plus élevés dans les plaies pathologiques, ce qui implique une dégradation excessive du collagène et donc du tissu de granulation formé lors de la cicatrisation, altérant ainsi la capacité de vascularisation chez les patients diabétiques. De plus, la dégradation excessive de collagène peut entraîner la production d'endostatine, un peptide inhibiteur de l'angiogénèse. L'expression plus élevée de MMP2 dans les plaies pathologiques a été démontrée à l'aide d'une zymographie réalisée afin d'étudier l'activité de MMP2 et MMP9 (métalloprotéase matricielle 9) (cf. figure 7).⁷⁴

Figure 7 : Zymographie de MMP2 et MMP9 dans les fluides des plaies chroniques et aiguës réalisée par gélatine SDS-PAGE



Source : Krisp et al., « Proteome analysis reveals antiangiogenic environments in chronic wounds of diabetes mellitus type 2 patients », 2013.

L'isoforme active de MMP2 (64 kDa) n'est retrouvée que dans les plaies pathologiques à l'exception d'une plaie aiguë (piste 5), tandis que son isoforme latente (72 kDa) est présente dans 4 des 10 plaies chroniques. Cela met en évidence une expression significativement plus élevée et continue de MMP2 chez les patients diabétiques. La distribution des isoformes actives (82 kDa) et latentes (92 kDa) de MMP9 dans les plaies aiguës est presque similaire chez chaque individu, tandis que, dans le cas des plaies chroniques, l'expression de MMP9 est plus élevée ou au contraire plus faible selon les plaies, démontrant une altération de la sécrétion et de l'activation de MMP9 chez les patients diabétiques.⁷⁵

⁷³ Krisp et al.

⁷⁴ Krisp et al.

⁷⁵ Krisp et al.

De plus, le clivage de MMP2 produit un peptide ayant une région de type hémopexine qui, après un clivage autocatalytique, génère elle-même un autre peptide. Ce dernier possède une action antiangiogénique en inhibant la migration et l'adhésion cellulaire du facteur de croissance se liant à l'héparine et à la vitronectine. Les concentrations élevées en MMPs et en hémopexine libre qui ont été retrouvées dans les plaies pathologiques démontrent une réduction de la stimulation angiogénique chez les patients diabétiques.⁷⁶

La vasculogénèse et l'angiogénèse sont aussi altérées à cause de l'action de serpins exprimées différemment dans les plaies pathologiques. Ces protéines ont une fonction inhibitrice via une voie enzymatique. La serpine B5, qui a été retrouvée dans 5 cas sur 10 des fluides des plaies chroniques contre 1 seul cas sur 6 de ceux provenant des plaies aiguës, inhibe la croissance. L' α -1-antitrypsine est à l'origine de l'inhibition de la cathepsine G qui a été retrouvée à un niveau d'expression plus faible dans les plaies pathologiques (3,5 fois moins que dans les plaies impliquant une cicatrisation normale). La cathepsine G permettant la propagation des cellules musculaires lisses à travers la MEC, la vasculogénèse et l'angiogénèse sont réduites. De plus, ces phénomènes sont aussi affectés par l'expression réduite de certains facteurs de croissance et de protéines jouant un rôle dans l'adhésion cellulaire. Le récepteur du TGF- β de type 3 joue un rôle d'inhibition du TGF- β (facteur de croissance fortement impliqué dans le processus de cicatrisation) et a été identifié exclusivement dans les plaies pathologiques, conduisant à la réduction de l'expression du TGF- β dans ces dernières. La cadhérine endothéliale vasculaire et la desmoyokine (protéine faisant partie des desmosomes) sont des protéines jouant un rôle dans les connexions intercellulaires et ont été respectivement retrouvées à des niveaux d'expression de 2,1 et 2,8 fois inférieurs dans les plaies chroniques par rapport aux plaies aiguës.⁷⁷

L'angiogénèse est aussi perturbée chez les patients diabétiques à cause de la surexpression de protéines ayant des propriétés anticoagulantes. L'ANXA6 (Annexin A6) joue un rôle dans l'établissement de connexions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire et était exprimée 16 fois plus dans les plaies chroniques (identifiée dans 10 plaies chroniques sur 10 contre 3 plaies aiguës sur 6). Son action diminue la formation et la stabilité du caillot sanguin lors de la cicatrisation et favorise un environnement antiangiogénique.⁷⁸

⁷⁶ Krisp et al.

⁷⁷ Krisp et al.

⁷⁸ Krisp et al.

Le clivage du précurseur du plasminogène produit l'angiostatine, une protéine jouant un rôle majeur dans la régulation de l'angiogenèse. La liaison de l'angiostatine aux cellules endothéliales est régulée par la tétranectine qui, en empêchant cette liaison, bloque l'action d'inhibition de l'angiogenèse de l'angiostatine. Le niveau d'expression de la tétranectine était 2,7 fois plus faible dans les plaies chroniques, ce qui sous-entend une augmentation de l'action de l'angiostatine chez les patients diabétiques et donc une inhibition de l'angiogenèse.⁷⁹

Enfin, des modifications au sein même de la structure de la cellule peuvent entraîner une altération de l'angiogenèse chez les patients diabétiques. La ténascine est une des protéines constituant la membrane basale et son expression a été retrouvée à des niveaux 14 fois plus élevés dans les fluides provenant des plaies chroniques, témoignant d'une restauration incomplète de la membrane basale. Les filaments d'actine jouent un rôle majeur dans la motilité cellulaire, la division cellulaire et la création de jonctions cellulaires. Ces filaments sont altérés par certaines protéines comme GDIR1, GDIR2 (Rho GDP-dissociation inhibitor 1 et 2, inhibiteurs de dissociation Rho GDP) ou encore l'endorépelline provenant du clivage du perlécan. Les niveaux d'expression de GDIR1, GDIR2 et du précurseur du perlécan étaient respectivement 2,9, 2,6 et 2,7 fois plus élevés dans les plaies chroniques, sous-entendant une concentration augmentée d'endorépelline dans ces plaies. Les filaments d'actine peuvent aussi être perturbés par l'action d'autres protéines comme la cofiline 1, la twinfiline 2, la thymosine β -4 et la profiline 1 qui inhibent leur polymérisation. Les niveaux d'expression de ces protéines ont été retrouvés à des taux 1,9 à 2,7 fois plus élevés dans les plaies des patients diabétiques.⁸⁰

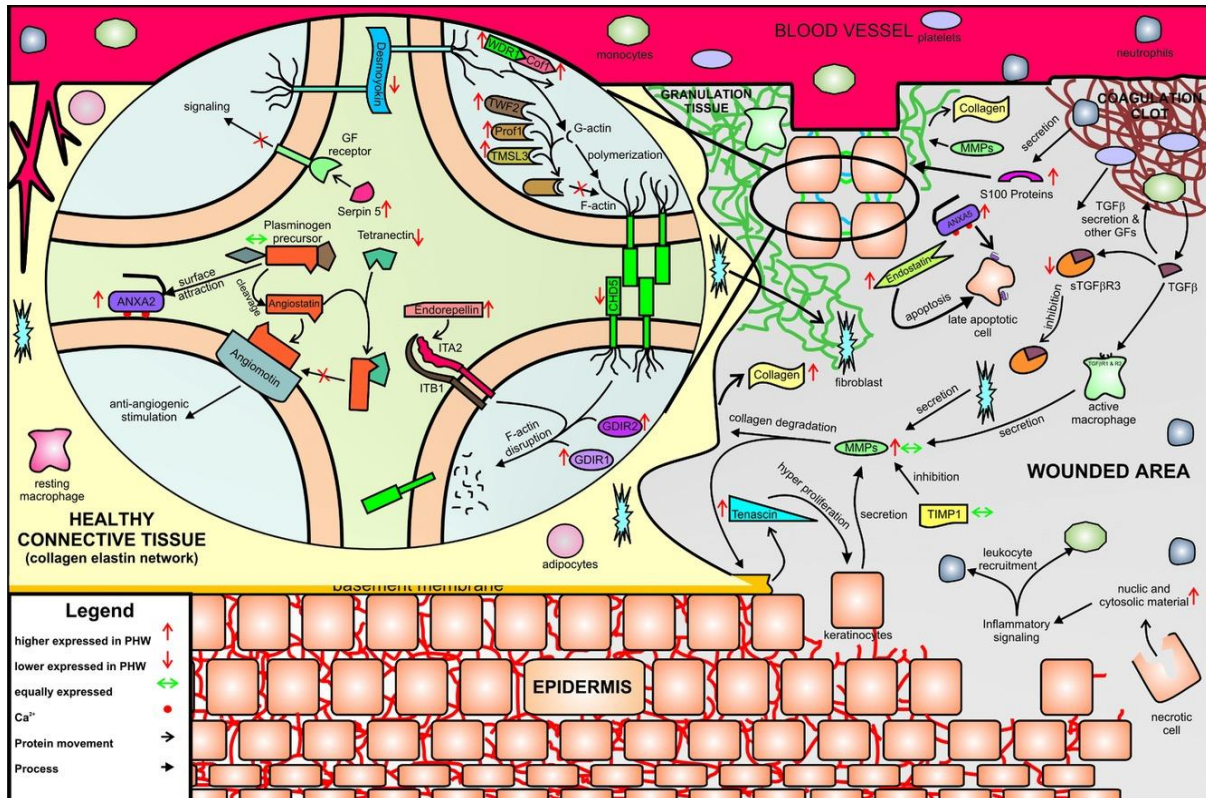
La mortalité cellulaire est accrue chez les patients diabétiques. En effet, la présence importante d'histones extracellulaires (marqueurs de la mort cellulaire, surtout pour H4) a été démontrée par une expression 3,9 fois plus élevée du composant amyloïde P dans les plaies de ces patients. Lié aux fragments d'ADN et aux histones, le composant amyloïde P est donc un indicateur de la nécrose présente dans les plaies chroniques. La protéine ANXA5 (Annexin A5), marqueur des cellules apoptotiques tardives, n'a été retrouvée qu'uniquement dans les fluides provenant des plaies de ces patients, dénotant un nombre de cellules en apoptose élevé dans ces dernières. Ce phénomène peut aussi être expliqué par l'action pro-apoptotique de la swiprosine-1 dont le niveau d'expression était

⁷⁹ Krisp et al.

⁸⁰ Krisp et al.

2,7 fois plus élevé. Les actions de ces protéines entraînent une augmentation de la nécrose et, du fait des propriétés pro-inflammatoires de cette dernière, un accroissement de l'inflammation.⁸¹

Figure 8 : Représentation schématique des mécanismes moléculaires de la cicatrisation impliquant des protéines identifiées dans cette étude



PHW = plaies chroniques diabétiques

Source : Krisp et al., « Proteome analysis reveals antiangiogenic environments in chronic wounds of diabetes mellitus type 2 patients », 2013.

Cette étude met en évidence les phénomènes altérant la cicatrisation chez les patients diabétiques grâce à l'analyse et à la comparaison des milieux protéiques des plaies de ces derniers avec ceux des plaies de patients sains. Une inflammation accrue, une angiogenèse réduite et une nécrose élevée sont dues au microenvironnement biologique des plaies chroniques défavorable à une cicatrisation normale.⁸²

⁸¹ Krisp et al.

⁸² Krisp et al.

D'autres études témoignent d'une altération de la cicatrisation des tissus mous et des tissus osseux chez le patient diabétique. En 2011, une étude a été réalisée par von Wilmowsky et al. afin d'étudier l'effet du diabète sur la formation osseuse dans un modèle animal de la réparation osseuse chez l'Homme. 15 porcs domestiques ont reçu une dose de streptozotocine de 90 mg / kg en intra-veineuse afin d'induire un diabète chez ces derniers. Suite à l'obtention de changements histopathologiques significatifs dans leurs tissus mous et leurs tissus durs, les porcs ont reçu des implants intra-osseux tandis que 15 autres animaux ont servi de témoins sains. Après 4 et 12 semaines post-implantation, des changements pathologiques ont été observés dans les tissus mous et durs du groupe diabétique par rapport au groupe contrôle : le contact os-implant et la densité minérale osseuse péri-implantaire étaient significativement réduits, la quantité de collagène de type I a été augmentée tandis que celle d'ostéocalcine a été diminuée. Cette étude démontre qu'un diabète mal équilibré altère négativement la formation osseuse péri-implantaire, la minéralisation osseuse et donc la cicatrisation osseuse.⁸³

En 2013, une étude menée par de Molon et al. chez le rat dans le but d'évaluer la cicatrisation osseuse autour des implants dentaires ostéointégrés dans le cas du diabète sucré expérimental et son traitement par l'insulinothérapie en réalisant des analyses histomorphométriques et des analyses de torque nécessaire afin d'extraire les implants. Un implant en titane a été posé dans la métaphyse proximale du tibia de 80 rats. Après une période de cicatrisation de 60 jours, 4 groupes de 20 animaux chacun ont été formés : un groupe témoin sacrifié à 2 mois (A), un groupe diabétique (D), un groupe insuline (I), et un groupe témoin sacrifié à 4 mois (C). Ces groupes ont ensuite été divisés en deux afin d'étudier le torque nécessaire à l'extraction et de réaliser l'analyse histomorphométrique. Afin d'induire le diabète, une dose de 40 mg/kg de poids corporel de streptozotocine a été injectée dans les groupes D et I, puis, 2 jours après l'induction du diabète, le groupe I a reçu deux injections quotidiennes d'insuline pendant deux mois. Au bout de 4 mois, les groupes D, C et I ont été sacrifiés.⁸⁴ Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les groupes D, I et C au niveau de la surface de contact direct entre l'os et l'implant. Cependant, les résultats ont montré un taux de glucose plasmatique normal chez les rats des groupes A, I et C tandis qu'un taux plus élevé a été retrouvé chez les rats du groupe D. Les surfaces osseuses histomorphométriques étaient significativement plus importantes chez les groupes I et C par rapport au groupe A et chez le groupe A par rapport au groupe D. Dans le groupe D, les chiffres qui ont été obtenus montrent que le torque nécessaire à l'extraction

⁸³ von Wilmowsky et al., « Diabetes mellitus negatively affects peri-implant bone formation in the diabetic domestic pig ».

⁸⁴ de Molon et al., « Impact of diabetes mellitus and metabolic control on bone healing around osseointegrated implants ».

de l'implant et la densité de l'os nouvellement formé lors de la cicatrisation autour de l'implant étaient significativement plus faibles par rapport à ceux des groupes C et I.⁸⁵

Pour les auteurs, bien qu'il n'y eût pas de différence significative concernant la surface de contact direct entre l'os et l'implant entre les groupes D, I et C, ces résultats démontrent que le diabète altère la cicatrisation osseuse en diminuant la formation et la minéralisation osseuse. Cependant, l'étude souligne qu'une cicatrisation normale peut être obtenue grâce à une insulinothérapie puisqu'aucune anomalie osseuse n'a été trouvée chez les animaux diabétiques du groupe I et que, dans ce dernier groupe, l'ostéointégration de l'implant était semblable au groupe contrôle.⁸⁶

Les répercussions du diabète sur la cicatrisation des tissus mous peuvent être expliquées par les phénomènes précédemment décrits. Comme en témoignent ces deux dernières études, cette pathologie affecte également le métabolisme osseux, tant au niveau de la qualité de l'os que de sa quantité (cf. figure 9).

En effet, le diabète provoque une augmentation de l'expression des récepteurs des AGEs au niveau des ostéoblastes, rendant ces derniers encore plus sensibles à l'apoptose induite par les AGEs. Une cicatrisation osseuse altérée est retrouvée lors de l'application d'AGEs sur des plaies d'animaux sains avec une réduction de moitié du taux de guérison de ces plaies. L'expression des facteurs de transcription qui régulent la différenciation ostéoblastique est elle aussi réduite chez les patients diabétiques, entraînant une diminution accrue du nombre d'ostéoblastes. Par ailleurs, dans le cas de modèles de rats diabétiques, l'activité de phosphatase alcaline des ostéoblastes est réduite, avec pour conséquence une baisse de la formation de matrice minéralisée.⁸⁷

Chez le patient diabétique, certains médiateurs de l'inflammation exprimés à des niveaux plus élevés, comme le TNF, impactent également la cicatrisation osseuse. En plus de l'augmentation de l'inflammation qu'il entraîne, le TNF accroît l'apoptose des cellules osseuses. A ce phénomène s'ajoute une hausse de l'activité des caspases 8, 9 et 3 (enzymes jouant un rôle essentiel dans le processus de mort cellulaire) provoquée par la surexpression de l'ensemble des gènes régulant directement ou indirectement l'apoptose lors de l'inflammation causée par une lésion osseuse. Cette surexpression a été mise en évidence grâce au profilage de l'expression de l'ARNm (acide ribonucléique messenger) dans le cas de fractures chez les diabétiques et est associée à des taux élevés de TNF- α , à une hausse

⁸⁵ de Molon et al.

⁸⁶ de Molon et al.

⁸⁷ Wu, Xiao, et Graves, « Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease ».

de l'apoptose des chondrocytes et à une activité accrue du facteur de transcription pro-apoptotique FOXO1 (Forkhead box protein O1). La surproduction de ROS par le diabète entraîne également une hausse de l'apoptose des ostéoblastes en stimulant l'activation de la caspase 3. En inhibant le TNF ou les caspases chez des souris diabétiques, une cicatrisation osseuse améliorée ainsi qu'une augmentation du nombre de cellules de revêtement osseux ont été observées.⁸⁸

La cicatrisation osseuse est également altérée chez les diabétiques à cause de l'impact de cette pathologie sur la différenciation des cellules souches mésenchymateuses, précurseurs ostéoblastiques. Différents phénomènes réduisent cette différenciation. L'inflammation généralisée due au diabète stimule l'activation du NF- κ B et provoque la dégradation par ce dernier de la β -caténine (protéine jouant un rôle majeur dans l'adhésion cellulaire, la signalisation cellulaire et la transcription des protéines) via la voie Wnt, affectant ainsi les cellules souches mésenchymateuses. Le TNF inhibe l'activation du promoteur Ostérix tandis que les AGEs augmentent l'expression du TGF- β ainsi que la production de ROS, ce qui empêche la différenciation des précurseurs ostéoblastiques. Chez les modèles de souris diabétiques, une augmentation du nombre de cellules apoptotiques présentes dans la moelle osseuse et une faible quantité de cellules souches mésenchymateuses ainsi qu'une réduction de leur capacité à cibler le site de la lésion ont été observés.⁸⁹

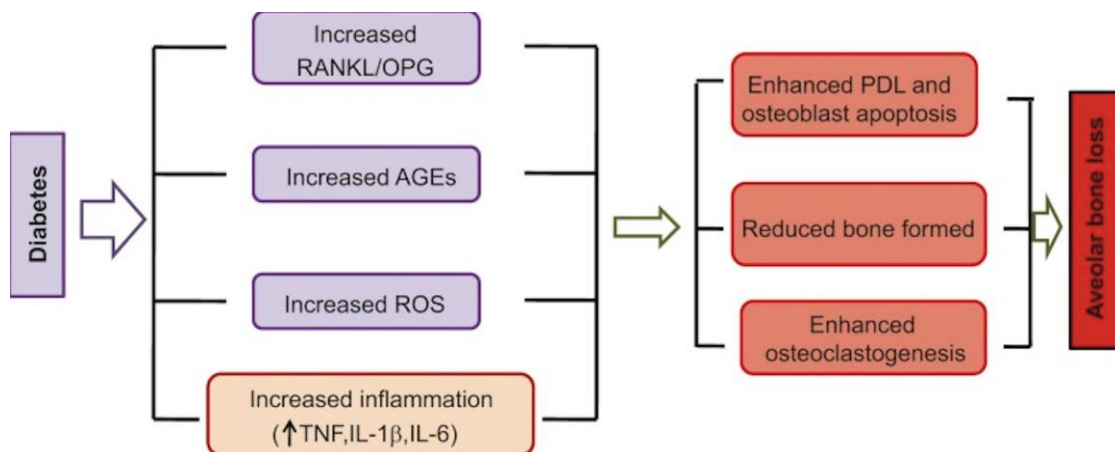
Parallèlement à l'altération des ostéoblastes, le diabète provoque une augmentation de l'activité des ostéoclastes, nuisant ainsi au bon déroulement de la cicatrisation osseuse. En effet, une hausse des niveaux d'expression du TNF- α , de RANKL et du facteur de croissance vasculaire A, ainsi qu'une recrudescence du nombre de colonies de macrophages, ont été identifiées chez les souris diabétiques. Ces phénomènes favorisent la différenciation et l'activation des ostéoclastes, tout comme les ROS qui ont été retrouvés en quantité élevée dans les mitochondries de ces souris. Un taux d'acides gras important, et plus généralement l'hyperglycémie, peuvent aussi être à l'origine d'une stimulation de l'ostéoclastogénèse par le TNF- α . Enfin, une masse osseuse supérieure et une réduction du nombre d'ostéoclastes ont été observées chez les souris privées de récepteurs des AGEs, démontrant la contribution de ces derniers à une activation accrue de l'ostéoclastogénèse chez les patients diabétiques.⁹⁰

⁸⁸ Wu, Xiao, et Graves.

⁸⁹ Wu, Xiao, et Graves.

⁹⁰ Wu, Xiao, et Graves.

Figure 9 : Mécanisme potentiel de la perte osseuse alvéolaire liée au diabète



AGEs = produits finaux de glycation avancée ; ROS = dérivés réactifs de l'oxygène ; PDL = ligament parodontal

Source : Wu, Xiao et Graves, « Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease », 2015.

2.2.8 Prévention et traitement

Le diabète est une pathologie incurable. Une intervention est possible en amont afin de prévenir la survenue de diabète de type 2. De simples mesures concernant le mode de vie peuvent être appliquées : atteindre un poids normal et ne pas grossir par la suite, pratiquer une activité physique régulière d'intensité modérée (au moins 30 minutes par jour), adopter un régime alimentaire sain et équilibré incluant le minimum de graisses saturées et de sucre, ou encore s'abstenir de tout tabagisme.

Le traitement et la prise en charge des patients diabétiques se basent sur le maintien de l'équilibre de la glycémie, la stabilité de la pathologie au cours du temps, la prévention de ses complications ainsi que la lutte contre les facteurs de risque cardiovasculaires associés. En effet, en contrôlant et en normalisant la glycémie, le développement et la progression des néphropathies, neuropathies et rétinopathies sont réduits chez les patients diabétiques. La tension artérielle, les lipides sanguins et donc la concentration de cholestérol doivent également être surveillés. Les traitements, différents selon les types de diabètes, incluent un contrôle alimentaire ainsi qu'une pratique d'exercice physique régulier. Dans le cas du diabète de type 1, l'administration d'insuline et une éventuelle transplantation du pancréas sont préconisés, tandis que de l'insuline seule ou en association avec des agents hypoglycémisants oraux sont recommandés chez les patients souffrant de diabète de type 2. Enfin, une hygiène renforcée ainsi que l'examen régulier des pieds des patients diabétiques par des

professionnels de santé sont nécessaires afin de prévenir le développement d'ulcères et de toute complications associées à ces derniers.⁹¹

2.3 Prise en charge des patients diabétiques en chirurgie dentaire

Le diabète est une pathologie en progression constante qui concerne, comme les chiffres précédemment évoqués le montrent, une quantité non négligeable de patients dont le chirurgien-dentiste devra assurer les soins oraux.

Le chirurgien dentiste, en tant que professionnel de santé, a un rôle à part entière dans le dépistage du diabète chez ses patients. En effet, le praticien peut être le premier à déceler les symptômes d'un diabète de type 1 ou 2 (signes de diabète, éventuelles complications associées, existence de facteurs de risque) et se doit, le cas échéant, d'adresser le patient concerné afin de confirmer ou infirmer la suspicion de diabète et de l'intégrer, si cela est nécessaire, au parcours de soin adapté à sa pathologie.

Pour déceler un diabète ignoré ou une mauvaise équilibration de ce dernier, le chirurgien-dentiste peut se baser sur les manifestations cliniques du diabète. Ces dernières peuvent être retrouvées sur le plan général ou au niveau bucco-dentaire et sont causées directement par la pathologie, les conséquences de sa pathologie ou par son traitement.

Des paresthésies ou des hypoesthésies suggèrent la présence de neuropathies périphériques. Des crises d'hypoglycémie ainsi que des complications infectieuses fréquentes et difficiles à traiter sont aussi des manifestations cliniques générales que le chirurgien-dentiste doit savoir détecter lors du dépistage des patients diabétiques et de la mauvaise équilibration du diabète par leur traitement.⁹²

Sur le plan bucco-dentaire, les manifestations du diabète intéressent différentes structures. Le parodonte est concerné étant donné l'étroite relation entre diabète et santé parodontale : l'incidence et la sévérité des maladies parodontales sont nettement plus élevées chez le patient diabétique et entraînent, dans le cas de la parodontite, une rupture de l'équilibre du diabète du fait de l'insulino-résistance induite par la production de cytokines pro-inflammatoires. Une gingivite hyperplasique, congestive ou hémorragique, une parodontite de grade élevée en l'absence de facteurs de risque déjà connus, refractaire ou avec de fréquents épisodes d'abcès, peuvent être des manifestations buccales du diabète.

⁹¹ Organisation mondiale de la santé, « Diabète ».

⁹² Mealey, « Management of the patient with diabetes mellitus in the dental office ».

Une parotidomégalie et la xérostomie, provoquée par une altération de la fonction des glandes salivaires, sont également des indices à repérer lors du dépistage des patients diabétiques. La xérostomie entraîne une augmentation du glucose dans la salive et une diminution du pH salivaire, engendrant une prolifération de la plaque dentaire et donc une élévation du risque de survenue de caries multiples et de mortifications pulpaire. Associée à l'immunodépression induite par le diabète, la xérostomie est aussi à l'origine de l'augmentation du risque d'infections bactériennes, fongiques et virales, entraînant une atteinte plus fréquente des muqueuses par les candidoses ou les perlèches, les récurrences herpétiques, ainsi qu'une révélation d'infections dentaires jusqu'ici latentes. Enfin, des épisodes de cellulite aiguë ou d'ostéite des maxillaires peuvent également être des manifestations buccales du diabète.⁹³

Chez tout patient diabétique connu, en plus d'être vigilant sur ces différents points et de pratiquer un examen dentaire complet annuel ou biennuel, le chirurgien-dentiste se doit de s'assurer de l'existence d'un suivi médical, de s'informer au sujet du traitement en cours et d'évaluer le degré de sévérité et de contrôle de la maladie. Pour ce faire, il doit se renseigner sur la date de la dernière visite chez le praticien traitant ainsi que sur la nature du traitement suivi par le patient (par exemple, quantité et fréquence des injections d'insuline), connaître la valeur de la dernière mesure de la glycémie et/ou de l'HbA1c ainsi que sa valeur usuelle et être informé de l'actuelle présence de symptômes, comme par exemple des crises d'hypoglycémie.⁹⁴

Dans le cadre de la prise en charge des patients diabétiques, le chirurgien-dentiste doit savoir évaluer les risques auxquels il peut être confronté. L'équilibre d'un diabète est mesuré par le dosage sanguin de l'HbA1c qui doit être inférieur à 7,5 % dans un diabète de type 1 et 6 % dans un diabète de type 2. Plusieurs risques se présentent selon l'équilibration du diabète et la présence de pathologies associées :

- Tout patient diabétique équilibré doit être considéré comme faisant partie de la population non diabétique
- Tout patient diabétique (équilibré ou non) présente un risque médical (risque de survenue d'une crise d'hypoglycémie) et médicamenteux (notamment lors d'une corticothérapie).
- Tout patient diabétique ayant une insuffisance rénale chronique présente un risque infectieux (altération de la phagocytose et lymphopénie), un risque hémorragique (hypertension et thrombopathie) et un risque médicamenteux (néphrotoxicité des médicaments).

⁹³ Fricain et al., *Chirurgie orale*; Mealey, « Management of the patient with diabetes mellitus in the dental office ».

⁹⁴ Mealey, « Management of the patient with diabetes mellitus in the dental office ».

- Tout patient diabétique ayant une complication cardio-vasculaire présente un risque hémorragique (hypertension, agent anti-plaquettaire)
- Tout patient diabétique non équilibré présente un risque infectieux⁹⁵

L'évaluation de ces risques par le chirurgien-dentiste est majoritairement réalisée lors de l'anamnèse, du dosage de l'HbA1c et grâce à la correspondance avec le médecin traitant ou le diabétologue traitant. Pour cela, lors de la consultation pré-opératoire, le praticien doit :

- Mener un interrogatoire classique puis ciblé sur le diabète et ses complications chroniques
- Vérifier l'HbA1c (avoir un résultat écrit) : le dosage doit avoir été réalisé moins de 2 mois auparavant, dans le cas contraire le praticien doit en prescrire un nouveau. Le risque infectieux chez le patient diabétique étant directement corrélé à la concentration de glucose sérique, c'est elle qui conditionnera l'éventuelle prescription d'antibiotiques
- Entretenir une correspondance au moindre doute avec le médecin ou le diabétologue traitant
- Prescrire une antibiothérapie à visée prophylactique si le diabète du patient est déséquilibré
- Tenir compte des complications chroniques diabétiques et suivre les protocoles correspondant (gestion des risques infectieux, médicamenteux et hémorragiques lors de l'insuffisance rénale, gestion du risque hémorragique lors de complications cardio-vasculaires)
- S'assurer de la bonne information du patient ainsi que de son consentement éclairé
- Prévoir des séances de soin le matin, dans une ambiance calme afin de limiter le stress du patient, après que ce dernier ait pris une collation
- Prévoir de quoi « sucrer » le patient le jour de l'intervention (sucre en poudre, jus, sodas, glucagon...)
- Mener une évaluation approfondie du rapport bénéfice/risque de certains actes (chirurgie pré-implantaire et implantaire, chirurgie parodontale, chirurgie péri-apicale) lors de la prise en charge d'un patient diabétique non équilibré, bien que le diabète en lui-même ne contre-indique aucun acte bucco-dentaire⁹⁶

Le jour de l'intervention, le chirurgien-dentiste devra :

- S'enquérir de l'état général du patient et ne pas hésiter à reporter l'intervention si ce dernier ne se sent pas bien ou s'il y a le moindre doute

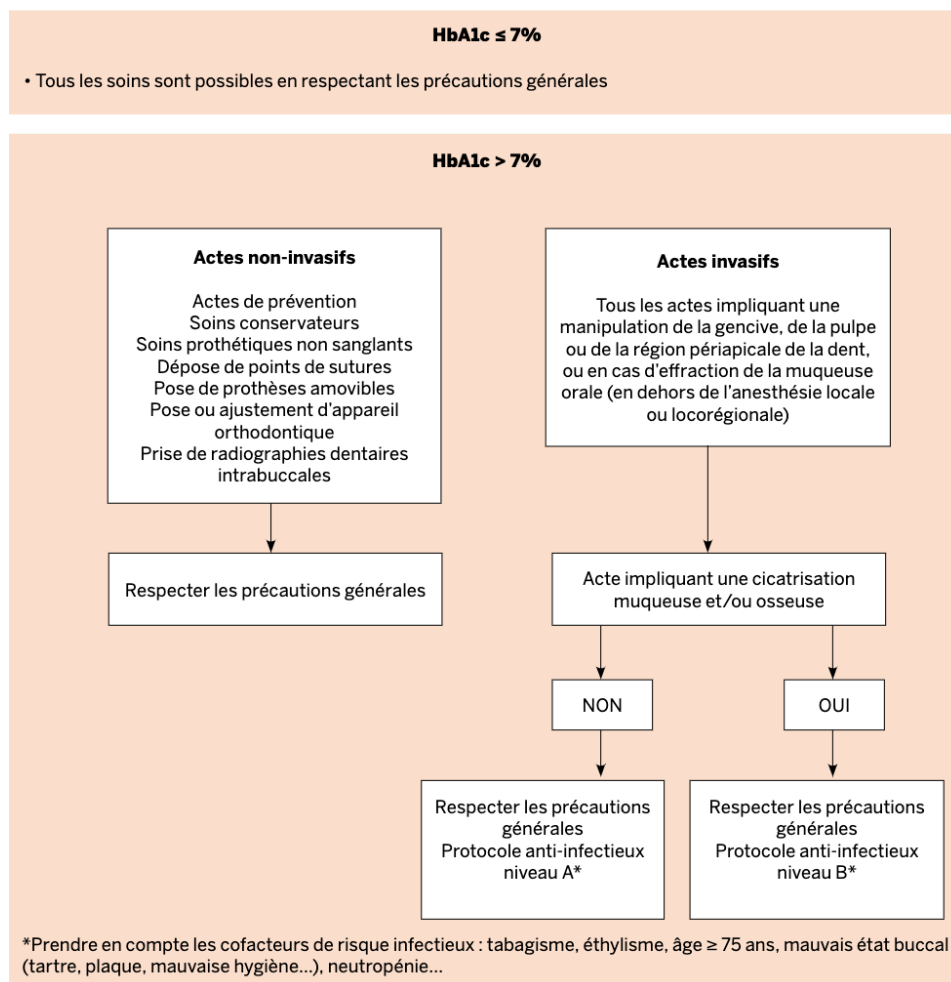
⁹⁵ Fricain et al., *Chirurgie orale*.

⁹⁶ Fricain et al.

- Vérifier l'observance de la collation et d'une éventuelle prescription antibiotique. Dans le cas où celle-ci n'a pas été respectée, le praticien devra donner une collation et des antibiotiques (s'ils étaient indiqués) ou reporter l'intervention
- Réaliser une glycémie capillaire préopératoire et postopératoire
- Rester à l'écoute du patient lors de l'intervention pour anticiper l'éventuelle survenue d'une crise d'hypoglycémie⁹⁷

Le praticien sera donc confronté à différentes situations cliniques lors de la prise en charge de patients diabétiques (cf. figure 10) :

Figure 10 : Situations cliniques lors de la prise en charge de patients diabétiques en chirurgie dentaire



Source : Association dentaire française, *Risques médicaux : guide de prise en charge par le chirurgien-dentiste*, 2013.

⁹⁷ Fricain et al.

Les protocoles anti-infectieux de niveau A et B de la figure 10 ne diffèrent que dans leur étape post-opératoire. Lors de l'étape pré-opératoire, il est recommandé :

- De traiter tout foyer infectieux actif par une antibiothérapie curative
- De diminuer la charge bactérienne en éliminant la plaque dentaire et le tartre présents en bouche ainsi qu'en prescrivant des bains de bouche antiseptiques (chlorhexidine à 0,12 % ou povidone iodée)
- De motiver le patient à l'hygiène orale
- De prescrire une antibioprofylaxie. Dans l'heure qui précède les soins, le patient doit prendre par voie orale : 2 g d'amoxicilline chez l'adulte et 50 mg/kg d'amoxicilline chez l'enfant, ou 600 mg de clindamycine chez l'adulte et 20 mg/kg de clindamycine chez l'enfant à partir de 6 ans en cas d'allergie aux pénicillines

En per-opératoire, il est recommandé de :

- Faire l'anesthésie à distance de tout foyer infectieux
- Réaliser une séance de soins la plus courte possible
- Réaliser les actes d'endodontie sous digue
- Préserver au maximum les tissus environnants, rincer la plaie opératoire avec un antiseptique avant de suturer et réaliser des sutures en rapprochant les berges lors d'actes chirurgicaux

En post-opératoire, lors du protocole anti-infectieux de niveau A, il est recommandé de :

- Réaliser des bains de bouche antiseptiques pendant 7 jours (chlorhexidine 0,12 %)
- Déposer les fils de sutures après 7 à 10 jours avec un contrôle de la cicatrisation muqueuse

En post-opératoire, lors du protocole anti-infectieux de niveau B, il est recommandé de :

- Réaliser des bains de bouche antiseptiques (chlorhexidine 0,12 %) pendant la phase de cicatrisation muqueuse
- Poursuivre la prise d'antibiotiques pendant la phase de cicatrisation muqueuse (en général 7 à 10 jours)
- Déposer les fils de sutures après 7 à 10 jours avec contrôle de la cicatrisation muqueuse⁹⁸

Bien qu'en ayant pris en compte et appliqué toutes ces mesures, le chirurgien-dentiste peut être confronté à tout moment au malaise hypoglycémique lors de la prise en charge de patients

⁹⁸ Association dentaire française. Collectifs., « Risques médicaux : guide de prise en charge par le chirurgien-dentiste ».

diabétiques. Lors de la survenue d'une crise d'hypoglycémie, il est nécessaire d'arrêter l'intervention et de réaliser une glycémie capillaire dès que possible. Trois situations peuvent alors se présenter :

- Si le patient est conscient et calme, il est recommandé de lui donner per os du sucre ou une boisson sucrée (10 à 20 g) puis de lui donner à manger un nutriment à index glycémique faible (pain) afin de prévenir la survenue d'un nouveau malaise. L'intervention peut être poursuivie.
- Si le patient est conscient et confus ou agité, il est recommandé de réaliser une injection de glucagon en intra-musculaire ou en sous-cutané (1 à 2 mg) sauf chez les patients sous sulfamides hypoglycémiant, sinon de réaliser une injection de glucose en intra-veineuse ou per os si l'état du patient le permet. Si le patient devient calme, il est indiqué de lui donner à manger un nutriment à index glycémique faible mais de ne pas poursuivre l'intervention et de prendre contact avec le médecin ou le diabétologue traitant pour préparer une nouvelle intervention. Enfin, si l'état confusionnel ou l'agitation persiste chez le patient, il est recommandé d'appeler le SAMU (Service d'Aide Médicale Urgente).
- Si le patient est inconscient, il est recommandé d'appliquer les mesures d'urgence en cas de coma (mise en PLS, libération des voies aériennes...), de réaliser une injection intra-veineuse directe de 50 mL de soluté glucosé à 30 % (G30), de mettre en place une perfusion de soluté glucosé à 10 % (G10) et d'appeler le SAMU.⁹⁹

Enfin, le chirurgien-dentiste doit prendre certaines précautions vis-à-vis des prescriptions couramment utilisées en odontologie. Les antibiotiques ne nécessitent pas de précautions particulières. Les corticoïdes doivent être utilisés avec précaution chez tous les patients diabétiques pour une durée la plus courte possible et avec un contrôle renforcé de la glycémie car ils entraînent un risque élevé d'hyperglycémie. Chez les patients traités par sulfamides hypoglycémiant, le miconazole (Daktarin®) par voie générale ou en gel buccal est contre-indiqué tandis que le fluconazole (Triflucan®) est déconseillé (en cas de prescription de ce dernier, le contrôle de la glycémie doit être renforcé et, si besoin, la posologie du traitement par sulfamides hypoglycémiant doit être adaptée avec le médecin ou le diabétologue traitant). Dans tous les cas, le chirurgien-dentiste devra tenir compte des autres pathologies et/ou traitements du patient.¹⁰⁰

⁹⁹ Fricain et al., *Chirurgie orale*.

¹⁰⁰ Association dentaire française, « *Risques médicaux : guide de prise en charge par le chirurgien-dentiste* ».

3 : Thrombospondine 2, diabète et cicatrisation

3.1 Les thrombospondines : généralités

La MEC joue un rôle clé dans la régulation de la génèse et du remodelage des tissus, non seulement en permettant l'établissement de connexions entre les cellules et entre la cellule et la matrice, mais aussi en soutenant ces connexions, en stimulant l'adhésion des cellules et en contrôlant leur motilité ainsi que leur différenciation. Elle participe également à la modération de la croissance et de l'apoptose des cellules ainsi qu'aux divers processus de réparation et de remodelage tissulaires. Une partie de ces fonctions sont remplies par un groupe de protéines de la MEC non structurales appelées protéines matricellulaires comprenant les TSPs, les ténascines, la périostine, l'ostéopontine, les protéines CCN et l'ostéonectine.¹⁰¹

Les TSPs sont des glycoprotéines de la MEC se liant au calcium pouvant être sécrétées par divers types de cellules. Elles interagissent à plus ou moins long terme avec de nombreux partenaires de liaison dans la MEC et de multiples récepteurs de surface cellulaire en partageant certaines propriétés des composants de la MEC afin de moduler l'organisation des fibrilles de collagène et de se lier à divers facteurs de croissance ou protéases. Médiateurs importants de l'homéostasie cellulaire, elles contribuent à la cicatrisation, à l'angiogenèse, à la constitution biologique de la paroi vasculaire, à l'organisation du tissu conjonctif et à la synaptogénèse. Jusqu'à aujourd'hui (2020), 5 membres de la famille des TSPs ont été identifiés. Les TSPs sont divisées en deux sous-groupes selon leurs différences structurales : TSP-1 et TSP-2 (thrombospondine 1 et 2) sont des trimères de structure similaire et constituent le sous-groupe A tandis que TSP-3, TSP-4 et TSP-5 (thrombospondine 3, 4 et 5) sont des pentamères constituant le sous-groupe B. Ces cinq membres, assignés à la même famille du fait de similitudes dans leur structure de domaine protéique modulaire, sont les produits de gènes différents sur différents chromosomes avec des régions régulatrices d'ADN (acide désoxyribonucléique) et d'ARNm différents, leurs profils d'expression spatiaux et temporels sont donc distincts. En raison de leur structure multidomaine et de leur capacité à interagir avec plusieurs ligands, les TSPs sont actives dans divers types de processus physiologiques et pathologiques. Les progrès les plus récents dans la compréhension des fonctions des TSPs ont été réalisés lors d'étude du système cardiovasculaire.¹⁰²

¹⁰¹ Adams et Lawler, « The thrombospondins ».

¹⁰² Zhang et al., « Role of thrombospondin-1 and thrombospondin-2 in cardiovascular diseases (review) ».

3.2 La thrombospondine 2

3.2.1 Structure de la thrombospondine 2

La TSP-2 est principalement produite par les fibroblastes et les cellules musculaires lisses. Elle est impliquée dans les phases de remodelage lors de la réparation tissulaire suite à une blessure. Elle est synthétisée et sécrétée sous forme d'homotrimère et peut, de par sa structure multidomaine complexe, interagir avec divers ligands, y compris les composants structurels de la MEC, les protéines matricellulaires, les récepteurs, les protéases, les facteurs de croissance et les cytokines. Au total, il existe trois chaînes identiques de TSP-2 pouvant former un trimère avec une liaison disulfure. Le monomère de TSP-2 est constitué d'un domaine N-terminal, d'un nœud disulfure interchaîne, d'une région procollagène homologue, de trois répétitions de type I, de trois répétitions de type II (répétitions de type EGF), de sept répétitions de type III et d'un domaine C-terminal. La fonction cellulaire est régulée spécifiquement via l'interaction de chacun de ces domaines avec diverses molécules.¹⁰³

Le domaine N-terminal de TSP-2 permet d'interagir avec l'héparine, une protéine du gène 6 inducible par le TNF, une protéine liée aux récepteurs des lipoprotéines de basse densité, la calréticuline, les intégrines $\alpha 4\beta 1$ et $\alpha 6\beta 1$. Les répétitions de type I ont été identifiées dans l'interaction avec les MMP2 et MMP9, un cluster de différenciation 36 (CD36) et l'intégrine $\beta 1$. Les répétitions de type II ont la capacité d'interagir avec le récepteur de l'EGF et avec l'intégrine $\beta 1$ tandis que les répétitions de type III permettent d'interagir avec le FGF-2 (Fibroblast growth factor 2), le calcium et les intégrines $\alpha 1\beta 3$ et $\alpha \nu\beta 3$. Enfin, le domaine C-terminal est en mesure d'interagir avec l'antigène de surface leucocytaire CD47 (cluster of differentiation 47) et le calcium (cf. figure 11). En modulant l'activité de ces ligands grâce à ces différentes interactions, TSP-2 permet d'induire une réponse cellulaire adaptée aux stimuli environnementaux lors de divers processus physiologiques et pathologiques.¹⁰⁴

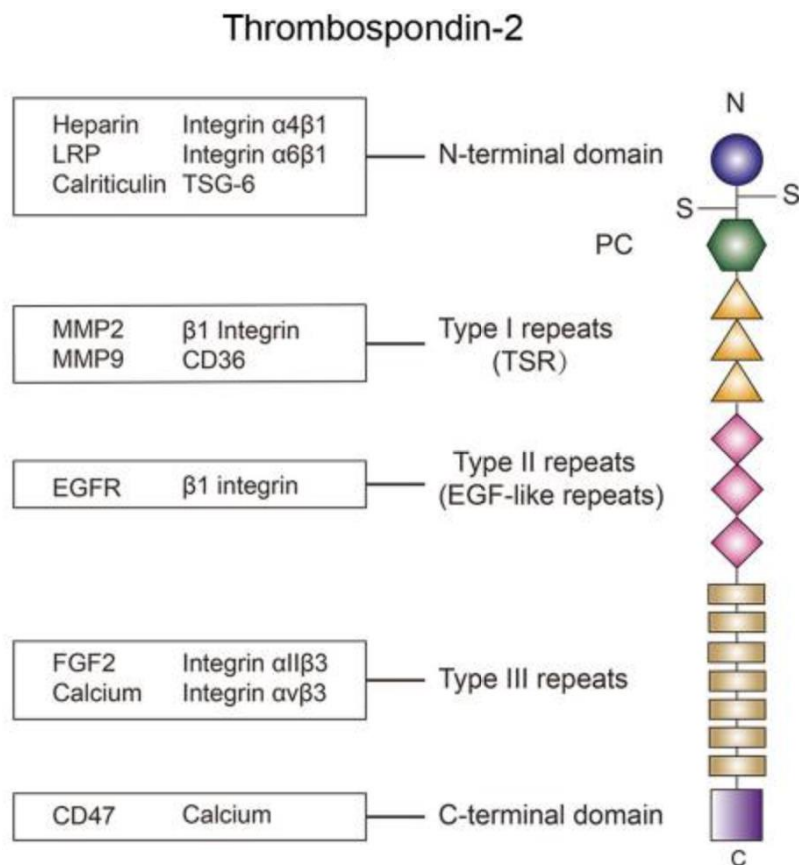
Aujourd'hui (2020), la compréhension de l'interaction des ligands de chaque domaine de TSP-2 n'est pas encore totalement acquise. De nombreuses molécules interagissant avec TSP-2 sont encore à identifier : les ligands dont l'interaction avec chaque domaine a été démontrée sont résumés dans la figure 11.

¹⁰³ Calabro, Kristofik, et Kyriakides, « Thrombospondin-2 and extracellular matrix assembly ».

¹⁰⁴ Zhang et al., « Role of thrombospondin-1 and thrombospondin-2 in cardiovascular diseases (review) ».

Comme énoncé précédemment, les structures de TSP-1 et TSP-2 sont similaires mais possèdent cependant des séquences d'acides aminés légèrement différentes, notamment au niveau de leur domaine N-terminal. Les études ont montré qu'il n'y a que 32 % de similitude de séquence d'acides aminés dans ce domaine entre TSP-1 et TSP-2, aboutissant à une différence de ligands liant le domaine N-terminal de TSP-1 et TSP-2 dans certaines circonstances. De plus, TSP-1, TSP-2 et leurs ligands peuvent également s'influencer mutuellement, entraînant une modification des interactions avec par exemple, une concurrence entre TSP-1 et TSP-2 lors de la dégradation par le biais des lipoprotéines de basse densité, contribuant ainsi à maintenir des niveaux élevés de TSP-1 et TSP-2 dans certaines situations, comme la cicatrisation.¹⁰⁵

Figure 11 : Diagramme structurel de la TSP-2



Source : Zhang et al., « Role of thrombospondin-1 and thrombospondin-2 in cardiovascular diseases (Review) », 2020.

¹⁰⁵ Zhang et al.

3.2.2 Rôle de la thrombospondine 2 dans divers processus pathologiques

Le rôle et la fonction de la TSP-2 ont majoritairement été étudiés dans le système cardiovasculaire, le diabète et le vieillissement. Ces deux derniers, contributeurs majeurs au développement de l'athérosclérose et de ses complications, impliquent une hausse de l'expression de la TSP-2. Du fait de sa structure multidomaine et de sa capacité à interagir avec plusieurs ligands, TSP-2 est un régulateur critique impliqué dans de nombreux aspects de la physiopathologie cardiovasculaire (cf. tableau 1).

En effet, dans le cas de l'infarctus du myocarde (nérose ischémique du myocarde causée par une diminution rapide ou une interruption de l'approvisionnement en sang coronarien), il a été remarqué que l'expression de TSP-2 est augmentée dans les cellules progénitrices des cardiomyocytes suite à l'exposition à l'hypoxie. Ce phénomène a entraîné une hausse de la prolifération, de la migration et de l'activité protéolytique des cellules progénitrices des cardiomyocytes, soulignant la participation de TSP-2 au contrôle des capacités de ces cellules en conditions hypoxiques. De plus, certaines variants fonctionnels des gènes de TSP-2 sont un facteur de risque génétique potentiel d'infarctus du myocarde du fait de la perturbation des sites de liaison du calcium qu'ils entraînent : il a été démontré que les homozygotes pour l'allèle mineur ou hétérozygotes (génotypes GG et TG, respectivement) ont un risque significativement accru d'infarctus du myocarde par rapport à ceux qui sont homozygotes (génotype TT) pour l'allèle majeur.¹⁰⁶

La TSP-2 jouerait également un rôle dans l'insuffisance et l'hypertrophie cardiaque. Cette dernière est majoritairement induite par une surcharge de pression chronique, telle que l'hypertension artérielle. Une croissance accrue des cardiomyocytes, une prolifération des fibroblastes cardiaques et une augmentation des dépôts de MEC sont des caractéristiques pathologiques de l'hypertrophie cardiaque. Dans les études menées chez les souris, l'absence de TSP-2 entraîne un accroissement de la mortalité suite à une cardiomyopathie dilatée associée à l'âge ainsi qu'à une fonction cardiaque diminuée, une hausse de l'apoptose des cardiomyocytes et des lésions de la MEC, une diminution de la fonction systolique et une augmentation de la dilatation cardiaque. La TSP-2 est donc nécessaire pour la fonction cardiomyocytaire et le maintien d'une matrice saine dans les cœurs âgés.

L'insuffisance cardiaque peut être la conséquence d'une surcharge myocardique non traitée et est quant à elle associée à une hausse de l'inflammation, une activation de la coagulation et un dysfonctionnement endothélial. La TSP-2 participe à certains de ces changements et est principalement associée à un mauvais pronostic chez les patients atteints de cette pathologie : la TSP-

¹⁰⁶ Zhang et al.

2 circulante est augmentée chez les patients atteints de coronopathie avec insuffisance cardiaque congestive symptomatique. Il a été de plus observé que l'expression de la TSP-2 est activée uniquement dans les cœurs hypertrophiques susceptibles de développer une insuffisance cardiaque, soulignant la possibilité d'un programme moléculaire précoce d'insuffisance cardiaque.¹⁰⁷

D'autres études ont permis démontrer l'implication de la TSP-2 dans la maladie calcifiante de la valve aortique. Ce trouble évolutif, caractérisé par une sténose aortique due à un raidissement sclérotique et à un épaississement valvulaire, est associé à une infiltration cellulaire inflammatoire, une accumulation de lipides, une fibrosclérose, des modifications de la MEC et des troubles de l'angiogenèse ainsi qu'à une calcification nodulaire. Les taux d'ARNm de TSP-2 ont été retrouvés à des niveaux 4,9 et 4,8 fois plus élevés dans les valves aortiques fibreuses et sténotiques. Ce phénomène a également été observé dans le cerveau de rats ischémique après une ischémie / reperfusion cérébrale et dans les vaisseaux sanguins autour de la région cérébrale endommagée. Cette protéine pourrait également contribuer à la résolution spontanée de l'angiogenèse post-ischémique dans les maladies des artères cérébrales et carotides, les données obtenues suggérant une stimulation de la récupération par la TSP-2 après une lésion de ces artères.¹⁰⁸

Dans le cas de l'athérosclérose, le lien direct entre la TSP-2 et cette pathologie nécessite une enquête plus approfondie. En effet, seule l'interaction entre la TSP-1 et divers processus pathologiques fondamentaux de l'athérosclérose (taux de lipides, lésion des cellules endothéliales, inflammation, migration des cellules musculaires lisses vasculaires) a été prouvée. De même, les études suggèrent que la TSP-2 contribue au processus pathologique de la resténose artérielle, processus similaire à l'athérosclérose du fait des lésions endothéliales, de la migration et de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires dans l'intima qu'il implique. Lors de l'inhibition de la TSP-2 dans les cellules musculaires lisses aortiques humaines, l'attachement cellulaire est amélioré mais la prolifération et la migration cellulaires ne sont pas affectées.¹⁰⁹

L'angiogenèse, processus physiologique fondamental associé à la cicatrisation, est modulé par divers facteurs de croissance, par l'interaction entre les cellules et la MEC mais aussi par la TSP-2. Les études montrent que cette protéine régule l'angiogenèse par ses interactions avec des facteurs de croissance, des cellules et des éléments spécifiques de la MEC : les résultats démontrent une densité accrue des

¹⁰⁷ Zhang et al.

¹⁰⁸ Zhang et al.

¹⁰⁹ Zhang et al.

vaisseaux sanguins chez les souris knock-out du gène TSP-2. En effet, il a été observé que les plaies de souris TSP-2 nulles présentaient un tissu de granulation hautement vascularisé et des niveaux accrus de VEGF permettant une guérison à un rythme accéléré, avec des cicatrices moins importantes. De par son activité anti-angiogénique, elle supprime la biodisponibilité et l'activité du VEGF et inhibe la prolifération, la migration et la survie des cellules endothéliales microvasculaires tout en activant leur apoptose en se liant à CD36. Cette liaison implique l'activation de kinases et la phosphorylation de caspases menant à l'apoptose, mais également une sensibilisation des cellules endothéliales à cette dernière du fait d'une augmentation de l'expression des récepteurs de la mort. La progression du cycle cellulaire et la signalisation de MAP kinase (Mitogen-activated protein) dans les cellules endothéliales microvasculaires sont également limitées par un mécanisme non apoptotique impliquant l'association de la région C-terminal de TSP-2 et les lipoprotéines de très basse densité. L'activité antiangiogénique de TSP-2 se base donc sur l'inhibition des voies de survie en même temps que l'activation des voies apoptotiques.^{110 111}

Outre sa participation dans les principales maladies cardiovasculaires citées, la TSP-2 joue un rôle dans d'autres pathologies comme par exemple la maladie de Kawasaki aiguë où le taux plasmatique de TSP-2 est élevé, ou dans d'autres processus physiologiques tels que certains liés au système immunitaire. La TSP-2, en favorisant l'action des lymphocytes T de par le site de liaison CD47 de son domaine C-terminal, a une action protectrice dans le modèle de myocardite virale en inhibant l'inflammation et les lésions cardiaques.¹¹²

La cicatrisation et le développement osseux sont également influencés par la TSP-2 du fait de l'impact de cette protéine sur l'angiogenèse et donc sur la néovascularisation osseuse et la différenciation des cellules souches mésenchymateuses. Dans un modèle murin de fracture osseuse, les souris TSP-2 nulles présentaient une résorption osseuse réduite et une amélioration de la formation osseuse suite à un accroissement du nombre d'ostéoprogéniteurs et des cellules stromales dérivées de la moelle osseuse : à J 10 après la fracture, les souris privées de TSP-2 comptaient 30 % plus d'os et 40 % moins de cartilage que les souris contrôles, ainsi qu'un nombre plus élevé d'ostéoblastes que les chondrocytes. Des résultats similaires ont été observés dans un modèle de fracture ischémique où les souris TSP2 nulles avaient un volume osseux, une prolifération cellulaire, une densité de vaisseaux et une diminution de l'apoptose significativement plus élevés à J 10 par rapport aux souris contrôles,

¹¹⁰ Zhang et al.

¹¹¹ Lawler et Lawler, « Molecular basis for the regulation of angiogenesis by thrombospondin-1 and -2 ».

¹¹² Stenina-Adognravi, « Thrombospondins ».

mettant en évidence l'inhibition de l'angiogenèse et la modification de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses par la TSP-2.¹¹³

Enfin, de nombreux phénotypes constitutifs ont été induits expérimentalement chez la souris knock-out du gène TSP-2, mettant en évidence l'implication de la TSP-2 dans la modulation du remodelage de la MEC et le maintien de la fibrillogénèse du collagène (de par sa régulation des niveaux de MMP, notamment MMP-2), de la densité vasculaire, de la croissance osseuse et de l'hémostase. Ces phénotypes découlent du rôle de cette protéine dans l'inhibition de l'angiogenèse et sont complexes à interpréter car l'absence de TSP-2 entraîne la perturbation d'un vaste réseau de protéines en interaction avec des conséquences phénotypiques multiples et spécifiques aux tissus (cf. figure 12). Le rôle exact de cette protéine dans les processus pathologiques et physiologiques ne concerne encore qu'une quantité limitée de recherches et nécessite une étude plus approfondie.¹¹⁴

Figure 12 : Phénotypes constitutifs et induits expérimentalement de souris knock-out du gène TSP-2

TSP-2 Peau fragile, tendons lâches avec fibrilles de collagène hypertrophiées
Double augmentation de la densité osseuse
Épaississement cortical des os longs
Augmentation de la densité vasculaire
Temps de saignement prolongé Cicatrisation accélérée des plaies cutanées
Augmentation de la vascularisation de la réaction de corps étranger
Modification de l'organisation de la capsule fibreuse
Augmentation de la prolifération des cellules précurseurs des ostéoblastes
Accélération de la carcinogénèse cutanée avec la tumeur a augmenté l'angiogenèse
accrue inflammation et l'angiogenèse dans retardée réaction d'hypersensibilité
différenciation de la moelle osseuse Altered ultrastructure et mégacaryocytes
susceptibilité accrue à la rupture cardiaque fatale angiotensine II induite par
Augmentation de l'ostéoblastogénèse et diminution de la résorption osseuse après l'ovariectomie
Augmentation de la formation osseuse endocorticale en réponse à la charge mécanique
Augmentation de la réponse inflammatoire de phase précoce et de l'activité de la MMP-2 dans la glomérulonéphrite expérimentale
Modification de la morphologie lamellaire des disques lombaires Modification du rapport cartilage / os pendant la cicatrisation d'une fracture osseuse
Réduction de l'expression du gène cible Notch3
Augmentation de la cardiomyopathie dilatée liée à l'âge et de la mortalité liée à l'âge
Inhibition de l'adipogénèse

Source : Adams et Lawler, « The thrombospondins », 2011.

¹¹³ Calabro, Kristofik, et Kyriakides, « Thrombospondin-2 and extracellular matrix assembly ».

¹¹⁴ Adams et Lawler, « The thrombospondins ».

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des différents rôles de la TSP-2 dans des modèles animaux

<p>Infarctus du myocarde</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Hausse de la prolifération, de la migration et de l'activité protéolytique des cellules progénitrices des cardiomyocytes • Perturbation des sites de liaison du calcium : facteur de risque d'infarctus du myocarde
<p>Insuffisance et hypertrophie cardiaque</p>	<p>Nécessaire à la fonction cardiomyocytaire et au maintien d'une matrice saine dans les cœurs âgés</p> <p>En cas d'absence de TSP-2 (souris KO TSP-2) :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cardiomyopathie dilatée associée à l'âge • Diminution de la fonction cardiaque • Augmentation de l'apoptose des cardiomyocytes • Augmentation des lésions de la MEC • Diminution de la fonction systolique • Augmentation de la dilatation cardiaque
<p>Coronopathie avec insuffisance cardiaque congestive symptomatique</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Hausse de l'inflammation • Activation de la coagulation • Dysfonctionnement endothélial
<p>Calcification de la valve aortique : valves aortiques fibreuses et sténotiques</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Infiltration cellulaire inflammatoire • Accumulation de lipides • Fibrosclérose • Modifications de la MEC • Troubles de l'angiogenèse (action antiangiogénique) • Calcification nodulaire
<p>Resténose artérielle</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Migration et prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires dans l'intima • Diminution de l'attachement cellulaire dans les cellules musculaires lisses aortiques humaines

Angiogenèse	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses • Inhibition de la biodisponibilité et de l'activité du VEGF • Augmentation de l'apoptose des cellules endothéliales microvasculaires • Inhibition du cycle cellulaire et de la signalisation MAP kinase dans les cellules endothéliales microvasculaires
Myocardite virale	Action protectrice : augmentation de l'action des lymphocytes T via liaison CD47 du domaine C-terminal
Cicatrisation et développement osseux	Augmentation de la résorption osseuse et diminution de la formation osseuse : <ul style="list-style-type: none"> • Diminution du nombre d'ostéoprogéniteurs • Diminution du nombre de cellules stromales dérivées de la moelle osseuse
Modulation du remodelage de la MEC et maintien de la fibrillogénèse du collagène	Régulation des niveaux de MMPs

Source : Auteur, 2021.

3.2.3 Régulation de l'expression de la thrombospondine 2

Peu d'études ont été menées concernant la régulation transcriptionnelle de la TSP-2 mais certains régulateurs ont été mis en évidence, comme l'oxyde nitrique (NO) et le cytochrome P450 1B1 (cf. tableau 2).

Lors de la cicatrisation, le NO est impliqué dans l'angiogenèse et est synthétisé par l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS). Le NO est une molécule endogène vasoactive participant à plusieurs fonctions vasculaires importantes, comme la vasodilatation transitoire, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, à la fois la promotion et l'inhibition de l'angiogenèse, ou encore la promotion de la cytostase et de la mort cellulaire. Ses fonctions varient en fonction du temps et de sa concentration. Le CD36 et le CD47, avec lesquels TSP-2 interagit, sont tous deux liés impliqués l'interaction du NO avec la TSP-2. Les études chez des souris privées d'eNOS montrent que l'activité de cette enzyme est

inversement corrélée au niveau d'expression de TSP-2, suggérant une inhibition de la TSP-2 par le NO et donc une action pro-angiogénique de ce dernier. De plus, lors de la réintroduction de l'eNOS via un mutant constitutivement actif, les niveaux d'expression élevés de TSP-2 dans les plaies cutanées de ces souris ont été normalisés. Enfin, les souris privées d'eNOS et de TSP-2 présentaient une amélioration de la cicatrisation des plaies et un recouvrement normal de l'ischémie, démontrant l'existence d'un axe de signalisation NO/TSP-2.¹¹⁵

La TSP-2 est également régulée négativement par le cytochrome P450 1B1. Cette enzyme de la famille des protéines du cytochrome P450 est exprimée lors du développement et favorise l'angiogenèse et le flux sanguin par la régulation du stress oxydatif cellulaire. Ce dernier implique une hausse de la production de ROS qui eux-mêmes provoquent une augmentation de l'expression de la TSP-2. En effet, les études menées chez des souris privées de cytochrome P450 1B1 ont montré une réduction de la réponse néovasculaire ainsi qu'un accroissement des niveaux de stress oxydatif cellulaire et de TSP-2, tandis que la réexpression du cytochrome P450 1B1 chez ces souris a entraîné une chute des niveaux de TSP-2. Ces résultats démontrent que le cytochrome P450 1B1 est nécessaire pour métaboliser les produits du stress oxydatif intracellulaire dont l'accumulation est associée à une expression accrue de TSP-2.¹¹⁶

Tableau 2 : Tableau récapitulatif de la régulation de l'expression de la TSP-2

L'eNOS entraîne une augmentation du NO	NO inhibe l'expression de la TSP-2 via CD36 et VD47
Le stress oxydatif cellulaire	Augmente l'expression de la TSP-2 via l'augmentation de la proportion de ROS
Le cytochrome P450 1B1	Diminue le stress oxydatif cellulaire Diminue la proportion de ROS Diminue l'expression de la TSP-2

Source : Auteur, 2021.

¹¹⁵ Calabro, Kristofik, et Kyriakides, « Thrombospondin-2 and extracellular matrix assembly ».

¹¹⁶ Calabro, Kristofik, et Kyriakides.

3.3 Impact de la thrombospondine 2 sur la cicatrisation des patients diabétiques

Comme énoncé précédemment, la cicatrisation est modifiée lors du diabète qui comprend, parmi ses différentes complications, une altération de l'angiogenèse, une inflammation vasculaire et une altération de la fibrose à l'origine de la majeure partie de la morbidité et la mortalité chez les patients diabétiques. Ces complications sont par ailleurs associées à la TSP-2 qui joue un rôle dans la modification de la cicatrisation due à cette pathologie, principalement du fait de ses propriétés anti-angiogéniques.

En effet, lors d'une étude menée en 2019 par Kunkemoeller et al., l'analyse des échantillons de peau de quatre patients atteints de diabète de type 2 ayant subi l'amputation d'un membre et des échantillons de prépuce d'un nouveau-né et de trois patients adultes sans antécédent de diabète a montré une hausse de 2,9 fois du taux de TSP-2 dans la peau des patients diabétiques par rapport à la peau des patients sains. Des résultats similaires ont été retrouvés chez des modèles murins diabétiques avec un taux de TSP-2 à J 10 2,3 fois plus élevé par rapport aux contrôles, jour où la TSP-2 a atteint son pic dans les plaies. L'ensemble des résultats obtenus démontre que l'expression de la TSP-2 est bien plus élevée chez les souris diabétiques et la peau des patients diabétiques que chez leurs homologues sains (cf. annexe 1).¹¹⁷

L'objectif suivant de cette étude sur modèle murin a été de déterminer la contribution de la TSP-2 lors de l'altération de la cicatrisation dans le cas du diabète à l'aide de nouveaux modèles murins diabétiques déficients en TSP-2, ces derniers ayant développé une obésité et une hyperglycémie comparables aux souris contrôles diabétiques (car non privées de TSP-2). L'analyse de la cicatrisation chez ces souris a été menée grâce à un modèle de plaie excisionnelle pleine épaisseur. Les résultats ont mis en évidence une amélioration de la cicatrisation impliquant une diminution plus rapide de la taille de la plaie chez les souris diabétiques déficientes en TSP-2 : les plaies de ces dernières étaient significativement plus petites à J 10, présentaient une fermeture améliorée par réépithélialisation et contenaient une plus grande quantité de collagène mature par rapport aux plaies des souris diabétiques non privées de TSP-2. Les souris déficientes en TSP-2, malgré le développement d'une obésité et d'une hyperglycémie comparables aux souris diabétiques témoins, ont présenté une cicatrisation significativement améliorée caractérisée par une réépithélialisation accélérée et une formation accrue de tissu de granulation (cf. annexe 2).¹¹⁸

¹¹⁷ Kunkemoeller et al., « Elevated thrombospondin 2 contributes to delayed wound healing in diabetes ».

¹¹⁸ Kunkemoeller et al.

De plus, sept jours après la blessure, il a été observé à l'aide d'un immunomarquage de la vimentine (marqueur mésenchymateux exprimé dans les fibroblastes) que l'expression de cette dernière, et donc la quantité de fibroblastes, était augmentée dans les plaies des souris diabétiques déficientes en TSP-2 par rapport aux souris diabétiques contrôles, à l'instar de la migration des fibroblastes dermiques. Les résultats obtenus démontrent également une amélioration significative de la maturation et de la quantité de vaisseaux sanguins chez les souris déficientes en TSP-2 par rapport aux souris diabétiques contrôles (cf. annexe 3).¹¹⁹

D'autres analyses de cette étude suggèrent que l'hyperglycémie due au diabète est également à l'origine de l'altération de la cicatrisation chez ces patients à cause de l'augmentation de l'expression de la TSP-2 qu'elle implique.

En effet, afin d'explorer la régulation de la TSP-2, des fibroblastes ont été mis en culture dans des milieux à haute teneur en glucose afin de simuler une hyperglycémie. Un taux élevé de TSP-2 a été retrouvé dans les milieux de culture, correspondant aux résultats obtenus chez les souris diabétiques précédemment décrits. Il a également été observé que ces taux correspondent à une augmentation de la transcription de la TSP-2 dans un milieu à haute teneur en glucose du fait d'une activité doublée du promoteur de la TSP-2 couplée à une stabilité de l'ARNm ou des protéines de TSP-2. Il a également été démontré que l'augmentation de l'expression de la TSP-2 nécessite une catabolisation du glucose et du glucose-6-phosphate (premier intermédiaire de la glycolyse) ou de ses dérivés et qu'elle est médiée par la signalisation NF-kB dépendant de la voie de l'hexosamine (cf. annexe 4). NF-kB est donc le facteur de transcription responsable de l'expression de la TSP-2 et la voie de l'hexosamine est quant à elle une voie impliquée dans la O-GlcNAc glycosylation des protéines. Cette dernière régule la localisation, la stabilité ou l'activité des protéines en fonction de l'environnement nutritionnel de la cellule et, lorsqu'elle est altérée, elle joue un rôle dans le diabète en participant au phénomène de glucotoxicité associé à l'hyperglycémie chronique.¹²⁰

L'ensemble de ces résultats met en évidence que l'hyperglycémie provoque une hausse de l'expression de la TSP-2 dans les fibroblastes, principale source cellulaire de TSP-2 dans les plaies, du fait d'un taux élevé de glucose augmentant l'activation de la voie de l'hexosamine et la signalisation du NF-kB. L'élévation de l'expression de la TSP-2 induite par l'hyperglycémie due au diabète contribue donc à l'altération de la maturation des vaisseaux sanguins et de la cicatrisation chez les diabétiques du fait de l'impact de cette protéine sur la migration cellulaire et de par son activité antiangiogénique.

¹¹⁹ Kunkemoeller et al.

¹²⁰ Kunkemoeller et al.

La hausse de l'expression de la TSP-2 dans le cadre du diabète est également due à l'augmentation du stress oxydatif qu'implique cette pathologie.¹²¹

Une étude réalisée en 2013 a été menée par Bae et al. afin d'étudier le lien entre l'augmentation du stress oxydatif, du niveau d'expression de la TSP-2, et la modification de l'angiogenèse causée par l'altération de la fonction des cellules angiogéniques dérivées de la moelle osseuse (BMACs) diabétiques. Pour ce faire, des BMACs ont été isolées à partir de souris diabétiques de type 2 mâles adultes (db/db) et de souris témoins (db/+).¹²²

Dans un premier temps, en accord avec les résultats de Kunkemoeller et al. il a été démontré que l'angiogenèse était significativement altérée chez les souris diabétiques (cf. annexe 5). De même, les résultats obtenus dans cette étude ont mis en évidence que l'expression de la TSP-2 était significativement augmentée chez les diabétiques (cf. annexe 6) et que cette dernière contribuait à l'altération de l'angiogenèse caractéristique de cette pathologie (cf. annexe 7).¹²³

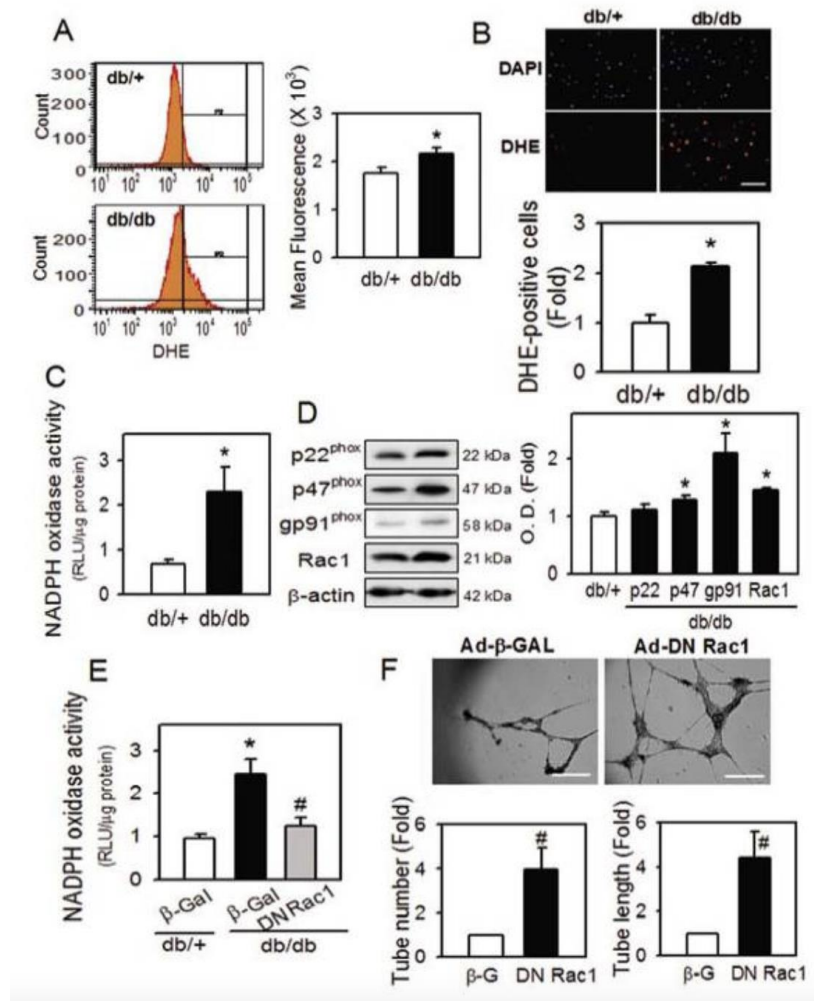
Puis, le rôle et l'impact du stress oxydatif lié au diabète sur la fonction des BMACs, et donc sur l'angiogenèse, ont été étudiés (cf. figure 13).

¹²¹ Bae et al., « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes ».

¹²² Bae et al.

¹²³ Bae et al.

Figure 13 : Rôle du stress oxydatif dans le dysfonctionnement des BMAC diabétiques



Source : Bae et al., « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes », 2013.

L'importance du stress oxydatif a été mesurée à l'aide de dihydroéthidium (DHE), permettant de détecter la génération de ROS. Comme le montrent les figures 13A et 13B, le signal DHE dans les BMACs diabétiques était significativement augmenté par rapport aux BMACs normales, à la fois en cytométrie de flux (cf. figure 13A) et microscopique à fluorescence (cf. figure 13B), mettant en évidence un stress oxydatif élevé dans les BMACs diabétiques.¹²⁴

Ces résultats démontrent également que le stress oxydatif est augmenté dans les BMACs diabétiques suite à une hausse de l'activité de la NADPH oxydase, un des systèmes enzymatiques responsable de

¹²⁴ Bae et al.

la génération de ROS dans les tissus vasculaires. En effet, en utilisant la chimioluminescence améliorée par la lucigénine, une activité élevée de la NADPH oxydase dans les BMACs diabétiques a été détectée dans le luminomètre, comme le montre la figure 13C. Une hausse des niveaux d'expression de protéines sous-unités de la NADPH oxydase a également été retrouvée dans les BMACs diabétiques par Western blot (cf. figure 13D).¹²⁵

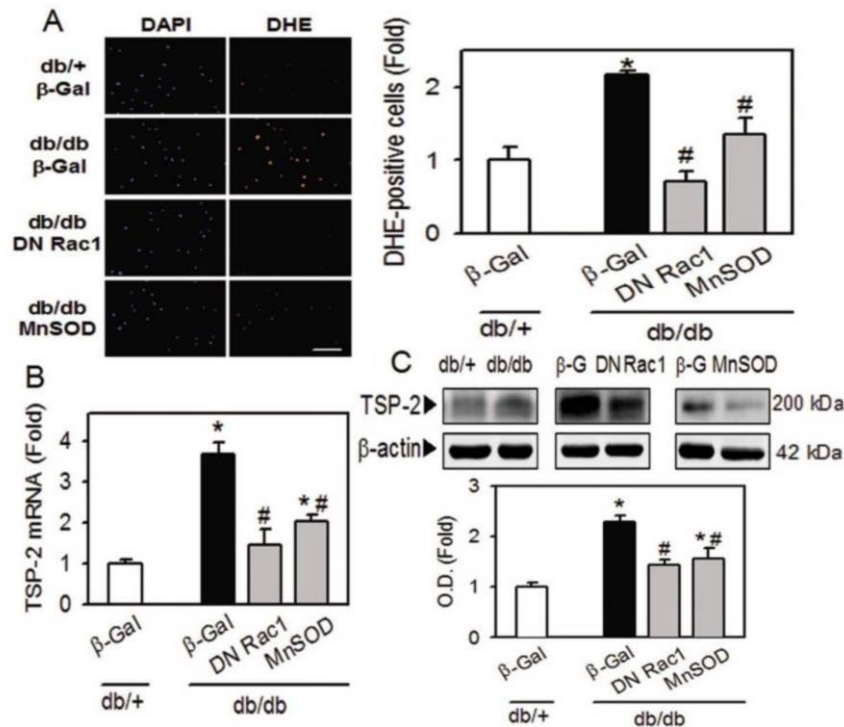
Enfin, en transfectant le vecteur adénoviral médié par le dominant négatif Rac1 (DN Rac1) pouvant retarder la fonction du Rac1 endogène (composant majeur de la NADPH oxydase), la fonction des BMACs diabétiques, et donc l'angiogenèse, a été considérablement restaurée. La β -galactosidase (β -Gal) permet de mesurer l'activité de la NADPH oxydase. Sur l'histogramme de la figure 13E, on observe une inhibition de l'activité de la NADPH oxydase et un retour à un niveau d'activité de cette enzyme sensiblement similaire à celui chez les témoins suite à la surexpression dominante négative de Rac1 (Ad-DN Rac1) dans les BMACs diabétiques. De plus, sur la figure 13F, on observe qu'en diminuant l'activité de la NADPH oxydase, la surexpression de DN Rac1 a considérablement restauré la capacité altérée des BMACs diabétiques à former des tubes (afin d'étudier l'efficacité de la fonction d'angiogenèse des BMACs, la capacité à former des tubes et des réseaux de ces dernières a été évaluée après les avoir plaquées sur Matrigel, la formation de tubes nombreux et longs étant le signe d'une angiogenèse optimale). L'ensemble de ces résultats démontrent donc que l'activité augmentée de la NADPH oxydase dans les BMACs diabétiques est en partie responsable de la modification de la fonction de ces cellules et donc de l'altération de l'angiogenèse chez les diabétiques.¹²⁶

Les résultats obtenus et présentés dans la suite de l'étude ont permis de mettre en évidence que la hausse du stress oxydatif due au diabète est une des causes de l'augmentation du niveau d'expression de TSP-2 dans les BMACs diabétiques (cf. figure 14).

¹²⁵ Bae et al.

¹²⁶ Bae et al.

Figure 14 : Régulation de la TSP-2 par le stress oxydatif chez les BMAC diabétiques



Source : Bae et al., « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes », 2013.

En effet, en utilisant le vecteur adénoviral surexprimant DN Rac1 ou MnSOD (mitochondrial antioxidant manganese superoxide dismutase, principale enzyme antioxydante présente dans les BMACs), l'activité de la NADPH oxydase a été significativement diminuée et comme le montre la figure 14A, le niveau de stress oxydatif dans les BMACs diabétiques a été inversé, s'approchant d'un niveau similaire aux BMACs contrôles. Les figures 14B et 14C démontrent quant à elles que la quantité d'ARNm de TSP-2 (14B) et le taux de protéines de TSP-2 (14C) ont été significativement diminués suite à l'inhibition du stress oxydatif, mettant ainsi en évidence que la hausse du niveau d'expression de la TSP-2 dans les BMACs diabétiques est médiée par l'augmentation du stress oxydatif due au diabète.¹²⁷

Les résultats obtenus par Bae et al. confirment ceux de Kunkemoeller et al. et prouvent que l'hyperglycémie due au diabète provoque un stress oxydatif lui-même à l'origine d'une augmentation de l'expression de la TSP-2 dans les BMACs diabétiques, phénomène observable dans les différents types de diabètes (cf. annexe 8).¹²⁸

¹²⁷ Bae et al.

¹²⁸ Bae et al.

Enfin, cette étude démontre que le microARN let-7f (microARN lié à la fonction angiogénique dans les cellules endothéliales) contrôle l'expression de la TSP-2 dans les BMACs et participe donc à une des voies de régulation de la TSP-2. Les microARN sont de petits ARN monocaténaux qui régulent négativement l'expression des gènes en se liant aux ARN messagers cibles. Il a été observé que le niveau de let-7f était significativement diminué par le diabète, entraînant ainsi une inhibition de la régulation de la TSP-2 dans les BMACs diabétiques à l'origine de l'altération de l'angiogenèse chez les diabétiques (cf. annexe 9).¹²⁹

L'ensemble de ces résultats prouve que le diabète et certains phénomènes qu'il implique entraînent une hausse de l'expression de la TSP-2 en partie responsable d'une cicatrisation altérée chez les diabétiques.^{130 131}

3.4 Optimisation de la cicatrisation des plaies diabétiques à l'aide de matériaux privés de thrombospondine 2 : l'exemple des hydrogels dérivés de la matrice extracellulaire décellularisée TSP-2 KO

Au vu de ces différentes observations, il apparaît intéressant de tenter d'améliorer la cicatrisation des patients diabétiques en intervenant sur l'action de la TSP-2. En effet, cette protéine est au cœur des difficultés et du retard de cicatrisation chez ces patients.

Jusqu'à récemment, le traitement des plaies diabétiques était principalement limité aux soins de plaies standards, avec retrait des tissus endommagés (détersion), cicatrisation dirigée humide, puis, dans le cas de plaies au niveau des pieds, port de chaussures permettant de réduire la pression sur la plaie. La TSP-2 étant une protéine matricellulaire influençant la formation et l'évolution de la MEC, des recherches ont été menées dans le but d'imaginer ou d'inventer des matériaux, applicables sur les plaies diabétiques tels des dispositifs de pansement, privés de cette protéine ou permettant l'inhibition de la TSP-2.

Les hydrogels sont l'un des vecteurs les plus utilisés. Ce sont des gels ayant l'eau pour agent gonflant. Bien qu'insolubles dans l'eau, ces derniers sont capables de gonfler substantiellement en présence d'une grande quantité d'eau ou de solutions aqueuses telles que les fluides biologiques. Polyvalents et pouvant être formés à partir de presque tous les polymères hydrosolubles, ils présentent plusieurs

¹²⁹ Bae et al.

¹³⁰ Kunkemoeller et al., « Elevated thrombospondin 2 contributes to delayed wound healing in diabetes ».

¹³¹ Bae et al., « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes ».

paramètres réglables comme la porosité, le taux de gonflement et la densité de réticulation pour permettre un certain contrôle sur la vitesse de libération. Étant donné que les hydrogels sont liquides avant la gélification, il est aussi facile d'envisager d'ajouter des molécules ou des cellules simplement en les mélangeant, conférant ainsi plus de contrôle technique. Ils peuvent également copier les propriétés mécaniques du tissu de granulation et maintenir, dans une certaine mesure un environnement humide dans la plaie. Les hydrogels présentent d'autres avantages majeurs pour les applications de cicatrisation des plaies comme leur capacité à retenir les cellules sur un site d'administration et à servir d'échafaudage restructeur, ou encore leur conception pour polymériser à la demande et ainsi se conformer à la perte de substance.¹³²

En raison de leur facilité d'obtention et de leur bonne biocompatibilité, les hydrogels sont souvent formés à partir de matériaux naturels comme le chitosane (un polysaccharide) ou la fibrine. Par exemple, des membranes de chitosane peuvent être utilisées pour recouvrir une plaie et libérer des antibiotiques à mesure qu'elles gonflent, tout en modulant leur libération via l'addition d'autres composants comme l'alginate. Les hydrogels peuvent également être utilisés afin de délivrer des facteurs de croissance : dans un modèle de souris, le facteur de croissance des fibroblastes 1 (FGF-1) délivré par un gel de fibrine modifié a entraîné une angiogenèse et peut donc potentiellement être utilisé pour améliorer la cicatrisation. Ils peuvent également être conçus à partir de polymères synthétiques comme le polyéthylène glycol qui, bien que dépourvu de la biocompatibilité inhérente aux matériaux naturels, présentent des propriétés de matériau hautement contrôlables et facilement reproductibles.¹³³

Les hydrogels dérivés de la MEC décellularisée présentent de nombreux avantages comme le fait de comporter la structure native de la MEC, de retenir des facteurs de croissance liés à la matrice, ou encore d'impliquer des voies de dégradation endogènes et une réponse favorable de l'hôte. Du fait d'une composition similaire à celle des tissus décellularisés, les hydrogels dérivés de MEC conservent les avantages régénératifs de ceux-ci. De plus, il a été prouvé que les hydrogels à base de MEC peuvent stimuler l'angiogenèse et présenter des capacités régénératives améliorées : la réponse de l'hôte à ces derniers est similaire à celle des tissus décellularisés caractérisée par une interrogation initiale par les neutrophiles et les macrophages puis une invasion par les cellules souches et les cellules migratrices des tissus environnants.¹³⁴

¹³² Johnson et Wang, « Drug delivery systems for wound healing ».

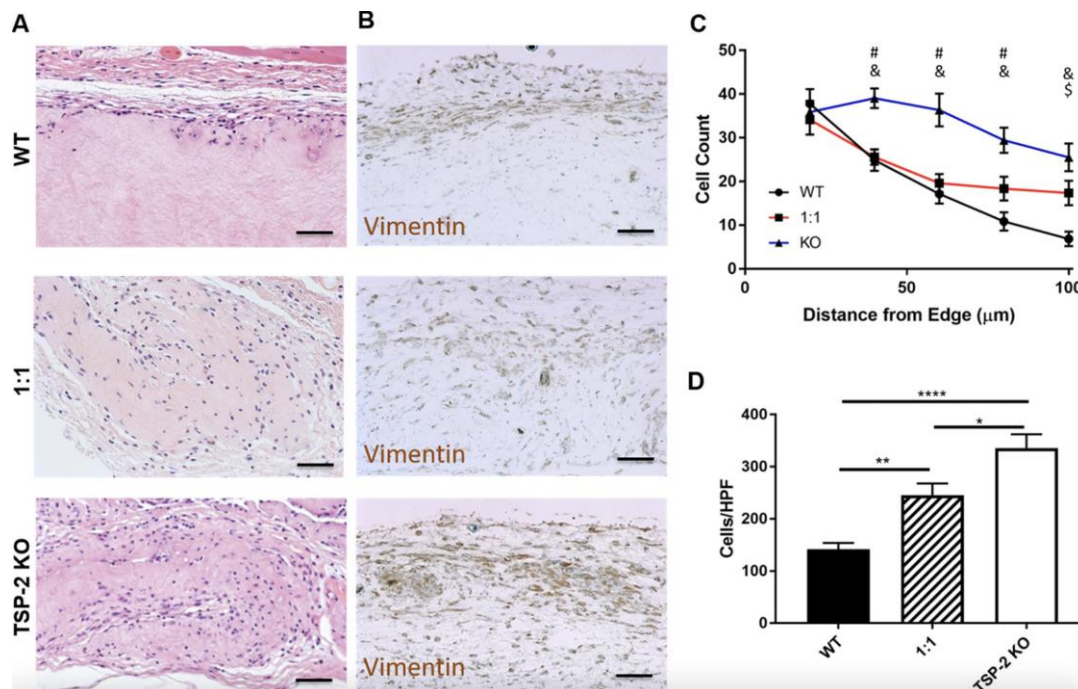
¹³³ Johnson et Wang.

¹³⁴ Morris et al., « Tunable hydrogels derived from genetically engineered extracellular matrix accelerate diabetic wound healing ».

Une étude a été menée par Morris et al. en 2018 afin d'étudier la conception d'hydrogels à partir de peau décellularisée de souris TSP-2 KO et de contrôles, puis de comparer leur efficacité et leurs propriétés. Une partie des résultats ont montré que les hydrogels de souris génétiquement modifiées favorisaient la guérison des plaies diabétiques.¹³⁵

Des hydrogels dérivés de tissus ont été injectés par voie sous-cutanée chez des souris saines et ont été récupérés cinq jours plus tard afin d'évaluer leurs effets et la réponse de l'hôte (cf. figure 15).

Figure 15 : La manipulation génétique permet d'adapter l'invasion cellulaire dans les hydrogels dérivés de tissus



Source : Morris et al., « Tunable hydrogels derived from genetically engineered extracellular matrix accelerate diabetic wound healing » 2018.

La coloration à l'hématoxyline et à l'éosine des sections d'hydrogel a mis en évidence une invasion cellulaire accrue dans le gel 1:1 WT/KO (Contrôle/Knock-out) par rapport au contrôle (WT), comme en témoigne la figure 15A. Cette figure indique également un nombre de cellules significativement plus important dans le gel TSP-2 KO par rapport au gel 1:1 WT/KO. De plus, comme le montre les figures 15C et 15D, la quantification des cellules (C) et le rapport accru de la matrice TSP-2 KO dans l'hydrogel

¹³⁵ Morris et al.

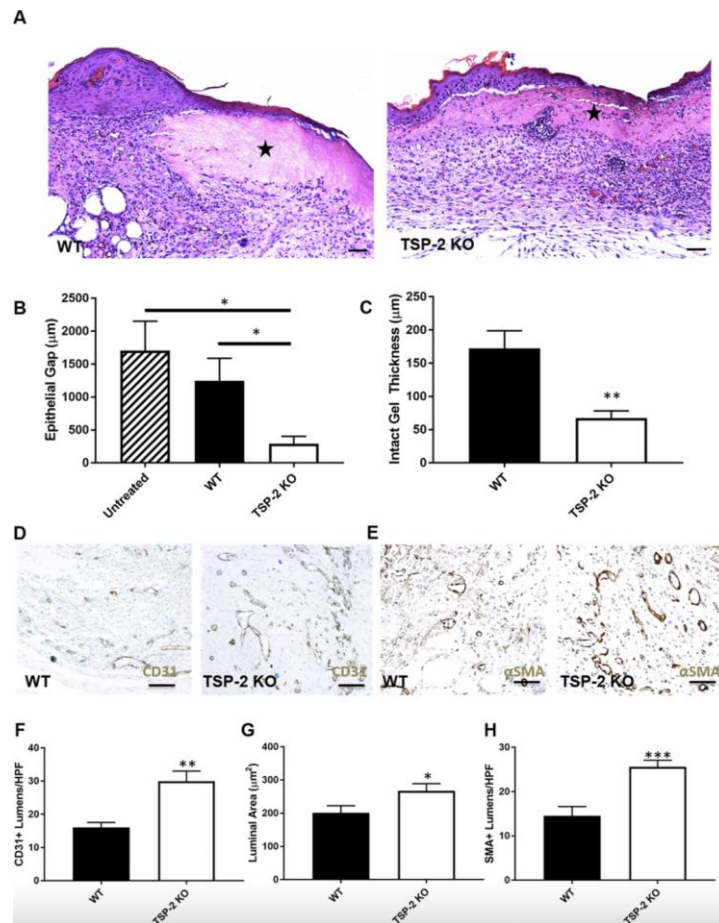
(D) démontrent que la migration des cellules dans la profondeur du gel et le contenu cellulaire total ont été augmentés par les hydrogels TSP-2 KO et 1:1. Enfin, la détection immunohistochimique de la vimentine présentée par la figure 15B met en évidence la présence de nombreuses cellules de la lignée mésenchymateuse. Ces résultats témoignent du fait que les fibroblastes ont pénétré plus loin dans les hydrogels TSP-2 KO que chez les contrôles et suggèrent que les hydrogels peuvent influencer sur la réponse de l'hôte et, dans le cas présent, améliorer la migration cellulaire (les hydrogels privés de TSP-2 ayant une efficacité accrue).¹³⁶

Les propriétés de stimulation de la migration cellulaire des hydrogels TSP-2 KO pouvant être intéressantes dans le cadre de la médecine régénérative (et plus particulièrement dans la cicatrisation des plaies diabétiques), leur intérêt a été évalué en les appliquant sur des plaies de pleine épaisseur chez des souris diabétiques db/db pendant 10 (cf. figure 16) et 21 jours (cf. figure 17).¹³⁷

¹³⁶ Morris et al.

¹³⁷ Morris et al.

Figure 16 : Amélioration de la fermeture de la plaie et de la vascularisation chez la souris diabétique suite à l'application d'hydrogels TSP-2 KO pendant 10 jours



Source : Morris et al., « Tunable hydrogels derived from genetically engineered extracellular matrix accelerate diabetic wound healing », 2018.

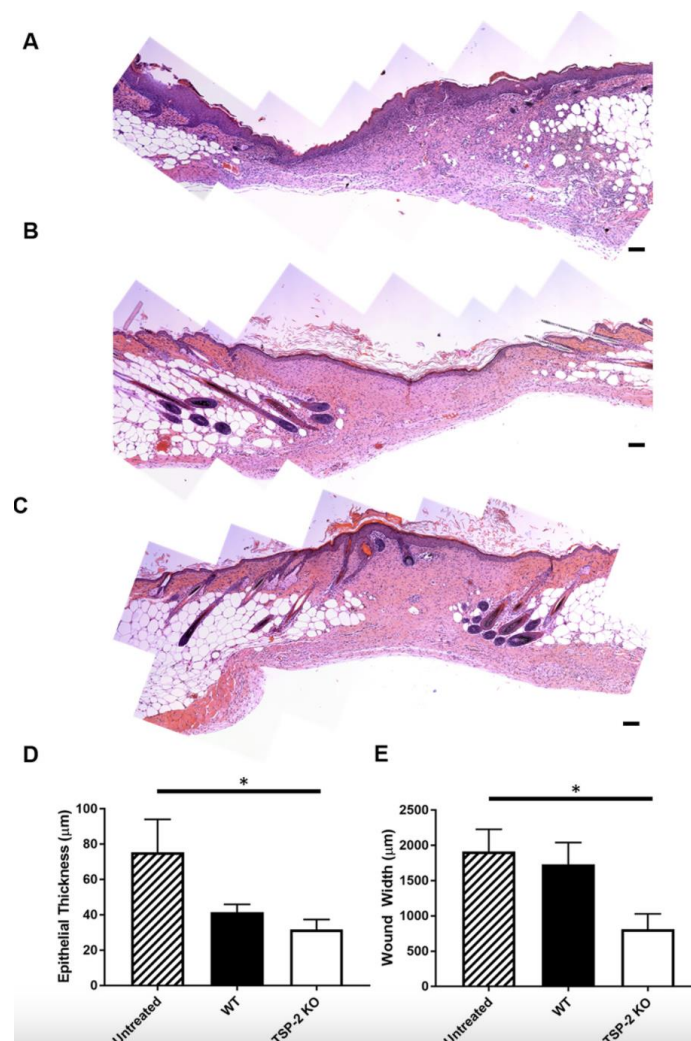
Des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (cf. figure 16A), mettent en évidence une augmentation du nombre de cellules dans les gels TSP-2 KO implantés dans les plaies diabétiques de pleine épaisseur pendant 10 jours par rapport aux plaies non traitées, ainsi qu'une épithélialisation visible sur les hydrogels dérivés de tissus. Comme en témoigne la figure 16B, il a été observé à 10 jours que les plaies diabétiques traitées avec l'hydrogel TSP-2 KO ont montré une diminution de l'espace résiduel entre les deux berges épithéliales des plaies par rapport aux plaies non traitées ou traitées à l'hydrogel issu de souris WT, signe d'une meilleure cicatrisation.

De plus, la figure 16C montre que l'épaisseur de l'hydrogel TSP-2 KO résiduel était réduite, suggérant un remodelage accru de ce dernier. Enfin, on observe sur les figures 16D et 16E correspondant à l'immunomarquage de CD31 (cluster of differentiation 31) et α -SMA (α -smooth muscle actin) couplé

à la quantification des cellules CD31+ (cf. figure 16F) et des cellules α -SMA+ (cf. figure 16H), une augmentation de la densité (cf. figure 16F), de la taille (cf. figure 16G) et de la maturité (cf. figure 16H) des vaisseaux dans les lits de plaies traitées avec l'hydrogel TSP-2 KO mettant en évidence la favorisation de la vascularisation par ce dernier.¹³⁸

Des résultats similaires ont été obtenus après 21 jours (cf. figure 17).

Figure 17 : Amélioration de la fermeture de la plaie et de la vascularisation chez la souris diabétique suite à l'application d'hydrogels TSP-2 KO pendant 21 jours



Source : Morris et al., « Tunable hydrogels derived from genetically engineered extracellular matrix accelerate diabetic wound healing », 2018.

Au bout de 21 jours, toutes les plaies s'étaient refermées comme on l'observe sur les colorations des coupes histologiques représentatives de lits entiers de plaies de souris diabétiques non traitées (cf. figure 17A), traitées avec l'hydrogel WT (cf. figure 17B) ou traitées avec l'hydrogel TSP-2 KO (cf. figure 17C). Cependant, la figure 17D met en évidence que les plaies traitées par l'hydrogel TSP-2 KO présentaient une diminution de l'épaisseur épithéliale (indicateur de la maturité d'une plaie guérie) par rapport au WT non traité. Enfin, comme en témoigne la figure 17E, la largeur du lit des plaies traitées avec l'hydrogel TSP-2 KO était diminuée par rapport aux plaies non traitées et aux plaies traitées avec l'hydrogel WT. L'ensemble de ces résultats démontre que l'épithélialisation, le remodelage, la vascularisation, la réduction de la taille globale du lit de la plaie et finalement la cicatrisation des plaies diabétiques sont améliorés par le traitement de ces dernières avec des hydrogels TSP-2 KO, sans l'ajout de facteurs de croissance ou de cellules exogènes. Ces matériaux peuvent être avantageux en clinique pour le traitement des plaies chroniques.¹³⁹

Comme le suggère cette étude avec les hydrogels TSP-2 KO, il est possible de concevoir des matériaux dans le but de restaurer une fonction physiologique telle que la cicatrisation en les modifiant génétiquement afin d'en éliminer sélectivement certains composants natifs comme la TSP-2.

Les hydrogels présentent cependant un inconvénient important en tant que vecteurs et leur utilisation doit être hautement contrôlée. La nature de leur fabrication et de leur composition conduit à une libération en bolus. Cela peut être particulièrement dangereux car les niveaux de médicaments systémiques peuvent devenir élevés et entraîner des effets secondaires indésirables à distance de la plaie où a été appliqué l'hydrogel.¹⁴⁰

¹³⁹ Morris et al.

¹⁴⁰ Johnson et Wang, « Drug delivery systems for wound healing ».

Conclusion

La cicatrisation des plaies est un processus extrêmement complexe et il est important de comprendre l'étiologie de chaque type de plaie et de développer des vecteurs tout aussi complexes pour un traitement individualisé.

Le diabète est une pathologie chronique en progression constante. En effet, l'OMS prévoit plus de 700 millions de diabétiques dans le monde d'ici 2045. Cette maladie, qualifiée de pandémie mondiale par l'OMS et la Fédération Internationale du Diabète, présente différentes manifestations cliniques et complications d'autant plus prononcées lorsque le diabète est non ou mal équilibré. Entre autres, le diabète altère la cicatrisation et 15 à 20 % des diabétiques développent des plaies non cicatrisantes. Ainsi, les matériaux qui pourraient accélérer la cicatrisation des plaies chroniques ont un bénéfice réel en santé publique car ils toucheraient une large population. Par conséquent, il y a un énorme besoin clinique de médecine régénérative pour accélérer la guérison des plaies diabétiques.

Il existe une grande variété de vecteurs à base de biomatériaux pour les protéines, les gènes et les médicaments à petites molécules avec des applications dans le cadre de la cicatrisation des plaies. Les hydrogels ont démontré leur succès dans de nombreux modèles *in vivo* et peuvent être optimaux pour une application ou une circonstance particulière.

Le génie génétique permet d'obtenir des matériaux décellularisés dérivés de la matrice extracellulaire compatibles, ce qui n'est tout simplement pas réalisable avec les techniques traditionnelles. Les matériaux génétiquement modifiés devraient éventuellement permettre une amélioration de la prolifération et de la migration cellulaire en conservant les propriétés intéressantes d'un matériau tout en supprimant sélectivement certains éléments. Une approche particulièrement intéressante pour les composants pour lesquels il n'y a pas de dégradation enzymatique spécifique (comme la TSP-2). Appliqués sur des plaies diabétiques chroniques chez une souris, les hydrogels de TSP-2 KO améliorent la cicatrisation. Bien que la mise à l'échelle de la clinique utilisant la peau murine ne soit pas faisable, les travaux futurs pourraient étendre les résultats actuels à la création de matériaux à partir d'un grand modèle animal TSP-2 KO à usage humain. Les techniques et matériaux présentés constituent une base pour l'utilisation de matrice extracellulaire génétiquement modifiée pour la création de matériaux pro-régénératifs pour la clinique.

Pour atteindre cet objectif, il sera nécessaire de considérer des approches de thérapie combinée, en identifiant le moment approprié d'administration pour chacun des composants de sorte à développer des systèmes composites capables de fournir de multiples facteurs avec une cinétique de libération précise (matériau à libération prolongée). Il faudra également réussir à surmonter les coûts prohibitifs des essais cliniques pour les produits contenant plus d'un composé biologiquement actif. De plus l'environnement buccal étant un environnement humide, l'adaptation de ces matériaux dits actifs à la cavité orale est indispensable.

L'intérêt serait donc de développer un traitement topique adapté à la cavité orale inhibant la TSP2 sous forme de bain de bouche, d'aérosol, de spray, de gel, de revêtement protecteur, ou d'un matériau placé dans l'alvéole et maintenu par des sutures.

Le rôle du chirurgien dentiste est prépondérant dans le dépistage et le suivi des patients diabétiques du fait du lien étroit entre l'équilibre endocrinien et l'état bucco-dentaire. Dans sa pratique quotidienne, le chirurgien dentiste pourra être confronté à 3 risques chez le patient diabétique : le risque infectieux, le risque de malaise hypoglycémique et le risque médicamenteux. De bonnes connaissances de ces risques et de l'état du patient permettront une prise en charge optimale. Le chirurgien dentiste sera également confronté aux difficultés de cicatrisation chez ces patients. Bien que les progrès de la science des matériaux aient permis de développer des matériaux permettant d'améliorer la cicatrisation des plaies diabétiques, ces avancées n'ont pas encore été adaptées pour les plaies buccales et une utilisation lors de l'exercice de la chirurgie dentaire. Pour le chirurgien dentiste, le meilleur moyen actuel de gérer et d'optimiser la cicatrisation des patients diabétiques reste de suivre les différentes recommandations de bonnes pratiques cliniques et de s'assurer du bon suivi de ces patients afin d'obtenir un contrôle et une équilibration du diabète efficaces.

Bibliographie

- Adams, J. C., et J. Lawler. « The thrombospondins ». *Cold spring harbor perspectives in biology* 3, n° 10 (2011). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009712>.
- Association dentaire française. Commission des dispositifs médicaux. *Risques médicaux : guide de prise en charge par le chirurgien-dentiste*. Paris : Association dentaire française, 2013
- Bae, O-N., J-M. Wang, S-H. Baek, Q. Wang, H. Yuan, et A. F. Chen. « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes ». *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 33, n° 8 (2013): 1920-27. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.301609>.
- Calabro, N. E., N. J. Kristofik, et T. R. Kyriakides. « Thrombospondin-2 and extracellular matrix assembly ». *Biochimica et biophysica acta* 1840, n° 8 (2014): 2396-2402. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.01.013>.
- Diegelmann, R. F., et M. C. Evans. « Wound healing : an overview of acute, fibrotic and delayed healing ». *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* 9 (2004): 283-89. <https://doi.org/10.2741/1184>.
- Dormand, E-L., P. E. Banwell, et T. E. E. Goodacre. « Radiotherapy and wound healing ». *International wound journal* 2, n° 2 (2005): 112-27. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4801.2005.00079.x>.
- Eming, S. A., P. Martin, et M. Tomic-Canic. « Wound repair and regeneration : mechanisms, signaling, and translation ». *Science translational medicine* 6, n° 265 (2014): 265sr6. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009337>.
- Équipe de professionnels de la santé de Diabète Québec. « Les urgences hyperglycémiques ». *Diabète Québec* (blog), 2014. <https://www.diabete.qc.ca/fr/vivre-avec-le-diabete/soins-et-traitements/hypoglycemie-et-hyperglycemie/les-urgences-hyperglycemiques/>.
- Fédération internationale du diabète. *Atlas du diabète de la FID*. 9^e édition. Bruxelles : 2019, Fédération internationale du diabète. <https://diabetesatlas.org/fr/>.
- Feng, X., et J. M. McDonald. « Disorders of bone remodeling ». *Annual review of pathology* 6 (2011): 121-45. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130203>.
- Fricain, J-C., A-G. Chaux-Bodard, S. Boisramé-Gastrin, S. Cousty, P. Lesclous, et Collège national des enseignants de chirurgie orale et médecine orale. *Chirurgie orale*. Paris : Espace ID presse édition multimédia, 2017.

- Frost, H. M. « The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I ». *Clinical orthopaedics and related research*, n° 248 (1989): 283-93.
- Gurtner, G. C., S. Werner, Y. Barrandon, et M. T. Longaker. « Wound repair and regeneration ». *Nature* 453, n° 7193 (2008): 314-21. <https://doi.org/10.1038/nature07039>.
- Johnson, N. R., et Y. Wang. « Drug delivery systems for wound healing ». *Current pharmaceutical biotechnology* 16, n° 7 (2015): 621-29.
- Krisp, C., F. Jacobsen, M. J. McKay, M. P. Molloy, L. Steinstraesser, et D. A. Wolters. « Proteome analysis reveals antiangiogenic environments in chronic wounds of diabetes mellitus type 2 patients ». *Proteomics* 13, n° 17 (2013): 2670-81. <https://doi.org/10.1002/pmic.201200502>.
- Kunkemoeller, B., T. Bancroft, H. Xing, A. J. Morris, Amelia K. Luciano, J. Wu, C. Fernandez-Hernando, et T. R. Kyriakides. « Elevated thrombospondin 2 contributes to delayed wound healing in diabetes ». *Diabetes* 68, n° 10 (2019): 2016-23. <https://doi.org/10.2337/db18-1001>.
- Lalla, E., et P. N. Papapanou. « Diabetes mellitus and periodontitis : a tale of two common interrelated diseases ». *Nature reviews. endocrinology* 7, n° 12 (2011): 738-48. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.106>.
- Larjava, H. S., C. B. Wiebe, C. Gallant-Behl, D. A. Hart, J. Heino, et L. Häkkinen. « Exploring scarless healing of oral soft tissues ». *Journal (Canadian dental association)* 77 (2011): b18.
- Lawler, P. R., et J. Lawler. « Molecular basis for the regulation of angiogenesis by thrombospondin-1 and -2 ». *Cold spring harbor perspectives in medicine* 2, n° 5 (2012). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006627>.
- Lin, Z., A. Fateh, D. M. Salem, et G. Intini. « Periosteum : biology and applications in craniofacial bone regeneration ». *Journal of dental research* 93, n° 2 (2014): 109-16. <https://doi.org/10.1177/0022034513506445>.
- Liu, H., D. Li, Y. Zhang, et M. Li. « Inflammation, mesenchymal stem cells and bone regeneration ». *Histochemistry & cell biology* 149, n° 4 (2018): 393-404. <https://doi.org/10.1007/s00418-018-1643-3>.
- Marieb, E. N., et K. Hoehn. *Anatomie et physiologie humaines*. 4e édition, Adaptation de la 8e édition américaine. Paris : ERPI, 2010.
- Mealey, B. L. « Management of the patient with diabetes mellitus in the dental office ». In *Diabetes mellitus and oral health an interprofessional approach*, par I. B. Lamster, 97-120. Ames : John Wiley & Sons, 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118887837.ch5>.
- Molon, R. S. de, J. A. N. D. Morais-Camilo, M. H. A. Verzola, R. S. Faeda, M. T. Pepato, et E. Marcantonio. « Impact of diabetes mellitus and metabolic control on bone healing around osseointegrated implants : removal torque and histomorphometric analysis in rats ». *Clinical oral implants research* 24, n° 7 (2013): 831-37. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2012.02467.x>.

- Morris, A. H., H. Lee, H. Xing, D. K. Stamer, M. Tan, et T. R. Kyriakides. « Tunable hydrogels derived from genetically engineered extracellular matrix accelerate diabetic wound healing ». *ACS applied materials & interfaces* 10, n° 49 (2018): 41892-901.
<https://doi.org/10.1021/acsami.8b08920>.
- Morris, A. H., D. K. Stamer, B. Kunkemoeller, J. Chang, H. Xing, et T. R. Kyriakides. « Decellularized materials derived from TSP2-KO mice promote enhanced neovascularization and integration in diabetic wounds ». *Biomaterials* 169 (2018): 61-71.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.03.049>.
- Nauta, A., G. C. Gurtner, et M. T. Longaker. « Wound healing and regenerative strategies ». *Oral diseases* 17, n° 6 (2011): 541-49. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01787.x>.
- Organisation mondiale de la santé. « Diabète », 2020. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
- Raggatt, L. J., et N. C. Partridge. « Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling ». *The journal of biological chemistry* 285, n° 33 (2010): 25103-8.
<https://doi.org/10.1074/jbc.R109.041087>.
- Reinke, J. M., et H. Sorg. « Wound repair and regeneration ». *European surgical research. europaische chirurgische forschung. recherches chirurgicales europeennes* 49, n° 1 (2012): 35-43.
<https://doi.org/10.1159/000339613>.
- Rivera, S., J. Jourquin, C. Ogier, A. Bernard, G. Charton, E. Tremblay, et M. Khrestchatsky. « Le système MMP/TIMP dans le système nerveux ». *M/S. Médecine sciences* 20, n° 1 (2004): 55-60.
<https://doi.org/10.1051/medsci/200420155>.
- Schropp, L., A. Wenzel, L. Kostopoulos, et T. Karring. « Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction : a clinical and radiographic 12-month prospective study ». *The international journal of periodontics & restorative dentistry* 23, n° 4 (2003): 313-23.
- Sorbonne université. « Orthopédie - questions d'internat ». Consulté le 30 novembre 2020.
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/orthopedie/polyortho/POLY.Chp.19.html>.
- Springfield, D. S. « Surgical wound healing ». *Cancer treatment and research* 67 (1993): 81-98.
https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3082-4_5.
- Stenina-Adognravi, O. « Thrombospondins : old players, new games ». *Current opinion in lipidology* 24, n° 5 (2013): 401-9. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3283642912>.
- Stolzenburg-Veeser, L., et O. Golubnitschaja. « Mini-encyclopaedia of the wound healing - opportunities for integrating multi-omic approaches into medical practice ». *Journal of proteomics* 188 (2018): 71-84. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.07.017>.

- Tatsumi, S., K. Ishii, N. Amizuka, M. Li, Toshihiro Kobayashi, K. Kohno, M. Ito, S. Takeshita, et K. Ikeda. « Targeted ablation of osteocytes induces osteoporosis with defective mechanotransduction ». *Cell metabolism* 5, n° 6 (2007): 464-75. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.05.001>.
- Teng, Y. T., H. Nguyen, X. Gao, Y. Y. Kong, R. M. Gorczynski, B. Singh, R. P. Ellen, et J. M. Penninger. « Functional human t-cell immunity and osteoprotegerin ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection ». *The journal of clinical investigation* 106, n° 6 (2000): R59-67. <https://doi.org/10.1172/jci10763>.
- Thomas, M. V., et D. A. Puleo. « Infection, inflammation, and bone regeneration : a paradoxical relationship ». *Journal of dental research* 90, n° 9 (2011): 1052-61. <https://doi.org/10.1177/0022034510393967>.
- Wilmowsky, C. von, P. Stockmann, I. Harsch, K. Amann, P. Metzler, R. Lutz, T. Moest, F. W. Neukam, et K. A. Schlegel. « Diabetes mellitus negatively affects peri-implant bone formation in the diabetic domestic pig ». *Journal of clinical periodontology* 38, n° 8 (2011): 771-79. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01746.x>.
- Wu, Y-Y., E. Xiao, et D. T. Graves. « Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease ». *International journal of oral science* 7, n° 2 (2015): 63-72. <https://doi.org/10.1038/ijos.2015.2>.
- Zhang, K., M. Li, L. Yin, G. Fu, et Z. Liu. « Role of thrombospondin-1 and thrombospondin-2 in cardiovascular diseases (review) ». *International journal of molecular medicine* 45, n° 5 (2020): 1275-93. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4507>.

Table des figures

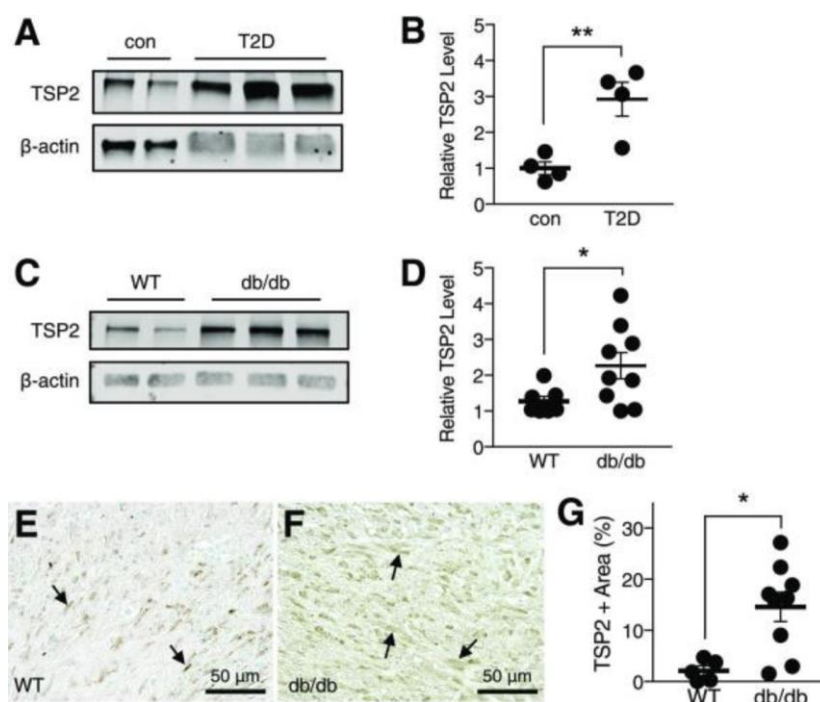
Figure 1 : Réaction après un traumatisme	7
Figure 2 : Les plaies palatines chez l'Homme guérissent vite et impliquent des cicatrices minimales ...	10
Figure 3 : Différenciation et activation des ostéoclastes par couplage ostéoblaste / ostéoclaste au cours du remaniement physiologique	18
Figure 4 : Différenciation et activation des ostéoclastes par des cytokines inflammatoires.....	19
Figure 5 : Représentation schématique d'une BMU et du processus de remodelage osseux associé .	21
Figure 6 : Analyse Western blot de S100A8 et S100A9 humaines dans les plaies chroniques et aiguës	33
Figure 7 : Zymographie de MMP2 et MMP9 dans les fluides des plaies chroniques et aiguës réalisée par gélatine SDS-PAGE.....	34
Figure 8 : Représentation schématique des mécanismes moléculaires de la cicatrisation impliquant des protéines identifiées dans cette étude	37
Figure 9 : Mécanisme potentiel de la perte osseuse alvéolaire liée au diabète	41
Figure 10 : Situations cliniques lors de la prise en charge de patients diabétiques en chirurgie dentaire	45
Figure 11 : Diagramme structurel de la TSP-2.....	50
Figure 12 : Phénotypes constitutifs et induits expérimentalement de souris knock-out du gène TSP-2	54
Figure 13 : Rôle du stress oxydatif dans le dysfonctionnement des BMAC diabétiques	61
Figure 14 : Régulation de la TSP-2 par le stress oxydatif chez les BMAC diabétiques	63
Figure 15 : La manipulation génétique permet d'adapter l'invasion cellulaire dans les hydrogels dérivés de tissus.....	66
Figure 16 : Amélioration de la fermeture de la plaie et de la vascularisation chez la souris diabétique suite à l'application d'hydrogels TSP-2 KO pendant 10 jours.....	68
Figure 17 : Amélioration de la fermeture de la plaie et de la vascularisation chez la souris diabétique suite à l'application d'hydrogels TSP-2 KO pendant 21 jours.....	69

Table des tableaux

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des différents rôles de la TSP-2 dans des modèles animaux	55
Tableau 2 : Tableau récapitulatif de la régulation de l'expression de la TSP-2.....	57

Annexes

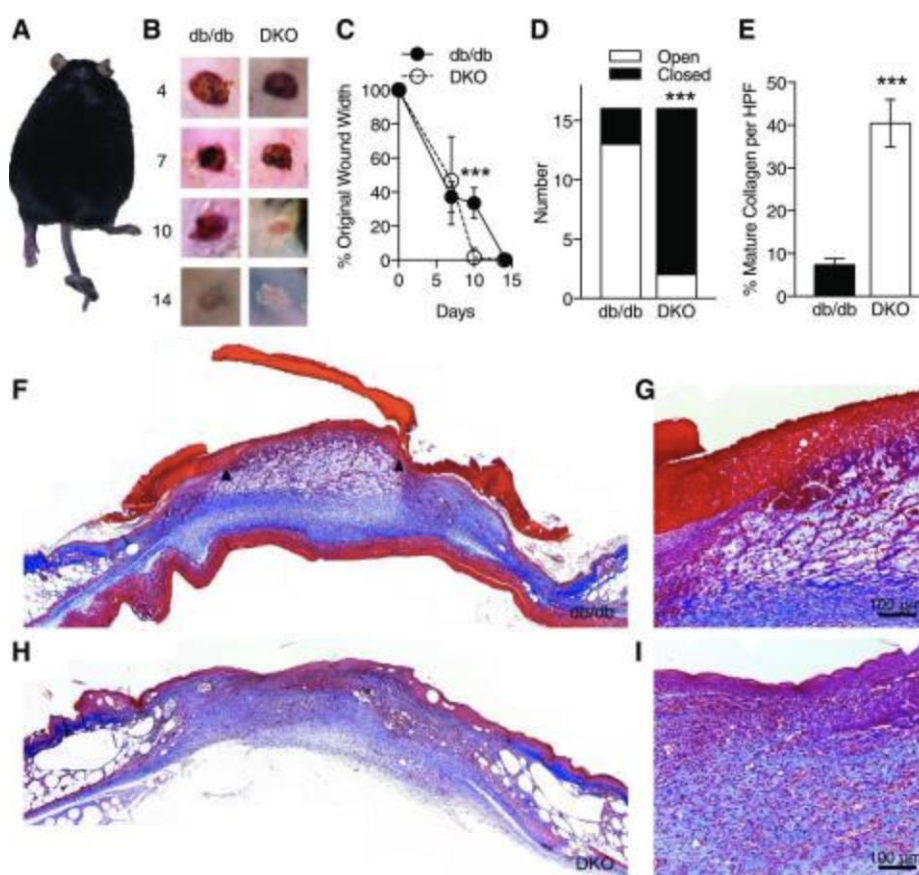
Annexe 1 : La thrombospondine 2 est élevée dans le diabète



Source : Kunkemoeller et al., « Elevated thrombospondin 2 contributes to delayed wound healing in diabetes », 2019.

Annexe 1 : A : Western blot représentatif de TSP-2 dans des échantillons de peau pleine épaisseur provenant de trois patients diabétiques de type 2 (T2D) subissant une amputation des membres inférieurs et de deux patients sains (contrôle). B : Analyse quantitative de TSP-2 basée sur la densitométrie du Western blot d'échantillons provenant de quatre patients diabétiques et de quatre patients sains (contrôle). ** $P < 0,01$, test t de Student. C : Western blot représentatif du niveau de TSP-2 dans les fibroblastes dermiques primaires isolés de deux souris de type sauvage (WT) et trois souris diabétiques (db/db). D : Analyse quantitative du niveau de TSP-2 dans les fibroblastes dermiques isolés de sept souris WT et neuf souris db/db basée sur la densitométrie du Western blot. * $P < 0,05$, test t de Student. E et F : images représentatives de l'immunocoloration pour TSP-2 dans les plaies cutanées au jour 10 de souris WT (E) et db/db (F). Les flèches indiquent certaines régions de signal positif. G : Quantification morphométrique du dépôt de TSP-2 dans les plaies de cinq souris WT et neuf souris db/db. * $P < 0,05$, test t de Student.

Annexe 2 : L'absence de TSP-2 accélère la cicatrisation des plaies chez les souris diabétiques

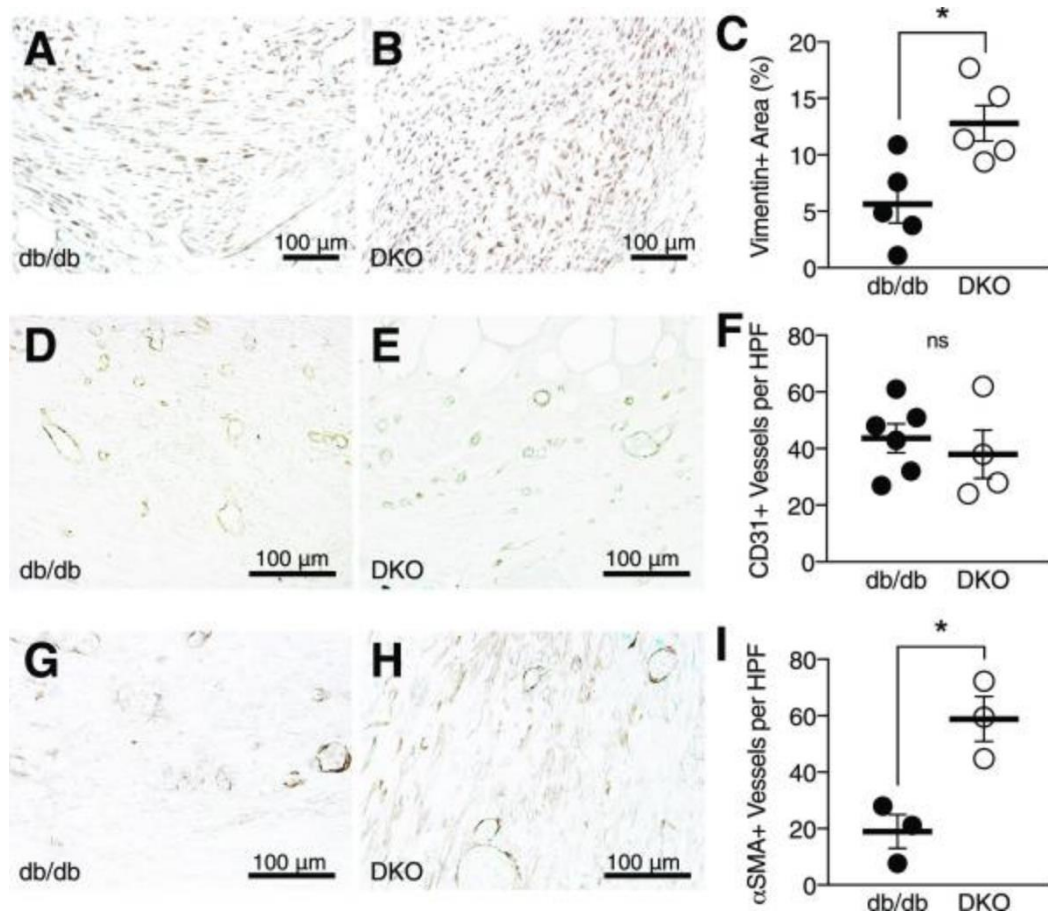


Source : Kunkemoeller et al., « Elevated thrombospondin 2 contributes to delayed wound healing in diabetes », 2019.

A : Image représentative d'une souris diabétique privée de TSP-2 (DKO) de 12 semaines utilisée dans les études de cicatrisation des plaies. Les souris DKO développent une obésité comparable à celle des souris diabétiques (db/db) et présentent la flexibilité accrue des tendons et des ligaments caractéristique des souris privées de TSP-2, comme le démontre la capacité à nouer un nœud dans la queue, une manipulation qui n'est pas possible chez une souris normale. B : Images externes représentatives de plaies cutanées chez des souris db/db et DKO à 4, 7, 10 et 14 jours après la blessure. Notamment, la perte de gale se produit plus tôt chez les souris DKO. C : taux de guérison des plaies de pleine épaisseur en huit db/db et huit souris DKO. La largeur de la plaie a été déterminée à l'aide du logiciel MetaMorph pour mesurer l'écart entre les langues épithéliales dans les coupes de tissu colorées au trichrome de Masson à 7, 10 et 14 jours après la blessure. Le pourcentage de cicatrisation a été calculé en divisant la largeur de la plaie par la taille de la plaie au jour 0. *** $P < 0,001$, test t de Student. D : Comparaison de la fermeture de la plaie par réépithélialisation 10 jours après la blessure chez les souris db/db et

*DKO. Une plaie était considérée comme fermée lorsqu'il y avait un épithélium continu (absence de tout espace entre les langues épithéliales), comme le montrent les coupes tissulaires colorées au trichrome de Masson. Seize plaies ont été analysées par génotype. *** P <0,001, test exact de Fisher. E : Quantification de la fraction de collagène mature dans le lit de la plaie 10 jours après la blessure chez les souris db/db et DKO. La fraction de collagène mature a été calculée sur la base d'une analyse morphométrique des coupes colorées au trichrome de Masson, dans lesquelles une coloration bleu foncé identifie des fibres de collagène compactes et hautement réticulées. Seize plaies ont été analysées par génotype. HPF, champ haute puissance. *** P <0,001, test t de Student. F - I : Images représentatives de coupes de tissu de blessures colorées au trichrome de Masson 10 jours après la blessure chez des souris db/db et DKO. La réépithélialisation (rose) et la maturité des tissus de granulation sont augmentées chez les souris DKO (H et I) par rapport aux souris db/db (F et G). Les pointes de flèche représentent les bords des langues épithéliales. Barres d'échelle : 100 µm.*

Annexe 3 : Le manque de TSP-2 augmente l'expression de la vimentine et la maturation des vaisseaux pendant la cicatrisation des plaies

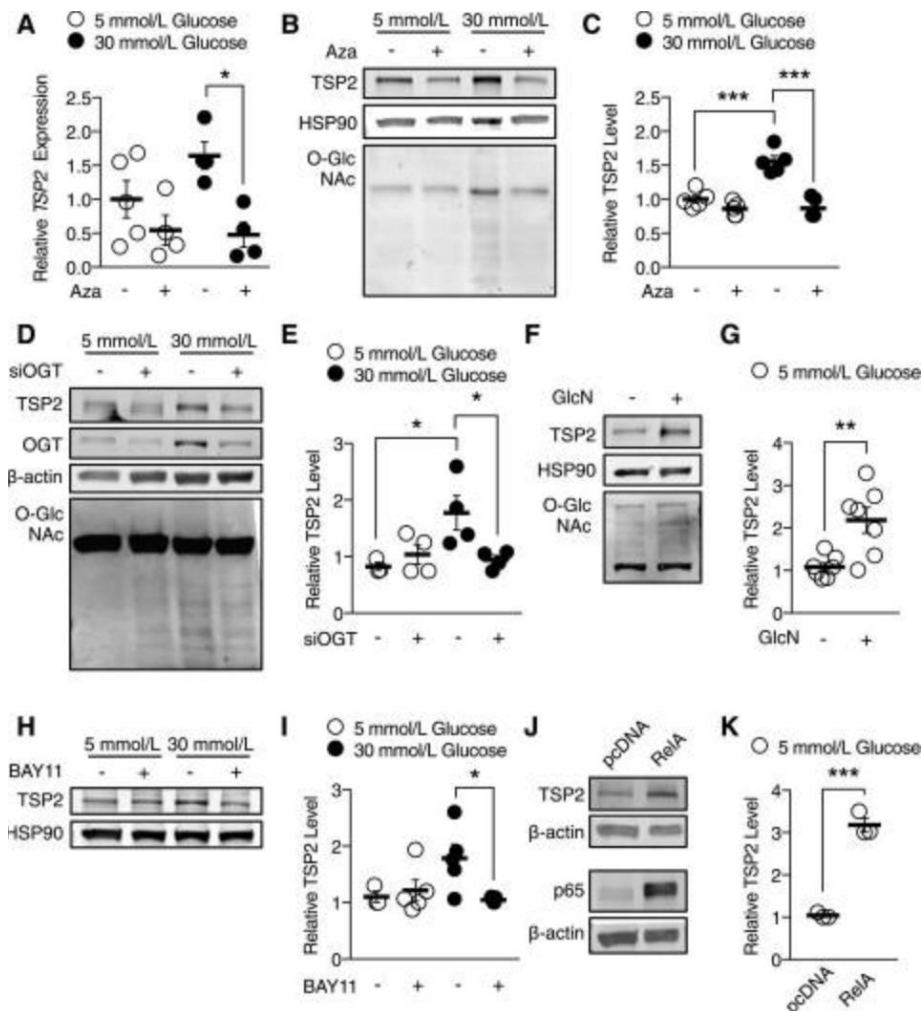


Source : Kunkemoeller et al., « Elevated thrombospondin 2 contributes to delayed wound healing in diabetes », 2019.

*A et B : Images représentatives de l'immunocoloration de la vimentine, un marqueur de cellules mésenchymateuses utilisé pour identifier les fibroblastes de plaies, dans les plaies des souris diabétiques (db/db) (A) et des souris diabétiques privées de TSP-2 (DKO) (B) 7 jours après la blessure. Barres d'échelle : 100 µm. * P <0,05, test t de Student. C : Quantification de la zone positive à la vimentine basée sur l'analyse morphométrique de cinq db/db et cinq plaies DKO. D et E : Images représentatives de l'immunocoloration pour CD31 en db/db (D) et DKO (E) souris 10 jours après la blessure. Barres d'échelle : 100 µm. F : Quantification des vaisseaux sanguins CD31 positifs dans six db/db et quatre plaies DKO. HPF, champ haute puissance ; ns, non significatif. G et H : Images représentatives de l'immunocoloration pour α-SMA, un marqueur des cellules musculaires lisses qui indique la maturité des vaisseaux sanguins dans les plaies, chez les souris db/db (G) et DKO (H) 10 jours*

*après la blessure. Barres d'échelle : 100 μ m. I : Quantification des vaisseaux sanguins α SMA-positifs dans trois db/db et trois plaies DKO. * P <0,05, test t de Student.*

Annexe 4 : La voie de l'hexosamine régule l'expression de TSP2 dans les fibroblastes en culture dans des milieux de haute teneur en glucose

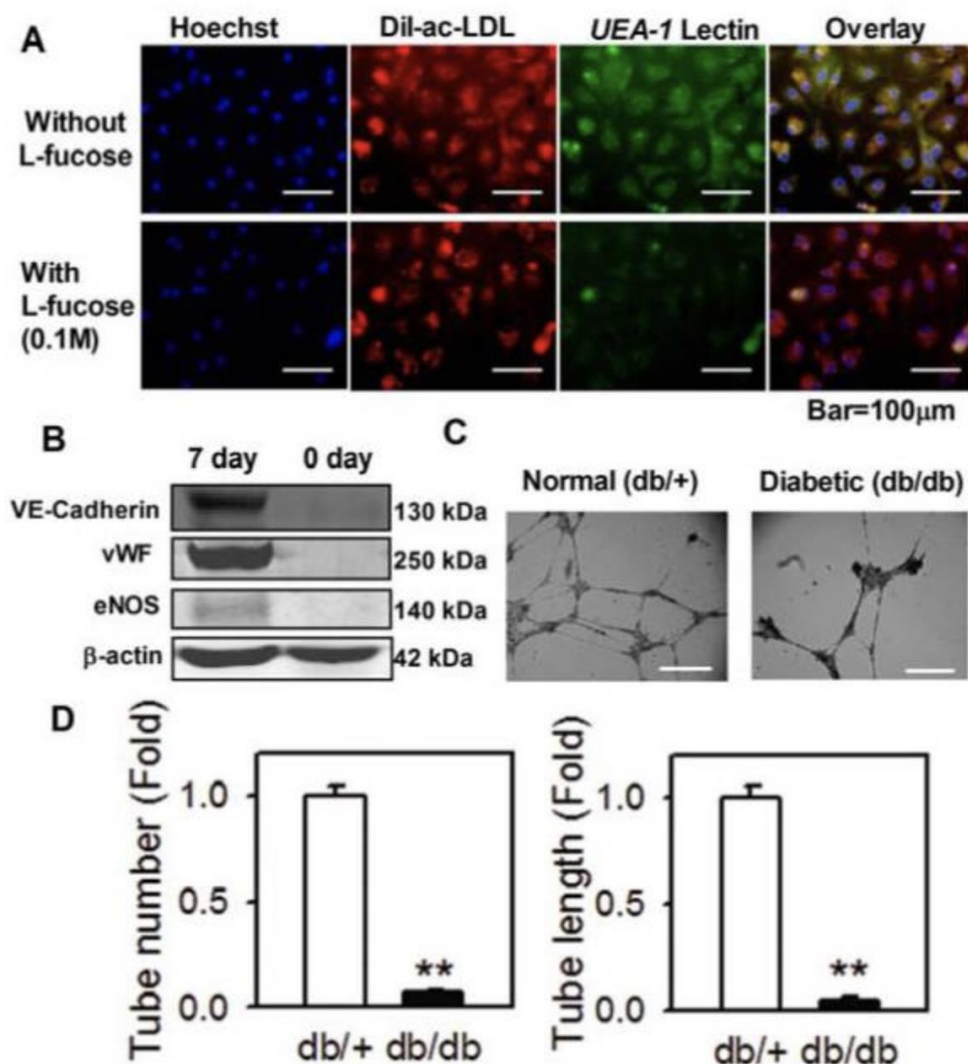


Source : Kunkemoeller et al., « Elevated thrombospondin 2 contributes to delayed wound healing in diabetes », 2019.

A : Analyse quantitative par RT-PCR de l'expression de l'ARNm de TSP-2 dans les fibroblastes NIH/3T3 en milieu normal-glucose (5 mmol/L) ou haute teneur en glucose (HG) (30 mmol/L) traité avec 200 μmol/L d'azaserine (Aza), un inhibiteur d'enzyme limitant la vitesse de la voie de l'hexosamine GFAT, pendant 48 h. L'ARNm a été isolé du lysat cellulaire à partir de cinq expériences indépendantes. * $P < 0,05$ ANOVA à un facteur, test post hoc de Tukey. *B* : Western blot représentatif du niveau de TSP-2 dans les fibroblastes NIH/3T3 dans des milieux normaux-glucose (5 mmol/L) ou HG (30 mmol/L) traités avec 200 μmol/L d'azaserine pendant 48 h. *C* : Quantification du taux de TSP-2 basée sur la densitométrie du Western blot de fibroblastes NIH/3T3 traités avec 200 μmol/L d'azaserine pendant

48h. Les niveaux de protéines ont été mesurés dans le lysat cellulaire à partir de cinq expériences indépendantes. *** $P < 0,001$ ANOVA à un facteur, test post hoc de Tukey. D : Analyse Western blot représentative du taux de TSP-2 dans les fibroblastes NIH/3T3 dans des milieux normaux-glucose (5 mmol/L) ou HG (30 mmol/L) transfectés avec l'ARNsi pour OGT (+) ou l'ARNsi de contrôle non étape finale de la voie de l'hexosamine, pendant 72 h. E : Quantification du taux de TSP-2 dans les fibroblastes NIH/3T3 transfectés avec siOGT basée sur la densitométrie. La protéine a été analysée dans un lysat cellulaire à partir de quatre expériences indépendantes. * $P < 0,05$, ANOVA à un facteur, test post hoc de Tukey. F : Western blot représentatif de TSP-2 dans des cellules NIH/3T3 dans un milieu normal-glucose (5 mmol/L) stimulé avec 1 mmol/L de glucosamine (GlcN), une voie de l'hexosamine intermédiaire en aval du glucose, pendant 24 h. G : La quantification du niveau de TSP-2 dans NIH/3T3 stimulé avec 1 mmol/L de glucosamine pendant 24 h confirme que la TSP-2 est régulée par le flux de la voie de l'hexosamine. La protéine a été analysée dans le lysat cellulaire de neuf expériences indépendantes. ** $P < 0,01$, test t de Student. H : Western blot représentatif de TSP-2 dans NIH/3T3 traité avec 1 $\mu\text{mol/L}$ BAY11-7082 (BAY11), un inhibiteur de la signalisation NF- κB , dans le glucose normal (5 mmol/L) ou HG (30 mmol/L) médias pendant 48h. I : Quantification du taux de TSP-2 dans NIH/3T3 traité avec 1 $\mu\text{mol/L}$ de BAY11-7082. La protéine a été analysée dans un lysat cellulaire à partir de cinq expériences indépendantes. * $P < 0,05$, ANOVA à un facteur, test post hoc de Tukey. J : Western blot représentatif de TSP-2 dans NIH/3T3 transfecté avec RelA (p65) ou contrôle pcDNA dans un milieu normal-glucose (5 mmol/L) pendant 72h (panneaux supérieurs). Western blot représentatif de p65 dans NIH/3T3 transfecté avec RelA (p65) ou contrôle pcDNA dans un milieu normal-glucose pendant 48h (panneaux inférieurs). K : Quantification du niveau de TSP-2 dans NIH/3T3 transfecté avec RelA (p65) ou contrôle pcDNA pendant 72h. La protéine a été analysée dans un lysat cellulaire à partir de trois expériences indépendantes. *** $P < 0,001$, test t de Student.

Annexe 5 : Altération de la fonction des cellules angiogéniques dérivées de la moelle osseuse chez les souris diabétiques de type 2

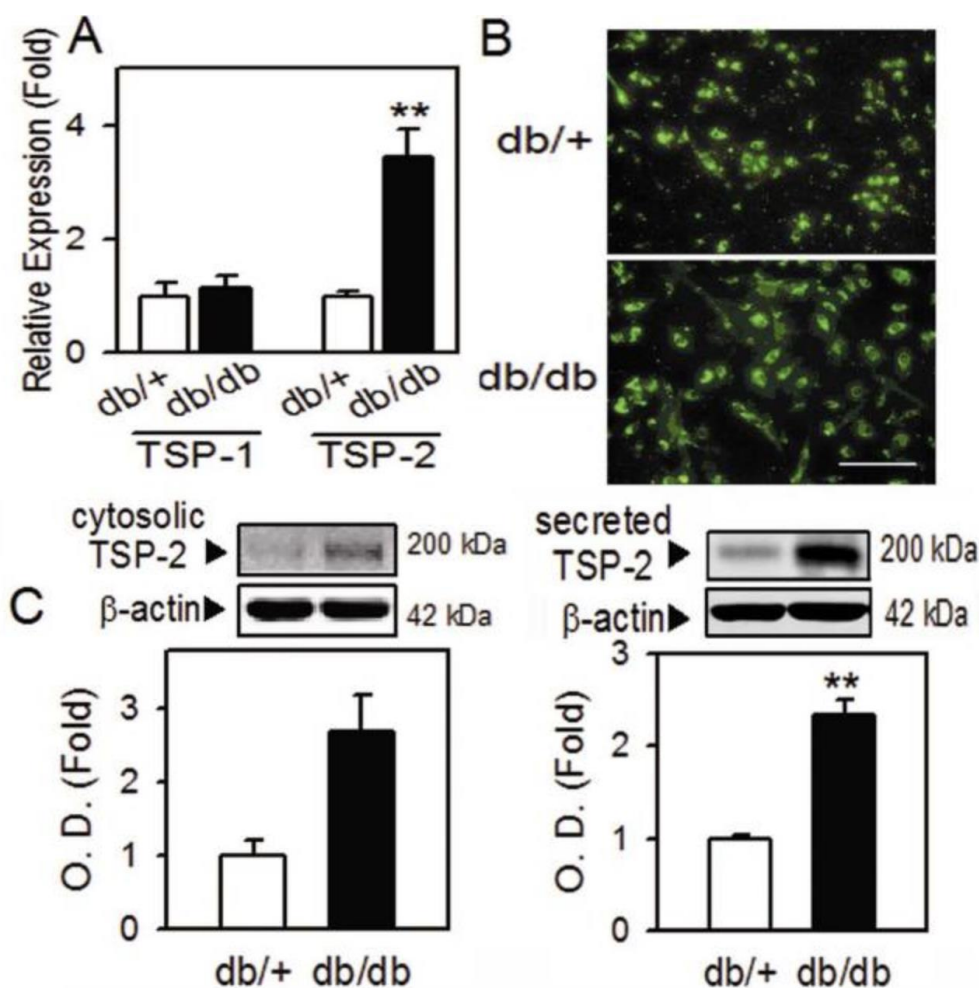


Source : Bae et al., « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes », 2013.

A : Les cellules angiogéniques dérivées de la moelle osseuse (BMACs) ont été triplement colorées et identifiées par Ac-Dil LDL, UEA-1 lectine et DAPI en microscopie à fluorescence. La liaison de la lectine UEA-1 a été abolie par son haptène sucre fucose. B : Par rapport aux cellules fraîchement isolées, les cellules après 7 jours d'isolement ont montré une expression accrue des molécules fonctionnelles endothéliales, y compris le facteur von Willebrand (vWF), l'endothélium vasculaire (VE)-Cadhérine et l'oxyde nitrique synthase endothélial (eNOS). $n = 4$. Une analyse par cytométrie en flux a également été réalisée et a indiquée que les cellules après 7 jours d'isolement présentaient une expression plus importante des marqueurs de cellules souches et des fabricants de cellules endothéliales que les cellules

*fraîchement isolées. C : Les BMACs ont formé une structure tubulaire (comme indiqué par la flèche) dans un système de culture de cellules de collagène 3D. D : Afin de comparer la capacité d'angiogenèse entre les BMACs isolées à partir de souris témoins et diabétiques de type 2, les BMACs ont été plaquées sur Matrigel et leur capacité à former des tubes et des réseaux a été évaluée. Les cellules et les tubes ont été observés sous microscopie : les BMACs de souris diabétiques avaient une capacité de formation de tube significativement altérée, comme le montrent à la fois le nombre et la longueur des tubes. n = 4 par groupe. ** p <0,01 par rapport à db/+. Les données ont été exprimées en moyenne ± SEM (standard error of the mean) et analysées à l'aide du test t de Student.*

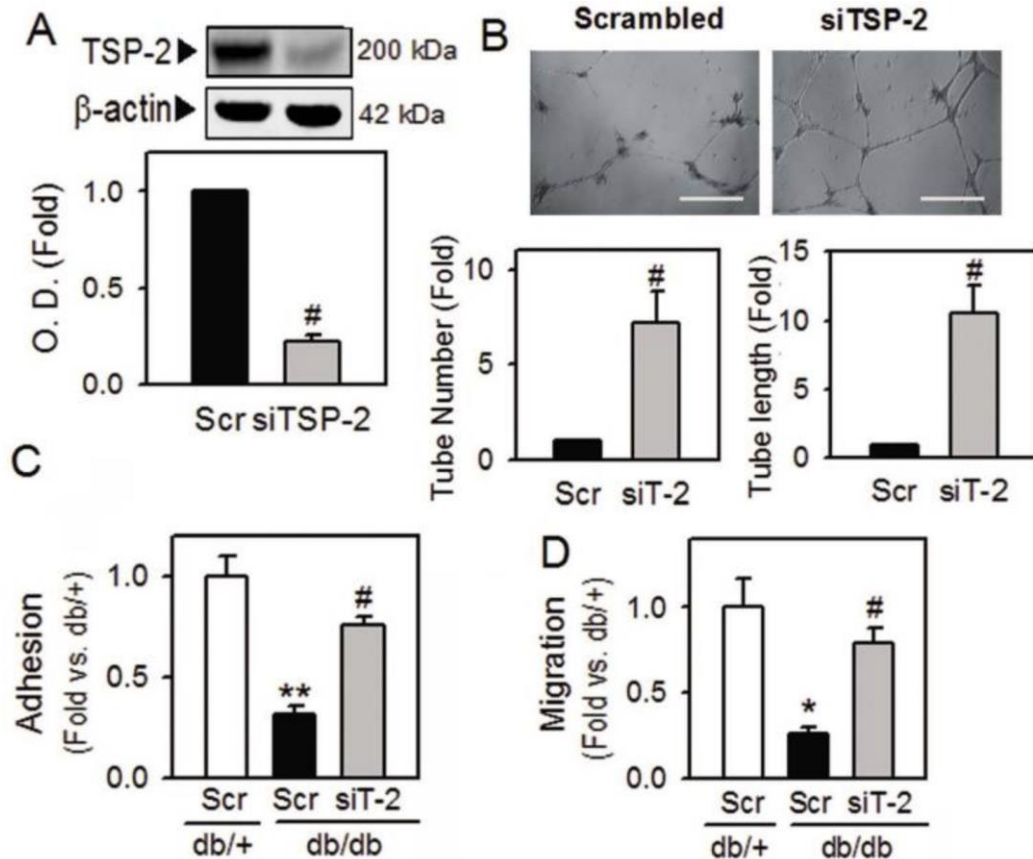
Annexe 6 : Régulation à la hausse de TSP-2 dans les BMAC diabétiques



Source : Bae et al., « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes », 2013.

A : L'ARNm de TSP-1 ou TSP-2 dans les BMACs normaux et diabétiques a été mesuré par qRT-PCR : l'ARNm de TSP-2 était fortement augmenté dans les BMACs diabétiques. B : L'augmentation de TSP-2 dans les BMACs a été également retrouvée au microscope à fluorescence. C : Le niveau de protéine TSP-2 cytosolique (panneau de gauche) ou sécrétée (panneau de droite) a été détecté dans le Western blot : la forme cytosolique nouvellement synthétisée dans les BMACs diabétiques a été augmentée, en corrélation avec le niveau d'ARNm. De même, la forme fonctionnelle principale de la TSP-2 sécrétée a été augmentée de manière significative. A : n = 3-6, B : n = 3, C : n = 4-6, barre d'échelle : 200 μ m, * p < 0,05, ** p < 0,01 vs db/+. Les données ont été exprimées en moyenne \pm SEM et analysées à l'aide du test t de Student ou de l'ANOVA à un facteur suivi du test de Duncan pour déterminer les différences significatives entre les groupes de traitement.

Annexe 7 : Amélioration de la fonction des BMAC diabétiques suite à l'inhibition de la TSP-2

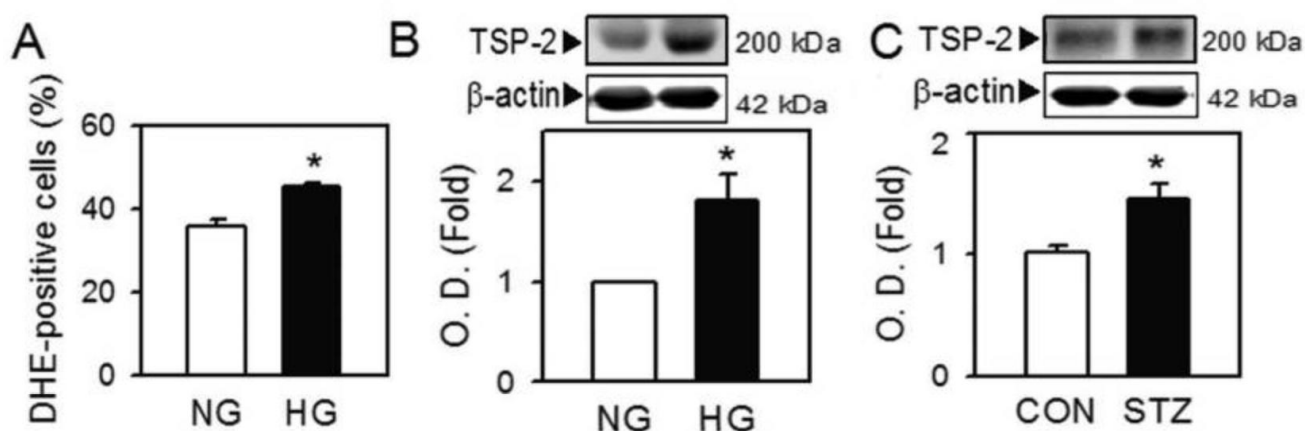


Source : Bae et al., « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes », 2013.

A : Dans les BMACs diabétiques, le niveau de protéine TSP-2 a été mesuré 72 heures après la transfection d'ARN de silençage contre TSP-2 (siTSP-2; siT-2) pour confirmer l'efficacité du silençage. L'ARNsi brouillé (Scr) a été utilisé comme contrôle négatif. Le taux de protéine de TSP-2 a été significativement diminué après 72 heures de transfection. B à D : Les effets de siTSP-2 sur la fonction des BMACs diabétiques ont été déterminés dans la formation de tube (B), l'adhésion (C) et la migration (D) : l'inhibition de la TSP-2 à l'aide de son ARNsi a restauré la fonction altérée des BMACs diabétiques comme le montrent l'augmentation du nombre et de la longueur des tubes, de l'adhérence et de la migration. Ces fonctions sont donc des fonctions clés de l'angiogenèse altérées par la TSP-2 dans les BMACs diabétiques. A : n = 5, B : n = 4, C : n = 3, D : n = 3, Barre d'échelle : 500 μ m, * p < 0,05, ** p < 0,01 vs db/+, # p < 0,05 contre db/db Scr. Les données ont été exprimées en moyenne \pm SEM et analysées

avec un test t de Student apparié ou une ANOVA à un facteur suivi du test de Duncan pour déterminer les différences significatives entre les groupes de traitement.

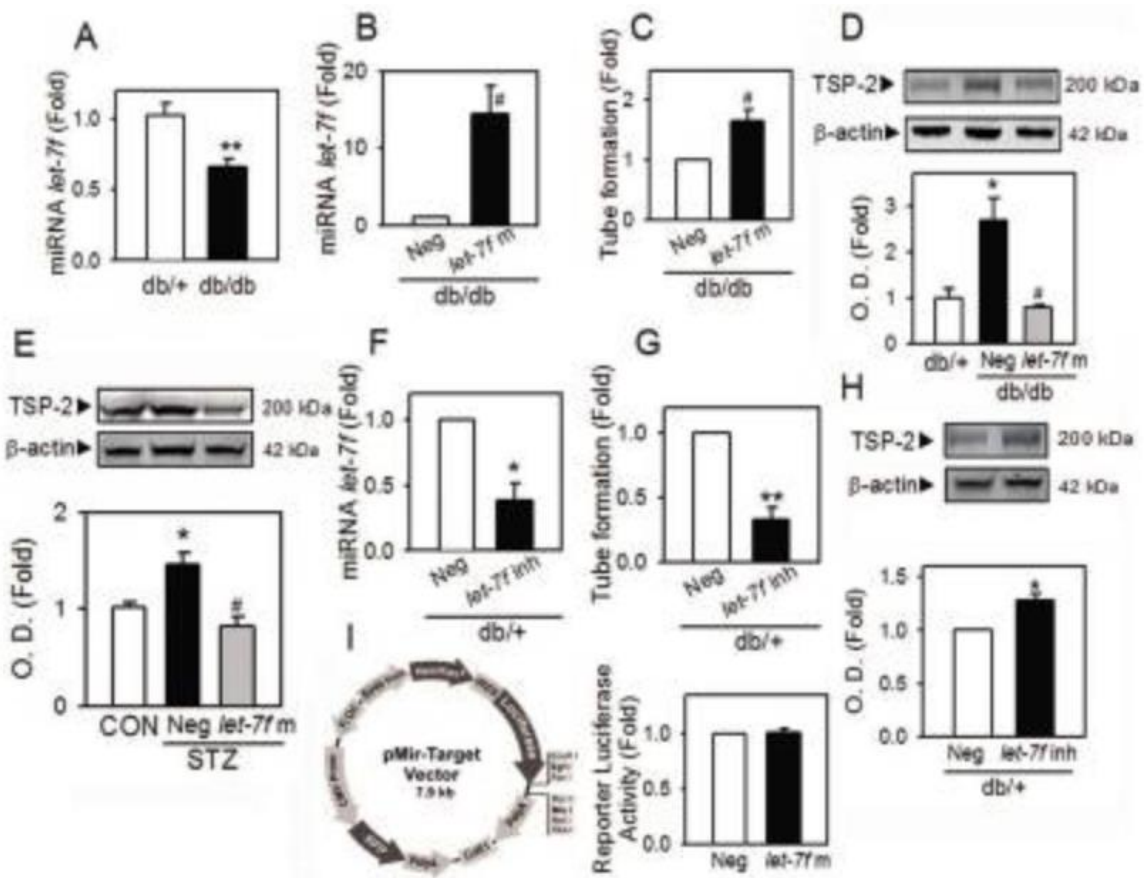
Annexe 8 : Hausse du niveau d'expression de la TSP-2 en cas d'hyperglycémie et chez les BMAC diabétiques de type 1



Source : Bae et al., « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes », 2013.

A et B : Après que les BMACs de souris normales aient été incubées dans un milieu de glucose normal (NG ; glucose 5 mM, mannitol 25 mM) ou élevé (HG ; glucose 30 mM) pendant 7 jours, les mesures de la génération de dérivés réactifs de l'oxygène (A) et de la quantité de protéine TSP-2 (B) ont été respectivement déterminées par cytométrie en flux et transfert de Western. La figure A montre qu'un taux élevé de glucose a augmenté le stress oxydatif cellulaire dans les BMACs saines. La figure B montre que le niveau d'expression de TSP-2 a été fortement augmenté. C : Le niveau d'expression de TSP-2 dans les BMACs de souris diabétiques de type 1 induites par la streptozotocine a été mesuré : une augmentation du taux de TSP-2 a été observée, suggérant que la hausse du niveau d'expression de TSP-2 peut être observée dans les différents types de diabète. A : n = 5, B : n = 5, C : n = 5, * p < 0,05 par rapport au contrôle correspondant. Les données ont été exprimées en moyenne ± SEM et analysées à l'aide du test t de Student.

Annexe 9 : Implication de let-7f dans la régulation positive de la TSP-2 et l'altération de la fonction des BMAC diabétiques



Source : Bae et al., « Oxidative stress-mediated thrombospondin-2 upregulation impairs bone marrow-derived angiogenic cell function in diabetes », 2013.

A : Le niveau de let-7f a été mesuré à partir de BMACs en utilisant qRT-PCR après isolement de miARN. Le petit ARN nucléolaire (sn) U6 a été utilisé comme petit gène de référence de l'ARN domestique. Le niveau de let-7f est significativement diminué dans les BMACs diabétiques. B à D : Après surexpression de let-7f par transfection de let-7f mimique (let-7f m) chez des BMACs isolées de souris db/+ ou db/db, le niveau de miARN let-7f (B) et la capacité de formation de tube (C) ont été augmentés tandis que le niveau de protéine de TSP-2 (D) a été diminué, s'approchant de niveaux normaux. Des oligonucléotides témoins négatifs (Neg) ont été utilisés comme témoins. E : La restauration du niveau de TSP-2 par let-7f a également été observée dans les BMACs isolées à partir d'animaux diabétiques de type 1 démontrant que la TSP-2 était régulée par let-7f dans les BMACs diabétiques. F à H : Le niveau de miARN let-7f (F) et la capacité de formation de tube (G) ont été diminués après inhibition de let-7f par transfection de l'inhibiteur let-7f (let-7f inh) chez des BMACs saines, mettant en évidence une altération de la fonction angiogénique, tandis que le taux protéique de TSP-2 (H) a été augmenté. I : L'activité

Luciférase a été mesurée après co-transfection du plasmide TSP-2 (THBS2) 3'UTR avec let-7f ou un contrôle négatif sur des cellules HEK 293. La structure du plasmide rapporteur de la luciférase a été montrée dans le panneau de gauche. Ces résultats soulignent le fait que let-7f n'interagit pas directement avec le 3'UTR de l'ARNm de TSP-2. A : n = 6, B : n = 4, C : n = 4, D : n = 4, E : n = 4-5, F : n = 4, G : n = 4, H : n = 4, I : n = 3, * p <0,05, ** p<0,01 vs db / + ou contrôle correspondant, #p <0,05 vs Neg. Les données ont été exprimées en moyenne \pm SEM et analysées à l'aide du test t de Student.

Vu, le Directeur de thèse

Vu, le Doyen de l'UFR d'Odontologie

Docteur Anne-Laure EJEIL

Professeur Louis MAMAN

Vu, le Président d'Université de Paris

Professeur Christine CLERICI

Pour le Président et par délégation,

Le Doyen Louis MAMAN

L'impact de la thrombospondine 2 sur la cicatrisation osseuse et muqueuse du patient diabétique et sa prise en charge en chirurgie dentaire

Edgar Sobol. L'impact de la thrombospondine 2 sur la cicatrisation osseuse et muqueuse du patient diabétique et sa prise en charge en chirurgie dentaire. 2021. 93 p.: ill., graph., tabl. Réf. bibliographiques p. 73-76

Sous la direction de Mme le Docteur Anne-Laure Ejeil

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