



HAL
open science

Le rôle des macrophages résolutifs dans la parodontite

Justine Bodin

► **To cite this version:**

Justine Bodin. Le rôle des macrophages résolutifs dans la parodontite. Sciences du Vivant [q-bio]. 2023. dumas-04488778

HAL Id: dumas-04488778

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04488778>

Submitted on 4 Mar 2024

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.

IMPORTANT : OBLIGATIONS DE LA PERSONNE CONSULTANT CE DOCUMENT

Conformément au *Code de la propriété intellectuelle*, nous rappelons que le document est destiné à un **usage strictement personnel**. Les "analyses et les courtes citations justifiées par le caractère critique, polémique, pédagogique, scientifique ou d'information" sont autorisées sous réserve de mentionner les noms de l'auteur et de la source (article L. 122-4 du *Code de la propriété intellectuelle*). Toute autre représentation ou reproduction intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit, est illicite.

De ce fait, nous vous rappelons notamment que, **sauf accord explicite** de l'auteur de la thèse ou du mémoire, **vous n'êtes pas autorisé** à rediffuser ce document sous quelque forme que ce soit (impression papier, transfert par voie électronique, ou autre). Tout contrevenant s'expose aux peines prévues par la loi.

Année 2023

N°

Le rôle des macrophages résolutifs dans la parodontite

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

Présentée et soutenue publiquement par

Justine BODIN



Le 19 décembre 2023 devant le jury ci-dessous

Président : Madame le Professeur Brigitte ALLIOT-LICHT

Assesseur : Monsieur le Professeur Alexis GAUDIN

Assesseur : Monsieur le Docteur Samuel SERISIER

Directeur de thèse : Madame le Docteur Emmanuelle RENARD

 Nantes Université	<u>Présidente</u> Pr. BERNAULT Carine
 Pôle Santé UFR Odontologie	<u>Doyen</u> Pr. SOUEIDAN Assem <u>Vice-Doyens</u> Pr GAUDIN Alexis (1 ^{er} vice-doyen) Pr LE GUEHENNEC Laurent (Pédagogie) Pr LESCLOUS Philippe (Recherche)
Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (x11)	
ALLIOT-LICHT Brigitte AMOURIQ Yves CHAUX Anne-Gaëlle GAUDIN Alexis LABOUX Olivier LE GUEHENNEC Laurent	LESCLOUS Philippe LOPEZ Serena PEREZ Fabienne SOUEIDAN Assem WEISS Pierre
Professeur des Universités (x1)	
BOULER Jean-Michel	
Maitre de conférences (x1)	
VINATIER Claire	
Professeur Emérite (x1)	
GIUMELLI Bernard	
Enseignants Associés (x3)	
GUIHO Romain (Professeur Associé) LOLAH Aoula (MCU Associé)	AMICHIA ALLOH Yomin Cécile (Assistante Associée)
Maitres de conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers (x20)	Chef de Clinique des Universités - Assistant des Hôpitaux des (x14)
AMADOR DEL VALLE Gilles ARMENGOL Valérie BLERY Pauline BODIC François CLOITRE Alexandra DAJEAN-TRUTAUD Sylvie ENKEL Bénédicte HASCOET Emilie HOORNAERT Alain HOUCHMAND-CUNY Madline JORDANA Fabienne MAITRE Yoann NIVET Marc-Henri PRUD'HOMME Tony RENARD Emmanuelle RENAUDIN Stéphane RETHORE Gildas SERISIER Samuel STRUILLOU Xavier VERNER Christian	BECHINA Camille BLEU Oriane CETINKAYA Volkan EVRARD Lucas HEMMING Cécile IBN ATTYA Zakarie LEROY Camille LIEPPE Thibault LUCAS Juliette MORCEL Marion PREVOT Diane QUEMARD Valentin QUINSAT Victoire Eugenie REMAUD Thomas
Praticiens Hospitaliers Universitaires	
CLOUET Roselyne	
Praticiens Hospitaliers	
DUPAS Cécile	HYON Isabelle

Par délibération, en date du 6 décembre 1972, le Conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'il n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation.

Remerciements

À Madame le Professeur Brigitte ALLIOT-LICHT,

Professeur des Universités.

Praticien Hospitalier des Centres de soins d'enseignement et de recherches dentaires.

Docteur de l'université de Nantes.

Habilitée à diriger des recherches.

Département des Sciences Biologiques.

-NANTES-

*Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider cette thèse
Pour votre pédagogie et votre gentillesse
Veuillez accepter l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect*

À Madame le Docteur Emmanuelle RENARD

Maître de Conférence des Universités.

Praticien Hospitalier des Centres de soins d'enseignement et de recherches dentaires.

Docteur de l'Université de Nantes.

Ancien Interne des Hôpitaux de Nantes.

Départements des Sciences Biologiques.

-NANTES-

*Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse
Pour votre patience, votre bienveillance, et vos conseils avisés tout au long de la rédaction de
ce travail
Pour la qualité de votre encadrement, et votre soutien en clinique
Veuillez accepter l'expression de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mes
remerciements les plus sincères*

À Monsieur le Professeur Alexis GAUDIN

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier des Centres de soins d'enseignement et de recherches dentaires.

Docteur de l'Université de Nantes.

Habilité à diriger les recherches.

Département de Dentisterie Restauratrice et d'Endodontie.

-NANTES-

*Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de siéger dans ce jury
Pour la richesse de vos enseignements cliniques et universitaires
Veuillez recevoir ici, le témoignage de mon respect et de ma reconnaissance*

À Monsieur le Docteur Samuel SERISIER

Maître de Conférence des Universités.

Praticien Hospitalier des Centres de soins d'enseignement et de recherches dentaires.

Docteur de l'Université de Nantes.

Habilité à diriger les recherches.

Départements de Biologie Orale.

-NANTES-

*Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de siéger dans ce jury
Pour ta bonne humeur durant nos années d'apprentissage
Je te prie d'accepter l'expression de ma reconnaissance et de ma sympathie*

Table des matières

Introduction	9
1. La maladie parodontale	9
1.1. Le parodonte.....	9
1.1.1. Les maladies parodontales.....	11
1.2. La parodontite : quand le système immunitaire n’arrive pas à résoudre l’inflammation... 13	
1.2.1. Déroulement de l’inflammation et résolution	13
1.2.2. Non résolution.....	14
2. Les macrophages résolutifs	15
2.1. Les macrophages cellules clés de l’immunité	15
2.1.1. Définitions	15
2.1.2. Origines	15
2.1.3. Les fonctions des macrophages	17
2.2. Concept de polarisation et de phénotypes macrophagiques.....	18
2.2.1. Concepts de polarisation.....	18
2.2.2. Le macrophage pro-inflammatoire ou M1-like	19
2.2.3. Le macrophage anti-inflammatoire, résolutif ou M2-like	20
2.2.4. D’autres phénotypes de macrophages existants	22
2.2.5. La repolarisation.....	22
2.3. La temporalité du macrophage dans la maladie parodontale.....	23
2.3.1. Les macrophages dans la maladie parodontale	23
2.3.2. Prédominance du phénotype inflammatoire.....	23
3. Revue de la littérature : les macrophages résolutifs dans la parodontite	25
3.1. Recherche bibliographique	25
3.1.1. Objectifs	25
3.1.2. Méthodologie.....	25
3.1.3. Critères d’inclusion :.....	25
3.1.4. Critères d’exclusion :	26
3.2. Analyse de la littérature.....	27
3.2.1. Extraction des données.....	27
3.2.2. Les macrophages résolutifs et l’intérêt qu’ils suscitent dans la littérature	28
3.2.2.1. Observations les macrophages résolutifs dans les tissus parodontaux humains (12 articles) :29	
3.2.2.2. Les articles qui observent l’influence des bactéries parodontales sur les macrophages résolutifs et plus généralement sur la polarisation des macrophages : (49–60) (12 articles).....	38
3.2.2.3. Les articles qui observent l’interaction des macrophages résolutifs avec différentes cellules (11 articles) :.....	46
3.2.2.4. Les articles qui explorent les mécanismes impliqués dans la polarisation des macrophages et leurs implications dans la maladie parodontale (9 articles)	56
3.2.2.5. Les articles explorent le potentiel thérapeutique de différentes molécules en recherchant un « switch » des macrophages pro-inflammatoires vers un phénotype anti-inflammatoire ou au moins une augmentation des macrophages résolutifs (81–111).	64
CONCLUSION	91
LISTE DES ABREVIATIONS	92
TABLE DES ILLUSTRATIONS	94
BIBLIOGRAPHIE	95

Introduction

Notre travail portera sur l'exploration des rôles que peuvent avoir les macrophages résolutifs dans la persistance et la résolution de la parodontite. Après une présentation de la maladie parodontale, du phénomène de polarisation des macrophages et du lien entre les deux, nous avons réalisé une analyse de la littérature afin de faire un point sur l'état actuel des connaissances, de mieux comprendre les mécanismes de la parodontite et d'explorer des pistes de traitements.

1. La maladie parodontale

1.1. Le parodonte

1.1.1. Le parodonte sain

Le parodonte est l'ensemble des tissus qui assurent la fixation et le soutien de la dent au sein des maxillaires. Il est constitué de 4 tissus : l'os alvéolaire, le cément, le ligament alvéolo-dentaire (LAD) et le tissu gingival. Le tissu gingival correspond au parodonte superficiel, tandis que l'ensemble des 3 autres constitue le parodonte profond. (1)

1.1.1.1. L'os alvéolaire

C'est la partie de l'os qui contient les alvéoles dentaires, sa présence est conditionnelle à la présence de la dent et elle est constituée :

De deux corticales externe et interne qui constituent les parois vestibulaires et linguales ou palatines des procès alvéolaires. Elles sont recouvertes des muqueuses gingivales et alvéolaires et sont composées d'un tissu osseux compact haversien en continuité avec les corticales maxillaire ou mandibulaire.

En regard des racines des dents on trouvera la paroi osseuse alvéolaire qui tapisse la cavité alvéolaire. Elle est le site d'insertion des fibres de Sharpey qui sont en continuité avec les fibres du ligament alvéolodentaire et permettent l'ancrage de la dent à l'alvéole. C'est un tissu osseux fasciculé. Cette paroi est traversée par de nombreux vaisseaux et nerfs via de nombreuses perforations.

La crête alvéolaire est le bord cervical de l'os alvéolaire, située à 2-3mm de la jonction amélocémentaire quand le parodonte est intact, elle sera facilement résorbée en cas de pathologie touchant le parodonte. Elle est le site d'insertion de nombreuses fibres du ligament alvéolo-dentaire et est aussi composée de tissu osseux fasciculé.

Entre les corticales et les parois alvéolaires, les procès alvéolaires sont remplis de tissu osseux spongieux. Ce tissu constitue les septas inter-dentaires et inter-radiculaires.

Les cellules osseuses, ostéoblastes et ostéoclastes, positionnées à la surface du tissu osseux permettent d'assurer un remaniement perpétuel suivant les contraintes générales (équilibre phosphocalcique) et les contraintes locales (forces appliquées sur les dents).

1.1.1.2. Le ligament alvéolo-dentaire

Situé entre le cément et la paroi alvéolaire, le ligament alvéolo-dentaire (LAD) est un tissu conjonctif dense richement vascularisé et innervé qui remplit différentes fonctions telles que :

- L'ancrage de la dent aux structures environnantes.
- La protection contre la fusion de la dent avec l'os.
- La protection contre la migration de l'épithélium long de jonction le long de la racine, au cours du processus de cicatrisation de la parodontite.
- L'amortissement et la répartition des forces appliquées sur la dent par ses propriétés visco-élastiques.
- La transmission d'influx sensoriels (proprioception), pour permettre la coordination des muscles masticateurs, le positionnement des dents et des maxillaires, et ainsi d'éviter les blessures.
- Assurer l'homéostasie tissulaire et la réparation des tissus parodontaux car c'est un réservoir de cellules souches spécifiques.

Le LAD est principalement constitué de fibres élastiques et d'une matrice extra-cellulaire interstitielle dans laquelle résident différents types cellulaires ; principalement des fibroblastes mais aussi des cellules progénitrices capables de se différencier en ostéoblastes ou cémentoblastes qui assureront le remaniement cémentaire ou osseux en fonction des contraintes.

1.1.1.3. Le cément

Le cément est l'interface entre la dentine et le LAD, c'est un tissu conjonctif minéralisé. Il est composé d'une matrice minérale formée principalement d'hydroxyapatite, d'une matrice organique (collagène et protéines non collagéniques) et d'eau. Il n'est pas innervé ni vascularisé, mais tout comme le tissu osseux des cellules présentes à sa surface (les cémentoblastes) assurent sa formation.

On distingue différents types de ciments :

- Le cément acellulaire afibrillaire, ou cément coronaire ne participant pas à l'ancrage de la racine et se trouvant dans la partie la plus cervicale de la dent.
- Le cément acellulaire à fibres extrinsèques (CAFE) ou cément primaire, permet l'ancrage des fibres du LAD dans la racine, il couvre les 2/3 de la racine, il contient majoritairement des fibres extrinsèques dites fibres de Sharpey, qui sont en continuité avec les fibres du LAD.
- Les ciments cellulaires ou acellulaires à fibres intrinsèques appartiennent au cément secondaire (mis en place après la mise en occlusion de la dent). Ces ciments sont présents au niveau du tiers apical de la racine et recouvrent aussi son tiers moyen. Sa formation a lieu tout au long de la vie. Le premier contient des cémentocytes emmurés dans la matrice minéralisée, le second n'en contient pas. Ils contiennent majoritairement des fibres intrinsèques et participent moins à l'ancrage de la dent dans son alvéole que le CAFE. Sa formation est plus rapide permettant de répondre aux contraintes d'usures et de migration.

1.1.1.4. Le tissu gingival

C'est une muqueuse orale de type masticatoire composée d'un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé qui repose sur un tissu conjonctif sous-jacent. Elle assure l'herméticité et la protection du parodonte.

- Le tissu conjonctif gingival : c'est le tissu prédominant de la gencive, il est principalement constitué de fibres de collagène organisés en faisceaux orientés qui s'ancrent aux différents éléments anatomiques adjacents (cément, tissu osseux). De nombreuses autres fibres sont également présentes comme celles de réticuline, d'oxytalan et des fibres élastiques. Tous les éléments de la matrice extra-cellulaire fibrillaires et non fibrillaires sont synthétisés par les fibroblastes qui constituent la cellule majoritaire du tissu conjonctif. Des cellules immunitaires résidentes sont aussi présentes dans le chorion gingival (macrophages, lymphocytes, mastocytes, plasmocytes ...etc.)
- Les épithélia gingivaux : on en trouve 3 types : l'épithélium oral-gingival, l'épithélium sulculaire comprenant l'épithélium oral-sulculaire et l'épithélium de jonction. Ils sont principalement constitués de cellules épithéliales (kératinocytes).
 - L'épithélium oral-gingival est un épithélium pavimenteux stratifié et kératinisé, il se situe entre le rebord marginal de la gencive et la ligne muco-gingivale et recouvre les versants vestibulaires, linguaux ou palatins des procès alvéolaires.
 - L'épithélium oral-sulculaire est un épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé. Il est situé entre l'épithélium oral-gingival et l'épithélium de jonction. Il est séparé de l'émail de la dent par le sillon gingivo-dentaire.
 - L'épithélium de jonction entoure le collet de la dent comme un anneau d'une largeur de 1mm environ, il fait le lien entre le parodonte et la dent et est en continuité avec l'épithélium oral-sulculaire. Il est pavimenteux stratifié et non kératinisé, il est constitué de plusieurs couches de kératinocytes. Il est aussi le lieu de circulation de polymorphonucléaires neutrophiles qui participent aux mécanismes de défense et à l'homéostasie tissulaire face aux bactéries orales présentes dans le sillon gingivo-dentaire.

La santé parodontale est définie comme l'absence d'inflammation cliniquement détectable. Elle peut être observée sur un parodonte intact, sur un parodonte réduit (ex : certaines formes de récession gingivale ou suite à une élévation coronaire) ou chez le patient dans des situations de parodontite stabilisée. Sur un parodonte intact ou un parodonte réduit mais stable, la santé gingivale est définie par l'absence d'érythème, d'œdème, de symptômes décrits par le patient, un saignement au sondage < 10 % des sites et une profondeur de sondage ≤ 3mm.(2)

1.1.2. Les maladies parodontales

Les maladies parodontales sont des maladies inflammatoires d'origine bactérienne et plurifactorielles qui touchent le parodonte. Elles sont la résultante d'un déséquilibre entre les défenses immunitaires et la présence des pathogènes microbiens. Elles comprennent la gingivite qui est l'atteinte des tissus parodontaux superficiels, et la parodontite, qui est un stade plus avancé de la maladie parodontale où les tissus profonds sont atteints.

1.1.2.1. Classification

1.1.2.1.1. La gingivite

La gingivite induite par le biofilm est une lésion inflammatoire localisée au niveau de la gencive qui n'atteint que le parodonte superficiel (muqueuse gingivale). Elle se caractérise cliniquement par un saignement spontané ou induit par le brossage, un érythème et un œdème de la gencive.

Cette inflammation est réversible après réduction de l'accumulation de plaque. Il existe d'autres gingivites qui ne sont pas d'origine bactérienne mais elles ne seront pas abordées ici.

1.1.2.1.2. La parodontite

La parodontite est caractérisée par une destruction progressive des tissus du parodonte profond de la dent (procès alvéolaire, LAD). Elle présente une perte d'attache clinique (PAC) et une lyse osseuse visible radiologiquement, ainsi que la présence de poches parodontales et de saignement au sondage.(3) Comme dans la gingivite, la thérapeutique consiste à diminuer la charge bactérienne dans la poche parodontale par l'élimination de la plaque et du tartre, dans le but d'obtenir une cicatrisation par réattache de l'épithélium de jonction.

Le diagnostic de la parodontite repose sur la réalisation d'un bilan clinique et radiographique et la maladie est caractérisée grâce à un système pluridimensionnel de stades et de grades.(3) Les sites présentant une profondeur de poche >4mm sont considérés comme atteints. L'étendue, la sévérité, la complexité de la maladie (stade) seront alors déterminées en fonction du nombre de sites atteints, de la profondeur des poches, de la quantité de perte osseuse, du taux de saignement et de la perte précédente de dents pour cause parodontale. De nombreux facteurs généraux et comportementaux, comme le diabète et la consommation de tabac, contribuent à l'apparition de la maladie et permettent d'estimer un risque de progression de la maladie (grade).(4)

1.1.2.1.3. Etiologie et traitements

La maladie parodontale est une maladie inflammatoire chronique qui a pour étiologie les bactéries parodontopathogènes. Face à ces agresseurs, une réaction immunitaire de défenses se met en place. Si elle est trop importante cette réaction pourra être délétère pour les tissus. En effet, les dommages tissulaires dans la parodontite chronique peuvent être causés par les produits libérés par les pathogènes, mais aussi par la réponse immunitaire, elle-même.

La composition du biofilm joue un rôle important dans la destruction tissulaire. Les bactéries du complexe rouge de Socransky ont un pouvoir pathogène plus fort dans les parodontites. Ces bactéries sont Porphyromonas Gingivalis (P.g), Tannerella Forsythia, Treponema Denticola et Aggregatibacter Actinomycetemcomitans(A.a) (5). En effet la quantité et la virulence du type bactérien vont accentuer la réponse immunitaire et la destruction tissulaire. Cependant chaque individu a une spécificité immunitaire et ne répondra pas de manière équivalente à une même menace.

De plus des facteurs de risques locaux ou généraux peuvent modifier la réponse de l'hôte. Les facteurs locaux sont la mauvaise hygiène bucco-dentaire, la présence de tartre et les facteurs rétenteurs de plaques tels que les malpositions, les soins ou prothèses iatrogènes, et les anomalies anatomiques dentaires. Les facteurs généraux, quant à eux sont le tabac, le stress, le diabète, les changements hormonaux chez la femme, le syndrome métabolique et les immunodéficiences.(6)

Actuellement, la thérapeutique consiste en une décontamination du parodonte par des détartrages et des débridements radiculaires non chirurgicaux, ou chirurgicaux en fonction des cas. Ces traitements font suite à la mise en place et au maintien d'une hygiène bucco-dentaire rigoureuse, mais également à la suppression ou la régulation des facteurs aggravants (arrêt du tabac, stabilisation du diabète ...).

1.2. La parodontite : quand le système immunitaire n'arrive pas à résoudre l'inflammation

1.2.1. Déroulement de l'inflammation et résolution

Le rôle principal de la réponse inflammatoire est de détecter et d'éliminer les facteurs qui perturbent l'homéostasie, de limiter l'extension de la lésion et de rétablir l'intégrité tissulaire. Ces facteurs peuvent être physiques (chaleur, froid, radiation, traumatisme), une contamination infectieuse par des micro-organismes (virus, bactéries, champignons), la présence de corps étrangers, des agents chimiques (toxines, venin, caustiques), des défauts de vascularisation ou une agression dysimmunitaire (allergie, auto-immunité).

Les signes de l'inflammation sont la douleur, la rougeur, l'œdème et la chaleur.

La parodontite ayant pour étiologie la présence bactérienne, la réponse inflammatoire aiguë suite à une infection microbienne suit des étapes bien standardisées :

1.2.1.1. Reconnaissance des organismes pathogènes

L'initiation de l'inflammation est déclenchée par l'activation, par des signaux de type Pathogens Associated Molecular Patterns (PAMPs) ou Danger Associated Molecular Patterns (DAMPs), des récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRRs) du système immunitaire inné. Les cellules immunitaires mais aussi les cellules composant les tissus comme les cellules épithéliales ou les fibroblastes présentent des PRRs et peuvent réagir à la présence des PAMPs et des DAMPs. Parmi les PRRs, les Toll-like Receptors (TLR) notamment 2 et 4 permettent de répondre à la présence de pathogènes bactériens de type Gram+ et Gram – respectivement. Leur activation est suivie d'une cascade intracellulaire aboutissant à la production de molécules de l'inflammation telles que les cytokines, chimiokines, amines vaso-actives et eicosanoïdes. Ces molécules vont induire localement la phase vasculo-exsudative de l'inflammation en induisant une vasodilatation des vaisseaux sanguins. (7,8)

1.2.1.2. Recrutement des leucocytes

Lors de cette phase vasculo-exsudative, les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins vont se modifier pour permettre l'extravasation des leucocytes de l'immunité innée, en majorité des polynucléaires neutrophiles (PMN). Les sélectines présentes à la surface des cellules endothéliales provoquent un roulement et un ralentissement des PMNs, puis autorisent leur passage par diapédèse grâce aux intégrines, molécules d'adhésion des PMNs. Le passage des leucocytes dans le tissu se fait avec des protéines plasmatiques et de l'eau par un jeu d'osmolarité, ce qui engendre localement un exsudat inflammatoire. Les neutrophiles arrivent en quelques heures sur le site de l'inflammation, plus tard ils seront rejoints par les monocytes.(7,8)

1.2.1.3. Elimination des pathogènes

Les neutrophiles une fois sur le site vont reconnaître le pathogène grâce à leurs récepteurs TLR. Une fois reconnus, les pathogènes vont être phagocytés, c'est à dire incorporés dans un phagosome où ils seront dégradés grâce à leur fusion avec le contenu toxique du lysosomes (des espèces réactives à l'oxygène et à l'azote, et des enzymes). Les neutrophiles peuvent être activés sans rencontrer de produits microbiens (s'ils détectent des cytokines comme le TNF- α par

exemple), dans ce cas ils libèreront le contenu de leurs granules (pouvant contenir notamment de la cathepsine G, de la protéinase 3 et/ou de l'élastase) dans l'espace extracellulaire, dans le but de créer un environnement inhospitalier pour contenir l'infection dans sa phase précoce. Cependant ces effecteurs ne font pas de distinction entre le pathogène et l'hôte, et des dommages sur les tissus environnants comme sur la matrice extracellulaire et les cellules hôtes peuvent aussi avoir lieu. (7,8)

1.2.1.4. Résolution de l'inflammation et retour à l'homéostasie

En plus des PMNs, des monocytes seront recrutés sur le site infecté. Ces monocytes vont se différencier en macrophages sous l'influence de l'environnement, ils vont aussi participer à la phagocytose et à la libération de médiateurs pro-inflammatoires. Au fur et à mesure les neutrophiles s'accumulent dans les tissus locaux et meurent par apoptose changeant l'environnement, les macrophages vont alors orienter leur activité sur l'élimination de ces PMNs apoptotiques c'est l'efferocytose. Une fois l'agent pathogène éliminé, les macrophages joueront aussi un rôle crucial en sécrétant des médiateurs pro-résolutifs qui favoriseront la cicatrisation et un retour à l'homéostasie, les macrophages sont appelés à ce moment-là « macrophages résolutifs », par opposition aux macrophages pro-inflammatoires. Si la réponse inflammatoire aiguë ne parvient pas à éliminer les agents pathogènes, le processus persiste et la réponse inflammatoire chronique s'installe.(9)

1.2.2. Non résolution

La persistance de l'inflammation est nocive pour les tissus et peut concerner pratiquement tous les organes : l'intestin avec les maladies inflammatoires chroniques de type maladie de Crohn et rectocolite hémorragique pour les plus connues, le pancréas avec le diabète de type 2, les articulations avec la polyarthrite rhumatoïde, les vaisseaux sanguins, le système nerveux, les muscles ou encore la peau.

Dans le parodonte, la chronicisation de l'inflammation, est due à la persistance des bactéries parodonto-pathogènes qui prolifèrent dans les biofilms sous-gingivaux entretenant la présence des cellules de la réponse immunitaire innée comme les macrophages inflammatoires, les cellules dendritiques (DC) et les PMNs, mais aussi des cellules de la réponse adaptative comme les lymphocytes T et les plasmocytes.(10)

Il peut arriver que malgré l'élimination des agents pathogènes, l'inflammation parodontale persiste et que la destruction tissulaire se poursuive. Dans le cadre de ce travail nous sommes questionnés sur le rôle joué par la présence ou l'absence des macrophages pro-résolutifs au cours de la maladie parodontale. Nous allons dans le chapitre suivant décrire les macrophages résolutifs, puis nous réaliserons une revue de la littérature sur les études permettant de caractériser et d'étudier le rôle de ces cellules dans la maladie parodontale.

2. Les macrophages résolutifs

2.1. Les macrophages cellules clés de l'immunité

2.1.1. Définitions

Les macrophages sont une population de cellules du système immunitaire présentes dans tous les tissus de l'organisme. C'est Elie Metchnikoff qui a été le premier à les identifier, à la fin du 19^e siècle, les définissant comme « des cellules mononucléées phagocytaires mobiles et potentiellement un acteur clé de l'immunité » (11). Depuis lors, leurs rôles dans l'immunité innée, la régulation de la réponse immunitaire, le maintien de l'homéostasie tissulaire, la réparation tissulaire et le développement embryonnaire ont été démontrés. Ces cellules sont au centre de la communication intercellulaire, car elles possèdent un grand nombre de récepteurs membranaires et ont la capacité de produire un large éventail de cytokines.

2.1.2. Origines

Deux sources de macrophages ont été identifiées : les progéniteurs embryonnaires et ceux produits par la moelle osseuse. Chez l'adulte il existe des macrophages qui résident dans les tissus et d'autres qui y aboutiront en fonction des besoins immunitaires. Les premiers sont appelés macrophages résidents et permettent de maintenir l'homéostasie et de détecter prématurément les différentes menaces. Les seconds sont issus de précurseurs se trouvant dans la circulation sanguine : les monocytes.

2.1.2.1. Les macrophages d'origine monocytaires

Chez l'adulte, les macrophages sont issus de la différenciation des monocytes sanguins circulant lors de leur passage dans les tissus. Monocytes et macrophages sont deux stades de différenciation de la même lignée cellulaire qu'on nomme système des phagocytes mononucléaires et qui représente un sous-groupe de leucocytes. Cette lignée cellulaire débute dans la moelle osseuse et a pour précurseur la cellule souche hématopoïétique (CSH) qui va se différencier sous l'action de cytokines et de facteurs de stimulation tels que M-CSF et GM-CSF en cellule souche myéloïde CFU-GEMM (Colony Forming Unit-Granulocyte Erythrocyte Monocyte Macrophage megakaryocyte). Puis, toujours sous l'action des facteurs de stimulation, ils se différencient en progéniteur CFU-GM (Colony Forming Unit of Granulocyte and Macrophage Cells) qui est le précurseur des granulocytes et des monocytes, qui à son tour va se différencier en CFU-M (colony forming unit-monocyte macrophage), puis enfin en monocytes (12).

Ces monocytes vont passer environ 24h dans la moelle osseuse avant d'être libérés dans la circulation sanguine où ils pourront y séjourner jusqu'à 3 jours. Ils vont ensuite migrer vers les tissus périphériques par diapédèse et s'y différencier en cellules dendritiques ou en macrophages, sous l'influence de facteurs de croissance, de cytokines pro-inflammatoires ou de produits microbiens. Ces macrophages auront un rôle majoritairement dans la défense de l'hôte.

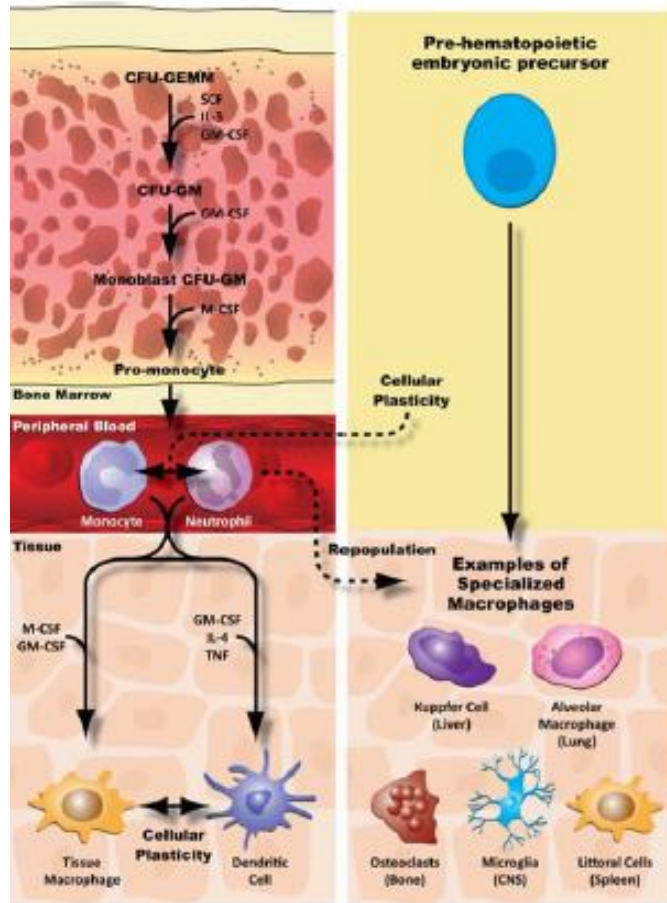


Figure 1 : genèse des macrophages d'origine monocyttaire et des macrophages résidents (12)

2.1.2.2. Les macrophages résidents

Les macrophages résidents trouvent leur origine chez l'embryon. Ils sont issus des progéniteurs érythro-myéloïdes venant du sac vitellin, puis par la suite du foie fœtal. Ils migrent vers les différents tissus embryonnaires où ils joueront un rôle dans le développement et le remodelage notamment en éliminant les cellules mortes. Ces cellules vont ensuite se maintenir jusqu'à l'âge adulte, par auto-renouvellement. Ces macrophages vont être retrouvés dans la plupart des organes et tissus du corps humain et vont participer au bon fonctionnement de ceux-ci. En fonction des tissus dans lesquels ils s'établissent, ils portent des noms différents : les ostéoclastes dans le tissu osseux, les microgliocytes dans le système nerveux central, les histiocytes dans le tissu conjonctif ou les cellules de Kupffer dans le foie par exemple. Ces populations de macrophages sont anatomiquement distinctes les unes des autres, et ont des profils transcriptionnels et des capacités fonctionnelles adaptées à leur tissu respectif.(13,14)

Il faut noter que les macrophages issus des monocytes circulants pourraient aussi être recrutés et reprogrammés pour adopter le même profil que certaines populations de macrophages résidents.(13)

2.1.3. Les fonctions des macrophages

Les macrophages présentent une grande diversité fonctionnelle, ce sont de véritables cellules sentinelles qui initient et régulent la réponse immunitaire, en fonction des situations ils pourront s'adapter et présenter de nombreuses fonctions diversifiées.

2.1.3.1. Rôle dans la réponse innée

Ce sont des cellules phagocytaires, elles sont capables de reconnaître les agents pathogènes (c'est-à-dire bactéries, parasites ou virus). En effet, les agents pathogènes portent à leur surface des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP : Pathogen associated molecular pattern) qui sont reconnus par des récepteurs de reconnaissance des pathogènes (PRR Pathogens recognition receptors) portés par les macrophages. Les éléments reconnus vont être internalisés sous forme de phagosome, et éliminer après fusion avec les lysosomes.(15) Suite à la phagocytose, les macrophages vont être capables de libérer un grand nombre de cytokines pro-inflammatoires comme IL-1, IL-6, IL-12, TNF α et des chimiokines comme CCL2. Les macrophages vont également pouvoir reconnaître les pathogènes opsonisés par les protéines du complément ou les anticorps. Leur action ne se limite pas à la phagocytose, ils produisent et libèrent aussi des médiateurs microbicides comme les molécules dérivées de l'oxygène et de l'azote : ROS (Reactive oxygen species) et RNS (Reactive Nitrogen species).

2.1.3.2. Rôle dans la réponse immunitaire adaptative :

Après l'internalisation des éléments pathogènes, les macrophages pourront les traiter et les présenter à leur surface associée à des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe 2. L'ensemble antigène-molécule de CMHII pourra être reconnu dans les ganglions lymphatiques par les cellules T CD4+ qui pourront se différencier en Th1, Th2, Th17 ou encore Treg (T régulateurs) en fonction des facteurs de costimulations et des cytokines secrétées par la cellule présentant l'antigène. Ainsi, les macrophages sont capables d'initier et moduler la réponse adaptative.

2.1.3.3. Réparation tissulaire et retour à l'homéostasie :

Après l'inflammation les macrophages vont faciliter la résolution et la réparation tissulaire, ils vont pouvoir moduler la cicatrisation tissulaire et initier le retour à un état homéostatique en libérant un panel de cytokines.

2.1.3.4. L'efferoctose :

Ce sont également des acteurs majeurs du maintien de l'homéostasie tissulaire :

On dit que ce sont des efferoctes, car elles peuvent phagocyter les cellules apoptotiques de l'hôte en reconnaissant les motifs moléculaires associés aux dommages (DAMP : Damage Associated Molecular Pattern) libérés par les cellules « en danger » grâce à leurs PRR. Cette capacité est nécessaire à l'homéostasie tissulaire et au développement embryonnaire. En effet, la présence de cellules mortes que ce soit dans un contexte sain ou pathologique, dans un tissu induit une réaction inflammatoire par la libération de signaux de danger. Leur élimination rapide est donc requise.

2.2. Concept de polarisation et de phénotypes macrophagiques

2.2.1. Concepts de polarisation

Les macrophages ont une expression génétique plastique qui s'exprimera en un phénotype qui change en fonction du type, de la concentration et de la durée de leur exposition aux agents stimulants.

2.2.1.1. Origines du concept de polarisation

Le concept de polarisation des cellules immunitaires trouve son origine dans les travaux de Mosmann et al (16) dans lesquels il met en évidence deux sous-populations de lymphocytes T auxiliaires murins avec un phénotype opposé : Th1 et Th2. Ces phénotypes sont basés sur leurs profils respectifs de production.(17)

En fonction des stimuli, les lymphocytes T naïfs vont adopter plutôt l'un ou l'autre des phénotypes et sécréter des cytokines différentes, l'interféron- γ (IFN- γ) pour les Th1 et l'interleukine 4 (IL-4) pour les Th2. (18)

De même que pour les cellules T, les macrophages peuvent être polarisés.

2.2.1.2. La polarisation des macrophages

Ce concept de polarisation apparaît pour les macrophages à partir des années 90 (18–21).

Dans ces premières études, les macrophages ont été qualifiés de « classiquement activés » après stimulation avec un lipopolysaccharide (LPS) d'agents pathogènes et de l'IFN- γ (22) ; et qualifiés « d'alternativement activés » après une stimulation par de l'IL-4. (20) En effet, lors de l'observation de ces macrophages « alternativement activés », il a été noté une augmentation des récepteurs au mannose des macrophages (MMR ou CD206), et une morphologie différente des macrophages « classiquement activés » (20).

L'activation classique des macrophages favorise la réponse Th1 des lymphocytes en produisant des cytokines pro-inflammatoires, dans le but d'amplifier l'élimination des pathogènes de l'organisme en initiant la réponse adaptative.

L'activation alternative quant à elle favorise la réponse de type Th2, par la production de cytokines anti-inflammatoires. Ces cellules sont aussi associées à l'efferocytose et à la résolution de l'inflammation. Suivant le paradigme Th1/Th2, Mills et al (18), ont nommé M1 et M2 les sous-types de macrophages en lien avec chaque réponse.

Une des particularités des macrophages décrites dans la littérature est leur plasticité, c'est-à-dire, leur capacité à s'adapter progressivement (ou continuellement) pour acquérir une activité M1 ou M2 prédominante, mais il existe aussi une variété d'activité cellulaire entre les 2. En culture, elles sont aussi capables de passer d'un phénotype à un autre par un phénomène de polarisation, repolarisation.

2.2.1.3. Evolution de la vision de plasticités des macrophages

Au fil des études, d'autres sous-types de macrophages ont été identifiés (M3, M4 ou des macrophages associés aux tumeurs par exemple), tout comme les facteurs qui permettent de les

induire. De plus, il a été mis en évidence que tous les macrophages activés de manière alternative n'avaient pas tous les mêmes fonctions, ni les mêmes voies d'activation et ont été subdivisés en 3 classes M2a, M2b, M2c. (23)

Avec l'observation de macrophages présentant des marqueurs à la fois anti- et pro- inflammatoire, l'idée d'avoir un macrophage M1 pro-inflammatoire qui s'oppose entièrement à un M2 anti-inflammatoire a donc évolué vers plus de nuances. La polarisation caractérise les macrophages par leur phénotype et leur activité cellulaire en réponse aux signaux micro-environnementaux rencontrés (24). Cette polarisation se situe sur un continuum allant de la forme la plus inflammatoire (M1) à la plus résolutive (M2) rendant floues les limites entre les deux groupes.(13)

Malgré des avancées dans la compréhension de ces expressions phénotypiques, les études *in vitro* sont majoritaires, de sorte que l'environnement qui joue un rôle majeur dans ces processus ne peut être reproduit globalement. De plus, les études se font principalement sur des cellules murines qui, bien que présentant des similitudes avec les cellules humaines, ont des voies de signalisations et des réponses qui peuvent différer. (21)

2.2.2. Le macrophage pro-inflammatoire ou M1-like

Les macrophages pro-inflammatoires, font partie de la première ligne de défense contre les pathogènes intra-cellulaires. *In vitro* ils ont été observés et décrits comme les « macrophages classiquement activés » ou M1. Ils sont induits par des cytokines de type Th1 telles que le tumor factor necrosis- α (TNF- α), l'interferon- γ (IFN- γ) et/ou par l'action d'un produit microbien. Les principales voies d'activation vont être initiées par l'activation des récepteurs TLRs et du récepteur de l'IFN- γ qui se trouvent à la surface des macrophages. Le facteur de stimulation CSF-2 (ou GM-CSF) est également impliqué. Ces activations vont entraîner des cascades de signalisation qui vont guider la réponse inflammatoire aiguë.(25)

In vitro, afin de reproduire les effets des macrophages du spectre M1, des cellules de lignées tumorales sont souvent cultivées en utilisant du CSF-2 ajouté à des agonistes du récepteur à l'IFN- γ (IFN- γ R1) et/ou des agonistes des TLRs de types 2 ou 4.

Leurs fonctions sont orientées pour :

- éliminer les agents pathogènes par phagocytose
- activer les PMNs
- présenter des antigènes afin de stimuler et d'activer les lymphocytes T pour initier la réponse immunitaire adaptative

Par rapport aux autres phénotypes des macrophages et en particulier aux macrophages anti-inflammatoires, ils produisent et sécrètent de grandes quantités de cytokines pro-inflammatoires TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, et de cyclooxygénase-2 (COX-2) et de faibles niveaux d'IL-10, on parle donc d'un profil IL-12^{high}/IL-10^{low}. Ils produisent également un grand nombre de chémokines et de leurs récepteurs. Leur implication dans l'activation des ostéoclastes accroît la destruction osseuse en favorisant la liaison entre RANK et son ligand (RANK-L) sur les pré-ostéoclastes (26)

De plus les macrophages pro-inflammatoires murins présentent une enzyme INOS (oxyde nitrique synthase 2), qui est capable de synthétiser de monoxyde d'azote (NO), mais aussi des ROS et des RNS par le métabolisme de la L-arginine. Les ROS vont également être produits par la NADPH oxydase ou la xanthine oxydase. Ces radicaux libres permettent une destruction rapide des micro-organismes, tout comme une action antitumorale robuste, cependant ils présentent une forte

cytotoxicité qui peut endommager les tissus environnants et nuire à la cicatrisation et la régénération tissulaire.(25)

Un autre trait caractéristique des macrophages pro-inflammatoires est leur profil métabolique qui est caractérisé par une glycolyse anaérobie car ils doivent déclencher rapidement une activité microbicide dans un environnement hypoxique.(27)

De nombreux marqueurs permettent de différencier les macrophages du spectre M1 des autres macrophages c'est le cas d'INOS, de CD64 et CD80, bien que le niveau d'expression des marqueurs dépende de la nature du stimulus, IFN- γ ou LPS ou les deux.(26)

2.2.3. Le macrophage anti-inflammatoire, résolutif ou M2-like

Les macrophages résolutifs sont les macrophages présentant majoritairement une fonction de résolution de l'inflammation, ils expriment donc une forte activité immuno-régulatrice et anti-inflammatoire et une faible activité microbicide. Afin de moduler et atténuer la réponse inflammatoire, ces cellules possèdent tout un ensemble de fonctions dépendantes des informations reçues de l'environnement. Ces cellules ont la capacité d'éliminer les débris des cellules pathogènes, ainsi que ceux des cellules apoptotiques, elles produisent des cytokines anti-inflammatoires pour induire les autres cellules immunitaires et tissulaires présentes dans cette voie et ainsi coordonner la régénération ou la cicatrisation tissulaire. En parallèle, elles possèdent des propriétés pro-angiogéniques, pro-fibrotiques et antiparasitaire. Ces différentes propriétés de tolérance immunitaire sont intéressantes pour induire la réparation tissulaire et stopper l'inflammation, mais elles promeuvent aussi la formation et la progression tumorale.(28)

Même si le type M2 étudié *in vitro* est apparenté au macrophage résolutif, il ne prédit pas de son comportement *in vivo*. Les macrophages M2 ont été divisés en plusieurs sous-types *in vitro* M2a, M2b, M2c (23) et M2d en fonction des stimuli auxquels ils sont soumis :

M2a : soumis aux interleukines 4 et 13 (IL-4 et IL-13), ce sont les macrophages de la réparation tissulaire. L'activation de leurs récepteurs hétérodimères par IL-4 et IL-13 va activer la voie de transduction JAK-STAT. Les deux cytokines interagissent également avec les récepteurs de la famille PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Receptor) qui régulent aussi le facteur de transcription STAT6. Ces voies de signalisation vont initier la polarisation M2a et inhiber les caractéristiques M1. Les macrophages M2a produisent l'interleukine-10 (IL-10), mais aussi des chémokines CCL24, CCL17, CCL22, des niveaux élevés du récepteur au mannose (CD206), de CD86, de l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 (IL-1Ra) ou encore de TGF- β . L'IL-10 induit la répression de la réponse Th1, joue un rôle important dans l'inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- α , l'IL-6, l'IL-12, de NO, mais aussi régule négativement le CMH II et donc la présentation d'antigènes.

Les M2a produisent des signaux et facteurs de croissance comme IGF- β , pour la réparation et la prolifération tissulaire, ils favorisent la synthèse de fibres et coordonnent également le recrutement des éosinophiles, des basophiles et de certaines cellules Th2 polarisées. Ce sous-type est particulièrement impliqué lors d'infections parasitaire, helminthique et fongique. (23)

M2b : Le sous-ensemble M2b ou macrophage activé de type II semble être induit par 2 signaux concomitants :

- la fixation de complexes immuns d'immunoglobuline de type G (IgG), des cellules apoptotiques ou des prostaglandines
- la reconnaissance des ligands des récepteurs TLRs comme les LPS ou des récepteurs à IL-1 (IL-1Ra).

Les macrophages M2b produisent des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β , IL-6 et TNF- α , mais aussi IL-10 qui est anti-inflammatoire. Les marqueurs qui permettent de les discriminer des autres

sous-types M2, sont notamment IL-10, CCL1, LIGHT, CD86, SPHK1, TNF- α et IL-6. Ils sont connus pour être des macrophages « régulateurs » de l'inflammation, ils présentent une forte capacité phagocytaire, mais peu d'effets anti-bactériens, et favoriseraient l'environnement pour le développement des pathogènes opportunistes, possiblement en inhibant la conversion des macrophages quiescents M0 en macrophages M1.(29)

M2c : Le sous-ensemble M2c est induit par les glucocorticoïdes ou le TGF- β et l'IL-10 et présente des activités de :

- régulation négative des cytokines pro-inflammatoires
- augmentation de l'activité de piégeage des débris cellulaires
- mise en place d'un programme fonctionnel de pro-guérison

Dans l'inflammation chronique le rôle des macrophages présentant ces caractéristiques est majeur car ils limitent la durée et l'intensité de la réponse inflammatoire. Ils libèrent de grandes quantités d'IL-10 et de TGF- β entraînant une boucle de rétroaction positive quant à leur activation. Ils sont caractérisés par une diminution de l'expression de CD86 et HLA-DR, une élévation de l'expression de CD163. Ils sont impliqués dans la prévention de l'inflammation des tissus. Comme les macrophages M2b, ce sont des macrophages régulateurs, leur rôle serait de désactiver la réponse des lymphocytes Th1. Ce type de macrophages similaires a été observé *in vivo* dans un environnement riche en cellules apoptotiques.(23)

M2d : Les macrophages associés aux tumeurs (TAM) ont été requalifiés comme un sous-type de M2. Ils sont induits par IL-6, le CSF-1 et la costimulation des ligands TLR avec des agonistes du récepteur A2 de l'adénosine (A2R). Ce phénotype M2 est non agressif pour le milieu et promeut le développement du tissu tumoral. Ces macrophages contribuent à l'angiogenèse et au développement de métastases. Ils sont caractérisés par une concentration élevée d'IL-10, de TGF- β , du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) et d'une faible production d'IL-12, de TNF- α et d'IL-1 β .(30)

Ces différents sous-types de macrophages résolutifs présentent un profil commun concernant la production des molécules anti-inflammatoires IL-10 et TGF- β . Ils produisent aussi une faible quantité d'IL-12 et d'IL-23 qui sont des molécules plus pro-inflammatoires. Les différents profils sécrétoires varient en fonctions des stimulations locales.

Les macrophages *in vivo* sont différents de ceux étudiés *in vitro* car ils ne sont pas dans un environnement contrôlé et reçoivent significativement plus de signaux différents et variables dans le temps. Les médiateurs favorisant la polarisation ou repolarisation des macrophages vers un phénotype résolutif sont plus nombreux que ceux évoqués ci-dessus, on pourra rajouter entre autres l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 β , l'IL-33, l'IL-21, les chémokines CCL2 et CXCL4, les glucocorticoïdes, Wnt5a ou les dérivés des acides gras polyinsaturés. Leur étude apporte de nombreux espoirs quant à la possibilité d'induire la résolution de l'inflammation.(27)

Contrairement aux macrophages inflammatoires, les macrophages résolutifs doivent avoir un apport constant en énergie afin d'engager le remodelage, la réparation et la cicatrisation cellulaire; pour cela ils sont dépendants de l'oxydation des acides gras et du métabolisme oxydatif.(31)

Le métabolisme de l'arginine quant à lui est orienté vers la production d'ornithine et de polyamines grâce à régulation à la hausse de l'arginase-1 (Arg-1) qui fausse la production de NO présente dans les macrophages pro-inflammatoires. L'ornithine et les polyamines stimulent la croissance cellulaire, la formation de collagène et la réparation tissulaire.(32)

2.2.4. D'autres phénotypes de macrophages existants

Dans la littérature de nombreux macrophages présents dans des situations pathologiques ou activés avec des stimuli particuliers ont été caractérisés :

- M0 ou macrophage quiescent : ces termes font référence à un type de macrophage non polarisé, seulement soumise au CSF-1, c'est une cellule précurseur des macrophages polarisés obtenus lors des cultures cellulaires.
- M3 : ce phénotype correspond à un macrophage polarisé et ayant subi une repolarisation, c'est-à-dire un macrophage soumis à une stimulation inflammatoire reprogrammé vers un phénotype anti-inflammatoire ou l'inverse.
- M4 : ce sous-ensemble de macrophages est induit en présence de CXCL4. Cette chémokine a été observée dans les plaques d'athérome. Ce sous-type est caractérisé par l'expression de marqueurs de surface tels que S100A8, le récepteur du mannose CD206 et la production de MMP7, d'IL-6 et de TNF- α . Ils sont pro-athérogènes et possèdent une faible capacité de phagocytose.(33)
- D'autres sous-types de macrophages ont été mis en évidence dans les plaques d'athérome. Ce sont les M(Hb), Mhem et Mox. Les M(Hb) et Mhem participent à la clairance de l'hémoglobine lors des hémorragies intra-plaque. Le sous-type Mox présente un fort potentiel anti-oxydant.
- D'autres sous-populations de macrophages associés à des états pathologiques ont également été référencés :
 - Le RA-SM pour la polyarthrite rhumatoïde
 - Les MAMs associés aux métastases (33)
 - Les ostéomacs qui sont des macrophages résidents du tissu osseux.(34)

2.2.5. La repolarisation

En plus de pouvoir exprimer des phénotypes d'une grande variété, les macrophages font preuve d'une grande plasticité et sont capables, une fois activés, de passer d'un phénotype à un autre. En effet une exposition *in vitro* d'un macrophage M1 à des anti-inflammatoires, aura pour conséquence une « reprogrammation » ou « repolarisation » dudit macrophage vers un phénotype résolutif, et inversement. Cette haute plasticité fonctionnelle est particulièrement intéressante et étudiée pour des objectifs thérapeutiques, par exemple dans le cas des maladies inflammatoires chroniques, repolariser les macrophages d'une activité M1 en M2, permettra la résolution de l'inflammation. Dans le cas des pathologies tumorales à l'inverse, les macrophages M2d vont être activés et accentuer leurs développements, pouvoir les reprogrammer vers un phénotype M1 anti-tumoral serait un bénéfice non négligeable dans l'arsenal thérapeutique contre ces pathologies.(25)

Malgré leur grande plasticité, certaines propriétés obtenues après une première activation, pourront être réversibles alors que d'autres seront irréversibles. La compréhension de ces mécanismes est assez trouble, et il y a de nombreuses interrogations quant aux possibilités et limites de cette reprogrammation notamment *in vivo*.

2.3. La temporalité du macrophage dans la maladie parodontale

2.3.1. Les macrophages dans la maladie parodontale

Dans la maladie parodontale, les macrophages peuvent être les initiateurs de la réponse inflammatoire et participer à sa résolution et au maintien de l'homéostasie dans un second temps. Toutes ces actions sont possibles grâce à la régulation de leur propre polarisation lors d'une stimulation exogène ou endogène et par reprogrammation et plasticité continue.(26)

2.3.2. Prédominance du phénotype inflammatoire

L'initiation du processus inflammatoire de la maladie parodontale commence par la colonisation de la région cervicale des dents par les bactéries. Celles-ci vont se développer et former un biofilm. Si rien ne vient le perturber, les bactéries vont se multiplier, rendant le biofilm plus mature et augmentant le pourcentage de bactéries à gram négatif, dont Pg, Treponema denticola, Tannerella forsythia, et A.a . Ces bactéries produisent des produits chimiques spécifiques, notamment du sulfure d'hydrogène, des protéases et de l'ammoniac, qui provoquent des dommages sur les tissus parodontaux. Ces dommages et la présence de produits exogènes va entraîner l'activation de la réponse immunitaire grâce aux cellules dendritiques et aux macrophages résidents. Ces cellules vont permettre le recrutement des monocytes circulants, des polynucléaires neutrophiles (PMNs), et des lymphocytes T et NK.

Grace à la reconnaissance de la chimiokine CCL2 par son récepteur CCR2 présent à la surface des monocytes sanguins circulant, ces derniers vont pouvoir intégrer les tissus gingivaux par chimiotactisme quelques heures après les PMNs.(25)

Sous l'action des cytokines pro-inflammatoires du milieu telles qu'IL-1 et TNF- α et des pathogènes parodontaux (via les TLRs), les monocytes se différencient en macrophages présentant un phénotype pro-inflammatoire. Les macrophages inflammatoires et les neutrophiles régulent à la hausse la production de médiateurs pro-inflammatoires, des espèces réactives à l'oxygène et à l'azote et métalloprotéases, qui favorisent la dégradation de la matrice extracellulaire et l'activité ostéoclastique.(35) Les macrophages vont phagocyter les pathogènes et pourront présenter les antigènes aux cellules T via leurs molécules de CMHII.

Dans la littérature la stimulation *in vitro* des macrophages par LPS de Pg, par exemple, entraîne l'activation des récepteurs TLR2 et TLR4. Ces deux TLRs activés vont stimuler le facteur de transcription NF κ B et conduire à la production par les macrophages de cytokines pro-inflammatoires IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IL-23 TNF- α , G-CSF et GM-CSF en plus de CCL2. (28)

IL-12 et IL-23 dirigent la différenciation et l'expansion des lymphocytes T auxiliaires Th1 et Th17 qui aident à stimuler la réponse inflammatoire pour éliminer les pathogènes.(36)

Une fois la réponse inflammatoire pleinement induite, elle peut devenir délétère si elle dure dans le temps et accentuer la progression de la maladie parodontale par l'accumulation de ROS, RNS et de cellules apoptotiques qui maintiennent l'activation des cellules Th1 et Th17. (35) Ce système de défense est indispensable pour éliminer les agents pathogènes, mais dans une situation d'infection chronique comme dans la maladie parodontale, la réponse excessive peut induire des lésions osseuses permanentes et des pertes d'attache parodontale irréversibles. D'autant plus

qu'il a été démontré que les macrophages pro-inflammatoires ont la capacité d'initier et de promouvoir l'ostéoclastogenèse (via RANK/RANK-L).(35)

Théoriquement, après ce que nous avons vu sur les rôles des macrophages résolutifs, il semble donc important qu'ils interviennent sans délais après que le rôle des macrophages inflammatoires a été rempli et que les bactéries sont éliminées. Une augmentation des macrophages avec un phénotype résolutif associé à une diminution des macrophages inflammatoires permettrait de stopper la destruction tissulaire associée à l'inflammation.

Il est donc intéressant de se demander à quel point les macrophages résolutifs ou leur absence sont importants dans la santé parodontale, dans la maladie parodontale et sa chronicité, mais surtout dans la résolution de la maladie. Nous allons maintenant à travers une revue de littérature faire une synthèse des études ayant évalué la polarisation et le rôle des macrophages résolutifs dans la parodontite.

3. Revue de la littérature : les macrophages résolutifs dans la parodontite

3.1. Recherche bibliographique

3.1.1. Objectifs

L'objectif de cette étude est de faire une analyse de la littérature concernant l'état actuel des connaissances sur l'implication des macrophages résolutifs dans la parodontite.

3.1.2. Méthodologie

3.1.2.1. Mots-clés

Pour commencer la recherche, la base de données Pubmed a été interrogée afin d'identifier les mots clés les plus pertinents :

Intégrant la parodontite.
Evoquant les macrophages résolutifs.

L'équation de recherche dans la base Pubmed a donc été :

((M2) OR (alternative) OR (polarization) OR (pro-resolving phenotype) OR (M2-like) OR (resolving)) AND (macrophage) AND (periodontitis)
--

Une recherche complémentaire sur Google Scholar a été effectuée.

3.1.2.2. Critères de recherches

Nous avons limité nos recherches :
Sur la période de 2010 à août 2022 aux vues de l'évolution des avancées des connaissances sur la polarisation des macrophages.
Aux articles en anglais et en français.

3.1.3. Critères d'inclusion :

Les articles de recherche *in vitro* et *in vivo*.
Les articles traitant de parodontite ou de maladie parodontale et dans lesquels les macrophages résolutifs sont étudiés.

3.1.4. Critères d'exclusion :

Les revues de la littérature.

Les articles sur la parodontite apicale, l'orthodontie, endodontie ou l'implantologie.

Les articles impliquant d'autres pathologies ou comorbidité (diabète, maladies vasculaires, cancers, hyperlipidémie, ménopause, ostéoporose...etc.).

Les articles dont les résultats n'impliquaient pas les macrophages résolutifs.

3.1.4.1. Sélection des articles

La recherche Pubmed susmentionnée a fourni 259 résultats et 5 résultats supplémentaires ont été identifiés avec Google Scholar. Les critères d'inclusion et d'exclusion mentionnés précédemment ont permis d'inclure 75 articles dans notre analyse. Les détails de la sélection ont été illustrés dans un organigramme d'après le modèle PRISMA.

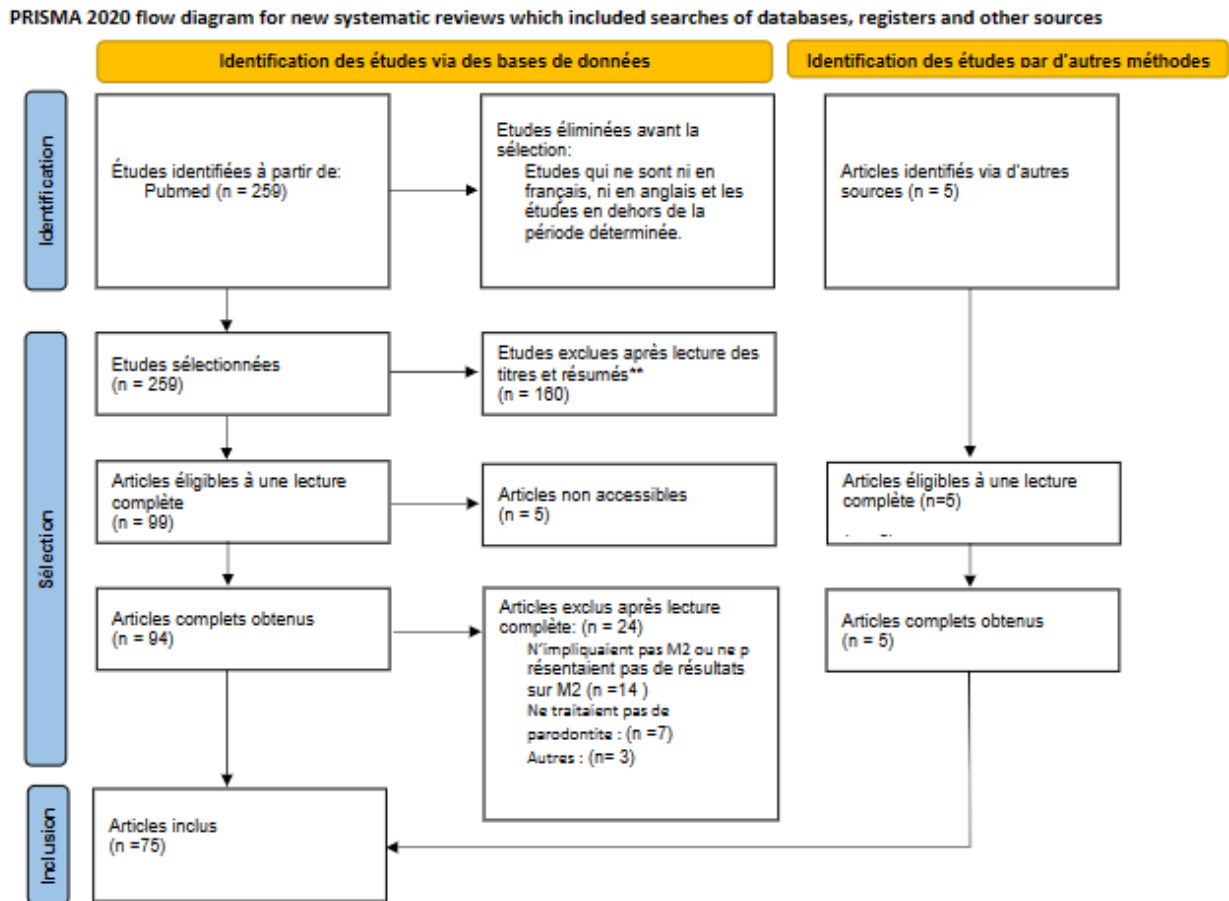


Figure 2 : Organigramme de la recherche de littérature d'après le modèle PRISMA.

3.2. Analyse de la littérature

3.2.1. Extraction des données

La lecture intégrale des 75 articles a montré des résultats très hétérogènes concernant les macrophages M2. Parmi ces 75 articles, 31 concernent des cultures cellulaires *in vitro* seules, 10 sont des études *in vivo* strictes et 34 allient cultures cellulaires *in vitro* et un modèle *in vivo*.

Des tableaux récapitulant les éléments suivants ont été réalisés :

Les éléments d'intérêt (substance, cellules, pathogènes, biomatériaux etc..) mis en contact des macrophages ou ce qui est observé dans l'étude et le but de l'étude annoncé par les auteurs.

Si les études étaient *in vitro*, *in vivo* ou les 2, l'origine des macrophages et s'ils ont été polarisés a priori de la culture cellulaire pour les études *in vitro* (2 exceptions *in vivo*), et quels animaux ont été utilisés dans le modèle animal, ou si l'observation s'est faite sur des tissus humains pour les études *in vivo*.

Une présentation des protocoles de cultures cellulaires (seulement ceux concernant les macrophages) ou des modèles expérimentaux *in vivo*, ainsi que les pathogènes impliqués et le type de maladie parodontale (parodontite innée, expérimentale, par ligature, par gavage de pathogènes...etc).

Les méthodes d'analyses et les molécules recherchées (les moyens de détection des macrophages M2 et les marqueurs associés d'après les auteurs sont notés en rouge dans le tableau).

Les résultats.

3.2.1.1. Populations

Parmi les études réalisées *in vivo*

5 études observaient des tissus humains, 23 portaient leurs études sur des souris, 14 sur des rats, 2 sur des chiens et 1 sur des singes.

3.2.1.2. Les macrophages

Différentes approches ont été utilisées dans le but d'observer les phénomènes de polarisation. Dans 34 articles, les macrophages ont été polarisés préalablement M1 et/ou M2 de manière à observer leur réaction dans diverses situations ou au contact de différents éléments.

Lors des études *in vitro*, les macrophages étudiés avaient une origine humaine dans 21 articles, murine dans 44 articles (souris : 41 et rat : 3).

3.2.1.3. Identification des macrophages résolutifs

Afin d'étudier les macrophages résolutifs, il a fallu les identifier, les marqueurs associés aux M2 ou à leur activité, ainsi que leurs moyens de détection ont été répertoriés dans le tableau ci-dessous :

marqueurs	Immuno-marquage	ELISA	Cytométrie de flux /FACS	Western Blot	qRT-PCR	multiplexage	Puce ADN	Dosage immunologique	Immuno-phenotypage
Nombre d'études	30	21	34	14	56	1	2	1	1
CD206	23		29	3	22		1		
CD163	7		5		7		1	1	
Arg-1	7		3	8	35		1		
IL-10	5	19			29	1	1	2	
TGF-β	2	2			15		1		
CCL18		2					1		
IL-1RA					1	1		1	
CD23			1						
Ym-1					7				
CD86 ⁻			1						
CCL3					1				
IL-13						1			
FIZZ-1					4				
Mgl-1					1				
TNFAIP6				1	1		1		
SOD2				1	1		1		
ADM							1		
AOX							1		
IRF-4				1					
CCL17					1				
FN1					1				
Chil3					1				
CD209			1				1		
PDL-2					1				
IL-4	1				1				
CD14 ⁺ IL-10 ⁺ IL-12 ⁻									1
CD68+HLA-DR-			1						
CD45 ⁺ F4/80 ⁺ I-Ad ⁺			1						
Inhibition IL-6, IL-12p40 et TNF-α		1							

Tableau 1 : marqueurs et moyens de détection des M2

12 études ont aussi réalisé des analyses morphométriques et 5 des dosages d'urée.

3.2.1.4. Modèles de parodontite

6 articles étudient des tissus humains ou de singes atteints de parodontite.

Dans 30 articles, les auteurs ont induit une parodontite expérimentale (par ligature, inoculation de parodonto-pathogènes, ou par association des deux), et dans 9 articles un défaut osseux parodontal a été créé.

3.2.2. Les macrophages résolutifs et l'intérêt qu'ils suscitent dans la littérature

Aux vues de l'hétérogénéité des résultats, les articles ont été répertoriés dans différents groupes en fonction des interactions des macrophages résolutifs ou des objectifs des dits articles (certains articles peuvent être intégrés dans plusieurs groupes et ont été arbitrairement placés dans l'un ou l'autre pour ne pas faire de doublons).

3.2.2.1. Observations les macrophages résolutifs dans les tissus parodontaux humains (12 articles) :

Observation du rôle des macrophages polarisés dans la parodontite et de leurs productions de cytokines (37–40), en fonction de l'âge des sujets (41), grâce à une déplétion des macrophages (42,43), à différents points temporels de la maladie et de la cicatrisation parodontale (44,45) Administration de macrophages polarisés (46,47) ou d'exosomes issus des macrophages résolutifs humains (48) dans des modèles de parodontites expérimentales

5 articles observent des tissus parodontaux humains :

4 articles (37–40) ont montré une corrélation positive entre l'augmentation du ratio M1/M2 et la sévérité de la parodontite (et notamment la profondeur de poche) par rapport à des patients non atteints de parodontite ou atteints de gingivite. La maladie parodontale était négativement corrélée avec la présence d'IL-4 cytokine produite par M2 (39). Les échantillons de patients atteints de maladie parodontales présentaient plus de macrophages que ceux des patients sains, cependant les tissus atteints de parodontite présentaient moins de macrophages polarisés (38,40).

Un dernier article (45) observe que le profil d'activation M2 joue un rôle dans la cicatrisation parodontale en observant un lien entre les niveaux de marqueurs CD163 (marqueur de la polarisation M2) dans les tissus avant le traitement parodontal et la fermeture des poches parodontales ainsi que la réduction de la profondeur de poche.

6 articles (42–44,46–48) ont utilisé des modèles de parodontite induite par ligature chez la souris pour étudier le rôle des macrophages polarisés et leur distribution dans les tissus parodontaux :

Dans 2 articles (42,44) il a été montré que l'on retrouve dans la phase inflammatoire induite par la ligature, une augmentation des médiateurs pro-inflammatoires associé à M1 (IL-1 β , IL-6 et INOS) et une augmentation de l'arginase (Arg-1), de l'IL-10, de TGF- β et de CD206 associés à M2 dans la phase de guérison simulée par le retrait de la ligature. De plus la phase d'augmentation des M1 était associée à des signes cliniques d'inflammation comme : la formation de poches parodontales, la migration apicale de l'épithélium jonctionnel, infiltration des cellules inflammatoires, etc. L'augmentation des M2 a montré une diminution des signes cliniques de la parodontite (baisse de l'infiltration cellulaire, repositionnement de l'épithélium jonctionnel, diminution des poches parodontales).

Dans 4 articles (42,44,47,48) , il ressort que les M2 favoriseraient l'ostéogénèse en aidant la différenciation des cellules souches et en ayant des effets ostéo-protecteurs et, inhiberaient l'ostéoclastogénèse via leur libération paracrine d'IL-10. Mais une étude (48) présente le fait que les M1 en grande concentrations contrairement aux M2 et M0 auraient une forte capacité d'inhibition de l'ostéoclastogénèse.

Un article (43) indique le peu d'implication des M2 dans la résorption osseuse induite par *P.g.*

1 article (41) explore la répartition des phénotypes de macrophages dans les tissus en fonction de l'âge chez des primates et rapporte une augmentation de tous les profils de macrophages dans les tissus âgés avec une plus grande proportion de macrophages M1. 4 gènes de M2 ont été identifiés comme négativement corrélés à la parodontite.

Tableau 2: observation des M2 dans les tissus parodontaux

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les Ms	Méthode	Résultats
Lam et al. -2014 (43)	-Liposomes encapsulés de Dichloro-méthylène-bisphosphonate (dits liposomes de clodronate). Administrations sous-cutanées et intra-veineuses. Etudier le rôle du macrophage dans la parodontite à l'aide d'un modèle de parodontite de souris par administration de liposomes de clodronate qui simulera un épuisement des macrophages et par infection à <i>P.gingivalis</i> .	<i>In vivo</i> . Souris Balb/C et C57BL/6.	Groupes de souris étudiés : 1) Sans traitement, 2) Parodontite seule induite par inoculation de <i>P.gingivalis</i> W50 (1 mg /ml en 4 doses à J4 et J24) 3) Parodontite et liposome de PBS 4) Parodontite et liposome clodronate en s.c ou i.v. Les injections ont eu lieu à J0 et J20 dans un modèle de parodontite expérimentale de souris par injections de <i>P.gingivalis</i> en 4 doses aux jours 4 et 24. Sacrifice à J3 ou J58 après la dernière inoculation.	- Mesure de la perte osseuse alvéolaire - Immunohistochimie : Détection et quantification des macrophages dans les maxillaires et les ganglions lymphatiques avec le marqueur F4/80. - FACS : CD206 , CD86, CD11, CD45/B220, Ly-6G, CD11b, CD115(CSF-1R) et F4/80 (M1 et M2) - RT-PCR : Quantification de <i>P.gingivalis</i> dans les tissus buccaux. - Multiplexage : IL-1a, IL-1b, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-17A, eotaxin, G-CSF, GMCSF, IFN-g, KC, MCP1 (MCAF), M-CSF, CCL2, CCL3, CCL5 et TNF-α. - Mesure du métabolisme de l'arginine (test de l'arginase et de NO, spectrophotométrie). - Analyse histologique des tissus maxillaires par coloration H&E.	-Les macrophages M2 sont peu impliqués dans la résorption osseuse et la dysbiose induite par une infection à <i>P.gingivalis</i> : l'infection a induit une augmentation de l'infiltration des macrophages, principalement des M1, dans le tissu gingival et une résorption osseuse alvéolaire. -Les liposomes de clodronate ont bien épuisé les macrophages dans les tissus gingivaux. Les traitements au clodronate ont réduit le nombre de macrophages et diminué la résorption alvéolaire induite par <i>P.gingivalis</i> W50 chez les souris. Les nombres de macrophages M2 n'étaient pas significativement différents entre les différentes expériences.
Zhou, Li-Na et al. -2019 (39)	Démontrer que les macrophages sont des éléments centraux dans les phases de destruction et de reconstruction de la maladie parodontale. Observer leur état de polarisation durant les différentes étapes de l'inflammation parodontale.	Etude sur l'humain	Prélèvements et analyses d'échantillons de tissus gingivaux de 43 patients, dont 13 atteints de parodontite chronique, 19 de gingivite et 11 en bonne santé parodontale. Parodontite et gingivite (induite par la plaque) innées.	- Mesures des paramètres cliniques parodontaux : profondeur au sondage, perte d'attache clinique, saignement au sondage et indice gingival. - Histochimie H&E : Analyse histologique des échantillons. - Immunofluorescence : F4/80, INOS et CD206 (polarisation). - Immunohistochimie : IL-4 , IL-6, IL-10 , IL-12, TNF-α et IFN-γ.	-Le groupe parodontite avait un ratio M1/M2 plus élevé et des niveaux significativement plus élevés de TNF-α, IFN-γ, IL-6 et IL-12 par rapport au groupe patients sains. -Le rapport M1/M2 et les niveaux d'IFN-γ et d'IL-6 étaient significativement plus élevés dans le groupe parodontite que dans le groupe gingivite. -Parmi les cytokines liées à M2, les niveaux d'IL-4 étaient significativement plus élevés dans la gingivite que dans le groupe sain. -Le rapport M1/M2 était positivement corrélé à la profondeur de sondage clinique, et les deux étaient positivement corrélés avec l'expression de l'IFN-γ et l'IL-6. -La maladie parodontale était corrélée négativement avec l'IL-4.

En rouge : les marqueurs utilisés pour l'identification des M2.

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Gonzalez et al.-2015 (41)	Etudier les variations des profils d'expression génique et de l'expression clinique associée des phénotypes des macrophages dans les tissus gingivaux sains et atteints de parodontite chez des primates non humains d'âges différents. Chez ces singes, les jeunes ne développent pas de parodontite.	<i>In vivo.</i> Primates non humains (singes rhésus).	Les primates sains ont été répartis par âge en quatre groupes : 1) ≤3 ans (jeunes ; n=5), 2) 3 à 7 ans (adolescents ; n=5), 3) 12 à 16 ans (adulte ; n=7) 4) 18 à 23 ans (âgés ; n=6). Les animaux adultes et âgés atteints de parodontite étaient au nombre de 11. Les animaux ont été examinés sous anesthésie pour les mesures cliniques. Un échantillon gingival buccal de tissu sain ou affecté par la parodontite de la région maxillaire prémolaire/molaire de chaque animal a été prélevé en utilisant une technique de gingivectomie. Parodontite innée.	- Mesure des paramètres cliniques parodontaux : Indice de saignement au sondage et profondeur de poche. - Analyse de corrélation de Spearman : Recherche d'une corrélation avec le vieillissement dans les tissus sains ou les tissus parodontaux. Micro-réseau d'ADN : Analyse de 64 gènes associés à M1 et M2. Gènes associés à M2 : ADK, ARG1, ALOX15, CCL1, CCL2, CCL17, CCL18, CCL22, CCL23, CCL24, CXCL1, CD11b, CD14, CD16, CD23, CD36, CD163, CD200R, CD209, CERK, CLEC7A, FNI, GADD45G, GPR86, HEXB, HO-1, HRHI, HS3ST1, IGF1, IL1RN, IL1R2, IL10, MAF, MRC1 (CD206), MS4A4, MS4A6A, PPARG, P2RY14, SCARA3, SCARF2, SEPP1, SRA, TGFB1, TGFB2, TLR5. - RT-QPCR : IL-6, CXCL13, CCL19, CD14, ILR-12.	-Les profils d'expression génique pour M2 étaient similaires entre les tissus sains des jeunes, des adolescents et des adultes. Augmentations modestes observées dans les tissus âgés sains, similaires à celles observées dans les tissus atteints de parodontite. L'expression de 7 des 22 gènes M2 a augmenté dans le vieillissement des tissus sains, principalement des récepteurs de surface, dont CD14. L'expression de 6 des gènes M2 a également été significativement augmentée dans les tissus atteints de parodontite. -4 gènes M2 étaient significativement négativement corrélés avec les mesures cliniques. -Les résultats ont montré une augmentation significative des macrophages avec le vieillissement et la parodontite. Corrélée à une augmentation de l'expression génique du phénotype M1 à chaque tranche d'âge.
Ballini et al. - 2020 (40)	Les facteurs de stimulation M-CSF ou GM-CSF (5 ng/ml). Observer et évaluer les capacités de polarisation des macrophages issus du sang périphérique de patients sains ou atteints de parodontite lors de la stimulation avec différents facteurs de stimulation.	<i>In vitro.</i> Monocytes issus du sang périphérique de patients atteints ou non de parodontite.	Les monocytes dérivés du sang périphérique de patients atteints ou non de parodontite (20 patients dans chaque groupe), ont été stimulés avec 5 ng/ml de GM-CSF et 5 ng/ml de M-CSF pendant 10 jours.	- Immunofluorescence : Observation des monocytes/macrophages avec marqueur CD14 - Cytométrie en flux : quantification des macrophages : CD14, CD16, CD80, CD86, CD68, CD163 et CD206. Observation morphologique des cellules CD163*CD206*.	-Le GM-CSF a conduit à une majorité de cellules allongées alors que le M-CSF induit une majorité de macrophages ronds/ovales. -Les échantillons de patients atteints de parodontite ont montré une diminution sévère des marqueurs typiques de M1 (CD80, CD68) et M2 (CD163 et CD206) par rapport aux échantillons sains.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Yamaguchi et al. -2016 (46)	Cellules souches de la moelle osseuse stimulées avec RANKL précurseurs des ostéoclastes de souris de type sauvage et de souris KO pour IFN- γ . <i>In vivo</i> : Injections intrapéritonéales de Ms polarisés chez des souris avec parodontite expérimentale. Examiner les effets possibles des macrophages M1 et M2 sur l'ostéoclastogenèse induite par RANKL dans un modèle de parodontite induite par ligature.	<i>In vitro</i> . -Macrophages issus de la moelle osseuse de souris de type sauvage (WT) ou KO pour IFN- γ . -Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7. M0 : les cellules de la moelle osseuse ou Raw 264,7 ont été stimulées avec 30 ng/ml de M-CSF pendant 6 jours. M1 : les macrophages M0 ont été incubés avec 10 ng/ml de LPS d' <i>E.coli</i> ou avec LPS de <i>P.gingivalis</i> et 10 ng/ml IFN- γ pendant 24h. M2 : les macrophages M0 ont été incubés avec 20 ng/ml d'IL-4 pendant 24h.	-Les cellules RAW264.7 ou issues de la moelle osseuse ont été pré-incubées avec du M-CSF (30 ng/ml) seul pendant 6 jours, puis avec du M-CSF (30 ng/ml) et RANKL (100 ng/ml) afin d'induire une différenciation en ostéoclastes. A J3 ou J6 après traitement, M0, M1 ou M2 dérivés de cellules RAW264.7 ou dérivées de la moelle osseuse ont été ajoutées au milieu en coculture des pré-ostéoclastes avec contact cellule/cellule ou en système transwell, pendant 4 jours supplémentaires. -Culture des cellules issues de la MO stimulées avec RANKL en présence ou en l'absence de milieu conditionné de culture de M0, M1 ou M2. Utilisation d'anticorps neutralisants pour IL-10 et IL-12 (1g/ml), de cellules issues de la moelle osseuse KO pour IFN- γ , ou de l'IL-12 et IFN- γ dans les cultures. -Analyse des surnageants de M0,M1 et M2.	- Histochimie : Quantification des cellules multinucléées, des ostéoclastes par coloration TRAP et de l'apoptose/nécrose cellulaire par coloration de l'annexine V. - RT-PCR : Cathepsine K, RANK, iNOS, CD206, IFN- γ , IL-10, IL-12, NFATc1, Caspase-3. - ELISA : IFN- γ , IL-12 p70, TNF- α , IL-10 et de TGF- β dans le surnageant.	-Les M1, mais pas les M0 ou M2, inhibent l'ostéoclastogenèse induite par RANKL à une concentration de 500 cellules/puits et non à 100 cellules/puits. M1 diminuait la cathepsine K dans les ostéoclastes (une enzyme de la résorption osseuse) contrairement à M0 et M2. -Les facteurs solubles produits par M1 sont responsables de l'inhibition de l'ostéoclastogenèse (cultures transwell et la culture des précurseurs d'ostéoclastes avec les milieux conditionnés). Les cultures avec M0 et M2 n'ont pas montré d'effets inhibiteurs de l'ostéoclastogenèse. -Les M1 stimulés par <i>P.gingivalis</i> ont produit des niveaux significativement plus élevés d'IFN- γ , IL-10, IL-12 et TNF- α que les M0 ou M2. Les M2 produisaient des niveaux significativement plus élevés de TGF β . -Parmi les cytokines produites par les M1, l'IFN- γ et IL-12, mais pas IL-10, ont des effets inhibiteurs sur l'ostéoclastogenèse.
		<i>In vivo</i> . Souris C57BL/6j. BMDM de souris. M0 : les cellules de la moelle osseuse de souris ont été stimulées avec 30 ng/ml de M-CSF pendant 6 jours. M1 : les M0 ont été incubés avec 10 ng/ml de LPS d' <i>E.coli</i> ou avec LPS de <i>P.gingivalis</i> et 10 ng/ml IFN- γ pendant 24h. M2 : les M0 ont été incubés avec 20 ng/ml d'IL-4 pendant 24h.	Parodontite expérimentale induite par ligature. M1, M2 ou M0 eGFP+ ont été administrés aux souris par injections intrapéritonéales. Sacrifice à J4.	- Stéréomicroscopie : Mesure de la perte osseuse alvéolaire. - Histochimie : coloration TRAP et hématoxyline. - Cytométrie en flux : quantification de cellules CD45+ et F4/80+.	-Les souris ligaturées qui ont reçu un transfert de M1 ont montré significativement moins de perte osseuse alvéolaire que celles qui ont reçu M0 ou M2. L'analyse histologique a démontré la présence de moins de cellules TRAP-positives sur la surface osseuse alvéolaire du groupe de souris ayant reçu le M1 par rapport à ceux ayant reçu un transfert M0 ou M2.

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
<p>Viniegra et al. - 2018 (42)</p>	<p>- Anticorps anti cystatine C. - Liposomes de clodronate administrés en injections intrapéritonéales à 1 µg/g. - Rosiglitazone administrée par voie orale (afin d'induire une activation M2). C'est un agoniste de PPAR-γ.</p> <p>Etudier les changements phénotypiques des macrophages dans le temps et leurs implications dans les modifications osseuses lors de la parodontite.</p>	<p><i>In vitro.</i> Macrophages issus de la moelle osseuse de souris C5BL/6. M2: les monocytes ont été traités avec 20 ng/ml de M-CSF pendant 2 jours, puis avec 20 ng/ml de M-CSF et 10 ng/ml d'IL-4 pendant 16h. M1: les monocytes ont été traités avec 10 ng/ml de GM-CSF pendant 2 jours. Puis 10 ng/ml de GMCSF et 1 ng/ml d'IFN-γ et 10 ng/ml de LPS d'<i>E.coli</i> pendant 16h.</p>	<p>-Les macrophages ont été polarisés vers des phénotypes M1 et M2, et les cellules, ainsi que les surnageants ont été analysés. -Culture d'ostéoblastes et d'ostéoclastes avec le surnageant du milieu conditionné des cellules M2 en présence d'anticorps anticystatine C protéase sécrétée par les M2.</p>	<p>-Cytométrie de flux : F4/80, CD80, CD206 (M2 : F4/80⁺CD80⁻CD206⁺). -Spectrométrie de masse : Analyse des protéines des surnageants. -Western blot : cystatine C. -Immunofluorescence : Test de migration et de phagocytose. -Analyse histologique par coloration TRAP et mesure du dépôt minéral par les cellules ostéoblastiques.</p>	<p>-Les macrophages activés avec l'IL-4 présentaient des fonctions de résolution améliorées (production de cytokines antiinflammatoires; migration et phagocytose des neutrophiles âgés) et exerçaient des actions anabolisantes directes sur les cellules osseuses. -La cystatine C est sécrétée par les macrophages résolutifs mais pas inflammatoires ce qui explique, en partie, leurs actions sur les ostéoblastes et les ostéoclastes.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Souris C57BL/6.</p>	<p>-Induction d'une parodontite par ligature. Des groupes de 4 souris ont été sacrifiés à J1, J6, J11, J16, J21, J28, J35, J42 et J49. Dans un groupe, les ligatures ont été retirées à J21. -Les souris ont reçu des injections de liposomes de clodronate ou des liposomes PBS 4 jours avant la mise en place des ligatures puis pendant 3 semaines ou 18 jours après et les injections ont continué 1 semaine après le retrait des ligatures. En parallèle, les souris ont reçu quotidiennement de la rosiglitazone par voie orale (30 mg/kg) ou du glycolate d'amidon sodique (15 g d'aliment pour 100 g de poids de corps).</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par morphométrie crânienne, analyse histologique et micro-CT. -RT-PCR : TNF-α, VEGFA, iNOS, CD80, CD86, TGF-β, IL-10, CD206, Arg-1, IL1-RA, CXCL2 et CXCL1. -Immunohistochimie : F4/80, TNF-α, CD206, osterix et la cystatine C. -Analyse histologique par coloration TRAP (ostéoclastes). -Etude de la corrélation entre l'expression génique et de niveau osseux aux jours 21 et 28.</p>	<p>-Observation dans la semaine suivant la suppression de la ligature, d'une augmentation des marqueurs associés aux macrophages résolutifs (IL-10, TGF-β, et CD206). Cette activation pro-résolutive était fortement corrélée avec les niveaux osseux. -La déplétion des macrophages in vivo avec des liposomes de clodronate a empêché la résorption osseuse mais a altéré la régénération. -L'induction de macrophages résolutifs avec la rosiglitazone, un agoniste du PPAR-γ, a conduit à une résorption osseuse réduite lors de la phase inflammatoire et une augmentation de la formation osseuse pendant la cicatrisation.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Miao et al. - 2020 (47)	<p>Lymphocytes T issus de la rate.</p> <p>Etudier l'effet des macrophages M2 sur les cellules T in vitro et déterminer comment la transplantation de ce sous-ensemble cellulaire spécifique affecte le développement de la parodontite in vivo.</p>	<p><i>In vitro.</i> Macrophages issus de la moelle osseuse de souris Balb/c.</p> <p>M2: les monocytes ont été stimulés avec 10 ng/ml de M-CSF pendant plusieurs jours puis de 3 façons différentes pour obtenir M2: avec 10 ng/ml d'IL-4 et 10 ng/ml d'IL-13 pendant 24 h; avec 10 ng/ml d'IL-10 pendant 24 h ou avec de l'IL-4, IL-13 et IL-10 pendant 24 h.</p>	<p>-Culture des macrophages pour obtenir des M2 avec soit de l'IL-4 + l'IL-13, soit de l'IL-10 seul ou soit avec de l'IL-4+ IL-10 + IL-13.</p> <p>-Lymphocytes T de rate cultivés avec chaque groupe de M2 dans un rapport de 10:1 pendant 5 jours. Le milieu de culture a été supplémenté avec 1 mg/ml de anticorps monoclonal CD3.</p>	<p>-RT-PCR : Arg-1, CD206 et PDL-2 (marqueurs M2).</p> <p>-Cytométrie : Détermination de la prolifération lymphocytaire.</p> <p>-Cytométrie de flux : IL-2, IL-4, IL-6, IFN-γ, TNF-α, IL-17 et IL-10 dans le milieu.</p>	<p>-L'IL-10 combiné avec IL-4 et IL-13 donne des niveaux d'ARNm de Arg-1, CD206 et de PDL-2 beaucoup plus élevés qu'avec la stimulation par IL-4 et IL-13.</p> <p>-L'IL-10 n'a pas présenté de changements significatifs.</p> <p>-Les macrophages traités avec IL-10, IL-4 et IL-13 ont montré une plus grande capacité à supprimer la prolifération des lymphocytes.</p> <p>-La concentration de cytokines dans le surnageant de la coculture a montré que le niveau d'IL-12 était beaucoup plus élevé et les niveaux d'IL-6, d'IL-17 et de TNF-α étaient beaucoup plus faibles dans le groupe traité avec IL-4, IL-13 et IL-10 par rapport aux macrophages traités uniquement par IL-4 et IL-13.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Souris Balb/c. Macrophages issus de la moelle osseuse de souris Balb/c.</p> <p>M2: les monocytes issus de la moelle osseuse ont été stimulés avec 10 ng/ml de M-CSF pendant plusieurs jours puis avec 10 ng/ml d'IL-4, d'IL-13 et d'IL-10 pendant 24 h.</p>	<p>-Les souris ont été réparties en trois groupes : groupe sain (H), parodontite seule induite par injection de <i>P. gingivalis</i> cellule entière dans le sillon gingival autour de la troisième molaire maxillaire une fois tous les 2 jours, 3fois (P) et parodontite et injection cellulaire de M2 (CI). Le groupe CI a reçu 10 ml de suspension de M2 injecté dans le sillon gingival de la troisième molaire chaque semaine après la dernière injection de <i>P.gingivalis</i>. Le tissu gingival a été récolté et analysé.</p>	<p>-Cytométrie de flux : CD4 et Foxp3 (lymphocytes) et F4/80 et CD206 (M2).</p> <p>-Western blot : Arg-1 et d'IL-6.</p> <p>-Histochimie : Mesure de l'activité ostéoclastique par coloration TRAP.</p>	<p>-L'injection de M2 a augmenté le taux de cellules T régulatrices et diminué la différenciation des ostéoclastes par rapport au groupe parodontite seule.</p> <p>-Le groupe de la parodontite a présenté un niveau élevé d'IL-6 et un niveau inférieur d'Arg-1 par rapport au groupe sain, tandis que dans le groupe parodontite + injection de cellules, le niveau d'IL-6 a été significativement supprimé.</p> <p>-L'injection de M2 a augmenté le taux de cellules T régulatrices et diminué la différenciation des ostéoclastes par rapport au groupe parodontite seule.</p> <p>-Le groupe de parodontite a présenté un niveau élevé d'IL-6 et un niveau inférieur d'Arg-1 par rapport au groupe sain, tandis que dans le groupe parodontite + injection de cellules, le niveau d'IL-6 a été significativement supprimé.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Chen, Xutao et al. -2022 (48)	Utilisation d'exosomes isolés de macrophages M2 issus de la moelle osseuse de souris stimulées avec IL-4 (50 ou 100 µg/ml). Démontrer l'effet des exosomes de M2 sur l'induction des cellules stromales de la moelle osseuse (BMSC) vers les ostéoblastes et sur l'inhibition des ostéoclastes dérivés des macrophages issus de la moelle osseuse, et l'inhibition de la résorption osseuse pendant la parodontite.	<i>In vitro.</i> Macrophages issus de la moelle osseuse (BMDM) de souris C57BL/6 . M2: Les macrophages ont été incubés avec 25 ng/ml de M-CSF pendant 6J, avec le milieu changé toutes les 48h, puis avec 20 ng/ml d'IL-4 pendant 24h.	Les exosomes ont été isolés à partir du surnageant des M2. -Culture des BMSC avec soit un volume égal de PBS, soit de l'IL-10, soit 50 ou 100 µg/ml d'exosomes de M2 dans un milieu ostéoinducteur, pendant 3h, 6h, 24 h ou 21 jours. -Culture des BMDM avec les mêmes substrats que les BMSC dans un milieu ostéoclastique pendant 3h, 6h ou 24h ou 7 jours. -Les BMSC ou BMDM ont aussi été incubés avec 1 µl d'anticorps anti-IL-10R dans le noir pendant 30 min.	- MET : Caractérisation des exosomes issus de M2. - Immunofluorescence : Visualisation de l'internalisation des exosomes. - Histochimie : Analyse des capacités ostéogéniques des BMSC par coloration au rouge alizarine), coloration et mesure de l'activité de la phosphatase alcaline à J14 et J21 et mesure de l'activité ostéoclastique par coloration TRAP - RT-PCR : Acp, Nfatc1, c-Fos et Mmp-9 (ostéoclastogénèse chez les BMDM) et Alp, Col1a, Runx2 et Oc chez BMSC (gènes ostéoinducteurs). - Western blot : GM130, CD9 et TSG101 chez les exosomes. - ELISA : IL-10. - Cytométrie de flux : IL-10R.	-Les exosomes de M2 favorisent la différenciation ostéogénique des BMSC et inhibent la formation d'ostéoclastes des BMDM. -IL-10 seul présentait une augmentation de l'expression génique de Alp, Col1a, Runx2 et Ocn et des capacités accrues de différenciation ostéogénique des BMSC et la capacité des BMDMs à se différencier en ostéoclastes était significativement inhibée. -Les exosomes de M2 favorisent l'expression de l'IL-10 des BMDM et BMSC en apportant de l'ARNm exosomal d'IL-10 directement aux cellules et peuvent réguler la différenciation ostéogénique des BMSC et la différenciation ostéoclastique du BMDM via la voie IL-10/IL-10R: l'anticorps anti-IL-10R a inhibé les effets des exosomes de M2.
		<i>In vivo.</i> Souris C57BL/6.	Induction d'une parodontite expérimentale par ligature immergée dans une solution de <i>P.gingivalis</i> pendant 1 h puis fixée 2ème molaire maxillaire gauche pendant 10 jours. Les souris ont ensuite reçu soit 30 µl de PBS, soit 50 ou 100 µg/ml d'exosomes de M2, soit un mélange d'exosomes de M2 avec l'anticorps anti-IL-10R. Les traitements ont été administrés par injections locales à j1, J4 et J7 après le retrait de la ligature.	- Analyse de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT. - Analyse histologique par coloration H&E coloration TRAP.	-L'injection exosomes M2 a réduit significativement la résorption osseuse alvéolaire et induisait un effet ostéoprotecteur de l'os alvéolaire plus important du côté buccal que du côté palatin. -L'injection d'exosomes M2 a démontré une réduction de la lignée ostéoclastique dans les tissus maxillaires. -Les exosomes de M2 pourraient réguler positivement le remodelage osseux via la voie IL-10/IL-10R dans la parodontite : la résorption osseuse et le nombre d'ostéoclastes ont augmenté dans le groupe traité avec le mélange d'exosomes et d'anticorps anti-IL-10R par rapport au groupe traité avec les exosomes seuls.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Yang et al. - 2018 (37)	Etudier l'association entre le ratio de macrophages M1/M2 et les cytokines inflammatoires IL-1 β , MMP-9, ainsi que d'étudier les expressions des macrophages de type M1 et M2 dans la gingivite et la parodontite chronique.	Etude sur l'humain.	Des échantillons de tissus gingivaux de 20 patients présentant une parodontite chronique et de 20 patients présentant une gingivite ont été prélevés lors d'extractions dentaires.	<p>-Mesures de paramètres cliniques parodontaux: Mesure de l'indice de plaque (IP), de la profondeur de poche parodontale (PD), du niveau d'attache clinique (CAL) et du saignement au sondage (BoP).</p> <p>-Immunohistochimie : M1 et M2 avec les marqueurs CCR-7 et CD206.</p> <p>-RT-PCR : Détection M1/M2: iNOS, CCR-7, CD206, CD163, IL-1b et MMP-9.</p>	<p>-Les M1 et M2 ont été principalement observés dans le tissu conjonctif gingival.</p> <p>-Le rapport de M1/M2 était significativement plus élevé dans le groupe parodontite chronique que dans le groupe gingivite.</p> <p>-Les expressions relatives de l'IL-1β et de la MMP-9 ont également augmenté dans le groupe parodontite et ont été corrélées avec les ratios de M1/M2.</p> <p>-La maladie parodontale était positivement corrélée avec les ratios de M1/M2.</p>
Miyashita et al. -2022 (44)	Etudier la temporalité des changements de phénotypes des macrophages de l'apparition de la parodontite jusqu'à la cicatrisation.	<i>In vivo</i> . Souris C57BL/6J.	Les 63 souris ont été divisées en trois groupes: (1) groupe de contrôle sans pose de ligature; (2) groupe parodontite: les maxillaires étaient collectés à J1, J3, J5 et J7, respectivement, après mise en place de la ligature; (3) groupe de guérison: la ligature était mise en place pendant 3 jours, puis retirée, et les maxillaires ont été prélevés à J2 et J4 après ce retrait. Parodontite expérimentale induite par ligature placée dans la région cervicale des 2èmes molaires maxillaires bilatéralement.	<p>-Mesure de la résorption osseuse alvéolaire par micro-CT.</p> <p>-RT-PCR : IL-1β, IL-6, iNOS, IL-10 et Arg-1.</p> <p>-Analyse histologique des tissus par coloration H&E.</p> <p>-Immunofluorescence : iNOS, Arg-1 et Iba-1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1).</p>	<p>-Le nombre de macrophages iNOS+ a augmenté dans la phase inflammatoire de la parodontite, et le nombre de macrophages Arg-1+ a augmenté dans la phase de guérison.</p> <p>-Après le retrait de la ligature, les changements dans la structure osseuse et la perte osseuse alvéolaire se sont améliorés.</p> <p>-La mise en place de la ligature a augmenté l'expression génique des médiateurs pro-inflammatoires (IL-1β, IL-6, et iNOS) dans la gencive, tandis que son retrait augmentait l'expression des médiateurs anti-inflammatoires et a inhibé l'augmentation du rapport iNOS/Arg-1.</p> <p>-Observation à J1 des signes d'inflammation (vasodilatation, ulcération épithéliale, formation de poches parodontales, et migration apicale de l'épithélium jonctionnel). A J3, on observe une désorganisation des fibres du tissu conjonctif gingival, une augmentation de l'infiltration des cellules inflammatoires et de la résorption osseuse. Dans le groupe de guérison, l'infiltration cellulaire inflammatoire, la destruction des fibres et une surface rugueuse d'os alvéolaire ont été observés, mais l'épithélium jonctionnel avait récupéré sa position, et les poches formées avaient presque disparus par rapport au groupe parodontite.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Garaicoa Pazmino et al. - 2019 (38)	Déterminer et quantifier la présence des macrophages M1 et M2 dans des tissus sains, atteints de parodontite ou de gingivite.	Etude sur l'humain.	Biopsies des tissus gingivaux chez 42 patients nécessitant une intervention de chirurgie dentaire et rentrant dans les critères d'inclusion. Après mesure des paramètres cliniques les patients ont été inclus dans 3 groupes: sains (n=10), gingivite (n=14) et parodontite (n=18) et les biopsies ont été réalisées, analysées et comparées. (Les effets de l'âge et du tabac n'ont pas été pris en compte).	- Mesures des paramètres cliniques et radiographiques parodontaux : PD, CAL BoP, perte osseuse marginale radiographique, de l'atteinte de la furcation, du saignement avec exsudat, de la mobilité, du frémitus, et du niveau de gencive kératinisée évalués sur 6 sites par dent. - Immunofluorescence et RT-PCR : quantification M1 et M2: CD68, INOS et CD206 .	-Les échantillons de gingivite et de parodontite ont montré des niveaux plus élevés de macrophages par rapport aux échantillons sains. Les échantillons avec parodontite affichent des niveaux inférieurs de macrophages par rapport aux échantillons avec gingivite. -La polarisation des macrophages semble être réduite dans la parodontite dont les échantillons ont montré des niveaux similaires à ceux observés dans les tissus sains. -Tous les échantillons présentaient un taux de M2 plus grand que celui des M1.
Yilmaz et al. - 2022 (45)	Examiner dans une étude transversale la relation entre réponse de cicatrisation après traitement parodontal non chirurgical et les niveaux des protéines liées à l'activation des macrophages M2 dans les tissus gingivaux ainsi que le rapport CD163/TWEAK et établir des valeurs standards de ces protéines afin de pouvoir les relier à des niveaux d'atteintes parodontales et de cicatrisation chez les fumeurs et non-fumeurs.	Etude sur l'humain, avec parodontes sains ou atteints de parodontite, fumeurs ou non.	88 échantillons de tissus gingivaux provenant de 44 patients (dont 18 fumeurs) atteints de parodontite de stades III/IV, grade C, avec au moins deux sites de saignement avec des PD entre 6 et 10 mm, et 41 échantillons de 41 patients en bonne santé parodontale (dont 18 fumeurs) ont été évalués. Les paramètres cliniques étaient enregistrés chez des individus sains au départ et chez les patients atteints de parodontite avant, à 2, 6 et 12 semaines après le traitement (enseignements des techniques d'hygiène, détartrage supra gingival et débridement radiculaire réalisé en deux sessions consécutives au cours de la même journée).	- Mesures cliniques au départ et à tous les suivis : IP, PD, CAL et BoP de chaque site. - Immunodosage : CD163 , TWEAK (TNF WEAKly inducer of apoptosis), IL-10 , IFN-γ , et du rapport CD163/TWEAK . -Définition des paramètres de guérison: la fermeture des poches et la réduction de la profondeur des poches > 30 % ont été utilisées comme paramètres des réponses de cicatrisation.	-Associations de la fermeture des poches parodontales avec les niveaux de CD163 et le rapport CD163/TWEAK dans le tissu parodontal avant le traitement indiquant que le profil d'activation des M2 peut jouer un rôle dans la cicatrisation des plaies parodontales. La fermeture des poches à 12 semaines est associée à un fort ratio CD163/TWEAK avant le traitement parodontal. -Chez les non-fumeurs, les sites présentant une fermeture de la poche parodontale (P = 0,023) et une réduction la PD > 30 % (P = 0,041) à 12 semaines présentaient un niveau élevé de CD163. -Le rapport CD163/TWEAK n'a pas montré de différence statistiquement significative entre la parodontite et les groupes parodontalement sains. Lorsque les non-fumeurs ont été évalués séparément, les niveaux d'IL-10, de CD163 et de TWEAK des échantillons sains étaient plus élevés que ceux des patients atteints de parodontite, tandis que CD163/TWEAK ne différait pas entre les groupes.

3.2.2.2. Les articles qui observent l'influence des bactéries parodontales sur les macrophages résolutifs et plus généralement sur la polarisation des macrophages : (49–60) (12 articles)

Parmi ces articles, 10 s'intéressent plus particulièrement aux interactions avec P.g ou son LPS (49–55,57,59,60).

- D'après 5 articles, P.g augmente le rapport M1/M2 en augmentant plus fortement les marqueurs de M1 que ceux de M2 et les macrophages polarisés M1 et M2 ne répondent pas de la même manière à la stimulation par P.g en présentant des profils de récepteurs de surface différents et en ayant une réponse cytokinique différente (49,53,54,56,57).
- P.g semble induire une sécrétion d'IL-10 (une cytokine anti-inflammatoire) chez les M2, mais aussi chez les M1 (54–56).
- 2 articles (52,56) montrent que les macrophages M2 ont des capacités de phagocytose de P.g tout comme les M1, mais ne sont pas capables d'éliminer le pathogène une fois internalisé, probablement car ils ne produisent pas de NO.
- 3 articles (49,54,60) montrent qu'une stimulation répétée des macrophages à P.g va entraîner un état réfractaire des macrophages, avec une diminution des productions de cytokines chez les macrophages déjà polarisés M1 et M2, et une polarisation intermédiaire des macrophages M0 qui agira comme M2 avec une réponse inflammatoire limitée.
- 1 article (59) s'intéresse à l'impact des DAMPs libérés dans le milieu suite à la nécroptose des cellules de l'épithélium oral humain induite par le LPS de P.g. Lorsqu'ils seront en faible quantité les DAMPs vont favoriser l'induction du phénotype M2, alors qu'en forte quantité ils limiteront la polarisation de M2 (sans observation de changements sur la polarisation M1).

Le seul article (53) de ce tableau qui présente une étude *in vivo*, montre des résultats similaires à ceux des autres tableaux : l'induction de la parodontite expérimentale avec des ligatures imbibées de P.g va entraîner une augmentation du rapport M1/M2, une augmentation globale des macrophages, des leucocytes et des ostéoclastes. Une repolarisation des macrophages M2 vers un phénotype M1 a été observée.

L'activation M2 des macrophages est indépendante de l'activation des récepteurs TLR (50).

Un article (58) porte son intérêt sur la relation entre les macrophages polarisés et A.a qui induit une augmentation du rapport M1/M2 expliquant l'impact d'A.a dans la parodontite lorsqu'il est présent, avec une augmentation de la polarisation M1, mais aussi de M2 dans une moindre mesure.

Un article (51) explore et semble valider l'hypothèse que les bactéries commensales (les streptocoques *S.mutans*, *S.gordonii* et *S.sanguis*) stimulent une réponse M2, alors que les pathogènes A.a et P.g induisent un phénotype M1. *Fusobacterium nucleatum* et *Prevotella intermedia* ont quant à eux induit une réponse mixte.

Tableau 3: interactions des M2 avec les pathogènes

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d' étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Foey, Andrew D et Crean, StJohn. 2013 (49)	<p>P.gingivalis: utilisation de la cellule bactérienne entière inactivée par la chaleur, du LPS, du peptidoglycane et de l'acide lipotéichoïde.</p> <p>Observation des interactions de <i>P.gingivalis</i> avec les sous-ensembles de macrophages M1 et M2 et de la tolérance aux endotoxines des macrophages dans la parodontite.</p>	<p><i>In vitro.</i> Monocytes de la lignée humaine THP-1, transfectés ou non avec des gènes exprimant fortement CD14 (CD14hi) ou faiblement (CD14lo).</p> <p>M2: les monocytes THP-1, THP1(CD14lo) et THP1(CD14hi) ont été stimulés avec 10 nM de 1,25(OH)2-vitamine D3 pendant 7 jours.</p> <p>M1: les monocytes THP-1, THP-1(CD14lo) et THP-1(CD14hi) ont été stimulés avec 25 ng/ml de PMA pendant 3 jours.</p>	<p>-Les M1 et M2 issus de THP-1, THP-1(CD14lo) et THP1(CD14hi) ont été traités avec 100 ng/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i>, <i>P.gingivalis</i> inactivé par la chaleur et 10 mg/ml d'acide lipotéichoïque (LTA, un ligand de TLR2) pendant 18 heures.</p> <p>- Les M1 et M2 ont été pré-traités ou non avec 100 ng/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i>, <i>P.gingivalis</i> inactivé, 10 mg/ml de LTA ou 10 mg/ml de peptidoglycane de <i>P.gingivalis</i>. Ces macrophages ont été lavés et soit stimulés avec 100 ng/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i>, soit avec <i>P.gingivalis</i> inactivé, soit avec 10 mg/ml de milieu LTA ou dans un milieu de culture seul.</p>	<p>-ELISA : TNF-a, IL-6, IL-1b et IL-10 dans le surnageant.</p> <p>-Spectrophotométrie : Exploration de l'activation de la voie NF-κB: mesurée grâce à un gène rapporteur.</p>	<p>-Les M2 stimulés avec le LPS ou la bactérie inactivée de <i>P.gingivalis</i> ont présenté un profil TNF-αlo, IL- 1bhi, IL-6hi, IL-10hi. Les M1 présentent un profil inverse.</p> <p>-L'exposition à <i>P.gingivalis</i> induit une tolérance chez les M2 et les M1(CD14lo) avec la suppression de la voie NF-κB et la diminution de la production de cytokines contrairement aux M1(CD14hi) qui n'étaient pas affectés. La tolérance des macrophages polarisés est dépendante seulement partiellement de l'expression de CD14 et de l'activité NF-κB.</p>
Holden et al.- 2014 (50)	<p>-LPS de <i>P.gingivalis</i> (10 ng/ml or 10 µg/ml).</p> <p>- LPS d'<i>E.coli</i> (ligand contrôle de TLR4) (10 ng/ml).</p> <p>-Pam3csk4 (ligand de TLR2)(10 ng/ml).</p> <p>Etudier la réponse induite par le LPS de <i>P.gingivalis</i> chez des macrophages préinduits M1 et M2 et l'implication des récepteurs TLR2 et TLR4.</p>	<p><i>In vitro.</i> -Macrophages issus de la moelle osseuse de souris C57BL6. -Lignée de macrophages immortalisés knockout pour TLR2(TLR2-/-) ou TLR4 (TLR4-/-).</p> <p>M0: obtenus par incubation des cellules de la moelle osseuse en présence du surnageant de fibroblastes L929 pendant 5 jours.</p> <p>M2: obtenus par incubation des M0 en présence de 150 U/ml d'IL-4 pendant 1 nuit.</p> <p>M1: obtenus par incubation des M0 en présence de 20 U/ml d'IFN-γ pendant une nuit.</p>	<p>M0, M1 et M2 ont été incubés avec une dose faible ou élevée de LPS de <i>P.gingivalis</i> ou des ligands contrôles de TLR4 (LPS d'<i>E.coli</i>) et TLR2 (<i>Pam3CSK4</i>). La même expérience a été réalisée avec des macrophages immortalisés knockout TLR2-/- et TLR4-/-.</p>	<p>-RT-PCR : INOS, Ym-1 et Arg-1.</p> <p>-Mesure du métabolisme de l'arginine (test d'activité de l'arginase et de NO par spectrophotométrie)</p> <p>-Cytométrie de flux : quantification cellulaire : CD206, CD40, CD86, CD11c et CD11a.</p> <p>-Cytométrie par multiplexage : IL1a, IL-1b, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12(p40), IL-13, IL12(p70), IL-17A, éotaxine, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, KC, MCP-1a, MIP-1b, MIP-1, CCL5 et TNF-α.</p>	<p>-Le LPS de <i>P.gingivalis</i> a légèrement augmenté l'expression de CD206 et YM-1, mais il est le seul ligand TLR à avoir amélioré l'expression de l'Arg-1 chez les M0 et les M2.</p> <p>-L'activation M2 des macrophages au cours de cette étude s'est avérée largement indépendante de la ligature du TLR: L'exposition supplémentaire à des ligands TLR n'ont eu aucun effet sur le niveau d'Arg-1 produit par les macrophages TLR2(-/-) et TLR4(-/-) induits en M2.</p> <p>-Bien que le LPS de <i>P.gingivalis</i> ait faiblement activé les M1 et M2 par rapport aux ligands TLR témoins, il a induit la sécrétion de cytokines inflammatoires, en particulier le TNF-α chez les M1 et l'IL-10 chez les M2, ainsi que les chimiokines chimiotactiques de macrophages polarisés (KC, CCL2, éotaxine et MCP-1).</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Yu, Ting. et al. - 2016 (53)	LPS de <i>P.gingivalis</i>. Exploration des changements phénotypiques des macrophages et leurs profils cytokiniques dans la parodontite.	<i>In vitro.</i> Macrophages issus de cellules issues de la moelle osseuse de souris C57BL/6J incubées avec 10ng/ml de M-CSF pendant 7 jours.	Les cellules issues de la moelle osseuse de souris ont été stimulées avec un milieu contenant 10 ng/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> ou un milieu contrôle, pendant 2 ou 4 heures.	- RT-PCR : Arg-1 , INOS, TNF α , IL-1 β , IL-6 et IL-10 .	Les niveaux de ARNm des marqueurs de M1 étaient significativement régulés à la hausse, alors que ceux de M2 étaient régulés à la baisse dans les cellules issues de la moelle osseuse après stimulation au LPS de <i>P.gingivalis</i> .
		<i>In vivo.</i> Souris C57BL/6.	Les souris ont été divisées en 2 groupes de (n=10): parodontite induite par ligature pré trempée dans un bouillon bactérien de <i>P.g</i> (P) ou le groupe témoin (C). Sacrifices à J10.	- Micro-CT et analyse morphologique : Mesure de la perte osseuse alvéolaire. - Immunohistochimie et qRT-PCR : TNF- α , IL-1 β , IL-6, Rankl, IL-10 (cytokines associées aux macrophages) et Arg-1 , d'INOS (localisation de l'activité dans le parodonte) CD68, F4/80 et CD206 (polarisation). - Immunofluorescence : Arg-1 , d'INOS (localisation de l'activité dans le parodonte) CD68, F4/80 et CD206 (polarisation). - Histochimie coloration H&E et TRAP : Enumération des leucocytes et des ostéoclastes.	-Augmentation des 2 phénotypes M1 et M2 dans le groupe parodontite par rapport au groupe contrôle. Mais le rapport M1/M2 a augmenté également, montrant une plus forte augmentation des marqueurs M1 par rapport aux marqueurs M2. -Dans le groupe parodontite le nombre de macrophages présentant les 2 marqueurs INOS+ et CD206+ a été très significativement augmenté, tandis que celui des macrophages présentant strictement le marqueur M2 (CD206+ et NOS2-) a été très diminué, ce qui pourrait se traduire par une repolarisation des M2 vers un phénotype intermédiaire plus inflammatoire. -La production des cytokines associées à M1 et M2 a également été augmentée dans le groupe parodontite, tout comme le rapport IL6/IL10 l'a été par rapport au groupe contrôle. -Le groupe parodontite présentait plus de leucocytes et d'ostéoclastes que le groupe contrôle.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Huang, Chifu et al. - 2016 (51)	<p>Les souches bactériennes vivantes ou lysées de P.gingivalis, A.a, Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia, S.mutans, S.gordonii et S.sanguis à différents ratios par cellules.</p> <p>Explorer l'hypothèse que les agents pathogènes oraux, <i>P.gingivalis</i> et <i>A.a</i> induisent un phénotype M1 chez les macrophages, et les bactéries commensales orales déclenchent principalement des fonctions compatibles avec un phénotype M2 chez les macrophages.</p>	<i>In vitro</i> . Cellules de la lignée THP-1.	-Les macrophages non activés M0 ont été stimulés avec diverses bactéries buccales (50 µg/ml) (<i>P.gingivalis</i> , <i>A.a</i> , <i>F.nucleatum</i> , <i>P.intermedia</i> , <i>S.mutans</i> , <i>S.gordonii</i> et <i>S. sanguis</i>). Analyse après 24 h.	- ELISA : Mesure d'IL-8, TNFα, IL-6, IL-12 (p70) ou IL-10 dans le surnageant. - RT-PCR : Mesure de l'expression génique de CCL5, CXCL10, CD86, IL-1β, IL6, IL-8, IL-12(p70), IL-23 et TNF-α.	Les streptocoques oraux (<i>S.mutans</i> , <i>S.gordonii</i> et <i>S.sanguis</i>) stimulent principalement une réponse M2, alors que <i>A.a</i> et <i>P.gingivalis</i> provoquent des réponses compatibles avec M1. Fait intéressant, les sonications de <i>P.intermedia</i> et de <i>F.nucleatum</i> ont stimulé une réponse mixte avec des marqueurs pour les cellules de type M1 et M2.
Lam et al. - 2016 (52)	<p>P.gingivalis, bactérie vivante et entière.</p> <p>Etudier la capacité des macrophages naïfs, M1 et M2 à phagocyter <i>P.gingivalis</i> et comprendre comment cette interaction affecte à la fois la cellule bactérienne et le macrophage.</p>	<i>In vitro</i> . Macrophages naïfs murins : issus de la lignée cellulaire Raw 264,7 sans stimulation. - Pré-M2 : les cellules RAW 264.7 ont été incubées avec 150 U/mL d'IL-4 pendant une nuit. - Pré-M1 : les cellules RAW 264.7 ont été incubées avec 20 U/ml d'IFN-γ pendant une nuit.	Les macrophages naïfs, pré-M1 et pré-M2 ont été incubés avec <i>P.gingivalis</i> avec des ratios bactéries/macrophage de 10:1, 100:1 et 1000:1 pendant 4h. L'ajout de Cytochalasine B (inhibiteur de la phagocytose) constituait le groupe contrôle négatif.	- Cytométrie de flux + Phrodo, et immunofluorescence : Evaluation des capacités de phagocytose des macrophages. - Mesure de la survie de P.gingivalis par test d'invasion . - RT-PCR : IL-10 , IL-12, TNFα, Arg-1 et INOS produites par les macrophages. - Mesure de production de NO par réactif de Griess. - FACS : Mesure de l'apoptose des macrophages. - Imagerie super résolution : observation de la morphologie des macrophages.	-Les M1 et dans une moindre mesure les M2 phagocytent un plus grand nombre de <i>P.gingivalis</i> que les macrophages naïfs. Cependant seuls les M1 sont capables de tuer <i>P.gingivalis</i> une fois phagocytés. -La phagocytose de <i>P.gingivalis</i> induit des taux élevés de TNFα, IL-12 et iNOS chez les M1, mais pas les macrophages naïfs ou M2. -La production de NO est corrélée à l'élimination de <i>P.gingivalis</i> intracellulaire et à la fonction de phagocytose: les cellules ayant été incubées avec l'inhibiteur de phagocytose n'ont pas produit de NO. -L'ajout d'un nombre élevé de bactéries, au ratio de 1000:1 bactéries/macrophages, induit l'apoptose dans tous les sous-types de macrophages. -L'activation M1 observée dans cette étude peut contribuer à l'initiation et au maintien d'un état pro inflammatoire au cours de la parodontite chronique.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Papadopoulos et al. -2017 (56)	<i>P. gingivalis</i> en solution, marqué ou non à la fluorescéine. Explorer les réponses des macrophages classiquement et alternativement activés face à une stimulation par <i>P. gingivalis</i> sur des cellules murines.	<i>In vitro</i> . BMDM de souris C5BL/6. M0 : cellules maintenues dans un milieu de différenciation M2 : incubation avec 20 U/ml d'IL-4 pendant 3 jours. M1 : incubation avec 100 U/ml d'IFN-γ recombinant murin et 10 ng/ml de LPS d' <i>E. coli</i> pendant 3 jours.	<i>P. gingivalis</i> marqué ou non à la FITC, a été ajouté dans un rapport de 100 bactéries pour 1 cellule à M1, M2 ou M0 dans un milieu sans antibiotique pendant 24h. Les cellules et milieux ont aussi été analysés sans stimulation bactérienne.	RT-PCR : Arg-1 et INOS (M2 et M1). Histochimie : évaluation de la viabilité cellulaire à 24h (par coloration au bleu trypan) et mesure de la présence de nitrite dans le surnageant (test de Griess). Cytométrie de flux : mesure de l'internalisation de <i>P. gingivalis</i> et des marqueurs F4/80, MHCI, TLR2, TLR4, CD11b, CD14, CD18, CD80, et CD86. Multiplexage : TNF-α, IL-1β, IL-6, IL10, CXCL1, CCL2, CCL3 et CCL5 sécrétées.	-Les M1 et M2 présentent des profils de récepteurs de surface différents en réponse à <i>P. gingivalis</i> : les M2 ont répondu à <i>P. gingivalis</i> avec une augmentation significative de l'expression de TLR2, CMHII et CD86 contrairement aux cellules M1. -Les M1 et M2 expriment des réponses cytokiniques différentes en réponse à <i>P. gingivalis</i> : les M2 ont répondu à <i>P. gingivalis</i> avec une plus forte expression du TNFα, IL-6, CCL2, CCL3, CCL5, et CXCL1 que les M1. Les M1 ont exprimé un plus haut niveau d'IL-10 que M2. -Les M2 se lient à <i>P. gingivalis</i> de manière plus robuste que les M1, mais possèdent des capacités d'internalisation similaires.
Yu, S. et al. - 2018 (57)	<i>P. gingivalis</i>, α-Ketoglutarate et diméthyl-α-Ketoglutarate. Evaluer l'impact de <i>P. gingivalis</i> sur la polarisation des macrophages, et leur métabolisme. L'hypothèse testée était que <i>P. gingivalis</i> maintient un état "hyper-inflammatoire" en supprimant la production d'α-ketoglutarate par les macrophages M2.	<i>In vitro</i> . BMDM de souris C5BL/6. M0 : les BMDM ont été stimulées avec du M-CSF pendant 5 jours. M2 : les macrophages ont été cultivés avec 20 ng/ml d'IL-4. M1 : les macrophages ont été cultivés avec <i>P. gingivalis</i> avec un ratio bactéries/cellule de 50:1 pendant 4 ou 16 heures ou avec 10 ng/ml de LPS de <i>P. gingivalis</i>	Culture des macrophages avec <i>P. gingivalis</i> et/ou IL-4 afin d'induire les phénotypes M1 et M2 ou avec <i>E. coli</i> avec un rapport de 5:1 bactéries/cellule ou avec 1 µg/ml de LPS d' <i>E. coli</i> comme groupes contrôles. Puis les cellules ont été cultivées en présence ou en l'absence d'α-Ketoglutarate ou de diméthyl-αKetoglutarate.	RT-PCR : Arg1, Fizz1, CD206, Ym1, Il-12, Tnfα, Cox2, Akgdh, Idh1, Idh2, Gpt1, Gpt2 et Irg1. Analyse de séquençage de l'ARN. Western Blot : Arg-1. Méthode colorimétrique : mesure du succinate et de l'α-ketoglutarate.	-Les réponses inflammatoires induites par <i>P. gingivalis</i> ou son LPS ont amélioré l'expression des M1 et supprimé celles des M2, même en présence d'IL-4. - <i>P. gingivalis</i> a inhibé l'expression d'Idh1/2 et de Gpt1/2, et augmenté celle d'Akgdh, diminuant ainsi le rapport α-Ketoglutarate/succinate. -La supplémentation des cellules en diméthyl-α-ketoglutarate a considérablement restauré l'activation de M2 lors d'une infection à <i>P. gingivalis</i> . -L'étude suggère que <i>P. gingivalis</i> maintient un état hyperinflammatoire en supprimant la production de α ketoglutarate par les M2.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Betancur et al. -2022 (58)	<p>Les sérotypes a, b et c de A.a. Les bactéries ont été mises en suspension.</p> <p>Evaluer l'expression des marqueurs de polarisation des macrophages M0, M1 et M2 contre <i>A.a</i> et mesurer si cette expression génique a un caractère différentiel dépendant du sérotype.</p>	<p><i>In vitro.</i> Cellules issues THP-1. Macrophages: Les cellules THP-1 ont été stimulées avec PMA à une concentration de 100 nM pendant 2 jours</p>	<p>Les macrophages issus de cellules THP1 ont été infectés avec les sérotypes a, b et c d'<i>A.a</i> pendant 2 et 24 h.</p>	<p>-RT-PCR : CD11b, CD4, CD14 et CD68 (marqueurs M0), IL-6, HLA/DRA, et CXCL10 (marqueurs M1) et CD206, IL-10, CD163, FN1, et CCL17 (marqueurs M2).</p>	<p>Les sérotypes les plus répandus d'<i>A.a</i> induisent l'expression des marqueurs M1 et dans une moindre mesure celles des marqueurs M2 dans la lignée cellulaire THP-1 lorsque ces cellules sont stimulées par ce pathogène d'une manière ne dépendant pas du sérotype.</p> <p>Hypothèse que la balance M1/M2 est modifiée par <i>A.a</i>, pouvant expliquer l'impact de ce pathogène dans la parodontite.</p>
Geng et al. -2022 (59)	<p>Motifs moléculaires associés aux dégâts (DAMPs) issus de la nécroptose des cellules de l'épithélium orale humaines immortalisées, nécroptose induite par <i>P.gingivalis</i> à 1 µg/ml.</p> <p>Explorer les effets possibles de la nécroptose (mort cellulaire régulée avec libération massive de DAMPs) dans les cellules épithéliales orales par stimulation au LPS de <i>P.gingivalis</i>, ainsi que les effets sur l'activation des macrophages.</p>	<p><i>In vitro.</i> Monocytes immortalisés de la lignée humaine U937. M0: Les monocytes de la lignée U937 ont été stimulés avec 100 ng/ml de PMA pendant 48h. M2: Les cellules M0 ont été stimulées avec 30 ng/ml d'IL-4 humaine recombinante sans PMA pendant 24 h.</p>	<p>-Les cellules de l'épithélium oral humain immortalisées (HIOEC) ont été cultivées avec du LPS de <i>P.gingivalis</i> à 1 µg/ml. Pour éviter l'interférence de <i>P.gingivalis</i> avec les macrophages, un procédé de congélation-décongélation a été réalisé 5 fois sur les HIOEC.</p> <p>-Les M0 et M2 ont été cultivés avec les DAMPs isolés du surnageant des HIOEC stimulées par LPS de <i>P.gingivalis</i> à 1 µg/ml.</p>	<p>-RT-PCR : IL-6 et IL-10. -Western blot : iNOS et Arg-1 et exploration du rôle de Mincle/SYK. -Immunofluorescence : détection de MLKL, Ecadhérine, CD86 et CD206. -Puce à ADN : Exploration du rôle de Mincle/SYK.</p>	<p>-Le LPS de <i>P.gingivalis</i> peut induire une nécroptose des cellules épithéliales orales à 1 µg/ml.</p> <p>-Les M0 stimulés avec les DAMPs à la dose 1:2, présentaient une augmentation induisant significativement l'expression de l'IL-10.</p> <p>-Les M2 stimulés avec les DAMPs, présentaient une plus grande expression de CD206. Les DAMPs diminuaient le ratio M1/M2.</p> <p>-Les résultats indiquent qu'un taux relativement faible de DAMPs (1:2) pourrait induire le phénotype M2. Au contraire, l'effet de réparation initié par la polarisation M2 a été inhibé avec libération accrue de DAMPs modulée par nécroptose : l'expression d'Arg-1, a été considérablement augmentée par les DAMPs à une dose de 1:2 par rapport au groupe témoin, mais, a été nettement réduite à mesure que les doses de DAMPs augmentaient. Les DAMPs n'ont pas montré de différence de l'expression d'iNOS.</p> <p>- L'axe Mincle/SYK a été impliqué dans la polarisation des macrophages régulée par les DAMPs.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental	Méthode	Résultats
Belfield et al. -2017 (54)	LPS de <i>P.gingivalis</i> et d'<i>E.coli</i>. Examiner les effets d'une exposition concomitante par LPS et cytokines sur des macrophages polarisés, ainsi que leur production résultante de cytokines associées à la parodontite (TNF, IL-1 β et IL-6).	<i>In vitro</i> . Cellules de la lignée THP-1 : -cultivées avec 5 ng/ml de PMA pour obtenir des macrophages non polarisés . -cultivées avec 20 ng/ml d'IL-4 et 5 ng/ml de PMA pour obtenir M2 . -cultivées avec 20 ng/ml d'IFN- γ et 5 ng/ml de PMA pour obtenir M1 . -Stimulation avec <i>E.coli</i> ou <i>P.gingivalis</i> afin d'évaluer la tolérance	-Les cellules de lignée THP-1 ont été soumises aux LPS d' <i>E.coli</i> , de <i>P.gingivalis</i> ou sans stimulation, avant d'induire les différents phénotypes avec les cytokines polarisantes. Les macrophages non polarisés et M1 et M2 ont, ensuite été cultivés en l'absence ou en présence d'1 μ g/ml de LPS d' <i>E.coli</i> ou de <i>P.gingivalis</i> , seuls ou de concert avec des cytokines polarisantes, pendant 24h.	- ELISA : TNF, IL-1 β et IL-6 dans le surnageant. - RT-PCR : expression des d'IL-10 et TGF- β .	-M1 et M2 présentent des réponses inflammatoires différentes au contact avec le LPS de <i>P.gingivalis</i> : Les M1 présentaient des niveaux significativement plus élevés de TNF, IL-1 β et IL-6 que la population de M2 qui elle exprimait des niveaux plus élevés d'ARNm d'IL-10 et de TGF- β que M1. -Les macrophages deviennent réfractaires à une nouvelle provocation par le LPS, ce qui entraîne une réduction de la production des cytokines clés associées à la parodontite TNF et IL-1 β , après exposition au LPS pendant la phase de polarisation, même avec des cytokines polarisantes inflammatoires: Dans les trois populations de macrophages (M0, M1 et M2), les prétraitements avec les LPS d' <i>E.coli</i> et <i>P.gingivalis</i> pendant le processus de polarisation a conduit à une diminution significative de la production de TNF dans la réponse à une activation ultérieure par le LPS. La présence du LPS d' <i>E.coli</i> pendant la polarisation a également conduit à la régulation négative de l'IL-1 β chez M1, alors qu'il n'y avait pas d'effet mesurable sur la production d'IL-1 β chez M0 ou M2. Il n'y avait pas d'effet significatif sur la production d'IL-6.
Foey et al. -2017 (55)	<i>P.gingivalis</i> et IL-10. Etudier la production et les actions de la stimulation de la cytokine régulatrice IL-10 dans les sous-ensembles de macrophages M1 et M2 induits a priori lors d'une stimulation avec <i>P.gingivalis</i> .	<i>In vitro</i> . Cellules de la lignée THP-1. M2-like présentant un profil TNF-α-, IL-8-, IL-10+, Arg-1+, CD206hi : monocytes THP-1 cultivés en présence de 10nM 1,25-(OH)2-Vitamine D3 pendant 7 jours. M1-like présentant un profil TNF-α+, IL8+, IL-12+, iNOS+, IL10-, Arg-1- : monocytes THP-1 cultivés en présence de 25 ng/ml PMA pendant 3 jours.	-Les M1 et M2 préinduits ont été stimulés ou non avec 100 ng/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> et cultivés pendant 18 h. Les macrophages ont été prétraités avec un anticorps anti-IL-10, ou un anticorps contrôle ou avec de l'IL-10 ajouté de manière exogène (0, 0,2, 2 et 20 ng/ml) pendant 30 min avant stimulation au LPS de <i>P.gingivalis</i> .	- ELISA : sécrétion de TNF- α et IL-10 par les macrophages. - FACS : Analyse de la capacité de liaison d'IL-10 à son récepteur IL-10R β . - Western blot : activation de la voie STAT3.	-Le LPS de <i>P.gingivalis</i> induit une sécrétion minimale d'IL-10 par les macrophages M1-like par rapport aux M2-like, cependant l'IL-10 sécrété par les M2-like reste à des niveaux relativement faibles. -Le LPS de <i>P.gingivalis</i> induit l'IL-10 endogène chez les M2-like traités avec l'anticorps anti-IL-10, alors qu'aucune activité n'était détectée sans stimulation. Aucune activité d'IL-10 endogène n'a été détectée chez les M1-like traités à l'anti-IL10. -Les sous-ensembles de macrophages ont réagi de manières différentes à l'apport exogène d'IL-10: IL-10 n'a pas réussi à supprimer de manière significative la sécrétion de TNF- α induite par LPS de <i>P.gingivalis</i> à une concentration de 20 ng/ml chez les M1-like. En revanche les M2-like étaient sensibles à l'IL-10 de manière dose-dépendante: l'IL-10 à une concentration de 20ng/ml a supprimé le TNF- α induit par le LPS de <i>P.gingivalis</i> de 75 %. -La réponse différentielle à l'IL-10 était indépendante des capacités de liaison de l'IL-10 et l'expression de la sous-unité IL-10R β de son récepteur, mais dépendait de l'activation de STAT-3.

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Gu et al. -2022 (60)	<p>LPS de <i>P.gingivalis</i> (et LPS d'<i>E.coli</i> comme contrôle).</p> <p>Etudier la relation entre la tolérance aux endotoxines (état réfractaire aux stimulations ultérieures des LPS suite à une exposition primaire) et la polarisation des macrophages.</p>	<p><i>In vitro</i>.</p> <p>-Macrophages murins péritonéaux isolés après administration de thioglycolate à 3%.</p> <p>-Macrophages issus de la moelle osseuse de souris BALB/c.</p> <p>-Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.</p>	<p>-Les cultures des macrophages (péritonéaux et d'origine médullaire) ont été divisés en 5 groupes: Les macrophages ont été prétraités avec du (1) milieu de culture seul, (2) 1 µg/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> ou (3) 1 µg/ml de LPS d'<i>E.coli</i> pendant 24 h, lavés puis retraits avec du milieu seul, (4) 1 µg/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> ou (5) 1 µg/ml de LPS d'<i>E.coli</i> pour 24 h ou 30 min pour développer une tolérance aux endotoxines.</p> <p>-Exploration de la tolérance aux endotoxines chez des macrophages Raw 264,7 knockdown pour la voie STAT6 (par ARN interférent).</p>	<p>-Cytométrie de flux: C86 et CD206 (polarisation).</p> <p>-ELISA: TNF-α, IL-12p40, IL10 et de MMP-2 et MMP-9.</p> <p>-Histochimie : dosages NO et Arg-1 dans le surnageant par test de Griess et dosage de l'urée.</p> <p>-Western blot : voie de signalisation PTP1B/MEK1/2/STAT6.</p>	<p>-La stimulation répétée au LPS de <i>P.gingivalis</i> a augmenté les quantités de macrophages péritonéaux CD206+, tandis que le nombre de cellules doublement marquées CD86+ et CD206+ a été réduite par rapport au groupe non tolérant. Aucun changement des marqueurs CD206 et CD86 dans les cellules issues de la moelle osseuse n'a été observé.</p> <p>-Régulation à la baisse de la production de TNF-α, d'IL-12, d'oxyde nitrique et de MMP-2, et régulation à la hausse des niveaux IL-10, MMP-9 et de l'activités de l'Arg-1 dans les macrophages médullaires et péritonéaux tolérants.</p> <p>-La production d'IL-10 dans les cellules RAW264.7 knockdowns à Stat6 tolérantes, était inférieure à celle des cellules témoins tolérantes.</p> <p>-La voie de signalisation PTP1B-MEK1/2-STAT6 pourrait être impliquée dans la polarisation des macrophages tolérants.</p> <p>-Les macrophages tolérants au LPS de <i>P.gingivalis</i> représentaient un état intermédiaire entre la polarisation M1/M2, qui ont fonctionné comme des cellules de type M2 et ont conduit à des réponses inflammatoires limitées et à des activités de cicatrisation améliorées.</p>

3.2.2.3. Les articles qui observent l'interaction des macrophages résolutifs avec différentes cellules (11 articles) :

Cellules souches du ligament parodontal (PDLSC) (61–64)

Fibroblastes du ligament parodontal (65)

Cellules souches mésenchymateuses gingivales (GMSC) (66) et de leur exosomes (67,68)

Cellules souches de dents déciduales exfoliées (SHED) (69)

Les vésicules extracellulaires de cellules souches de follicules dentaires (70)

Les vésicules extracellulaires des cellules souches issues de la moelle osseuse(71)

3.2.2.3.1 Les 11 articles ont montré une corrélation entre les M2 et l'augmentation des molécules anti-inflammatoires.

10 articles ont observés que certaines cellules favorisaient la polarisation des macrophages M2 : Les PDLSC (61,63,64), les GMSC (66–68) dont la coculture avec les macrophages a aussi permis d'observer une conversion des macrophages M1 vers le phénotype M2, les BMSC (71), les cellules souches du follicules dentaire (70), les cellules souches des dents déciduales (69) et les cellules du ligament parodontal (65).

L'augmentation des M2 *in vivo* est associée à une baisse de l'ostéoclastogenèse et de la résorption osseuse, et à une régénération des structures parodontales, cémentaires et osseuses dans 5 articles (63,68–71).

3.2.2.3.2. Il ressort que les M2 communiquent avec les autres cellules par voie paracrine.

Dans 8 articles (61,64–68,70,71) l'induction de la polarisation M2 se fait par cette voie et dans 4 articles, les vésicules extracellulaire (67,68) et plus précisément les exosomes (70,71) ont été observés comme vecteurs.

Dans 1 article (62), l'action anti-inflammatoire des M2 sur les PDLSC se fait aussi bien en coculture directe que dans un système de culture sans contact direct entre les cellules. Dans cet article, les M2 ont induit une augmentation des protéines et de l'expression des gènes liés à la différenciation cémentoblastique des PDLSC.

Tableau 4: interactions des M2 avec d'autres cellules parodontales.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Hong et al. - 2019 (66)	<p>GMSCs isolées à partir de tissus gingivaux issus de patients sains ayant subi des actes chirurgicaux.</p> <p>Examiner les effets des GMSC sur les macrophages inflammatoires lors de la stimulation des lipoprotéines de basse densité oxydées (ox-LDL) et évaluer le potentiel thérapeutique des GMSC sur modèle murin de parodontite associée à une hyperlipidémie.</p>	<p><i>In vitro.</i> Cellules issues de la lignée THP1.</p> <p>Macrophages: Les cellules THP-1 ont été stimulées avec 100 nM de PMA pendant 24 heures.</p> <p>Stimulation M1 lors de la coculture.</p>	<p>Les GMSCs issues de tissus gingivaux sains humains ont été isolées et ont été cocultivées avec des macrophages pendant 48 h en l'absence ou en présence de conditions polarisantes M1 (100 ng/ml de LPS d'<i>E.coli</i> et 20 ng/ml d'IFN-γ) et 30 μg/ml de lipoprotéines de basse densité oxydées dans le système transwell.</p>	<p>-Cytométrie de flux : analyse des cellules incubées pour les marqueurs CD45, CD73, CD90, CD105, CD86, CD163 et HLADR.</p> <p>-ELISA : Mesure de la concentration d'IL-10, IL-6 et TNF-α dans le surnageant.</p> <p>-RT-PCR : mesure de l'expression génique de TNF-α, IL-10, IL6, CD206, IL-1β, PPARα, PGC-1a et SREBP-1c.</p> <p>- Analyse histologique : mesure de l'accumulation de lipide.</p>	<p>-En coculture avec des GMSC, les marqueurs M1, TNF-α, IL-6, IL-1β, CD86 et HLA-DR ont été significativement réduits. En revanche, les marqueurs M2 tels qu'IL-10 et CD206 ont été modérément augmentés. Des résultats similaires ont été obtenus lors de la culture des GMSC avec le surnageant.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Souris C57BL6J knockout pour l'apolipoprotéine (apoE^{-/-}).</p>	<p>Parodontite induite par ligature, 18 souris ont subi un régime hyperlipidémie pendant 4 semaines puis, ont été réparties en 3 groupes (n = 6) : (1) Souris saines, groupe contrôle, (2) souris parodontite avec hyperlipidémie (ApoE^{-/-}) recevant α-MEM un milieu de culture modifié, (3) souris parodontite avec hyperlipidémie (ApoE^{-/-}) traitées avec des injections hebdomadaires de GMSC.</p> <p>Sacrifice à 4 semaines après la pose de ligatures.</p>	<p>-Analyse histopathologique des défaut parodontaux.</p> <p>-Mesure des taux de lipides sériques à l'aide d'un analyseur automatique.</p> <p>-RT-PCR : mesure de l'expression génique de PPARα, PGC-1a et SREBP-1c chez les GMSC.</p> <p>-ELISA : mesure des concentrations d'IL-10, IL-6 et TNF-α.</p>	<p>-Le traitement avec les GMSCs a amélioré la régénération osseuse.</p> <p>-Les cellules souches atténuent l'inflammation et influencent le métabolisme des lipides chez les souris ApoE^{-/-}.</p> <p>-L'administration GMSCs diminue significativement les niveaux des cytokines pro-inflammatoires (TNFα et IL-6) et augmente le niveau de la cytokine anti-inflammatoire IL-10, par rapport au groupe non traité.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Konermann et al. -2012 (65)	<p>-Cellules du ligament parodontal exposées ou non aux cytokines IL-1β, TNF-a, HMGB1 pendant 24 h.</p> <p>-P.gingivalis.</p> <p>Déterminer si les cellules du ligament parodontal interagissent avec les cellules du système immunitaire inné en influençant la migration et la différenciation des cellules dendritiques et des macrophages à la fois par les interactions cellule-cellule et la libération de facteurs solubles.</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>Monocytes issus du sang périphérique humain.</p> <p>M0: obtenus par adjonction de le GM-CSF aux monocytes.</p> <p>M2: culture des M0 avec 5% FCS et 20 ng/ml IL-4.</p> <p>M1: culture des M0 avec 100 ng/ml LPS <i>E.coli</i> et 20 ng/ml d'IFN-γ.</p>	<p>-Coculture de M0 ou de cellules dendritiques avec des cellules du ligament parodontal (issues de dents extraites) ou leurs facteurs solubles (culture transwell). Les cellules du ligament parodontal ayant été exposées ou non aux cytokines IL-1β, TNF-a, HMGB1 pendant 24 h.</p> <p>-Culture des M0, M1 et M2 et des cellules du ligament prétraitées ou non, en présence de <i>P.gingivalis</i> inactivé afin d'évaluer la phagocytose.</p>	<p>-FACS : CD11c, CD1a, CD83, CD86, CD14, CD23, CD163, CD64 (polarisation et migration des macrophages) et évaluation des capacités de phagocytose des macrophages avec PHrodo.</p>	<p>-Les cellules du ligament parodontal améliorent l'expression des marqueurs de M2, à la fois par contact cellule-cellule et par la libération de médiateurs solubles: les marqueurs CD163 et CD23 associés à M2 sont exprimés à la hausse chez les M0, M1 et M2 exposés aux cellules du ligament parodontal. Les facteurs solubles induisent une hausse moindre que la culture cellule-cellule.</p> <p>-Augmentation de la phagocytose de <i>P.gingivalis</i> par les cellules du ligament parodontal chez les M2 préinduits: Le prétraitement des cellules du ligament parodontal avec HMGB1 a induit une activité phagocytaire significativement plus faible qu'avec TNF-a, IL-1b ou sans aucun prétraitement.</p> <p>-La migration des macrophages a été considérablement améliorée par la coculture avec des cellules du ligament parodontal: cellules du ligament parodontal non traitées ont montré des effets plus grands que celles traitées avec IL-1b et HMGB1.</p>
Kang et al. -2018 (61)	<p>-PDLSC stimulées par LPS d'<i>E.coli</i> ou non.</p> <p>-Les vésicules extracellulaires produites par les PDLSC.</p> <p>Etudier le rôle des PDLSC stimulées ou non avec du LPS d'<i>E.coli</i>, notamment l'action des vésicules extra-cellulaires produites sur la polarisation des macrophages.</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>Cellules de la lignée THP1.</p> <p>M0: Culture des cellules THP1 avec 50 ng/ml pendant 48 h.</p> <p>M2: Culture des macrophages M0 avec 20 ng/ml d'IL-4 et 20 ng/ml d'IL-13 pendant 66 h.</p> <p>M1: Culture des macrophages M0 avec 1 g/ml de LPS d'<i>E.coli</i> et 20ng/ml d'IFN-γ pendant 24 h.</p>	<p>-Les M0, M1 et M2 ont été incubés avec les surnageants issus de la culture de PDLSC incubées avec du LPS d'<i>E.coli</i> (1 g/ml) ou avec du PBS.</p> <p>-Les M0, M1 et M2 ont été incubés avec les vésicules extracellulaires isolées des surnageants de la culture des PDLSC incubées avec du LPS d'<i>E.coli</i> ou avec du PBS. De plus les cellules souches ont été traitées avec DNase I ou RNase.</p>	<p>-RT-PCR : IL-6, TNFα, IL-10 et CD206.</p> <p>-ELISA : TNFα émises par les macrophages dans le milieu.</p>	<p>-Les PDLSC préconditionnées au LPS accentuent la polarisation M1 (IL-6 et TNF-α) des macrophages traités à l'IFN-γ, alors qu'aucun changement significatif dans l'expression génique n'a pas été observé pour CD206 et IL-10 chez les M2.</p> <p>-Les milieux conditionnés des PDLSC dans des conditions de culture normales n'ont pas affecté la polarisation des macrophages.</p> <p>-Les vésicules extracellulaires du surnageant de la culture des PDLSC stimulées avec le LPS sont les vecteurs de la polarisation des macrophages.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Gao et al. -2018 (69)	<p>Cellules souches de dents déciduales humaines (SHED).</p> <p>Tester l'hypothèse que l'administration de SHED dans un contexte de parodontite pourrait stimuler les changements phénotypiques des macrophages, modifier l'inflammation locale et favoriser la régénération des tissus parodontaux .</p>	<p><i>In vitro.</i> BMDM de souris C57BL/6J.</p> <p>Macrophages: Les cellules murines issues de la moelle osseuse ont été incubées avec 30ng/ml de M-CSF. Induction M1 durant la coculture.</p>	<p>Les SHED ont été isolées et cultivées dans des milieux favorisant soit l'adipogénèse soit l'ostéogénèse. 4 groupes de coculture ont été étudiés pendant 6 jours:</p> <p>(1) Macrophages seuls. (2) Macrophages cultivés avec SHED, avec un rapport BMM:SHEDs de 5:1, dans un système transwell. (3) Un groupe contrôle de macrophages avec 1 µg/ml LPS pour induire un phénotype M1. (4) Macrophages amorcés avec 1 µg/ml de LPS pendant 24 h puis cocultivés avec SHED plus 1µg/ml de LPS.</p>	<p>- Microscopie: observation morphologique durant la culture cellulaire.</p> <p>- Cytométrie de flux : CD206 + F4/80 (M2)</p> <p>Western blot : CD206 (M2).</p>	<p>Les SHED se sont avérées capables de favoriser la conversion des monocytes/macrophages vers un phénotype de type M2 (CD206+) in vitro.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Rats Sprague Dawley.</p>	<p>Sur 28 rats, 20 ont reçu une parodontite induite par ligature associée à des injections de LPS de <i>E.coli</i> tous les 3 jours pendant 4 semaines. Les SHED ont été infectées par des lentivirus codant pour la protéine fluorescente verte (GFP) et la luciférase.</p> <p>(1) 4 rats ont été sacrifiés pour évaluer le développement de la parodontite. (2) 8 ont reçu 4 injections de SHED. (3) 8 ont reçu 4 injections de solution saline (témoins négatifs). (4) 8 rats n'ont pas eu de pose de ligature (groupe de tissus parodontaux sains). Les injections ont eu lieu tous les 7 jours. Le liquide crévulaire gingival a été prélevé durant l'expérience. Sacrifices à J28.</p>	<p>- Imagerie par bioluminescence in vivo : Observation in vivo des SHED injectées.</p> <p>-Multiplexage : analyse de la présence d'IL-1α, IL-1β, TNFα, IL-4, IL-6, EGF, IL-10, IFN-γ, IL-17 et VEGF dans le fluide crévulaire gingival.</p> <p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire (Micro-CT)</p> <p>-Analyse histologique par coloration H&E et présence d'ostéoclastes dans les maxillaires per TRAP.</p> <p>-Immunofluorescence : CD206 (M2)</p> <p>-RT-PCR : CD163 et CD206 (M2).</p>	<p>-Les injections de SHED issues de dents déciduales ont modifié le profil d'expression des cytokines dans le liquide gingival, réduit le saignement gingival, augmenté l'attache parodontale et diminué la différenciation des ostéoclastes.</p> <p>-L'administration de SHED a significativement augmenté la régénération parodontale et le volume osseux alvéolaire, et diminué la perte osseuse par rapport aux groupes parodontites contrôles.</p> <p>-Une augmentation du nombre de M2 a été observée dans les tissus parodontaux après l'administration de SHED, tout comme in vitro.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Liu, Jiaying et al. -2019 (63)	<p>PDLSC isolées à partir de dents de rats.</p> <p>Pour la partie in vivo 20 µl de suspension de cellules souches (106 cellules/ml) ont été ajoutés sur la membrane (Bio-Gide).</p> <p>Observer l'implication des PDLSC dans la régénération parodontale et l'orientation de la polarisation des macrophages.</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>Macrophages dérivés de la moelle osseuse de rats Sprague-Dawley.</p> <p>M0: les cellules de la moelle osseuse de rats ont été incubées avec 40 ng/ml de MCSF pendant 7 jours.</p> <p>M1: Les M0 ont été stimulés pendant 24 h avec 50 ng/ml de LPS et 30 ng/ml d'IFN-γ</p> <p>M2: Les M0 ont été stimulés pendant 24 h avec 20 ng/ml d'IL-4.</p>	<p>Le milieu conditionné de culture des PDLSC a été recueilli et utilisé pour traiter les macrophages M0, M1 et M2 préinduits pendant 24 h.</p>	<p>-Cytométrie de flux : CD11b/c et CD163 (polarisation)</p> <p>-RT-PCR : IL-10, TNF-α, Arg-1 et iNOS (polarisation)</p> <p>- Western blot : INOS et Arg-1 (polarisation).</p> <p>-ELISA : détection des taux de TNF-α dans les surnageants des macrophages polarisés.</p> <p>-Observation morphologique des macrophages par microscopie.</p>	<p>Le milieu conditionné de la culture des PDLSC a induit une polarisation des macrophages vers le phénotype M2 en régulant à la baisse TNF-α et positivement IL-10, Arg-1 et CD163 in vitro.</p>
		<p><i>In vivo.</i></p> <p>Rats Sprague-Dawley.</p>	<p>42 rats répartis en 3 groupes: (1) défauts parodontaux uniquement, (2) défauts traités avec membrane seule, et (3) défauts traités avec des PDLSC portées par membranes. Sacrifices à J3, J7 et J21 après la création du défaut osseux.</p>	<p>-Mesure du volume osseux par micro-CT.</p> <p>-Immunohistochimie : Détection et quantification des macrophages: cellules INOS+, CD163+ et CD206+ et des cytokines IL-10 et TNF-α.</p> <p>-Analyse histologique des tissus : coloration H&E et de Masson.</p>	<p>-Un volume osseux élevé et une épaisseur moyenne d'os trabéculaire ont été observés, dans le groupe traité par PDLSC, par tomodensitométrie à J21. Une régénération parodontale améliorée a été observée dans le groupe traité avec les PDLSC qui présentait une régénération de la structure de type cémentaire et une formation de fibres de collagène, insérées dans le ciment nouvellement formé.</p> <p>-A J3, la transplantation de PDLSC a augmenté le niveau d'IL-10 dans le tissu parodontal, et une diminution du TNF-α a été observée au stade précoce de la régénération parodontale. A J7, amélioration de l'infiltration des cellules CD163 + et une expression accrue des marqueurs M2 a été observée. L'augmentation significative des cellules CD206+ n'a été observée qu'à partir de J21.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Li, Xuan et al. - 2019 (62)	<p>PDLSC isolées à partir de dents extraites dans le cadre de traitements orthodontiques.</p> <p>Etudier l'influence des M2 sur la différenciation cémentoblastique des PDLSC, avec l'utilisation de coculture transwell, puis des inhibiteurs des voies AKT2 et JUNK pour explorer ces voies.</p>	<p><i>In vitro.</i> Cellules de la lignée THP-1.</p> <p>M0: Culture des monocytes THP-1 avec 20 nM de PMA pendant 72h. M2: Culture des monocytes THP-1 avec 320 nM de PMA pendant 6 h, puis 20 ng/ml d'IL-4, 20 ng/ml d'IL-13 et 1 µM de rosiglitazone pendant 66h. M1: Culture des monocytes THP-1 avec 320 nM de PMA pendant 6 h, puis 100 ng/ml de LPS et 20 ng/ml d'IFN- γ pendant 66h.</p>	<p>-Culture de PDLSC avec les surnageants des milieux de culture de M0, M1 ou M2 associés à un milieu cémentoblastique pendant 7h.</p> <p>- Culture dans un système transwell de PDLSC avec M0, M1 ou M2 pendant 7 jours.</p> <p>-Les PDLSC ont été prétraitées avec des inhibiteurs d'AKT et de JNK avant d'être cultivées dans un milieu de culture contenant le surnageant de cellules M2.</p> <p>-Les PDLSC ont été incubées avec IL-1ra, IL-10, TNF-α, IFN-γ, VEGF, IL-6, éotaxine et GM-CSF afin de déterminer les chimio-/cyto-kines potentielles impliquées dans la différenciation cémentoblastique améliorée par M2.</p>	<p>- Multiplexage : Détection des protéines exprimées par les cellules souches.</p> <p>-Dosage de la phosphatase alcaline sécrétoire.</p> <p>-Analyse histologique : observation des modifications morphologiques des cellules souches.</p> <p>-Western blot et RT-PCR : IL-1ra, IL-10, TNF-α, IFN-γ, VEGF, IL-6, éotaxine et GM-CSF et CEMP-1, OCN, et CAP (différenciation cémentoblastique) et Wnt/β-caténine, AKT, TGF-β/Smad, BMP/Smad et MAPK (voies potentielles impliquées dans la différenciation cémentoblastique médiée par M2).</p>	<p>-Les M2 sont des modulateurs clés lors de la différenciation cémentoblastique PDLSC.</p> <p>-Dans les deux systèmes de culture (transwell et avec le surnageant), les sous-ensembles M2 ont induit une augmentation des niveaux d'expression des gènes et protéines liés à la différenciation cémentoblastique des PDLSC en coculture et amélioré l'activité de la phosphatase alcaline.</p> <p>-La signalisation Akt et JNK a été identifiée comme une voie potentielle impliquée dans la différenciation cémentoblastique améliorée par M2, et les cyto/chimiokines IL-10 et VEGF sécrétées par M2 se sont avérées être des acteurs clés de cette différenciation en activant la signalisation Akt.</p>
Wang, Ru et al. - 2020 (67)	<p>Exosomes de GMSCs humaines cultivées dans des milieux ostéogéniques ou adipogéniques.</p> <p>Etudier l'impact des exosomes de GMSCs sur la polarisation des macrophages dans des conditions inflammatoires telle que la parodontite.</p>	<p><i>In vitro.</i> Cellules de la lignée THP-1.</p> <p>M0: Culture des cellules de la lignée THP-1 avec du PMA pendant 48h. M1: Culture des macrophages M0 avec du LPS d'<i>E.coli</i> et de l'IFN-γ.</p>	<p>Les M0 et M1 ont été incubés avec les exosomes issus de hGMSC cultivées dans des milieux ostéogéniques ou adipogéniques pendant 24h.</p>	<p>-ELISA : Mesure des niveaux d'IL-10 et de TNF-α.</p> <p>-RT-PCR : Mesure des niveaux d'expression génique d'IL-10, IL-1β, TNF-α et IL-12.</p> <p>-FACS : CD86 et CD163 (M1 et M2).</p>	<p>-Les macrophages cocultivés avec des exosomes ont montré une diminution significative des taux des marqueurs M1: TNF-α, IL-12, CD86 et IL-1β. Les niveaux d'IL-10 (marqueur M2) ont augmenté modérément. Des résultats similaires ont été obtenus dans les surnageants de culture cellulaire.</p> <p>-Les groupes stimulés avec les exosomes ont montré une diminution du marqueur CD86 (M1) mais pas d'augmentation significative de CD163.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Liu, Li et al. -2021 (71)	<p>- Vésicules extracellulaires provenant de BMsc de rats.</p> <p>- In vivo : hydrogel libérant les vésicules extracellulaires (BMSC-sEV), administré en injections dans la poche alvéolaire.</p>	<p><i>In vitro.</i> Macrophages murins issus de la lignée Raw264,7.</p>	<p>Les macrophages ont été incubés avec soit (1) du PBS seul (contrôle), soit (2) des vésicules extracellulaires et de l'IL-4 (200 mg/ml BMSC-sEV +50 mg/ml IL4), ou soit (3) 50 mg/ml IL-4 et autant de PBS, pendant 4 ou 6h.</p>	<p>-RT-PCR : RUNX2, OPN, OCN, Col-I, Col-III, CMP1, périostine et fibronectine.</p> <p>-Immunofluorescence et qRT-PCR : Arg-1, CD163, TGF-β1, iNOS, et CD86 (polarisation).</p>	<p>-Les proportions de cellules M2 du groupe sEV+IL-4 et du groupe IL-4 ont augmenté par rapport à celle du groupe témoin, l'IL-4 a induit avec succès la polarisation des macrophages vers un profil M2.</p> <p>-Le nombre de M2 dans le groupe sEV+IL-4 était supérieur à celui du groupe traité par IL-4 seul. L'expression des gènes pertinents pour M2 (Arg-1, CD163 et TGF-β1) dans le groupe sEV+IL-4 était supérieure à celle du groupe traité avec IL-4 seul, et l'expression des gènes apparentés à M1 (iNOS et CD86) était diminuée.</p>
	<p>Etudier les effets et mécanismes possibles des vésicules extracellulaires issues de BMSC sur la régénération du tissu parodontal in vitro et dans un modèle de parodontite expérimentale chez le rat.</p>	<p><i>In vivo.</i> Rats Sprague-Dawley</p>	<p>Parodontite expérimentale induite par ligature et inoculation de <i>P.gingivalis</i> pendant 4 semaines.</p> <p>Les rats ont été divisés en 4 groupes: (1) sain (n = 8), (2) parodontite seule (n = 8), (3) parodontite + injections d'hydrogels contenant les BMSC-sEV (n = 8) et (4) témoin, parodontite + injections d'hydrogels contenant du PBS (n = 8). Les injections ont eu lieu une fois par semaine dans les poches parodontales. Sacrifices à 4 et 8 semaines.</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT</p> <p>-Analyse histologique : coloration au H&E, trichrome de Masson et coloration TRAP (ostéoclastes).</p> <p>-Immunofluorescence : présence des molécules OPG, RANKL, TGF-b1, CD163, iNOS et CD68.</p>	<p>-Les BMSC-sEV favorisent la polarisation des macrophages vers un phénotype M2: le rapport de M2/M1 et l'expression de TGF-β1 dans le groupe parodontite + injections d'hydrogels contenant BMSC-sEV étaient plus élevés que dans le groupe témoin et le groupe de parodontite.</p> <p>-Les BMSC-sEV inhibent l'activité des ostéoclastes par la voie de signalisation RANK-RANKL-OPG.</p> <p>-BMSC-sEV favorisent la réparation osseuse alvéolaire et du ligament parodontal in vivo (moins de perte osseuse alvéolaire à 4 et 8 semaines et de destruction de fibres ainsi que moins de décroissance des épithéliums des surfaces radiculaires).</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Nakao et al. - 2021 (68)	<p>Exosomes dérivés des GMSCs traitées avec 100 ng/ml de TNF-α humain recombinant, d'IFN-γ, de LPS ou d'acide acétylsalicylique.</p> <p>Etudier l'effet thérapeutique des exosomes dérivés des GMSCs préconditionnés avec du TNF-α sur la polarisation des Ms et sur la maladie parodontale.</p>	<p><i>In vitro.</i> Monocytes issus du sang périphérique humain.</p> <p>M1: les macrophages ont été traités avec 10 ng/ml de LPS et 20 ng/ml d'IFN-γ pendant 24h.</p> <p>M2: les macrophages ont été traités avec 20 ng/ml d'IL-4 et avec ou sans 20 ng/ml d'IL-13 pendant 24 h.</p>	<p>Les exosomes isolés des cellules souches mésenchymateuses traitées avec 100 ng/ml de TNF-α humain recombinant, d'IFN-γ, de LPS ou d'acide acétylsalicylique ont été ajoutés à des macrophages indifférenciés ou différenciés M1 ou M2 à une concentration finale de 1 μg/ml et ont été incubés pendant 48h.</p>	<p>-FACS : CD11b, CD206 et CD86 chez les macrophages.</p> <p>-RT-PCR : IL-10, TNF-α, IL-1β et iNOS (polarisation).</p>	<p>-Les exosomes dérivés de GMSC seuls ont amélioré la polarisation M2, par rapport aux macrophages indifférenciés et les exosomes stimulés par le TNF-α ont considérablement amélioré l'activation de M2.</p> <p>-Les exosomes stimulés ou non avec TNF-α ont augmenté l'expression de l'IL-10 aux mêmes niveaux qu'avec la stimulation par IL-4/IL-13, tandis que les expressions inflammatoires de l'IL-1β, du TNF-α et de l'iNOS liées à M1 ont diminué.</p> <p>-Sur les M1, les exosomes dérivées de GMSC préconditionnés par TNF-α ont considérablement régulé à la hausse l'expression de CD206, et le rapport M2/M1 était presque égal à la stimulation IL-4/ IL-13.</p> <p>-L'expression de CD73 dans les exosomes préconditionnés par TNF-α est essentielle pour la polarisation vers un phénotype M2.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Souris C57BL/6.</p>	<p>Parodontite expérimentale induite par ligature.</p> <p>- 4 groupes (n = 5) : (1) sans ligature + placebo (PBS), (2) ligature + placebo (PBS), (3) ligature + exosomes dérivées de GMSCs non stimulées (Exo-Ctrl) et (4) ligature + exosomes dérivées de GMSCs préconditionnées au TNF-α (ExoTNF). Le placebo ou les exosomes (20 μg) en suspension dans du PBS (20 μL) ont été injectés dans la gencive palatine de la 2ème molaire maxillaire ligaturée. Sacrifices à J7.</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse parodontale dans les maxillaires par analyse histologique et morphométrique.</p> <p>-Analyse histologique : détection des ostéoclastes par coloration TRAP.</p> <p>-RT-PCR : IL-10, TNF-α, IL-1β et iNOS (polarisation) et de LPL, FABP-4, Runx2, ALP, SOX9, COL2A1, OCN, COL2A1, SOX9, CD39, CD73, RANKL, OPG, Wnt5a.</p> <p>-Western blot : détection de l'expression de CD9, NT5E/CD73, CD63, CD81, Calnexine, RANKL, TNF, Wnt5a, et de l'activation des voies de signalisation MAPK, Akt, JNK.</p>	<p>-L'injection locale d'exosomes dérivés de GMSC a considérablement réduit la résorption osseuse parodontale et le nombre d'ostéoclastes, et ces effets ont été renforcés par le préconditionnement des GMSC avec du TNF-α.</p> <p>-Les exosomes sécrétés par GMSC régulent le système RANKL/OPG en ciblant l'expression de RANKL médiée par Wnt5a.</p> <p>-Les résultats montrent que les Exo-TNF contenaient miR1260b qui était essentiel pour l'inhibition de RANKL en ciblant l'expression de Wnt5a ainsi que la signalisation JNK.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Huang, Yanli et al. - 2022 (70)	<p>Vésicules extracellulaires de cellules souches du follicule dentaire humain, pré-conditionnées avec du LPS (L-D-sEV) ou non conditionnées (D-sEV).</p> <p>In vivo : injections d'acide hyaluronique (HA) chargé avec les vésicules (SeV).</p> <p>Etudier les mécanismes sous-jacents et les applications des vésicules extracellulaires de cellules souches issues du follicule dentaire préconditionnées au LPS sur les macrophages et les cellules souches du ligament parodontal dans la parodontite.</p>	<p><i>In vitro</i>.</p> <p>Macrophages murins de la lignée Raw264,7.</p> <p>M2: les macrophages ont été stimulés avec 50 ng/ml d'IL-4 pendant 4h.</p>	<p>Les macrophages non stimulés ou stimulés avec IL-4 (M2) ont été cocultivés avec des vésicules extracellulaires isolées du milieu de culture de cellules souches du follicule dentaire humain, elles-mêmes incubées dans des milieux adipogénique ou ostéogénique, puis avec ou sans LPS (100, 150, 200, and 250 ng/ml pendant 24h).</p>	<p>-Cytométrie de flux : Arg-1 et CD206 chez les macrophages F4/80.</p> <p>-Dosage du niveau de ROS.</p> <p>-RT-PCR : CD206 et Arg-1 (M2).</p> <p>-Western bot : RANKL, OPG, ERK1/2, p-ERK1/2, JNK, p-JNK, SOD1, SOD2.</p>	<p>-Les sEV ont significativement réduit les niveaux de ROS dans les macrophages. Les L-D-sEV étaient plus efficaces dans la promotion de la polarisation M2 et de l'antioxydation en raison de la diminution significative des niveaux de ROS.</p> <p>-Le traitement par sEV a augmenté de manière significative l'expression génique des marqueurs de surface M2 Arg-1 et CD206, en particulier à une dose de 50 µg/ml. Le pourcentage de macrophages CD206(+) a été augmenté après 50 µg/ml de traitement par L-D-sEV et D-sEV. Ces résultats ont montré que D-sEV et L-D-sEV pouvaient favoriser la polarisation M2 dans une plage de dose appropriée.</p> <p>-La SOD1 a été significativement augmentée dans les groupes D-sEV et L-D-sEV, et l'expression de SOD1 était la plus élevée dans le groupe L-D-sEV.</p> <p>-Les sEV favorisent la polarisation M2 via la signalisation ROS/ERK.</p>
		<p><i>In vivo</i>.</p> <p>Chiens Beagle.</p>	<p>Parodontite expérimentale induite par ligature posée durant 1 mois associée à des défauts osseux chirurgicaux. Les chiens lors du retrait des ligatures, ont été traités avec un contrôle de plaque dentaire, avec 50 µL d'HA chargé avec de PBS administré à l'aide d'une seringue de 1 ml, ou avec 50 µL d'HA chargé avec des L-D-sEV et des D-sEV injectés dans la poche parodontale. Les administrations avaient lieu 1 fois par semaine pendant 8 semaines, puis les animaux ont été sacrifiés. Le sang a été collecté tout au long de l'expérience.</p>	<p>-Analyse de la régénération osseuse par micro-CT.</p> <p>-Analyse histologique par coloration H&E et de Masson.</p> <p>-RT-PCR : CD206 et Arg-1 (M2).</p> <p>-Immunofluorescence : RANKL, OPG, Periostin, CD206.</p> <p>-Western blot : RANKL, OPG, ERK1/2, p-ERK1/2, JNK, p-JNK, SOD1, SOD2.</p>	<p>-L'administration de HA/sEV chez le chien pendant 8 semaines, a entraîné la régénération des structures du ligament parodontal (plus de fibres de Sharpey orientées perpendiculairement à un tissu ressemblant à du ciment, ligament plus large et dense, vaisseaux plus nombreux, etc..) et du nouvel os alvéolaire, et L-D-sEV a eu de meilleurs résultats que les D-sEV.</p> <p>-Les traitements avec L-D-sEV et dans une moindre mesure celui avec D-sEV ont entraîné une diminution du rapport RANKL/OPG et l'élévation des marqueurs M2 par rapport aux autres groupes.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Liu, Jiani et al. -2022 (64)	<p>Le milieu conditionné de PDLSCs (PDLSC-CM) après avoir été incubées au préalable dans des milieux inducteurs adipogéniques et ostéogéniques.</p> <p>Etudier l'effet des PDLSC et surtout leur milieu conditionné (PDLSCs-CM) sur la polarisation des macrophages et leurs possibles mécanismes.</p>	<p><i>In vitro.</i> Cellules de la lignée THP1.</p> <p>M0: les cellules de lignée THP-1 ont été incubées avec 50 ng/ml de PMA pendant 6h. M1: les M0 ont été traités avec 100 ng/ml de LPS et 20 ng/ml d'IFN-γ pendant 42h (utilisés en comparaison) M2: les M0 ont été traités avec 20 ng/ml d'IL-4 et 20ng/ml d'IL-13 pendant 42 h.</p>	<p>-Les M0 et M2 ont été cultivés avec 1mL de PDLSC-CM pendant 48h. -Des M0 et M2 ont été traités avec SP600125 un inhibiteur de la voie de signalisation JNK, avant d'être incubés avec 1mL de PDLSC-CM pendant 48h.</p>	<p>-Cytométrie de flux : CD80, HLADR, CD209 et CD206 (M1 et M2). -RT-PCR : IL-1β, TNF-α, IL-10, TGF-β, CCL18 et STAT6 dans les macrophages et exploration de la voie JNK. -ELISA : IL-1β, TNF-α, IL-10 et CCL18 dans les surnageants. -Western blot : exploration de l'activation de la voie de signalisation JNK. -Evaluation de la prolifération et de la cytotoxicité chez les macrophages prétraités avec l'inhibiteur de la voie JNK (CCK-8). -Observation morphologique des macrophages par microscopie.</p>	<p>-Le PDLSCs-CM n'a pas induit la polarisation M1. -Les PDLSCs-CM semblent capables de favoriser le processus de polarisation des macrophages de M0 en M2: augmentation significative des M0 présentant CD209+ et CD206+ après coculture avec PDLSCs-CM, marqueurs similaires à ceux des M2 induits par l'IL-4 et l'IL-13. La sécrétion d'IL-10 a augmenté de manière significative après traitement des M0 avec PDLSCs-CM. Cependant, la sécrétion de TGF-β dans le surnageant n'a pas changé de manière significative. -Les PDLSC améliorent la polarisation des M2 induite par IL-4 et IL-13 par voie paracrine (augmentation des niveaux de CCL18 et d'IL-10). -La voie JNK est impliquée dans la polarisation M0 vers M2 et dans le renforcement des marqueurs chez les macrophages déjà polarisés.</p>

3.2.2.4. Les articles qui explorent les mécanismes impliqués dans la polarisation des macrophages et leurs implications dans la maladie parodontale (9 articles)

En observant des voies de signalisation et des protéines (72–78), en utilisant des inhibiteurs (anticorps neutralisants) ou en jouant sur l'expression génique (79) (via des animaux génétiquement modifiés, l'utilisation de petits ARN interférents (siARN), de vecteurs viraux, plasmides) ou en observant certaines variations géniques (80).

8 auteurs ont pu favoriser la polarisation vers un phénotype M2 en modulant différents éléments : en augmentant l'expression de miR-24 (79), l'adiponectine via l'axe JMJD3-IRF4 (73), les kinases inductibles par le sérum et le glucocorticoïdes SGK1 en modulant l'expression de FoxO1 et STAT 3 (75), la protéine A20 et l'atténuation de l'inflammasome NLRP3 (77), les protéines B transmembranaires non métastatiques du mélanome GPNMB (78), en inhibant la voie sprouty2 entraînant l'inhibition de la voie de signalisation NF-κB (72), le knock out d'Akt2 entraînant l'inhibition de JNK (voies Akt2/ JNK1/2 / c-jun et Akt2 / miR-155-5p / DET1 /c-jun) (74). BAFF semble également jouer un rôle dans la polarisation des macrophages M1 et M2 lors de la stimulation avec LPS de P.g (76).

1 article (80) a montré que les individus présentant des haplotypes différents de l'IL-4 vont avoir une réponse des cellules immunitaires à certains stimuli qui seront dissemblables. Certains auront une réponse inflammatoire atténuée et d'autres plus prononcée à un même stimulus. Cependant, les monocytes observés réagissaient de manière opposée aux autres cellules dans chaque groupe.

Certaines voies de signalisation intra-cellulaire ont aussi été explorées dans des articles des autres groupes, et il en ressort entre autre que 15 articles ont associé l'inhibition de la voie de signalisation NF-κB et la diminution de la translocation et de la phosphorylation de la sous-unité P65 de NF-κB dans les macrophages avec une augmentation des biomarqueurs de la polarisation M2 (Arg-1, CD206, TGF-β, IL-10) et l'amélioration des signes de parodontite (réduction des poches parodontales et limitation de la perte osseuse alvéolaire). (49,72,81–93).

Tableau 5: les mécanismes impliqués dans la polarisation des macrophages vers un phénotype résolutif

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Fordham et al.- 2015 (79)	- Micro-ARN 24 (miR24) imitateurs et inhibiteurs transfectés dans des macrophages M0. Etudier le rôle de miR24 sur la polarisation et la plasticité des Ms lors de l'exposition à différents pathogènes et à la fumée de cigarette dans des simulations d'environnements locaux différents.	<i>In vitro</i> . Monocytes CD14 ⁺ issus d'échantillons sanguins de patients sains. M0 : monocytes CD14 ⁺ incubés avec du CSF pendant 7 jours. Lors de l'expérience: M2 (alternative) : obtenus par incubation de cellules M0 avec IL-4 et IL-13 pendant 72h. M1 (classique) : obtenus par incubation de cellules M0 avec IFN- γ et TNF- α pendant 72h.	Les macrophages M0 ont été transfectés ou non, avec des imitateurs ou des inhibiteurs de miR-24. -Ces macrophages ont ensuite été stimulés avec des cytokine: IFN- γ (10 ng/ml) + TNF- α (1 ng/ml), IFN- γ + TNF- β (1 ng/ml), IFN- γ + IL-17A (10 ng/ml), IL-4 + IL-13 (10 ng/ml) et/ou des LPS bactériens (<i>E.coli</i> , <i>A.a</i> , <i>P.g</i> , <i>P.g</i> CSE) à une concentration de 100 ng/ml. -Les macrophages M0 transfectés ou non, ont été stimulés avec les cytokines pro-inflammatoires IFN- γ + TNF- α ou avec les cytokines anti-inflammatoires IL-4 + IL-13 pendant 24h, puis le milieu a été changé pour les cytokines opposées.	- ELISA : TNF- α , IL-12p40, IL-6 (inhibition de leur production associée à la polarisation M2) et IL-10. - Cytométrie de flux : CD206, CD163 et CD45. - Immunoblot : voie PI 3-kinase avec sa sous-unité p110 delta. - RT-PCR : miR-24.	MiR-24 est un régulateur négatif de l'activation classique des macrophages par le LPS et favorise l'activation alternative: miR-24 régule positivement le marqueur CD206 et inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires TNF- α , IL-6, IL-12p40 en présence de LPS. -Cependant si les macrophages ont déjà atteint un stade de polarisation M1, la surexpression de miR-24 n'induit pas une surexpression de CD206. MiR-24 n'induit pas de changement dans la voie d'activation.
Atomura et al. 2016 (72)	Petit ARN interférents (siARN) contre Sprouty murin ont été transfectés dans les macrophages M0. Etudier comment la déplétion de Sprouty2 affecte la physiologie des macrophages stimulés avec <i>P.gingivalis</i> et IFN- γ .	<i>In vitro</i> . Macrophages murins issus de la lignée cellulaire J774.1. Stimulation lors de l'expérience : M1 : les cellules J774.1 ont été stimulées avec 100 ng/ml d'IFN- γ murin recombinant et 50 ng/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> .	- Les macrophages ont été transfectés avec siARN de SPRY2 afin de créer une déplétion de la protéine sprouty2. Les cellules contrôles étaient transfectées avec un siARN contrôle négatif. Puis les cellules ont été stimulées afin de simuler une réponse pro-inflammatoire de type M1. -Les macrophages cultivés dans les conditions précédentes ont été cocultivés avec des thymocytes apoptotiques afin d'évaluer l'efferocytose.	- RT-PCR : INOS, IL-6, IL-10, Ym1 (polarisation) et bFGF, EGF, le PDGF, le VEGF (facteur de croissance). - ELISA : IL-12, IL-6, TNF- α , et IL-10 dans le surnageant. - Western Blot : protéines soupçonnées d'être impliquées dans les voies de signalisation de Spry2: INOS, Arg-1, NF- κ B P65, AKT, PI3Kp85 et STAT1. - Immunofluorescence : Mesure de l'efferocytose. - spectrophotométrie test d'activité de l'arginase .	-La déplétion de sprouty2 dans les macrophages a favorisé l'expression des gènes et cytokines qui caractérisent les M2 (IL-10, Ym1 et Arg-1) au détriment des M1 lors d'une stimulation avec IFN γ et le LPS de <i>P.gingivalis</i> . -La suppression de sprouty2 a entraîné l'inhibition de la voie NF- κ B induite par <i>P.gingivalis</i> mais pas de la voie STAT-1 induite par IFN- γ . La déplétion de sprouty2 a également entraîné une augmentation de l'efferocytose via l'activation de Rac1.

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Xuan et al. -2016 (73)	<p>Adiponectine (une hormone sécrétée par les tissus adipeux) recombinante de souris.</p> <p>Etudier l'effet de l'adiponectine suspectée d'avoir une action dans la réponse anti-inflammatoire et de favoriser la polarisation M2 des macrophages notamment via l'axe JMJD3-IRF4. L'étude s'intéresse à la parodontite dans le contexte d'obésité chez la souris.</p>	<p><i>In vitro</i>.</p> <p>-BMDM de souris WT et knock out APN-/-.</p> <p>-Macrophages péritonéaux de souris C57BL/6J (WT, APN-/- et ayant subi un régime induisant une obésité) (TEPM).</p> <p>-Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.</p>	<p>Les macrophages RAW264.7, BMDM, TEPM, (de souris APN-/-, WT ou ayant eu un régime) ont été stimulés avec 1 mg/ml d'adiponectine recombinante de souris et 10 ng/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> pendant 2 et 4 heures.</p>	<p>-RT-PCR : TNF-α et IL-1β (cytokines pro-inflammatoires) et F4/80, Arg-1, CCL3 et CCL4 (polarisation) et l'expression de JMJD3 et d'IRF4 .</p> <p>-Immunofluorescence : expression de JMJD3 et d'IRF4.</p> <p>-Western blot : voie NF-κB.</p>	<p>-L'adiponectine semble contribuer à la polarisation des macrophages M2 via l'axe JMJD3-IRF4: le déficit en adiponectine bloque la régulation positive de JMJD3, IRF4, CCL3, Arg-1 mais aussi des cytokines pro-inflammatoires (IL-1) dans les cellules issues des souris APN -/- incubés avec le LPS de <i>P.gingivalis</i>. La perfusion d'adiponectine a induit une augmentation de 7,1 fois de l'expression de JMJD3, une augmentation par plus de 3 fois de l'expression de IRF4, de CCL3 et de l'arginase dans ces cellules.</p>
		<p><i>In vivo</i>.</p> <p>Souris C57BL/6J, Wild Type (WT) et APN-/- (knockout pour l'adiponectine).</p>	<p>Parodontite induite par ligature pré-trempée dans bouillon bactérien (<i>P.gingivalis</i>).</p> <p>Les souris APN-/- ont été divisées en 3 groupes (n=5): (1) parodontite seule, (2) parodontite + perfusion d'adiponectine et (3) contrôle sans parodontite mais avec perfusion d'adiponectine, et des (4) souris WT (n = 5) ont été utilisées comme contrôle négatif. Les pompes ont délivré 2,5 μg d'adiponectine recombinante par jour pendant 10 jours. Sacrifices à J10.</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par stéréomicroscopie.</p> <p>-Analyse histologique par coloration H&E pour mesurer l'infiltration inflammatoire.</p> <p>-RT-PCR : TNF-α et IL-1β(cytokines inflammatoires) et F4/80, Arg-1, CCL3 et CCL4 (activité macrophages) et l'expression de JMJD3 et d'IRF4.</p> <p>-Immunofluorescence : expression de JMJD3 et d'IRF4.</p> <p>-Western blot : voie NF-κB.</p>	<p>-L'adiponectine a atténué la perte osseuse parodontale: la perte osseuse alvéolaire chez les souris APN-/- atteintes de parodontite était beaucoup plus sévère que celle des souris WT atteintes de parodontite. La perfusion d'adiponectine recombinante a significativement atténué la perte osseuse alvéolaire.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Wu, X. et al. - 2020 (74)	<p>Voie de signalisation AKT2</p> <p><i>In vitro</i> : inhibiteurs ou des activateurs d'AKT2 (siARN et lentivirus), de miR-155-3p et miR-1555p.</p> <p><i>In vivo</i> : inhibiteur de la voie AKT2.</p> <p>Etudier les rôles d'Akt2 dans la polarisation des macrophages et ses mécanismes potentiels dans la modulation de l'environnement inflammatoire local de la parodontite.</p>	<p><i>In vitro</i>. Macrophages murins issus de la lignée Raw264,7, de type sauvage, knockout ou surexprimant AKT2.</p> <p>Induction des phénotypes M1 et M2 étudiés lors de l'expérience.</p>	<p>Les macrophages knockout ou surexprimant AKT2, de type sauvage ou transfectés avec des inhibiteurs ou des mimiques de miR55-3p ou miR-155-5p ont été stimulés pendant 12h avec 1 µg/ml de LPS ou avec 50 ng/ml d'IL-4 et 50 ng/ml d'IL13 pour simuler une polarisation M1 ou M2, ou ont été cultivés dans un milieu de culture neutre.</p>	<p>-RT-PCR : IL-1β, TNF-α, IL-6, iNOS et Arg-1.</p> <p>-Western blot : voies de signalisation : P38, Erk1/2, JNK1/2, Akt2, cJun, DET1, ainsi que de Arg-1.</p> <p>-Immunofluorescence : CD86 et CD163 (polarisation).</p> <p>- Cytométrie de flux : CD86 et CD163 (polarisation).</p>	<p>-La surexpression d'Akt2 dans les cellules RAW 264.7 induit une polarisation M1 et une diminution de la polarisation M2, tandis que le knockout d'Akt2 exerce un effet opposé.</p> <p>-Les voies de signalisation Akt2/ JNK1/2 / c-Jun et Akt2 / miR-155-5p / DET1 / c-Jun régulent la polarisation des macrophages et altèrent l'état inflammatoire parodontal.</p> <p>-L'inhibition de JNK pourrait faciliter la polarisation M2 des macrophages.</p>
		<p><i>In vivo</i>. Souris et étude sur l'humain.</p>	<p>-Prélèvements et analyses de tissus gingivaux de 6 patients atteints de parodontite chronique et de 6 patients parodontalement sains.</p> <p>-Induction d'une parodontite par ligature chez des souris. Injections quotidiennes d'inhibiteurs d'Akt2 (100 µM, 5 µL) dans la région parodontale. Sacrifices à J7.</p>	<p>Humains et souris:</p> <p>-Immunofluorescence : CD68, CD86 et CD163 (polarisation).</p> <p>-Immunocoloration : IL-1β et IL-10 (état inflammatoire) et CD68, CD86 et CD163 (polarisation).</p> <p>-Immunofluorescence : voies de signalisation AKT2 et JNK.</p> <p>Souris:</p> <p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par microCT.</p>	<p>-L'infiltration des macrophages (CD68+) était plus importante dans les tissus atteints de parodontite que dans les tissus sains et les deux macrophages polarisés M1 (CD86+) et M2 (CD163+) dans la parodontite a été significativement plus élevé que celui du groupe sain. La mesure du rapport M1/M2 a permis d'observer que le phénotype M1 pourrait être prédominant dans la parodontite.</p> <p>-L'expression d'Akt2 et de JNK dans les macrophages (CD68+) était plus élevée dans la parodontite.</p> <p>-Chez la souris l'inhibition d'Akt2 a facilité la polarisation M2 et limité la perte osseuse due à la parodontite.</p> <p>-Identification de nouvelles voies de signalisation Akt2 / JNK 1/2 / c-Jun et Akt2 / miR155-5p / DET1 / c-Jun qui régulent la polarisation des macrophages et soulignent que l'inhibition d'Akt2 favorise la polarisation M2 des macrophages et peut être un nouveau candidat potentiel dans le traitement de la parodontite.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Ren et al-2021 (75)	<p>Kinases inductibles par le sérum et les glucocorticoïdes de type 1 (SGK1) une protéine cytoplasmique.</p> <p>- Les macrophages ont été transfectés avec des petits ARN interférents et plasmides.</p> <p>- EMD638683, un inhibiteur pharmacologique spécifique de SGK1.</p> <p>Etudier l'effet des SGK1 sur la polarisation des macrophages et la perte osseuse alvéolaire chez la souris.</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>Macrophages issus de la moelle osseuse de souris C57BL/6 knockout pour SGK1 (LysM-Cre⁺ sgk1^{fl/fl}) et de souris témoins.</p> <p>M0 : Les cellules issues de la moelle osseuse de souris ont été incubées avec de surnageant de culture de fibroblastes L929.</p> <p>M1: Culture des M0 transfectés ou non avec 10 ng/ml d'INF-γ et 100 ng/ml de LPS pendant 24h.</p> <p>M2: Culture des M0 transfectés ou non avec 10 ng/ml d'IL-4 et 10 ng/ml d'IL-13 pendant 24h</p> <p><i>In vivo.</i></p> <p>Souris C57BL / 6.</p>	<p>-Les M0 des souris KO pour SGK1 et témoins, ont été transfectées avec des ARNsi de contrôle non ciblé, des ARNsi-SGK1, des ARNsi-STAT3, pcDNA3STAT3 ou pcDNA3, avant de recevoir les stimulations pour induire les phénotypes M1 et M2.</p> <p>-Les M0 ont été stimulés avec IFN-γ/LPS (M1) ou IL-4/IL-13(M2) pendant 24h en présence ou absence de 10μM de EMD638683,</p> <p>-Les M0 ont été prétraités avec 10μM de EMD638683 pendant 2h ou transfectées avec un siRNA-sgk1 spécifique pendant 48h puis stimulées avec IFN-γ/LPS ou IL-4/13 pendant 24h.</p> <p>Une inflammation parodontale a été induite chez les souris par inoculation de <i>P.gingivalis</i> après suppression du microbiote oral endogène.</p> <p>-Un groupe expérimental a reçu de l'EMD63868 par voie intrapéritonéale avec chaque inoculation (6 fois à 2 jours d'intervalle), puis tous les deux jours par la suite jusqu'à l'euthanasie. Des modèles de souris infectées de manière fictive et témoins véhicules ont également été établis.</p>	<p>-ELISA : TNFα, IL-6, et IL-12 dans le surnageant.</p> <p>-RT-PCR : sgk1, <i>Ym1/Chil3</i>, <i>Mgl-1/Clec10a</i>, <i>Arg-1</i>, iNOS, <i>Fizz1/Retnla</i>, IL-10 et stat3.</p> <p>-Cytométrie de flux : F4/80, CD11b, INOS et CD206 (macrophages polarisés).</p> <p>-Analyse histologique : évaluation de la viabilité cellulaire (coloration bleue de trypan).</p> <p>-Western blot : INOS et <i>Arg-1</i> (polarisation) et observation de l'activation et de la phosphorylation de NDRG, FoxO1, STAT3 et STAT6.</p> <p>-RT-PCR : TNFα, IL6 et IL-12 dans les tissus.</p> <p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par coloration au bleu de méthylène/éosine et microscopie.</p> <p>-Immunofluorescence : quantification des cellules exprimant CD68, CD163, CD206 et F4/80 et STAT3.</p>	<p>-La stimulation avec IFNγ/LPS ou IL-4/13 conduit à l'activation de SGK1, représentée par la phosphorylation de NDRG, un substrat de SGK1 dans les macrophages, indiquant que SGK1 pourrait être impliqué dans la polarisation des cellules macrophages.</p> <p>-L'inhibition de SGK1 entraîne une augmentation significative de l'iNOS dans des conditions induisant des M1. En revanche, dans des conditions induisant des macrophages M2, l'inhibition de SGK1 réduit significativement l'expression de l'Arg-1, de Retnla (Fizz1), de Chil3 (Ym-1) et du Mgl1, mais aussi de CD206.</p> <p>-SGK1 supprime la production de cytokines inflammatoires des M1 (TNFα, l'IL-6 et l'IL-12) et favorise l'IL-10 dans les M2.</p> <p>-La suppression de SGK1 dans les cellules myéloïdes de souris KO favorise la polarisation des macrophages vers le phénotype M1 (augmentation de TNFα, l'IL-12, l'IL-6, ainsi que d'iNOS) et produit des niveaux significativement inférieurs d'Arg-1 ainsi que de Fizz1 et Ym1.</p> <p>-L'action de SGK1 sur la polarisation M1 et M2 implique la modulation de la phosphorylation et de l'expression de FoxO1 et STAT3.</p> <p>-SGK1 favorise la polarisation M2 et protège contre la perte osseuse alvéolaire chez les souris infectées par <i>P.gingivalis</i>.</p> <p>-L'inhibiteur de SGK1 a induit une expression significativement plus faible de CD206 et CD163. Les souris prétraitées avec l'inhibiteur de SGK1 produisaient des quantités significativement plus élevées d'IL-6 par rapport aux souris traitées uniquement avec <i>P.gingivalis</i>.</p> <p>-Aucune différence substantielle n'a été observée sur les expressions de TNF-α ou IL-12.</p> <p>-L'infection à <i>P.gingivalis</i> a induit une perte osseuse significative et l'inhibition de SGK1 l'a aggravé de manière significative.</p> <p>-SGK1 régule l'expression de STAT3 dans les tissus gingivaux de souris.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Wang, Lixia et al. -2021 (76)	<p>BAFF (un membre de la superfamille du facteur de nécrose tumorale) <i>In vitro</i> : Petits ARN interférents ciblant BAFF (si-BAFF).</p> <p>Explorer les effets de BAFF dans la parodontite sur la réponse du système immunitaire parodontal et la polarisation des macrophages dans un modèle murin de parodontite expérimentale.</p>	<i>In vitro</i> . Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.	Les macrophages ont été traités avec 100 ng/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> en présence ou absence de siBAFF (50 nM) suivi par une incubation de 24h.	<p>-RT-PCR : iNOS, TNF-α, Arg-1 et IL-10 (M1 et M2).</p> <p>-ELISA : TNF-α et IL-10 dans les surnageants cellulaires.</p> <p>-Western blot : iNOS et Arg-1 (M1 et M2).</p> <p>-Immunofluorescence : iNOS et CD206 (M1 et M2).</p>	<p>-La stimulation LPS a conduit à des expressions élevées de TNF-α et de faibles niveaux d'IL-10, et qui ont été remarquablement inhibé par le knockdown de BAFF.</p> <p>-Le knockdown de BAFF sur les macrophages stimulés par LPS a diminué le ratio du phénotype M1 (iNOS+) et augmenté celui du phénotype M2 (CD206+).</p>
		<i>In vivo</i> . Souris C57BL/6.	Les souris ont été réparties en 3 groupes (n=5): après l'induction de la parodontite par ligature, elles ont reçu une injection de (1) 5 μ l d'anticorps anti-BAFF (1 mg/ml) ou (2) une quantité égale de contrôle isotypique IgG dans la papille gingivale palatine à J3, J6 et J9. (3) Un groupe contrôle a eu une pose et un retrait immédiat de la ligature. Sacrifices à J14.	<p>-Analyse morphométrique osseuse par stéréomicroscopie numérique.</p> <p>-Analyse histologique des tissus par coloration H&E et TRAP.</p> <p>-Immunohistochimie : iNOS et CD45 dans les tissus.</p> <p>-RT-PCR : BAFF, RANKL, OPG, iNOS, Arg-1, TNF-α et IL-10.</p>	<p>-Observation d'une augmentation modérée d'Arg-1 associée à une forte baisse des niveaux d'iNOS et TNF-α dans les tissus du groupe parodontite + anti-BAFF.</p> <p>-Le groupe parodontite traité avec l'anticorps anti-BAFF a montré une diminution significative de la résorption osseuse et une diminution du nombre d'ostéoclastes</p> <p>-Observation d'une corrélation négative entre sévérité de la résorption osseuse alvéolaire et le niveau d'ARNm d'Arg-1. Une augmentation modérée mais significative de la corrélation positive entre la gravité de la résorption osseuse alvéolaire et le niveau d'iNOS a été notée.</p> <p>-Les niveaux d'expression de l'ARNm BAFF étaient significativement plus élevés dans les tissus gingivaux de souris atteintes de parodontite que chez les témoins.</p> <p>-Anti-BAFF a réduit les niveaux d'ARNm de RANKL et élevé ceux d'OPG.</p> <p>-Tous les groupes parodontite présentaient une augmentation du nombre de cellules inflammatoires (CD45 positive à CD45 et coloration H&E) par rapport au groupe contrôle, mais anti-BAFF a significativement régulé à la baisse cette réponse inflammatoire.</p>

Auteurs	Principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Hou et al. - 2022 (77)	<p><i>In vitro</i> : lentivirus pour générer le knockdown de A20 (siA20) et la surexpression de A20 (LV-A20). <i>In vivo</i> : virus adéno-associé (AAV) ciblant la protéine A20. Knockdown de A20: AAV-A20-RNAi surexpression de A20: AAV-A20.</p> <p>Explorer les effets de la protéine A20 (induite par TNF-α, régulant la voie NF-κB) via la voie de signalisation de l'inflammasome NLRP3 sur la polarisation des macrophages dans la parodontite.</p>	<p><i>In vitro</i>. Cellules issues de la lignée THP-1. M0: Les cellules THP-1 ont été stimulées avec 100 ng/ml de PMA pendant 24 h. M1: Les M0 ont été stimulés avec 1μg/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> et 10ng/ml de IFN-γ pendant 24 h.</p> <p><i>In vivo</i>. Souris C57BL/6.</p>	<p>Observation de l'expression de A20 durant le passage des macrophages M0 vers un phénotype M1. Les cellules M1 et M0 ont été infectées avec siA20, LV-A20 ou un lentivirus contrôle négatif pendant 96h. Pour inhiber la voie de signalisation de l'inflammasome NLRP3, les M0 ont été prétraitées avec 10μM MCC950 pendant 1 h, avant de poursuivre le traitement.</p> <p>Les vecteurs viraux ont été injectés près de la marge gingivale palatine de la 2ème molaire maxillaire. A J14 après l'injection de PBS ou AAV, le modèle expérimental de parodontite a été induit par ligature jusqu'à J24, associée à des injections quotidiennes de <i>P.gingivalis</i> de J15 à J17. (1) groupe sans parodontite; (2) parodontite et PBS (PBS+P); (3) parodontite et CON305 un contrôle négatif AAV correspondant à AAV-A20-ARNi (CON305+P); (4) parodontite et AAV-A20-ARNi ((AAV-A20-ARNi)+P); (5) parodontite et CON299 un contrôle négatif AAV correspondant à AAV-A20 (CON299+P); (6) parodontite et AAV-A20 ((AAV-A20) +P). Sacrifice à J24.</p>	<p>-Cytométrie de flux : détection des cellules exprimant CD68 et HLA-DR. -Western blot : Mesure des concentrations protéiques de A20, NLRP3, caspase-1, IL-1β, iNOS, CD206. -ELISA : TNF-α et l'IL-1β dans le surnageant par les macrophages.</p> <p>-RT-PCR : CD86, TNF-α, A20, NLRP3, caspase-1 et IL-1β. -Mesure de la perte osseuse alvéolaire par microCT. -Analyse histologique par coloration H&E et coloration TRAP. -Immunohistochimie : A20, RANKL, NLRP3, caspase-1 et IL-1β. -Immunofluorescence : EGFP, A20, iNOS et CD206.</p>	<p>-Le niveau transcriptionnel de A20 dans les macrophages a augmenté à partir de 2 h après la stimulation par LPS/IFN-γ, puis a diminué après avoir atteint un pic à 6 h, et est resté élevé jusqu'à 24h après la stimulation. -Les M1 infectées avec si-A20 (inhibiteur) présentaient des expressions d'iNOS, de CD86 et de TNF-α plus élevées par rapport groupe contrôle M1. -Les cellules infectées avec LV-A20 (surexpression), stimulées par LPS/IFN-γ présentaient un niveau de protéine CD206 nettement augmenté et des expressions d'iNOS, de CD86 et de TNF-α réduites par rapport au groupe contrôle LPS/IFN-γ. -A20 régule négativement l'expression des marqueurs de l'inflammasome NLRP3 et l'inhibiteur de l'inflammasome NLRP3 a atténué la polarisation M1 et augmenté l'expression de CD206 chez les macrophages knockdown de A20</p> <p>-La surexpression de A20 a entraîné une augmentation des M2 et baisse des M1, et son knockdown a produit l'effet inverse. -Augmentation de A20 dans les tissus parodontaux dans le groupe parodontite par rapport au groupe témoin. -Le knockdown de A20 associé aux ligatures accentue la perte osseuse alvéolaire, l'infiltration de cellules inflammatoires, la formation de poches alvéolaire et la présence d'ostéoclastes par rapport aux deux groupes PBS+P et CON305+P. -La surexpression de A20, dans la parodontite, induit une diminution de la destruction des tissus parodontaux mous et durs, du nombre d'ostéoclastes TRAP+ et de l'expression de RANKL, par rapport aux groupes PBS + P et CON299+P. -A20 régule négativement la voie de signalisation de l'inflammasome NLRP3.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Anovazzi et al. - 2017 (80)	<p>Les haplotypes de l'IL-4. Les individus présentant un génotype TCI/CCI (haplotypes S) sont plus sensibles à la parodontite chronique que ceux présentant un génotype CTI/TTD (haplotype P) qui semble les protéger.</p> <p>Evaluer la fonctionnalité des différents haplotypes d'IL-4 dans la réponse des cellules immunitaires aux parodontopathogènes afin de comprendre pourquoi les individus présentant un haplotype dit S sont 5 fois plus sensibles que ceux présentant un haplotype P.</p>	<i>In vitro</i> . Monocytes issus de prises de sang chez 12 humains présentant un haplotype P ou S de l'IL-4 et étant considérés sains parodontalement.	<p>-Les monocytes, les lymphocytes T et les neutrophiles ont été isolés du sang périphérique de 6 sujets porteurs de l'haplotype S et de 6 porteurs de l'haplotype P. Les cellules immunitaires ont ensuite été stimulées avec <i>P.gingivalis</i> ou <i>A.a</i> en suspension dans le milieu ou cultivées dans un milieu contrôlé sans bactéries.</p> <p>-Des volumes de sang contenant les cellules mononuclées du sang périphérique ont été étudiés en présence de <i>P.gingivalis</i> ou <i>A.a</i>.</p>	<p>-RT-PCR : IL-4, IL8, IL-12, et TNF-α produites par les cellules immunitaires.</p> <p>-Multiplexage : GM-CSF, TNF-α, IL-1β, IL-4, IL-6, MIP-1β, eotaxin, CCL5, MIG, IL-12(p40/p70), IL-8, IL-17, CCL2, IL-10, IL-1RA, IFN-γ, IL-13, CCL3, IL-7, IL-15, IFNα, IL-2R, IP-10, IL-5, et IL-2.</p> <p>-Cytométrie de flux par immunophénotypage : CD14, IL-12 et IL-10 (détection macrophages) et CD4, IFN-γ/IL-4 et IL17/FoxP3 (détection des lymphocytes).</p> <p>-cellules CD14+/IL-10+/IL2-.</p>	<p>-Les neutrophiles, monocytes et lymphocytes d'individus de l'haplotype P stimulés avec <i>P.gingivalis</i> et <i>A.a</i> exprimaient des niveaux d'IL-4 significativement plus élevés que les cellules de l'haplotype S.</p> <p>-L'haplotype P était associé à une réponse atténuée aux parodontopathogènes testés, avec un biais suggestif vers les phénotypes Th2/M2. À l'opposé, les cellules des sujets porteurs de l'haplotype S ont répondu aux mêmes stimuli bactériens avec une plus grande production de médiateurs pro-inflammatoires et un déplacement plus prononcé vers le phénotype Th1.</p> <p>-Exception faite pour les monocytes: les monocytes de sujets d'haplotype S ont montré une polarisation plus élevée vers le phénotype d'activation alternatif M2 (IL-12low/IL10high) après stimulation bactérienne que ceux de l'haplotype P (probablement car les monocytes ont été isolés et n'ont pas été stimulés avec les molécules produites par les autres cellules immunitaires).</p>
Zhang, Hengfang et al. - 2022 (78)	<p>Transfection des macrophages avec un vecteur de surexpression de la protéine B transmembranaire non métastatique du mélanome (GPNMB).</p> <p>Etudier dans un contexte de parodontite, la relation entre GPNMB et les macrophages pour déterminer si l'expression de GPNMB est liée à un phénotype et si sa surexpression a un effet sur la polarisation des macrophages.</p>	<i>In vitro</i> . Cellules de la lignée THP-1. M0 : culture des cellules THP-1 avec 125 nmol/L de PMA pendant 48 h. M1 : Culture des M0 avec 20 ng/ml d'IFN- γ et 100 ng/ml de LPS pendant 24 h. M2a : Culture des M0 avec 20 ng/ml d'IL-4 pendant 24 h.	Les M0 ont été transfectés ou non avec le vecteur de surexpression de GPNMB, puis ont été stimulés pour obtenir des M1 et M2a.	<p>-Cytométrie de flux : CD86 et CD206 (macrophages polarisés).</p> <p>-RT-PCR : Détection de GPNMB.</p> <p>- Western blot : Détection de GPNMB.</p> <p>-ELISA : TNF-α, IL-1β, TNF-β et IL-10 dans le surnageant.</p> <p>-Analyse morphologique des macrophages par microscopie.</p>	<p>-La surexpression de GPNMB a inhibé l'expression de CD86 et augmenté l'expression de CD206 dans chaque groupe.</p> <p>-Les M2a non transfectés ont fortement exprimé la protéine GPNMB, contrairement aux M1.</p> <p>-Les M1 surexprimant la GPNMB, ont présenté des changements morphologiques (augmentation des cellules fusiformes et de cellules présentant des pseudopodes) contrairement à M0 et M2a.</p> <p>-Tous les macrophages surexprimant GPNMB avaient une augmentation de l'expression de l'IL-10, et les M1 transfectés présentaient une inhibition des facteurs pro-inflammatoires (IL-1β, du TNF-α et du TNF-β).</p>

3.2.2.5. Les articles explorent le potentiel thérapeutique de différentes molécules en recherchant un « switch » des macrophages pro-inflammatoires vers un phénotype anti-inflammatoire ou au moins une augmentation des macrophages résolutifs (81–111).

A l'exception d'un article, tous ces articles ont été publiés à partir de 2017, et peuvent explorer différents aspects des macrophages résolutifs vus dans les autres groupes (31 articles). Les substances d'intérêt, protocoles thérapeutiques ou biomatériaux sont divers.

Différentes substances : des amélogénines (94,95), la β défensine humaine (81), la résolvine D2 (96), le telmisartan (84), l'alcool péryllique (101), le concentré de canneberge (102), la nifédipines (83), la molécule de libération de monoxyde de carbone-3 (92), l'acide tout-trans rétinoïque (107), des composés de bois de *Dalbergia melanoxylon* (90), le chlorure de lithium (109)

Des inhibiteurs (82) ou des activateurs (86) de voies de signalisation intra-cellulaire

Des pathogènes : *Akkermansia Muciniphila* (103)

Des nano-composites : de zéolithe imidazole et cérium (85), de nano-CeO₂ à structure octaédrique pour délivrer de la quercétine (89)

Des hydrogels contenant : des cytokines IL-4 et CXCL12 (97), des exosomes de cellules souches de la pulpe dentaire (93)

Des microparticules : d'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA) libérant du CCL2 (100)

Des nanoparticules : d'or (98), de silice mésoporeuse chargées en chlorhydrate de minocycline et recouvertes de polydopamine (104)

Un système liposomal thérapeutique chargé en resvératrol (87)

Une stratégie thérapeutique de la parodontite comprenant une thérapie photodynamique antibactérienne associée à un nano-composite contenant du CeO₂ et du Ce6 (88)

Une stratégie thérapeutique de la parodontite d'irradiation photothermique au laser de nanoparticules mésoporeuses de bleu de Prusse (91)

Des échafaudages étudiés in vitro et/ou implantés dans des défauts osseux parodontaux : de gel contenant des particules de matrice extra-cellulaire (99), fibreux à base de PLGA/PLLA avec libération de bFGF et de BMP-2 (facteurs de croissance des fibroblastes et osseux) (105), conçus par électroécriture par fusion (108), en vitrocéramique bioactive imprimé en 3D contenant des ions Mo (111), en biopolymère composite de CaSO₄ et bêta-tricalcium phosphate enrichi en Mg²⁺.

Membranes composées de fibres PLGA chargées de DMOG (diméthylloxalylglycine) et de nanosilicate (106)

Dans les 31 articles, tous ont réussi à moduler la polarisation des macrophages, et 30 (81–85,87–111) ont montré une augmentation plus ou moins importante des marqueurs associés au phénotype M2 chez les macrophages ou dans les tissus étudiés avec les stratégies thérapeutiques utilisées. L'observation de l'augmentation des M2 est associée in vivo, à l'amélioration des signes cliniques de la parodontite dans 19 articles (81,87–89,91,92,96–100,103–109,111) : à une réduction de la perte osseuse alvéolaire, à une meilleure régénération tissulaire, à la formation de plus d'os et d'os plus dense, à une diminution du nombre d'ostéoclastes et de cellules inflammatoires dans les tissus et à l'augmentation des niveaux de facteurs anti-inflammatoires. On peut constater que 21 des articles (81,83,84,87–94,96,99,100,102,104–106,108,109,111) observent, dans différentes mesures, une diminution des niveaux des marqueurs M1 associée à

cette augmentation des M2, ce qui permet d'espérer avoir une conversion d'un phénotype inflammatoire vers un anti-inflammatoire.

La quasi-inexistence d'articles (un seul (86)) qui présentent une baisse ou aucun changement des niveaux des marqueurs liés à M2 dans ce groupe s'explique peut-être par le fait que de nombreuses études ont validé l'intérêt thérapeutique de leurs substances ou biomatériaux par la recherche d'une augmentation des marqueurs M2, et que les articles n'ont pas exposés leurs résultats sur M2 s'ils n'allaient pas en ce sens.

Tableau 6: études des macrophages M2 dans la recherche de thérapeutiques de la parodontite

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Cui et al. 2017 (81)	<p>Béta-défensine 3 humaine (hBD3).</p> <p><i>In vivo</i> : Injection de hBD3 diluée dans du PBS jusqu'à une concentration finale de 40 µg/ml ou irrigation des poches parodontales avec 50µL de solution hBD3</p> <p>Exploration des effets de hBD3 sur la réponse immunitaire parodontale</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.</p>	<p>Les cellules macrophages RAW 264.7 ont été traitées avec 1µg/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> en présence ou absence de hBD3 (20 µg/ml).</p>	<p>-RT-PR : CCL2, TNF-α, IL-6, TLR2, TLR4, iNOS, Arg-1 et IL-10.</p> <p>-Western blot : Mesure de la phosphorylation de la sous-unité p-65 de NF-κB.</p>	<p>-hBD3 a supprimé la production de TNF-α et d'IL-6 par les macrophages stimulés par le LPS de <i>P.gingivalis</i>.</p> <p>-hBD3 a atténué la polarisation M1, avec activation réduite de la transduction du signal du NF-κB.</p> <p>-hBD3 induit l'expression d'Arg-1 et IL-10, indépendamment de la présence ou de l'absence de LPS de <i>P.gingivalis</i>, régule à la baisse l'expression d'iNOS et de TNF-α et inhibe la régulation positive de TNF-α et NO induite par le LPS de <i>P.gingivalis</i>.</p>
	<p><i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> un modèle de parodontite expérimentale induite par <i>P.gingivalis</i> chez la souris.</p>	<p><i>In vivo.</i></p> <p>Souris knockout pour l'apolipoprotéine (apoE-/-).</p>	<p>Parodontite induite par ligature (5-0) trempée dans solution de <i>P.gingivalis</i> vivants.</p> <p>-Souris réparties en groupes (n = 8 par groupe) : (1) témoins sans traitement ; (2) parodontite seule; (3) parodontite + solution de PBS , ou (4) parodontite + traitement à l'hBD3. Le PBS et l'hBD3 (0,5 mg/kg, environ 10 µg/souris) ont été administrés 3x semaine par injections intra-péritonéales. Sacrifices à 10 semaines.</p> <p>-32 souris réparties en 4 groupes, traitement appliqué directement au niveau de la poche parodontale de la deuxième molaire maxillaire: (1) aucun traitement; (2) parodontite seule; (3 et 4) ligature enlevée à J7 avec, ou sans irrigation des poches parodontales avec 50µL de solution hBD3 à 40 µg/ml à 48, 96 et 144 h. Sacrifices à J30.</p>	<p>-Mesures de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT.</p> <p>-Analyse histologique des tissus osseux par coloration H&E et quantification des ostéoclastes par coloration TRAP.</p> <p>-RT-PCR : TNF-α, IL-6, IL-10, MMP-9, Arg-1 et iNOS dans les tissus maxillaires et les monocytes circulants.</p> <p>-Immunohistochimie : détection des cellules présentant CD68 et MMP9.</p>	<p>-L'injection d'hBD3 a réduit la perte osseuse alvéolaire, amélioré le taux de polarisation M2 (augmentation des niveaux d'Arg-1 et d'IL-10) et diminué le niveau d'expression de TNF-α (marqueurs M1).</p> <p>-hBD3 délivrée dans les poches parodontales exposées à <i>P.gingivalis</i> a réduit la perte osseuse alvéolaire et le nombre d'ostéoclastes dans le parodonte.</p> <p>-hBD3 délivrée dans les poches parodontales exposées à <i>P.gingivalis</i> a réduit l'expression de molécules liées à la parodontite (MMP-9, IL-6, TNF-α) et augmenté l'expression d'IL-10.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Yamamichi et al. 2017 (94)	Amélogénine recombinante rM180. Evaluer les effets immunomodulateurs de l'amélogénine sur des macrophages U937 et des macrophages dérivés du sang périphérique humain. Etude des effets sur la polarisation des macrophages et identification des gènes induits par l'amélogénine.	<i>In vitro.</i> -Macrophages issus de monocytes humains issues de la lignée U937, incubés avec du PMA 24h. -Macrophages issus de monocytes humains CD14+ dérivés du sang périphérique incubés avec 25ng/ml de M-CSF pendant 7 jours.	-Les macrophages U937 différenciés avec le PMA ont été incubés avec 50 ng/ml de LPS d' <i>E.coli</i> , ou 20 ng/ml d'IL-4, ou 10 µg/ml amélogénine recombinante et 50 ng/ml LPS d' <i>E.coli</i> . -Les macrophages dérivés du sang périphérique ont été ou non pré-incubés avec de l'indométacine (10 µM) pendant 30 mn (inhibition de la voie de production de PGE2), puis stimulés avec soit 10 ng/ml de LPS d' <i>E.coli</i> , soit 20 ng/ml d'IL-4, soit 10 µg/ml d'amélogénine recombinante, soit LPS + amélogénine recombinante, soit 100 µg/ml de dérivés de la matrice amélaire (EMD) pendant 24 h.	- Puce à ADN : Profilage de l'expression génique et identification des changements significatifs de l'expression des ARNm. - Western blot : TNFAIP6 , SOD2 , STAT6, phosphoSTAT6 - RT-PCR : TNF-α, IL-6, TNFAIP6 , SOD2 , TGF-β1, PDGF-BB, VEGF-A, EP1, EP2, EP3, EP4, PTGS2. - Immunofluorescence et microscopie confocale : CD86, INOS, CD206 , CD163 et CD68 (quantification et observation morphologique des macrophages). - ELISA : production d'AMpC, de VEGF-A et de PGE2 intracellulaire et activation du facteur de transcription CREB. - Cytométrie de flux : CD11b et CD206 dans les macrophages dérivés du sang périphérique.	-L'amélogénine recombinantes augmente l'expression des gènes anti-inflammatoires dans les macrophages stimulés par le LPS d' <i>E.coli</i> après 24 h, alors qu'elle a temporairement régulé à la hausse la réponse inflammatoire à 4 h. -L'amélogénine a significativement amélioré l'expression des marqueurs des M2. La polarisation M2 induite par rM180 était associée à des changements morphologiques ainsi qu'à des productions de facteurs de croissance endothéliale (VEGF). -L'amélogénine stimule la PGE2 pour induire la polarisation des M2 via la voie de signalisation cAMP/CREB. -La stimulation des macrophages avec l'IL-4 ou les dérivés de la matrice amélaire (EMD) promeut la polarisation M2, augmentant notamment l'expression de CD206.
Almqvist et al.- 2012 (95)	- Amélogénines (protéines de la matrice de l'émail). -LPS. Examiner l'effet des amélogénines sur les macrophages dérivés de monocytes sanguins stimulés avec du LPS.	<i>In vitro.</i> Monocytes issus du sang périphérique humain. Macrophages non polarisés : obtenus par adjonction de GM-CSF.	Culture des macrophages incubés avec 10ng/ml de LPS et 10, 100 ou 1000 µg/ml d'amélogénines pendant 6, 24 et 72 h. Des groupes contrôles sans amélogénine, sans LPS ou avec de l'IL-4 ont aussi été observés.	- Cytométrie par multiplexage : éotaxine humaine, GM-CSF, IFN-a, IFN-c, IL-1β, IL-1RA , IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 , IL-12p40/p70, IL-13, IL-15, IL-17, IP-10, CCL2, MIG, MIP-1a, MIP1b, CCL5 et TNF-α. -ELISA : CCL18 . - Immunohistochimie : Evaluation de la viabilité cellulaire par mesure de lactate deshydrogénase.	-Effets anti-inflammatoire de l'amélogénine sur les macrophages: augmentation de la production de cytokines anti-inflammatoires et baisse de la production de cytokines pro-inflammatoires par rapport aux groupes contrôles. -L'amélogénine augmente CCL18 marqueur de détection de M2.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Li, Gege et al. - 2018 (82)	PMX205 , un antagoniste de C5aR, qui peut bloquer l'axe C5a-C5aR. Examiner les effets anti-inflammatoires du PMX205 sur des macrophages murins exposés à des extraits de gingipaïne et de <i>P.gingivalis</i> .	<i>In vitro</i> . Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw 264,7.	Les macrophages ont été cultivés pendant 24h avec différents substrats: 4U/l extraits de gingipaïne, <i>P.gingivalis</i> , <i>P.gingivalis</i> + 1µg/ml PMX205 et un groupe témoin sans substrat.	- RT-PCR : d'IL-6, TNFα, IL10 , TGF-β , INOS, IL23, Arg-1 . - ELISA : IL-10 , TGF-β1 , TNF-α et IL-6 émises par les macrophages. - Mesure de la présence de NO dans le surnageant (test de Griess). - Cytométrie de flux : Evaluation des capacités de phagocytose des macrophages. - Western blot : voie TLR/MyD88/NF-kB par mesure de la protéine MyD88.	-PMX205 a augmenté les niveaux d'expression de substances bactériostatiques (NO et IL-23) et des cytokines anti-inflammatoires (TGF-β1, IL-10 et Arg-1), mais aussi d'INOS. -PMX205 a réduit les niveaux d'expression des cytokines pro-inflammatoires TNF-α et IL-6 lorsque les macrophages ont été stimulés avec des extraits de gingipaïne ou <i>P. gingivalis</i> . -PMX205 a favorisé la phagocytose des macrophages et régulé à la baisse d'expression de MyD88.
Mizraji et al. -2018 (96)	Résolvine D2 (RvD2) en injection intrapéritonéale dilué dans une solution saline. Etudier les modifications qu'engendre la résolvine D2 sur les voies de signalisation impliquées dans la perte osseuse alvéolaire, sur l'axe RANKL/OPG, sur les cytokines régulatrices et les cellules T dans les lésions inflammatoires.	<i>In vivo</i> . Souris BALB/c ou B6.	Parodontite induite par gavage oral des souris avec une solution de carboxyméthyl-cellulose contenant <i>P.gingivalis</i> , trois fois tous les 2 jours pendant 6 jours. Les souris ont été réparties en 3 groupes: 1) Parodontite et injection de résolvine D2 (3 doses de 0,5 µg, suivies de 6 doses de 0,1 µg au cours des 2 semaines suivantes). 2) Parodontite avec injection de 150 µl solution saline stérile. 3) Souris témoins : gavages oraux sans <i>P.gingivalis</i> . Sacrifices à 6 semaines. Des prises de sang et des tests de présentation d'antigènes ex vivo ont aussi été réalisés.	- Mesure de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT . - FACS : détection des macrophages avec les marqueurs CD45+, F4/80+ et I-Ad+. - Western blot : IRF4 , IRF5. - RT-PCR : RANKL, OPG, IFN-γ, IL-1β, TNF-α, et IL-10 .	-La RvD2 favorise l'accumulation de M2 dans les tissus gingivaux. Augmentation du nombre de macrophages dans la gencive après le traitement par RvD2 et diminution du nombre de neutrophiles. Les macrophages présentaient des niveaux élevés de protéines du facteur de transcription IRF4, un adaptateur clé dans la polarisation M2, alors que les niveaux d'IRF5, un adaptateur clé dans la polarisation M1, ont été diminués. -RvD2 décale le rapport RANKL/OPG et empêche la perte d'os alvéolaire dans la parodontite expérimentale. La RvD2 diminue aussi l'activation des lymphocytes T, la réponse systémique des lymphocytes CD4 et inhibe l'inflammation gingivale. -La RvD2 diminue les niveaux d'ARNm d'IFN-γ, d'IL-1β et de TNF-α et augmente celui de l'IL-10 dans la gencive par rapport au groupe parodontite sans résolvine D2. -A 6 semaines, la gencive des souris traitées par RvD2 présentait une diminution des lymphocytes T CD4+ ainsi que des niveaux d'expression de RANKL inférieurs et des niveaux d'expression d'ostéoprotégérine plus élevés.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
He et al. - 2019 (97)	<p>Hydrogel de gélatine réticulée par glutaminase contenant : 250 ng d'IL-4 et 500 ng de SDF1a (CXCL12).</p> <p>Tester l'hypothèse que l'administration d'IL-4 et de SDF-1 (CXCL12) inclus dans un hydrogel de haute viscosité pourrait induire une polarisation des macrophages vers un phénotype M2, recruter des cellules souches et augmenter la régénération parodontale.</p>	<p><i>In vitro.</i> Macrophages dérivés de cellules de la moelle osseuse de rats Sprague-Dawley incubées avec 50 ng/ml de M-CSF pendant 7 jours.</p>	<p>-Les macrophages ont été cultivés dans des gels de transglutaminase seuls ou contenant d'IL-4 et/ou du SDF-1a pendant 1, 3 ou 7 jours.</p> <p>-Des cellules stromales médullaires ostéoinduites ont été cocultivées en contact direct ou en système transwell avec ou sans les macrophages dans des gels de transglutaminase et en présence ou non d'IL-4 et/ou SDF-1a afin d'évaluer l'induction de l'ostéogénèse.</p>	<p>-Immunofluorescence : Evaluation de la viabilité des cellules et détection de CD163, CD206, CCR7 et INOS (polarisation) et évaluation de la migration cellulaire dans l'hydrogel.</p> <p>-RT-PCR : TNF-α, iNOS, IL-1β, Arg-1 et CD206 (polarisation).</p> <p>- Dosage phosphatase alcaline et analyse histologique de la formation des nodules calcifiés : Evaluation des capacités d'ostéogénèse des cellules stromales ostéoinduites</p> <p>-Stéréomicroscopie : Evaluation de la migration cellulaire dans les systèmes de culture transwell.</p>	<p>-Les macrophages étaient plus susceptibles de se polariser vers un état M2 en présence d'IL-4 et donc influençaient positivement la différenciation ostéogénique des cellules stromales en culture directe et indirecte.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Rats Sprague-Dawley.</p>	<p>Création de défauts parodontaux maxillaires sur des rats, qui ont été divisés en 5 groupes de traitement: (1) sans implantation de gel/cytokine, (2) gel seul, (3) gel+IL-4, (4) gel+SDF-1a et (5) gel + IL-4 + SDF1a. Chaque zone défectueuse a été immédiatement infusée avec 10 μL des traitements injectables. Sacrifices à 1, 4 ou 8 semaines.</p>	<p>-Analyse de la qualité et de la quantité osseuse par micro-CT.</p> <p>-Analyse histologique des zones de défauts osseux: les hauteurs des défauts, attachement du tissu épithélial/conjonctif, la résorption radiculaire, la régénération du ciment et la zone de régénération osseuse.</p> <p>-Immunofluorescence : CD44, CD206, CCR7 (polarisation).</p>	<p>-Davantage de nouvel os s'est formé chez les animaux qui ont reçu les greffes contenant les 2 cytokines à 4 semaines.</p> <p>-Les macrophages ont été recrutés pour tous les gels transplantés, après une semaine, plus de M1 ont été trouvés dans les groupes sans IL-4, tandis que la présence d'IL-4 était plus susceptible d'entraîner une polarisation M2.</p> <p>-Les gels contenant à la fois de l'IL-4 et du SDF-1a conduisent à une récupération de l'attachement et la régénération tissulaire hybride. Cependant aucune différence n'a été mesurée à 8 semaines.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Choe et al. 2019 (84)	- Telmisartan (bloqueur du récepteur de l'angiotensine II). Explorer l'influence du telmisartan sur l'état inflammatoire des macrophages activés avec du LPS de <i>P.intermedia</i> , un pathogène parodontal, ainsi que les mécanismes moléculaires impliqués.	<i>In vitro</i> . Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.	-Les macrophages ont été cultivées avec des doses croissantes de Telmisartan (20, 40, 60 et 80 µM) pendant 24h ou 48h en présence ou non de LPS de <i>P.intermedia</i> . Certaines cultures ont été mise en présence de différentes doses de SnPP (un inhibiteur de HO-1).	- Test de viabilité cellulaire . - Mesure de la présence de NO dans le surnageant (test de Griess). - ELISA :IL-1β. - RT-PCR : INOS, IL-1β, HO-1, PPAR-γ, Arg-1 , Ym-1 . - Immunoblot : STAT1, STAT3, P38 et JNK1/2. - Exploration de l'activation de la voie NF-κB par dosage de la phosphatase alcaline.	-Le Telmisartan a inhibé la génération de NO par INOS et d'IL-1β induits par le LPS de <i>P.intermedia</i> dans les cellules RAW264.7, indépendamment de l'activation de PPAR-γ. -Le Telmisartan a régulé à la hausse les marqueur Arg-1 et Ym-1 associés à M2 dans les cellules activées par le LPS. -L'activation de NF-κB ainsi que la signalisation JNK et p38 induite par le LPS n'a pas été modulée par Telmisartan, mais il a inhibé la phosphorylation de STAT1 et STAT3 induite par le LPS. -Le Telmisartan a provoqué une augmentation significative de l'expression de HO-1 dans les cellules stimulées par le LPS, et son action inhibitrice contre la production de NO a été inversée par traitement avec SnPP, un inhibiteur de HO-1.
Li, Xue et al. -2019 Novel (85)	Structure métallo-organique de néoparticule de zéolithe imidazole dopée ou non avec du cérium (ZIF-8 et ZIF-8:Ce). Evaluer les effets de différentes structures ZIF-8 dopée ou non avec du cérium sur les sécrétions inflammatoires et la polarisation des macrophages in vitro.	<i>In vitro</i> . Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.	Culture des macrophages avec 30 µg/ml de ZIF-8 ou ZIF8:Ce et 1µg/ml de LPS de <i>P. gingivalis</i> pendant 24 heures. Des macrophages stimulés par le LPS sans traitement ont servi de témoin négatif.	- RT-PCR : IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-10 , Arg-1 et TGF-β . - Immunofluorescence : voie NF-κB dans les macrophages et translocation de p65.	-ZIF-8:Ce10% a augmenté la polarisation M2 des macrophages et favorisé la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires par rapport au groupe contrôle. -ZIF-8:Ce10% a exercé des effets anti-inflammatoires bien meilleurs en inhibant l'expression des facteurs pro-inflammatoire en restreignant la translocation de la sous-unité NF-κB/p65 par rapport au groupe contrôle.

Auteurs	Eléments en contact des Ms et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Ni et al. - 2019 (98)	Nano-particules d'or (AuNPs) de diamètres de 5, 13 ou 45nm. Etudier l'effet des AuNPs sur la polarisation des macrophages, et les effets sur la cémentogénèse et l'ostéogénèse des hPDLSC in vitro, puis étudier leur potentielle application sur la régénération parodontale et le traitement de la parodontite In vivo.	<i>In vitro</i> . Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw 264,7.	-Les macrophages ont été pré-incubés avec 10 µM AuNPs de différents diamètres pendant 6h. Ensuite, du LPS (20 ng/ml) a été ajouté au milieu de culture pendant 3h. groupes contrôles : macrophages cultivés en milieu de culture sans traitement d'AuNPs ou de LPS. -Les hPDLSC ont été cultivées avec ou sans LPS et avec les milieux de culture des macrophages (aucun ajout, macrophages non traités, traités avec LPS, LPS+AuNPs ou AuNP) pendant une nuit avant de remplacer les milieux par des milieux de différenciation cémentogénique ou ostéogénique.	- RT-PCR : TNF- α , IL-6, iNOS (M1) et IL10 , Arg-1 , TGF-β (M2), ALP, Runx-2, COL-1 et OCN, CAP et CEMP-1 (facteurs ostéogéniques et cémentogéniques des hPDLSC), BMP-2, RANKI et OPG. - ELISA : TNF- α , IL-6, IL-10 et BMP-2 dans les surnageants cellulaires. - Western blot : INOS et Arg-1 (polarisation des macrophages) et ALP, Runx-2, COL-1 et OCN, CAP et CEMP-1 (facteurs ostéogéniques et cémentogéniques dans les hPDLSC) - Cytométrie de flux : CD86. - Mesure de l'activité de la phosphatase alcaline et de la présence de nodules de minéralisation.	-Les AuNPs de 45nm ont montré les capacités anti-inflammatoires et de modulation de la polarisation des macrophages : sans stimulation LPS, les AuNPs ont élevé le niveau d'ARNm de TNF- α , l'IL-6 et iNOS liés à M1 mais ont également facilité l'expression de l'Arg-1, IL-10 et TGF- β lié à M2. Les AuNPs de 13 nm et 45 nm inhibent l'augmentation d'INOS, IL-6 et TNF- α induite par la stimulation par LPS et augmentent la production d'Arg-1, IL-10 et TGF- β . -Les AuNPs n'ont pas eu de d'impact significatifs sur les niveaux d'expression de CD206. -Les AuNPs avec les trois diamètres possèdent tous la capacité d'inhiber le "switch" phénotypique de M2 vers M1 induit pas le LPS. -Les AuNPs ont amélioré la différenciation ostéogénique et cémentogène des hPDLSC via l'interaction entre les macrophages conditionnés par les AuNPs et par leur action directe dans le système de coculture macrophage-hPDLSCs.
		<i>In vivo</i> . Rats Sprague-Dawley.	-Des fenestrations osseuses ont été réalisées sur 20 rats et recouvertes de membranes de collagènes portant des PDLSC. Ces PDLSC étaient cultivées avec le surnageant des macrophages (1) cultivés seuls, (2) traités au LPS ou (3) traités avec LPS et AuNPs de 45nm de diamètre + ajout de AuNPs dans la culture des PDLSC. Sacrifices des rats à 3 semaines. -Un modèle de parodontite induite par ligature a été mis en place sur 18 rats, les ligatures étaient traitées ou non avec AuNPs de 45 nm de diamètre. Des rats ayant subi la pose et le retrait immédiat de ligature ont servi de groupe contrôle. Analyses à 2 semaines.	- Analyse histologique : Evaluation de l'os alvéolaire, du ciment et du ligament parodontal nouvellement formé (coloration H&E et de Masson) et de l'activité ostéoclastique (TRAP). - Micro-CT : Observer les changements de morphologie, de quantité et de qualité de l'os alvéolaire. - Immunohistochimie : INOS.	(Pas directement de recherche de M2 dans la partie in vivo) -Le modèle de fenestration osseuse était cohérent avec les études <i>in vitro</i> , avec une plus grande formation d'os, de ciment et de ligament nouvellement formés dans les membranes contenant des cellules souches stimulées avec les AuNPs par rapport au groupe stimulés avec le LPS. Les AuNPs ont inhibé la progression de la parodontite induite par la ligature chez le rat : l'injection d'AuNPs a atténué la perte osseuse alvéolaire et diminué le nombre d'ostéoclastes. Les AuNPs pourraient inhiber cette réponse inflammatoire et réguler négativement le niveau d'iNOS.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
<p>Wu Rui-Xin et al. 2019 (99)</p>	<p>Echafaudages (bioscaffold) de particules de matrices extra-cellulaires (MEC) dérivés d'os porcins et de gels de MEC.</p> <p>Etudier l'influence d'un échafaudage contenant des particules de MEC sur les macrophages et évaluer son potentiel à favoriser la régénération tissulaire dans un modèle de défaut parodontal.</p>	<p><i>In vitro.</i> Macrophages dérivés de cellules de la moelle osseuse de rats Sprague-Dawley stimulées avec 50 ng/ml de M-CSF pendant 7 jours.</p>	<p>-Culture des macrophages sur différentes formes de MEC (gels contenant des particules ou particules seules).</p>	<p>-Observation de la morphologie des macrophages par microscopie. -RT-PCR : Tnf, IL-1β, INOS, Ccr7, CD163 et CD206 (polarisation). -ELISA : TNF-α, IL-1β et IL10 (ELISA) dans le surnageant. - Analyse colorimétrique : Détection du NO avec kit dosage de nitrate.</p>	<p>-Après 24h, les macrophages en contact avec les particules présentaient plus de filopodes évidents en contact des gels. -Les macrophages sur les particules de MEC avaient une plus grande tendance à la polarisation M1, tandis que les macrophages sur les gels contenant les particules de MEC étaient plus enclins à la polarisation M2.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Rats Sprague Dawley.</p>	<p>Réalisation de défauts osseux maxillaires sur des rats. Les défauts ont été comblés avec soit (1) des particules de MEC, soit (2) des gels contenant les particules de MEC ou (3) n'ont pas été comblés (contrôle) et les lambeaux ont été repositionnés et suturés. Sacrifices à 8 semaines.</p>	<p>-Mesure de l'os nouvellement formé : immunofluorescence par marquage à la tétracycline au 14ème jour et calcéine au 42ème jour postopératoire et du volume osseux par micro-CT.</p>	<p>-Les groupes de particules de MEC et les groupes de gel-MEC ont montré une meilleure tendance à la guérison que le groupe témoin. Le groupe gel-MEC en particulier a montré des améliorations significatives à l'analyse micro-CT. -Aucun de ces groupes n'a présenté de résultats de réparation souhaitable, et de grandes zones du défaut sont restées.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Zhuang et al. - 2019 (100)	<p>-Micro-particules de PGLA libérant du CCL2 (10 ng/ml). <i>In vivo</i> injectées dans une solution de PBS avec 2 % de carboxyméthyl-cellulose.</p> <p>Etudier l'effet de CCL2 sur l'induction de la polarisation des macrophages vers le phénotype M2, ainsi que les effets de microparticules libérant du CCL2 sur la prévention de la résorption osseuse alvéolaire, dans un modèle murin de parodontite.</p>	<p><i>In vitro</i>.</p> <p>-Macrophages murins issus de la lignée Raw264,7. -Macrophages issus de cellules de la moelle osseuse de souris CD1 stimulées avec 10 ng/ml de M-CSF.</p> <p>M1: Culture des cellules Raw 264,7 avec 100 ng/ml de LPS pendant 24 h.</p>	<p>-Culture des macrophages dérivés de la moelle osseuse dans un milieu normal ou contenant 10 ng/ml de CCL2 pendant 48 h après 1 h de privation de sérum.</p> <p>-Culture des M1 et des macrophages Raw 264,7 non polarisés dans un milieu contenant 10 ou 15 ng/ml de CCL2 sans sérum pendant 24 ou 48 h.</p> <p>-Culture des macrophages Raw 264,7 dans un système transwell avec un milieu sans sérum contenant 10 ng/ml de peptide CCL2 de souris recombinant ou 10 ng/ml de microparticules libérant du CCL2, afin d'évaluer la migration cellulaire. Un milieu contenant des microparticules vierges a servi de contrôle.</p>	<p>-Cytométrie de flux : CD86 et CD206 (M1 et M2). -ELISA : TNF-α produit par les macrophages. -Immunofluorescence : migration cellulaire dans le système transwell par coloration DAPI.</p>	<p>Le CCL2 augmente le nombre de M2, diminue les sécrétions de TNF-α et améliore la chimiotaxie des cellules RAW264.7 vers les microparticules de CCL2.</p>
		<p><i>In vivo</i>. Souris BALB/c de type sauvage.</p>	<p>-Dans un modèle murin de parodontite induite par inoculation orale de <i>P.gingivalis</i>, 50μL de solution contenant 5 mg/ml de microparticules ont été injectés dans les tissus gingivaux au niveau des faces mésiales et distales des molaires maxillaires bilatéralement à J1, J20 et J40 après la première inoculation bactérienne. Sacrifices à J60.</p> <p>-Dans un modèle murin de parodontite induite par ligature, 50μL de solution contenant 5 mg/ml de microparticules a été injectée dans les tissus gingivaux entourant la dent ligaturée du maxillaire gauche le jour même du placement de la ligature, et les souris ont été sacrifiées à J8.</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT. -RT-PCR : IL-1RA et RANKL dans les tissus. -Analyse histologique et immunofluorescence : F4/80 et CD206 (M2) et présence ostéoclastes dans les tissus par coloration TRAP.</p>	<p>-Réduction significative, dans les 2 modèles de parodontite, de la perte osseuse alvéolaire par le traitement CCL2+MP par rapport aux groupes traités avec les microparticules vierges et parodontite sans traitement.</p> <p>-Augmentation significative du sous-ensemble M2 et diminution des M1 dans le groupe traité par microparticules de CCL2 dans la parodontite induite par <i>P.gingivalis</i>.</p> <p>-Les deux modèles ont montré une diminution du nombre d'ostéoclastes après traitement par les microparticules de CCL2 dans la zone de l'os alvéolaire.</p> <p>- Augmentation significative de l'expression de l'IL-1RA et diminution de l'expression de RANKL dans le groupe traité avec CCL2 dans le modèle induit par ligature.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Figueiredo et al. -2020 (101)	Alcool péryllique (POH). Déterminer les propriétés antibactériennes et les modulations immunitaires du POH.	<i>In vitro.</i> Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7. Stimulation M1 et M2 lors de l'expérience	-Culture des macrophages avec du POH à des concentrations de 10µM, 25µM, 50µM, 100µM ou 250µM pendant 24, 48 et 72 h. -Culture des macrophages avec 100µM ou 100µM de POH pendant 24 h, puis polarisation en M1 (1 µg/ml de LPS et 100 ng/ml d'IFN-γ) ou M2 (40 ng/ml d'IL-4) pendant 24h. -Pour évaluer la production de ROS, les macrophages ont été chargés avec un capteur de ROS puis stimulés avec 10µM et 100µM de POH pendant 30mn, puis avec 50 ng/ml de PMA ou 10 µg/ml LPS d' <i>E.coli</i> pendant 20 mn.	Test de cytotoxicité : test d'activité enzymatique mitochondriale et test au bleu trypan. Test de prolifération cellulaire. Cytométrie de flux : Evaluation de la production de ROS. RT-PCR : TNFα et Arg-1 (polarisation).	-Aucune cytotoxicité jusqu'à 100 µM n'a été constatée sur les macrophages. -Le POH n'a pas affecté l'expression du TNF des cellules non stimulées ou des M1, alors qu'il a réduit l'expression de l'arginase-1 dans les macrophages M2. -Le POH a augmenté la production de ROS dans les cellules non stimulées. La production de ROS induite par le PMA n'a pas été affectée par le POH, alors que 100 µM de POH réduisaient significativement les ROS induits par LPS.
Galarraga-Vinueza et al. -2020 (102)	Concentrés de canneberge. Evaluer les effets de différents dérivés de concentrés de canneberge sur la viabilité cellulaire, les propriétés antiinflammatoires, l'activité et les effets de polarisation des macrophages.	<i>In vitro.</i> Macrophages issus de cellules de la lignée THP-1 stimulés avec 10 ng/ml de PMA pendant 72h.	Des macrophages ont été exposés à des concentrations de canneberge de 25, 50 et 100 µg/ml pendant 2 minutes, 1 heure et 24 heures. Puis, les surnageants de culture ont été remplacés par des produits frais sans sérum. Le milieu et les macrophages ont été stimulés avec 1 µg/ml de LPS d' <i>E coli</i> pour 24 heures. Les macrophages sans stimulation LPS ont servi de témoin.	ELISA : IL-8, IL-1β, IL-6 et IL-10 dans le surnageant. Immunofluorescence : CD68, CCR7 et CD206 (M1 et M2).	-L'expression d'IL-8 et IL-6 pro-inflammatoire a été régulée à la baisse dans les macrophages stimulés par le LPS et par des concentrés de canneberge à 50 et 100 µg/ml. -Régulation à la hausse de l'expression de l'IL-10 anti-inflammatoire dans les macrophages stimulés par le LPS et par les concentrés de canneberge à 100 µg/ml après 24 heures d'exposition. -La polarisation M1 a considérablement diminué lors de l'exposition au LPS et aux des concentrés de canneberge. -augmentation des M2 lors de la stimulation par le LPS et des concentrés de canneberge pendant 1 et 24 heures.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Mulhall et al. -2020 (103)	<p>Akkermansia muciniphila, bactéries entières ou <i>Amuc_1100</i> une protéine membranaire de cette bactérie.</p> <p>Etudier l'impact de l'administration orale d'<i>Akkermansia muciniphila</i> et de ses protéines de type pili <i>Amuc_1100</i> sur la réponse immunitaire innée dans un modèle de parodontite induite par <i>P.gingivalis</i>.</p>	<i>In vitro</i> . Macrophages issus de la moelle osseuse de souris C57/BL6.	Les macrophages issus de la moelle osseuse de souris ont été cultivés avec <i>P.gingivalis</i> ou <i>A. muciniphila</i> dans un rapport de 20:1 ou 40:1 bactéries par macrophage ou avec et la protéine de type pili <i>Amuc_1100</i> (1 µg/ml ou 10 µg/ml) pendant 8h. Les cellules et les surnageants ont été collectés.	- ELISA : CXCL10, TNF-α et IL-10 dans le surnageant. - RT-PCR : CXCL10, TNF-α et IL-10 .	-L'expression de l'IL-10 au niveau de l'ARN et des protéines était significativement augmentée dans les macrophages exposés à <i>A.muciniphila</i> ou <i>Amuc_1100</i> .
		<i>In vivo</i> . Souris C57/BL6.	Les souris ont été séparées en 6 groupes : (1) PBS (témoin), (2) <i>P.gingivalis</i> seul, <i>A.muciniphila</i> seule, (3) <i>A.muciniphila</i> et <i>P.gingivalis</i> , (4) <i>Amuc_1100</i> seul, et (5) <i>Amuc_1100</i> et <i>P.gingivalis</i> . L'administration des bactéries a eu lieu par voie orale 3 jours par semaine pendant 6 semaines, sacrifices à 6 semaines. Analyses des et des macrophages des nœuds lymphatiques.	- Mesure de la perte osseuse alvéolaire par analyse morphométrique . - Cytométrie de flux : CD11b , CD80 et CD206 (polarisation). - ELISA : CXCL10, TNF-α et IL-10 . - RT-PCR : CXCL10, TNF-α et IL-10 .	-L'analyse morphométrique a démontré que l'ajout d' <i>A.muciniphila</i> ou d' <i>Amuc_1100</i> a réduit de manière significative la perte osseuse alvéolaire induite par <i>P.gingivalis</i> . Cette diminution de la perte osseuse était associée à une augmentation de la présence de M2 dans les ganglions lymphatiques. -L'expression de l'IL-10 au niveau de l'ARN et des protéines était significativement augmentée dans les tissus gingivaux des souris.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Shen, Z et al. -2020 (93)	<p>Exosomes de cellules souches issues de la pulpe dentaire contenus ou non dans un hydrogel à base de chitosan.</p> <p>Déterminer si les exosomes de cellules souches issues de la pulpe dentaire contenus dans un hydrogel de chitosan peuvent réduire les lésions épithéliales et accélérer la cicatrisation osseuse alvéolaire dans la parodontite chez la souris et réduire l'inflammation parodontale en facilitant la conversion des macrophages d'un phénotype pro-inflammatoire à un phénotype anti-inflammatoire.</p>	<p><i>In vitro.</i> Ms issue de la moelle osseuse de souris C57BL/6J.</p> <p>M1: les MO dérivés de la moelle osseuse ont été induits avec un milieu contenant 100 ng/ml de LPS et 10 ng/ml d'IFN-γ.</p>	<p>Les macrophages stimulés avec LPS et IFN-γ ont été incubés avec du chitosan seul, du chitosan contenant des exosomes de cellules souches, miARN (miR-1246) mimétique ou inhibiteur pendant 24 h.</p>	<p>-Immunofluorescence : Analyse de l'internalisation des exosomes par les macrophages.</p> <p>-Cytométrie de flux : CD11b, F4/80, Arg-1, INOS, CD206 et CD86 (polarisation).</p> <p>-RT-PCR : Arg-1, CD206, CD86, CD163, INOS, G-CSF, IL-17, IL- 12, IFN-β, IL-27, IFN-γ, IL-1α, IL-10, IL-6, IL1β, IL-23, U6, mir1246, miR-100-5p, miR-21-5p, miR-221-3p, let-7b5p.</p>	<p>- MiR-1246 dans les exosomes facilite la conversion des macrophages d'un phénotype pro-inflammatoire vers un phénotype anti-inflammatoire in vitro.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Souris C57BL/6J.</p>	<p>Induction de parodontite par ligature chez des souris réparties en groupes : (1) parodontite + 50 μg d'exosomes issus de cellules souches de la pulpe dentaire, (2) parodontite + chitosan contenant ces exosomes (3) parodontite + volume égal de PBS/chitosan, (4) parodontite + l'antagomir 1246 avec le chitosan contenant les exosomes. Les traitements ont été injectés localement après retrait de la ligature. Sacrifices 4 semaines après le retrait des ligatures.</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT.</p> <p>-Immunofluorescence : Quantification des M2 avec CD206⁺.</p> <p>-Histochimie : coloration H&E des maxillaires et quantification des ostéoclastes par coloration TRAP.</p> <p>-Cytométrie de flux : CD63, CD81, CD11b, F4/80, Arg-1, INOS, CD206 et CD86 (marqueurs macrophages).</p> <p>-RT-PCR : Arg-1, CD206, CD163, CD86, INOS, G-CSF, IL-17, IL- 12, IFN-b, IL-27, IFN-γ, IL-1α, IL10, IL-6, IL-1β, IL-23, U6, mir1246, miR-100-5p, miR-21-5p, miR-2213p, let-7b-5p.</p> <p>-Western blot : voies de signalisation NF-kB et P38 MAPK.</p> <p>-Cytométrie par multiplexage : Analyse des profils de la production de cytokines.</p>	<p>-L'hydrogel de chitosan contenant des exosomes a facilité la conversion d'un phénotype M1 vers M2 avec une augmentation des macrophages CD206⁺, Arg-1⁺ et CD163⁺ et une baisse de ceux possédant CD86.</p> <p>-Les exosomes+ chitosan ont induit une réduction de la perte osseuse alvéolaire. Les couches épithéliales des tissus parodontaux étaient plus épaisses, le nombre de cellules inflammatoires infiltrantes était diminué, et la quantité d'os alvéolaire était plus important dans ce groupe que dans les autres.</p> <p>-L'hydrogel a significativement réduit les niveaux de cytokines pro-inflammatoires et de la signalisation NF-kB p65 et p38 MAPK dans les tissus parodontaux.</p> <p>-L'inhibition de MiR-1246 a diminué le nombre de M2 et régulé à la hausse le nombre d'ostéoclastes et l'activation de NF-kB p65 et p38 MAPK par rapport au groupe hydrogel seul.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Bai et al. -2021 (104)	<p>Nanoparticules de silice mésoporeuse (PDA) chargées en chlorhydrate de minocycline et recouvertes de polydopamine (PDA@MSNs@MH). Le chlorhydrate de minocycline (MH) et les nanoparticules (PDA@MSNs) seuls ont aussi été testés.</p> <p>Etudier les effets d'un système piègeur de ROS PDA@MSNs@MH, sur la polarisation des macrophages et ses effets synergiques pour soulager l'inflammation parodontale.</p>	<p><i>In vitro.</i> Macrophages murins issus de la lignée Raw264,7.</p> <p>M1: les macrophages Raw 264,7 ont été stimulés avec 20 µg/ml de LPS pendant 24h.</p>	<p>-Les macrophages Raw 264,7 ont été cultivés avec PDA@MSNs@MH (0, 50, 100 et 250 µg/ml) ou avec les nanoparticules seules (100 µg/ml) ou le MH seul (100 µg/ml) pendant 24 h.</p> <p>-Les macrophages Raw 264,7 polarisés M1 ont été cultivés avec soit du MH, soit du PDA@MSNs, soit avec du PDA@MSNs@MH (100 µg/ml) pendant 12h.</p>	<p>-Histochimie : Evaluation de la cytotoxicité sur les macrophages par test CCK-8.</p> <p>-Cytométrie de flux : CD80 et CD206 (polarisation) et mesure de ROS intracellulaire.</p> <p>-ELISA : de iNOS, IL-10, TNF-α et IL-6.</p> <p>-Western blot : de TNF-α, IL-6, iNOS et Arg-1.</p> <p>-Immunofluorescence : Mesure du niveau de ROS intracellulaire.</p>	<p>- PDA@MSNs@MH permet de piéger et d'éliminer les ROS lors de la co-incubation.</p> <p>-PDA@MSNs@MH induit la polarisation M2 des macrophages et régule la libération de facteurs anti-inflammatoires : augmentation des marqueurs M2 (CD206, Arg-1 et IL-10) par rapport à ceux non traités et ceux traités avec les nanoparticules seules ou avec le MH seul.</p> <p>-PDA@MSNs@MH diminue les marqueurs M1 (CD80, iNOS) et les facteurs inflammatoires (IL-6, TNF-α) induits par le LPS.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Rats Sprague Dawley.</p>	<p>Répartition des rats en 5 groupes (N = 4/groupe) : (1) contrôle (les ligatures ont été placées, mais retirées immédiatement), (2) parodontite sans traitement, (3) parodontite avec traitements avec MH, (4) parodontite + PDA@MSN ou (5) parodontite + PDA@MSN@MH. Traitement tous les 3 jours pendant 4 semaines. Sacrifice à 4 semaines.</p> <p>Parodontite induite par ligature.</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT.</p> <p>-Immunohistochimie : Détection de TNF-α et iNOS dans les maxillaire et coloration H&E.</p>	<p>-L'efficacité thérapeutique synergique de PDA@MSNs@MH était significativement plus efficace que PDA ou MH seuls pour empêcher la résorption osseuse et pour inhiber les niveaux d'iNOS et de TNF-α en les ramenant à des niveaux proches du groupes témoin malgré l'induction de la parodontite.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Chen, Mei-Hua et al. - 2021 (86)	<p>Dimethyl oxalylglycine (DMOG)</p> <p>Evaluer l'impact du DMOG sur l'inflammation et la résorption osseuse et exploration de ces effets moléculaires sur les macrophages en évaluant les voies de signalisation HIF-1α et NF-κB, afin de mettre en évidence de nouvelles cibles thérapeutiques pour le traitement de la parodontite.</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>-Macrophages murins issus de la lignée Raw264,7.</p> <p>-BMDM de souris C57BL/6J.</p> <p>M0 : les macrophages issus de la moelle osseuses ont été stimulés pendant 3 jours avec 20 ng/ml de CSF.</p>	<p>- Les macrophages Raw 264,7 ont été stimulés ou non avec 1 μg/ ml de LPS d'<i>E.coli</i> en présence de 0 μM, 250 μM ou 500 μM de DMOG pendant 24 h.</p> <p>-Les macrophages issus des cellules de la moelle osseuse de souris ont été traités avec 1 μg/ml de LPS d'<i>E.coli</i> et de 250 μM de DMOG pendant 24 h.</p>	<p>-RT-PCR : Arg-1, CD206, IL-4, IL-10, TGF-β, CCL2, INOS, IL6, IL1β, tnf, Retnla, ptgs2 et CD86.</p> <p>-Western blot : Mesure de HIF-1α et NF-κB P65 phosphorylé ou non.</p> <p>-Cytométrie de flux et immunofluorescence: CD86 et CD206 (polarisation).</p>	<p>-Le DMOG inhibe la polarisation M1 des macrophages RAW264.7 et des BMDM et réduisait l'expression de TNF-α, IL6, CD86 et CCL2. Aucun changement dans l'expression des marqueurs associés à M2 (TGF-β, IL-4 et FIZZ-1) a été observé.</p> <p>-La coloration par immunofluorescence et la cytométrie en flux ont confirmé un pourcentage inférieur de cellules F4/80+ CD86+ après traitement DMOG.</p> <p>-La phosphorylation de la voie NF-κB a été inhibée par le DMOG avec un niveau plus élevé d'expression de HIF-1α.</p>
		<p><i>In vivo.</i></p> <p>Souris C57BL/6.</p>	<p>Les souris ont été divisées en 3 groupes : (1) non traitées sans induction de parodontite (n = 5), (2) parodontite, traitées avec PBS (n = 10), et (3) parodontite, traitées avec DMOG (1,25 mg)(n = 10). Les traitements étaient administrés par voie intrapéritonéale à J3 après la pose des ligatures et ont été administrés quotidiennement jusqu'à leur sacrifice à J8.</p> <p>Parodontite induite par ligature pré-trempée dans du dérivé de LPS d' <i>E.coli</i>.</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT.</p> <p>-Immunohistochimie : Détection de l'activité de HIF-α.</p> <p>-Histochimie : Mesure de l'activité ostéoclastique par coloration TRAP.</p> <p>-Immunofluorescence : détection de CD86 et CD206 chez les macrophages F4/80.</p> <p>-RT-PCR : Arg-1, CD206, Retnla, IL-4, IL10, TGF-β, CCL2, INOS, IL6, IL1β, tnf, ptgs2 et CD86.</p>	<p>-Le DMOG a induit une diminution de la résorption osseuse alvéolaire dans le modèle de parodontite, avec une augmentation significative du volume osseux alvéolaire /volume tissulaire (BV/TV) et de la densité minérale osseuse.</p> <p>-Le DMOG a diminué le rapport M1/M2 (CD86+/CD206+) dans les tissus parodontaux, associé à une régulation négative des cytokines pro-inflammatoires TNF-α et IL-6 et une augmentation des niveaux de facteurs anti-inflammatoires IL-4 et IL-10.</p> <p>-DMOG a favorisé le nombre de cellules HIF-1α-positives dans les tissus parodontaux.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Choe et al. -2021 (83)	Nifédipine (inhibiteur calcique). Explorer l'influence de la nifédipine sur la génération de médiateurs pro-inflammatoires par les macrophages murins activés par le LPS de <i>P.intermedia</i> , ainsi que les mécanismes associés.	<i>In vitro</i> . -Macrophages murins issus de la lignée Raw264,7. -Macrophages murins (BALB/c) péritonéaux isolés après administration de 2 ml de thioglycolate à 4%.	Les macrophages ont été cultivés avec différentes doses de nifédipine pendant 15min, 30min, 3h, 4h, 12h, 24h ou 48h avec ou sans LPS de <i>P.intermedia</i> . Dans certaines cultures du SnPP (un inhibiteur de HO-1) a été ajouté.	- Immunochimie : Mesure de NO par réactif de Griess et de l'activation de la voie NF-kB par dosage de la phosphatase alcaline sécrétoire. - ELISA : IL-1 β dans le surnageant. - RT-PCR : iNOS, IL-1 β , Arg-1 , Ym-1 , FIZZ1 , PPAR- γ , HO-1, TGF-β . - Immunoblot : p38, JNK, I κ B- α , STAT1, STAT3, iNOS et HO-1.	-Les cellules stimulées par LPS et exposées à la nifédipine ont eu une augmentation des niveaux d'ARNm d'Arg-1, Ym-1, FIZZ1 et TGF- β , marqueurs de la polarisation des M2. -La nifédipine a nettement supprimé la génération de NO et d'IL-1 β dérivés de l'iNOS, ainsi que leur expression génique dans les macrophages murins activés par <i>P.intermedia</i> .
Liu, Zi-Qi et al. -2021 (106)	Membranes composées de fibres PLGA (acide polylactiquecoglycolique) chargées de DMOG (diméthylloxalyglycine) et de nSi (nanosilicate) . Evaluer les capacités immunomodulatrices de membranes composées de fibres PLGA chargées de DMOG et de nSi sur la régénération de l'os parodontal, dans un modèle de défaut osseux parodontal chez le rat.	<i>In vivo</i> . Rats Wistar.	Création d'un défaut osseux chez 60 rats répartis en cinq groupes: (1) aucun traitement (témoin négatif, NC), (2) membrane PLGA, (3) membrane nSi-PLGA, (4) membrane DMOG-PLGA et (5) membrane DMOG/nSi-PLGA. Sacrifices à 1 ou 2 semaines post-opératoires.	- Evaluation de régénération osseuse par micro-CT . - Analyse histologique : Evaluer l'infiltration des cellules inflammatoires et de la réparation osseuse par coloration H&E. - Immunohistochimie : CD11b, iNOS, CD206 . - Immunofluorescence : CD40L (membre de la famille des super ligands de TNF α) et CD11b.	-Le DMOG/nSi-PLGA a induit plus d'os nouvellement formé, et moins de cellules inflammatoires ont été trouvées que dans les autres groupes aux semaines 1 et 2. -Après 2 semaines, le DMOG/nSi-PLGA présentait des capacités de régénération osseuse supérieures par rapport aux autres groupes. Le groupe DMOG/PLGA a également favorisé la réparation osseuse. Le groupe nSi-PLGA a obtenu plus d'os nouvellement formé que les groupes PLGA et NC. -1 semaine après l'intervention, le DMOG/nSi-PLGA induisait plus de cellules présentant CD206 et moins de cellules présentant INOS que les autres groupes. -2 semaines après l'intervention, tous les groupes ont montré une diminution des macrophages polarisés (INOS ou CD206), mais la baisse de M1 était plus importante tout comme l'augmentation du nombre des M2 dans le groupe DMOG/nSiPLGA.

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Ding et al. - 2021 (105)	<p>Echafaudages ITE core/shell fibreux à base d'acides poly (lactide-co-glycolide)/ poly (L-lactique) (PLGA/PLLA) avec libération de bFGF (facteur de croissance des fibroblastes) et de BMP-2 (facteur de croissance osseuse de la super famille des TGF).</p> <p>Etudier les propriétés ostéoimmuno-modulatrices et angiogéniques de l'échafaudage iTE, libérant du b-FGF et du BMP-2, afin d'obtenir une polarisation M2.</p>	<p><i>In vitro.</i> Macrophages murins issus de la lignée Raw264,7. Activation inflammatoire des macrophages dans un milieu contenant 100 ng/ml de LPS.</p>	<p>-Les macrophages activés ou non par LPS ont été ensemencés sur échafaudage contrôle et sur échafaudage iTE pendant 24h. -Les macrophages stimulés par les membranes ont été ensemencés avec des PDLSC pendant 7 jours afin d'évaluer l'influence sur la capacité ostéogénique des PDLSC.</p>	<p>- Immunofluorescence et cytométrie de flux : CD206 et iNOS (polarisation). -RT-PCR : TNF-α, iNOS, Arg-1, CD206, IL-10, IL-1β et TGF-β (polarisation macrophages) et ALP, Runx2, OCN et OPN des cellules souches du ligament parodontal. -ELISA : IL-10, TGF-β, IL-1β et TNF-α. -Analyse de la morphologie des macrophages par microscopie électronique à balayage.</p>	<p>-L'échafaudage ITE présentait des capacités angiogéniques intéressantes <i>in vitro</i>. -L'échafaudage ITE a significativement diminué la sous-population de M1 (iNOS) après stimulation par LPS par rapport aux autres groupes. La proportion de M2 (CD206+) était régulée à la hausse avec l'échafaudage-ITE mais est restée inchangée dans les autres groupes. -L'échafaudage iTE a nettement stimulé la sécrétion de facteurs pro-guérison (IL-10 et TGF-β). -Les macrophages régulés par l'échafaudage iTE pourraient favoriser la différenciation ostéogénique des PDLSC.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Rats Wistar.</p>	<p>18 rats répartis dans 3 groupes après création d'un défaut osseux parodontal: (1) non traités, (2) traités avec l'échafaudage contrôle ou (3) traités avec l'échafaudage iTE. Sacrifice : 1 ou 2 semaines après l'opération.</p>	<p>-Mesure de la régénération osseuse par micro-CT. -Analyse histologique des tissus de la mandibule par coloration TRAP et H&E. -Immunohistochimie : TNF-α, IL-1β, IL-10 et TGF-β. -Immunofluorescence : marqueurs de polarisation iNOS, CD68 et CD206 et des marqueurs angiogénique α-SMA et CD31.</p>	<p>-L'échafaudage ITE présentait des capacités angiogéniques et ostéogènes supérieures à celle des groupes contrôles. -Observation de plus de M2 et moins de M1 dans le groupe iTE-scaffold à 1 et 2 semaines par rapport aux groupes NC ou échafaudage contrôle. -Les niveaux de TGF-β et d'IL-10 ont progressivement augmenté au fil du temps, et le groupe échafaudage ITE exprimait plus d'IL-10 que 2 autre groupes. Observation d'une diminution plus importante des niveaux de TNF-α et d'IL-1β a été observée avec l'échafaudage ITE aux semaines 1 et 2.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Liu, Tingting et al. - 2021 (92)	CORM-3 : molécule de libération de monoxyde de carbone-3. Etudier l'effet régulateur de la molécule de libération de monoxyde de carbone-3 (CORM-3)	<i>In vitro</i> . Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.	Macrophages stimulés ou non avec 1 µg/ml de LPS en présence de CORM-3 aux concentrations 0, 100, 200, 400 ou 800 µM pendant 24 h.	- Cytométrie de flux : CD86 et CD206 chez les macrophages. - RT-PCR : iNOS, TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-10 et Arg-1 . - ELISA : IL-6, IL-1β et IL-10 dans le surnageant. - Western blot : Marqueurs de l'activité NF-κB: p65 et p65 phosphorylée, p50/p105, p-p50/p-p105 et IκB et P-IκB.	-CORM-3 a significativement réduit la proportion de M1, mais a augmenté celle de M2 dans les cellules stimulées par le LPS et a supprimé significativement l'expression de TNF-α, iNOS, IL-1β et IL-6 liés aux M1, et augmenté celle d'IL-10 et Arg-1 apparentés aux M2. -La présence de CORM-3 semble inhiber l'activation de la voie de signalisation NF-κB.
	sur la polarisation des macrophages stimulés par le LPS, et l'expression de cytokines de ces macrophages, in vitro et dans un modèle de parodontite expérimentale chez la souris.	<i>In vivo</i> . Souris C57.	45 souris réparties en 3 groupes : (1) sain + une injection de sérum physiologique par voie intra-péritonéale tous les 2 jours, (2) parodontite seule et (3) groupe parodontite + injections d'une solution de CORM-3 à 10 mg/kg par voie intra-péritonéale tous les 2 jours. Sacrifices à J3, J7, et J10. Des échantillons de sang et de sérums et les maxillaires ont été prélevés. Parodontite expérimentale induite par ligatures associées à des injections de LPS dans les sulci gingivaux.	- Immunofluorescence : F4/80, iNOS et CD163 (polarisation). - Analyse histologique des tissus conjonctifs par coloration H&E. - RT-PCR : IL-1β, IL-6, IL-10 et Arg-1 . - ELISA : IL-6, IL-1β et IL-10 dans le surnageant.	-Augmentation des M2 (F4/80+CD163+) avec LPS+CORM-3 par rapport au groupe parodontite. Le nombre de M1 (F4/80+iNOS) était quant à lui inférieur. -CORM-3 a significativement diminué l'expression de l'IL-1β et de l'IL-6 (gènes liés à M1) induite par le LPS et a également augmenté l'expression des gènes liés à M2 Arg-1 et IL-10. -Dans le groupe LPS+CORM-3, la gencive était rose et le gonflement gingival, le déchaussement dentaire et la profondeur de poche parodontale ont été significativement atténués par rapport au groupe parodontite seul. - CORM-3 a significativement réduit le nombre de cellules inflammatoires de l'épithélium et du tissu conjonctif.

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Shi et al. - 2021 (87)	<p>Un système liposomal chargé de resvératrol (Lipo-RSV).</p> <p>Etudier une stratégie nano-thérapeutique de repolarisation des Ms à base de liposomes de resvératrol, afin de moduler la réponse immunitaire dans la parodontite.</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>-Ms issus de la moelle osseuse de souris Balb/c.</p> <p>-Ms murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.</p> <p>M1 : Macrophages avec du LPS (100 ng/ml) et de l'IFN-γ (20 ng/ml), pendant 24h.</p> <p>M2: Macrophages avec de l'IL-4 (40 ng/ml).</p>	<p>-Les macrophages issus de la moelle osseuse de souris induits en M1 ou M2, ont été stimulés avec différentes concentrations de liposomes de resvératrol.</p> <p>-Les macrophages Raw 264,7 ont été incubés avec du resvératrol ou des liposomes de resvératrol à différentes concentrations afin d'évaluer la cytotoxicité et la viabilité des cellules.</p>	<p>-Immunofluorescence et test CCK-8 : Evaluation de la viabilité cellulaire et de la cytotoxicité des éléments en contact.</p> <p>-RT-PCR : IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-12, IL10, CD206, Arg-1, Chil3, TGF-β, CD163, CD86, iNOS et CCR7.</p> <p>- Cytométrie de flux et western blot : CD206 et CD86 associés à F4/80 (polarisation).</p> <p>-Microscopie à fluorescence : Analyse morphologique des macrophages.</p> <p>-ELISA : TNF-α murin, IL1β, IL-6, IL-12 et IL-10 dans le surnageant.</p> <p>-Essai d'activité de piégeage des ROS.</p>	<p>-Le resvératrol à 15μM augmente l'expression des gènes de CD206 et IL-10 liés à M2 et baisse iNOS et IL-1β liés à M1.</p> <p>-Les lipo-RSV ont augmenté les niveaux d'ARNm de CD206, Arg-1 et Chil3 liés à M2 et diminué ceux de CD86, iNOS et CCR7 liés à M1.</p> <p>- Le traitement par Lipo-RSV augmentait le pourcentage de macrophages CD206+ de 14 %, tandis que les macrophages CD86+ diminuaient de 8 %.</p> <p>-Le resvératrol et le Lipo-RSV ont induit la morphologie des macrophages en une forme de navette caractéristique de M2.</p> <p>-Après un traitement Lipo-RSV pendant 24 h, les cytokines IL-1β, IL-6, TNF-α et IL-12 sécrétées par les M1 ont été atténuées et l'IL-10 était régulé positivement.</p> <p>-Le niveau de ROS dans les M1 était élevé, mais il a diminué après le traitement par Lipo-RSV.</p>
		<p><i>In vivo.</i></p> <p>Souris BALB/c.</p>	<p>Parodontite induite par ligature et injections de LPS de <i>P.gingivalis</i> pendant 2 semaines.</p> <p>-Les souris ligaturées ont été réparties en 4 groupes (N=4/groupe) et ont reçu : (1) 10 μl de PBS, (2) 4 μg de resvératrol, (3) 4 μg de Lipo-RSV ou (4) 2 μg de chlorhydrate de minocycline, traitement en injections, dans le sillon gingival chaque jour pendant 2 semaines. (5) traitement avec 100 μg d'ibuprofène.</p>	<p>-Western blot : IL-1β, IL-6, TNF-α, p65, p-p65, NLRP3, COX2, Caspase1, CD206, iNOS, CD86, STAT1, STAT3, p-STAT1 et p-STAT3.</p> <p>-RT-PCR : IL-1β, IL-6, TNF-α, CD86, CD163, Arg-1 et TGF-β dans les tissus gingivaux.</p> <p>-Analyse histologique par coloration H&E et bleu de méthylène des tissus gingivaux.</p> <p>-Immunofluorescence : CD206 et CD86 associé à F4/80 (polarisation).</p>	<p>- Augmentation de CD206, CD163, Arg-1 et TGF-β (marqueur de M2) et la diminution d'iNOS et de CD86 (marqueur de M1) des expressions géniques et dans les tissus gingivaux de souris ligaturées avec Lipo-RSV.</p> <p>-Lipo-RSV a inhibé la phosphorylation de STAT1 mais favorisé la phosphorylation de STAT3.</p> <p>-Après deux semaines de traitement, le Lipo-RSV a amélioré efficacement la parodontite : Diminution de l'expression des cytokines inflammatoires dans le tissu gingival et des protéines essentielles de la signalisation NF-κB. L'histologie des tissus a montré que le Lipo-RSV réduisait efficacement la résorption de l'os alvéolaire dans la région linguale et les tissus buccaux.</p>

Auteurs	Éléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Sun et al. - 2021 (88)	Stratégie thérapeutique comprenant une thérapie photo-dynamique anti-bactérienne (aPDT) associée d'un nanocomposite contenant du CeO2 et du Ce6. Etudier les effets de l'aPDT associée d'un nanocomposite contenant du CeO2 dans le traitement de la parodontite. L'aPDT éliminerait les agents bactériens en stimulant la production de ROS et le nanocomposite permettrait de capturer ces ROS et de moduler la réponse immunitaire dans un second temps grâce à la libération d'ions de cérium.	<i>In vitro.</i> Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.	-Les cellules Raw 264,7 ont été stimulées avec 1 µg/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> pendant 3h, puis incubées avec CeO2 ou CeO2@Ce6 sans irradiation ou, avec une irradiation de 630nm, pendant 24h. - Apport du milieu de culture des macrophages stimulés comme ci-dessus à une culture de pré-ostéoblastes (MC3T3).	- RT-PCR : d'IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-10 , TGF-β et Arg-1 (polarisation) chez les macrophages et ALP, Runx-2, COL-1 et OCN produits par les cellules MC3T3. - Immunofluorescence : voie de signalisation NF-κB.	-Le nanocomposite CeO2@Ce6 semble équilibrer avec succès les niveaux de ROS intracellulaires et réduire l'effet secondaire de l'aPDT. -Le CeO2@Ce6 stimulé par aPDT diminue de l'expression de TNF-α, IL-1β et IL-6 par les macrophages stimulés par LPS. Tous les groupes contenant du CeO2 présentaient une augmentation des marqueurs M2 (l'IL-10, Arg-1 et TGF-β). -La stratégie aPDT de CeO2@Ce6 pourrait supprimer l'activation de NF-κB en inhibant la translocation de la sous-unité NF-κB/p65. -CeO2@Ce6 en présence d'aPDT avait un effet significatif sur l'amélioration du potentiel ostéogénique pour les progéniteurs d'ostéoblastes.
		<i>In vivo.</i> Rats Wistar.	50 rats ont reçu une injection quotidienne de LPS et d'un mélange de bactéries (<i>S.gordonii</i> , <i>P.gingivalis</i> et <i>F.nucleatum</i> , 1:1:1, 108 UFC/ml, 0,02 ml) par voie sous-gingivale dans la région des incisives mandibulaires tous les jours pendant 3 jours. Ils ont été traités le 4ème jour avec: (1) avec 0,2 ml de Ce6 ou (2) 0,2 ml de CeO2@Ce6, et irradiés à une lumière de 630 nm pendant 3 min par jour ou, (3) avec du Ce6 sans stimulation lumineuse, (4) avec 0,2ml de PBS seul, ou (5) avec 0,2ml de PBS puis une autre injection de LPS et bactéries. Sacrifice entre J4 et J9.	- Imagerie par fluorescence : Mesure du niveau de ROS libérés chez l'animal vivant et non vivant. - Analyse histologique des maxillaires par coloration H&E. - Immunohistochimie : cytokines pro-inflammatoire TNF-α, IL-6 et IL-1β. - RT-PCR : IL-1β, IL-6, Arg-1 , et IL-10 .	- CeO2@Ce6+L augmente substantiellement les biomarqueurs spécifiques aux M2 (Arg-1 et IL-10). -La gencive et la lèvre des rats sont devenues rouges et enflées après l'administration de LPS et de bactéries. Presque toute l'inflammation locale a disparu après l'administration de CeO2@Ce6 avec aPDT de 630 nm. -Les niveaux de ROS étaient plus bas dans le groupe CeO2@Ce6+aPDT, par rapport aux groupes PBS+bactéries ou Ce6+aPDT. - CeO2@Ce6+L présentait un nombre total de cellules inflammatoires significativement plus faible que le du groupe témoin positif et le groupe Ce6+L. -Grande réduction des cellules M1 dans le groupe CeO2@Ce6+L, par rapport au groupe témoin inflammatoire et au groupe Ce6+aPDT.

Auteurs	Éléments en contact et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Tian et al. -2021 (91)	Nano-particules mésoporeuses de bleu de Prusse (MPB) chargées en baicaléine (BA) , noté MPB-BA. Le MPB-BA sera exposé à une irradiation photothermique au laser proche de l'infrarouge (lumière NIR de 808 nm, à température supérieure à 50 °C après 5 min et maintenu entre 50 °C et 55 °C pendant les 10 min suivantes).	<i>In vitro</i> . Macrophages murins issus de la lignée Raw264,7.	-Les macrophages stimulés avec 1 µg/ml de LPS pendant 30 mn, 60 mn ou 6 h ou non stimulés, ont été incubés avec du MPB, du BA (à différentes concentrations), ou du MPB-BA (100 p.p.m.) pendant 24h. Les cellules incubées avec le MPB-BA ont été irradiées au laser ou non.	- Immunofluorescence et cytométrie de flux : CD206 et CCR-7. - RT-PCR : IL-1β, TNF-α, iNOS, TGF-β, IL-10 et Arg-1 (liés à l'inflammation) et SOD-1, CAT, NADPH, NQO-1 et HO-1 (liés aux enzymes). - Immunofluorescence : Etude de la biocompatibilité et de l'internalisation des biomatériaux par marqueur Cy5. - Western blot : p-Nrf2 et Nrf2 (associés à la protéine antioxydante) et p-IKKβ, IKKβ, p-P65 et P65 (associés à la voie de signalisation NF-κB).	-MPB, BA et MPB-BA ont régulé négativement l'expression d'IL-1β, TNF-α et iNOS et l'intensité fluorescente de CCR-7 par rapport au groupe LPS et leur capacité de piégeage des ROS a augmenté de manière dose-dépendante. -L'intensité fluorescente du CD206 dans différents groupes était dans l'ordre : MPB-BA et MPB-BA avec irradiation laser > BA > MPB > LPS. -MPB-BA a augmenté l'expressions des gènes TGFβ, IL-10 et Arg-1 par rapport à MPB et BA seuls qui montraient déjà une amélioration par rapport au groupe LPS. -Augmentation des gènes antioxydants dans les macrophages traités au MPB-BA par rapport au groupe LPS et des niveaux d'expression de SOD-1, CAT, NQO-1 et HO-1 par rapport au groupe MPB. -MPB-BA a atténué l'inflammation via la promotion de la phosphorylation de Nrf2 et l'inhibition de la voie de signalisation NF-κB.
	Valider une stratégie thérapeutique de la parodontite se basant sur la régulation du phénotype des macrophages par MPB-BA de manière contrôlée sous irradiation lumineuse NIR.	<i>In vivo</i> . Rats Sprague Dawley.	Parodontite induite par ligature associée à des injections de <i>P.gingivalis</i> et <i>F.nucleatum</i> dans le sillon gingival tous les deux jours. 42 rats : (1) n=12 parodontite et injections de 100 p.p.m. de MPB-BA dans la poche parodontale avec irradiation par la lumière NIR pendant 15 min et surveillance par une caméra thermique ; (2) n=12 parodontite et injection de PBS ; (3) n=9 parodontite et injections de chlorhydrate de minocycline 2% et (4) n=9 contrôles sans traitement. Les traitements ont duré 3 ou 7 jours et débuté après le retrait des ligatures à J30 après leur pose.	- Mesure de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT . - Immunohistochimie : p-Nrf2 (propriété antioxydantes) et p-P65 (anti-inflammatoire). - Séquençage ARN : Analyse du transcriptome.	-Le séquençage génomique a montré que le MPB-BA comme traitement de la parodontite peut résider dans l'amélioration de l'activité oxydoréductase, l'inhibition de la voie NF-κB, une augmentation des gènes antioxydants et une diminution des sécrétions de molécules pro-inflammatoires. -MPB-BA possède un effet anti-inflammatoire supérieur in vivo au groupe traité avec le chlorhydrate de minocycline, en régulant la voie NRF2 / NF-κB. -MPB-BA limite la perte osseuse alvéolaire.

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Wang, Yu et al. - 2021 (89)	Utilisation de nano-CeO2 à structure octaédrique comme véhicule pour délivrer la quercétine à une concentration de 50 µg/mL. Etudier dans le cadre de la parodontite, les effets d'un nanocomposite intelligent intégrant une Nanoenzyme (nano-CeO2) anti-ROS et flavonoïde naturel antioxydant (quercétine) sur la réponse immunitaire et notamment sur la repolarisation des macrophages d'un phénotype M1 vers un sous-type anti-inflammatoire, dans l'optique de limiter les dommages et induire la pro-guérison des tissus environnants.	<i>In vitro</i> . Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.	Les macrophages Raw 264,7 stimulés ou non au préalable avec 1 µg/ml de LPS de <i>P.gingivalis</i> ont été incubés avec du CeO2 seul, de la quercétine seule, un mélange de quercétine et d'oxyde de cérium (noté CeO2+QU), ou avec de l'oxyde de cérium chargé de quercétine (noté «CeO2@QU»).	- RT-PCR : IL-6, TNF-α, IL-1β, TGF-β , IL-10 et Arg-1 (polarisation). - Cytométrie de flux : Macrophages F4/80 associés à CD86 ou CD206 . - Immunofluorescence : IL-1β, TNF-α, TGF-β et Arg-1 et de la voie d'activation NF-κB. - Evaluation de l'effet de piégeage des ROS du nanocomposite.	-Les groupes CeO2@QU et CeO2 pourraient inhiber l'expression de CD86 induite par LPS. L'expression du marqueur CD206 quant à elle a été remarquablement augmentée avec la stimulation par CeO2@QU par rapport aux groupes CeO2 et LPS. -Tous les biomarqueurs M2 (Arg-1 TGF-β et IL-10) dans le groupe CeO2@QU ont été remarquablement régulés à la hausse par rapport à tous les autres groupes. L'ajout de quercétine dans les deux groupes CeO2@QU et groupe CeO2+QU a significativement amélioré l'expression du TGF-β en comparaison avec le groupe CeO2. -Diminution des biomarqueurs liés à M1 dans les groupes CeO2 et CeO2@QU par rapport au LPS seul. CeO2@QU a donné un résultat plus efficace sur l'inhibition inflammatoire que CeO2+QU et CeO2 seul. Les deux groupes CeO2@QU et CeO2+QU présentaient des diminutions du nombre de cellules positives pour le TNF-α par rapport aux groupe LPS, CeO2 et quercétine. CeO2@QU avait un ratio remarquablement plus faible (36,1 %) de cellules positives à IL-1β par rapport aux groupes CeO2 seul et LPS. -CeO2 et la quercétine, mais encore plus CeO2+QU ont montré la capacité à inhiber la voie de signalisation NF-κB en diminuant l'expression de sous-unités p65.
		<i>In vivo</i> . Rats Wistar.	Injection quotidienne de 100 µL de <i>P.gingivalis</i> associé à la mise en place de ligature au niveau des incisives mandibulaires pendant 3 jours, chez le rat. Puis, traitement avec du NaCl, du CeO2 seul, de la quercétine seule, un mélange de quercétine et d'oxyde de cérium (noté CeO2+QU), ou avec de l'oxyde de cérium chargé de quercétine (noté CeO2@QU) par injections de 0,2 ml pendant 4 jours.	- Evaluation de l'effet de piégeage des ROS du nanocomposite. - RT-PCR : IL-6, TNF-α, IL-1β, TGF-β , IL-10 et Arg-1 (liés à la polarisation). - Histochimie : Quantification du nombre de cellules inflammatoires par coloration H&E et trichrome de Masson et détection d'IL-1β et Arg-1 .	-Un nombre croissant de cellules positives à Arg-1 a été détecté dans tous les groupes expérimentaux. Le CeO2@QU a induit 2 fois plus de cellules Arg-1+ que le CeO2 et un nombre légèrement supérieur que le CeO2+QU. -Les sites traités avec la nanomédecine présentaient une couleur et aspect similaires à un tissu gingival normal. Les rats traités avec LPS ont montré une gencive rouge et œdématiée. -CeO2@QU a produit un effet de piégeage des ROS plus important que CeO2+QU et ces 2 groupes ont montré des capacités de piégeage de ROS supérieures aux groupes CeO2 et quercétine. -Le CeO2@QU présentait le plus petit nombre de cellules inflammatoires et un effet supérieur dans réparation des fibres de collagène. -Les cellules positives à l'IL-1β étaient moindres dans tous les groupes expérimentaux et rarement observées dans les groupes CeO2@QU et CeO2+QU.

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Daghreery et al. - 2022 (108)	<p>Des échafaudages conçus par électroécriture par fusion (MEW) avec des fibres de poly (ϵ-caprolactone). Les fibres des échafaudages ont été alignées ou créées avec orientation au hasard ou présentaient un motif quadrillé avec superposition des fibres à 0/90° avec un espacement des brins de 500 μm ou de 250 μm.</p> <p><i>In vivo</i> les fibres sont recouvertes de phosphate de calcium fluoré (F/CaP).</p> <p>Développer ces échafaudages en biomatériaux intelligents capables de diriger la différenciation des cellules souches et la polarisation des macrophages de tissus spécifiques (notamment pour l'alignement des fibres du ligament parodontal et l'organisation des fibres recouvertes de phosphate de calcium fluoré pour l'os alvéolaire) en tant que thérapie personnalisée potentielle pour une régénération des tissus parodontaux.</p>	<p><i>In vitro.</i> Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.</p>	<p>Les cellules RAW 264.7 stimulées par LPS d'<i>E.coli</i> ou non ont été cultivées sur les quatre échafaudages distincts (échafaudage quadrillé avec brins de 500 μm ou 250 μm d'espacements, échafaudages fibreux alignés ou orientés au hasard) pendant 3 et 7 jours.</p>	<p>-RT-PCR : IL-1, IL-10 et CD206 (polarisation). -Microscopie électronique à balayage : Analyse morphologique des macrophages. -ELISA : IL1β, IL-6 et IL-10 des macrophages stimulés par le LPS.</p>	<p>-L'élongation et la polarisation des macrophages dépendent de l'orientation des fibres et de l'architecture d'échafaudage: l'allongement des cellules était plus important lorsque les macrophages ont été cultivés sur des échafaudages alignés ou quadrillés. Les macrophages stimulés par LPS ont montré des niveaux significativement plus importants d'IL-10 lorsqu'incubés avec les échafaudages alignés ou quadrillés. -Les macrophages RAW 264,7 cultivés sur des échafaudages alignés et hautement ordonnés avec de petits et grands espacements des brins ont montré la régulation à la hausse des marqueurs M2 (IL-10 et CD206) et la régulation négative des marqueurs M1 (IL-1β) par rapport aux échafaudages orientés au hasard. -Les fibres alignées ou quadrillées des échafaudages induisent une augmentation de la libération de cytokine associées à M2 chez les macrophages stimulés par LPS et une élongation de ces derniers même si la libération de cytokines pro-inflammatoires ne diminue pas.</p>
		<p><i>In vivo.</i> Rats.</p>	<p>- Des défaut osseux ont été créés dans les mandibules des rats et des échafaudages distincts ont été attribués à des groupes de 6 rats: (1) pas de traitement, (2) traitement avec du collagène, (3) échafaudages spécifiques aux tissu osseux et ligament, (4) échafaudages spécifiques aux tissus infusés avec du collagène. Tous les échafaudages ont été implantés dans les défauts et la régénération des tissus parodontaux a été évaluée après 3 et 6 semaines de cicatrisation. A ces moments les rats ont été sacrifiés et les mandibules prélevées.</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par micro-CT. -Immunofluorescence : Mesure de l'expression de la périostine. -Analyse histologique des tissus.</p>	<p>-Pas de résultats sur les macrophages dans la partie in vivo. -Les échafaudages ont montré des capacités de régénération osseuse et du ligament alvéolaire intéressantes avec des structures matures. Les échafaudages contenant du collagène ont montré une régénération osseuse supérieure ainsi qu'une augmentation de la vascularisation, mais un niveau de périostine plus faible que les groupes sans collagène.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
He et al. -2022 (111)	<p>Un échafaudage en vitro-céramique bioactive imprimé en 3D contenant des ions molybdène (Mo-BGC).</p> <p>Déplétion des macrophages par liposomes de clodronate.</p> <p>Explorer les effets de Mo-BGC avec des structures en tubes creux, conçu comme matériel immunomodulateur pour faciliter la cicatrisation parodontale et ses mécanismes sous-jacents impliquant la modulation de la polarisation des macrophages par Mo.</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>M0 issus de cellules la moelle osseuse de souris C57BL/6J stimulées avec 50 ng/ml MCSF pendant 7 jours.</p> <p>M1: les M0 ont été incubés avec 250 ng/ml de LPS pendant 24h.</p>	<p>-M0 et M1 ont été incubés avec de l'extrait de poudre de BGC ou de Mo-BGC (1/4, 1/32 et 1/128) pendant 24h.</p> <p>-Les macrophages ont été incubés dans un milieu complet comprenant des ions MoO_4^{2-}, de l'extrait de poudre de Mo-BGC ou de l'extrait de poudre de BGC comprenant des ions MoO_4^{2-}.</p> <p>-Les macrophages ont été cultivés avec de l'extrait de poudre de MoBGC contenant 5 μmol/ml d'Oligo, 10 μmol/ml de CCCP, ou 0,1 μmol/ml de roténone pendant 24 h pour identifier les dysfonctions mitochondriales.</p>	<p>-Immunofluorescence : CD68, Arg-1, CD206, CCR7 et iNOS (polarisation) et détermination de la viabilité cellulaire des macrophages.</p> <p>-RT-PCR : Arg-1, CD206, IL-10, CCR7, IL1β, TNF-α.</p> <p>-Histochimie : Analyse de la morphologie, de la fonction et du métabolisme des mitochondries des macrophages après incubation, ainsi que de l'accumulation d'ions molybdène par microscopie électronique, dosage de l'ATP, des MMP, détection des ROS, analyse de l'activité glycolique et respiratoire et spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif.</p>	<p>-L'extrait de poudre de Mo-BGC a induit la polarisation M2: augmentation des marqueurs Arg-1 et CD206 et diminution des marqueurs M1.</p> <p>-L'extrait de poudre de BGC n'affectait pas la polarisation M2.</p> <p>-L'extrait de poudre de Mo-BGC peut repolariser les macrophages de M1 vers M2, contrairement à l'extrait de poudre de BGC.</p> <p>-L'ajout d'ions MoO_4^{2-} au milieu ou à la poudre d'extraits de BGC a augmenté significativement les niveaux d'expression des marqueurs liés à M2 tout en diminuant les ceux liés M1.</p> <p>-Amélioration de l'activité mitochondriale des macrophages lors de l'incubation avec Mo-BGC et le changement métabolique de la glycolyse vers la phosphorylation oxydative mitochondriale dans les macrophages est favorisé.</p>
		<p><i>In vivo.</i></p> <p>Chiennes Beagle sans maladie parodontale et ni encombrement dentaire.</p>	<p>-Les chiens ont reçu aléatoirement un échafaudage imprimé en 3D de BGC ou de Mo-BGC anatomiquement adapté au défaut parodontal préalablement créé; des défauts sans implantation ont servi de contrôle. Sacrifices à J3, J7, J14 et J28.</p> <p>-Des chiens ont reçu une injection 1/semaine pendant 5 semaine de liposomes de clodronate afin de créer une déplétion des macrophages et les échafaudages BGC et MoBGC ont été implantés une semaine après la dernière injection.</p>	<p>-Immunofluorescence : CD4, CD18, CD21, CD68, Arg-1, CD206, CCR7, iNOS, périostine, TRPV et TRPM8.</p> <p>-Radiographie dentaire : Mesure in vivo de la régénération osseuse du défaut parodontal à 1, 4 et 8 semaines.</p> <p>-Micro-CT: Mesure de la régénération osseuse post-mortem par micro-CT</p> <p>-Histologie : coloration au bleu de méthylène-fuchsine acide et H&E.</p>	<p>-Le Mo-BGC implanté dirige les macrophages recrutés vers un phénotype M2 dans les défauts parodontaux: observation de plus de macrophages Arg+ et CD206+ dans le groupe Mo-BGC que dans le groupe BGC et plus de macrophages M1 CCR7+ et iNOS+ dans le groupe BGC à 7 ou 28 jours post-opératoires.</p> <p>-L'échafaudage Mo-BGC favorise la régénération des tissus du parodonte hybride fonctionnel, y compris l'os alvéolaire, les fibres fonctionnelles du ligament parodontal et les tissus cémentaires.</p> <p>-La déplétion des macrophages a atténué la formation d'os, de ligament parodontal et de tissus cémentaires dans les défauts recevant soit BGC soit Mo-BGC, mais n'influence pas de manière significative la profondeur de poche et la perte d'attache.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Shao et al. -2021 (90)	<p>Des dalbergiones: 3 composés de bois de Dalbergia melanoxylon: 3'hydroxy-4,4'diméthoxydalbergio-ne (HDMD), 4'-hydroxy-4méthoxydalbergione (DMD) et D.louvelii dont 4'méthoxydalbergione (MD)</p> <p>Explorer le potentiel anti-inflammatoire des dalbergiones sur les cellules immunitaires du parodonte telles que les macrophages et les fibroblastes gingivaux.</p>	<p><i>In vitro</i>.</p> <p>- Macrophages de la moelle osseuse de souris BALB/c.</p> <p>-Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.</p> <p>M0: les cellules issues de la moelle osseuse de souris ont été stimulées avec 20 ng/ml de MCSF.</p>	<p>-Les M0 et les macrophages RAW 264.7 ont été exposés à 20 µM de HDMD, MD ou DMD pendant 30 min avant d'ajouter 100 ng/ml de LPS pendant 24 h.</p> <p>-Les cellules RAW 264.7 et les fibroblastes gingivaux ont été privés de sérum pendant la nuit puis pré-incubés pendant 10 min avec les dalbergiones avant d'être exposés pendant 25 min au LPS (100 ng/ml) ou exposés aux dalbergiones après avoir été en contact avec du LPS, de l'IL1β ou du TNFα pendant 60 min.</p> <p>-Les macrophages RAW 264.7 et les fibroblastes gingivaux ont été exposés à 20 µM de HDMD, MD et DMD pendant 24h avec, et sans SnPP (un inhibiteur de la signalisation HO-1).</p>	<p>-RT-PCR : IL-1, IL-6, Cox2, Arg-1 et Ym1.</p> <p>-Immunodosage : IL-6 et IL-8.</p> <p>- Western blot et immunofluorescence : Exploration de l'activation et de la phosphorylation de la voie NF-κB p65.</p>	<p>-HDMD, MD, DMD ont provoqué un décalage d'un phénotype M1 vers M2 : l'augmentation de l'IL-1 et IL-6 causée par le LPS est presque complètement abolie lors d'une exposition à 20 µM de HDMD, MD et DMD. Les trois dalbergiones ont induit l'expression de Arg-1 et Ym-1.</p> <p>-HDMD, MD, DMD diminuent considérablement la translocation et la phosphorylation de p65-NFκB dans les macrophages.</p> <p>-HDMD, MD, DMD ont besoin de la signalisation HO-1 pour exercer leur activité anti-inflammatoire.</p>
Zhang, Wenjuan et al. -2021 (107)	<p>L'acide tout-trans rétinolique (ATRA).</p> <p>Examiner les effets de l'ATRA sur le statut immunitaire des macrophages M2 dans la parodontite à l'aide d'un modèle murin de parodontite.</p>	<p><i>In vivo</i>.</p> <p>Souris C57BL/6.</p>	<p>Parodontite expérimentale induite par administration orale de <i>P.gingivalis</i>, deux fois par jour pendant 7 jours.</p> <p>15 souris ont été réparties en trois groupes: (1) parodontite + 200µl de solution de CMC à 1%, (2) Parodontite + 200µL d'ATRA dans une solution de CMC à 1 % à 0,25 mg/µl administrés par voie intragastrique, tous les deux jours de J0 au J42. (3) Le groupe contrôle a reçu le PBS et la solution de CMC. Sacrifice à J42.</p>	<p>-Mesure de la perte osseuse alvéolaire par stéréomicroscopie.</p> <p>-Analyse histologique des tissus parodontaux par coloration H&E.</p> <p>-Cytométrie de flux : F4/80 et CD206 (détection M2 issus de la gencive et de la rate).</p> <p>-RT-PCR : IL-10, Arg-1 et TGF-b1.</p>	<p>-L'ATRA a augmenté la proportion de M2 lors de l'infection à <i>P.gingivalis</i> : augmentation des macrophages F4/80+CD206+ et des niveaux d'IL-10, de TGF-b1 et d'Arg-1 observés chez les souris <i>P.g</i>+ATRA que celles <i>P.g</i>+ CMC.</p> <p>-L'ATRA a empêché la perte de poids corporel et réduit la perte osseuse alvéolaire induite par <i>P.gingivalis</i>.</p> <p>- Le traitement ATRA a entraîné une réduction de l'infiltration des cellules inflammatoires et des pertes d'attache dans les tissus parodontaux infectés par <i>P.gingivalis</i>.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Zheng et al. -2022 (109)	<p>Le chlorure de lithium (LiCl).</p> <p>Tester l'hypothèse que l'activation de Wnt médiée par LiCl peut moduler les changements phénotypiques des macrophages et l'activité autophagique pour résoudre l'inflammation des tissus parodontaux et favoriser leur régénération.</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>Macrophages murins issus de la lignée cellulaire Raw264,7.</p> <p>M1: les macrophages ont été stimulés avec 1 µg/ml de LPS.</p>	<p>-Culture des M1 avec différentes concentrations de LiCl; 0, 2,5 et 5 mM pendant 12h.</p> <p>-Les M1 ont aussi été incubés en présence de 10µM cardamomine (inhibiteur de la voie Wnt/β-caténine) et de 5 mM de LiCl.</p> <p>-Les PDLSC ont été stimulées avec le surnageant de la culture des macrophages avec du LiCl ajouté à un milieu de différenciation ostéogénique pendant 2 semaines.</p>	<p>-RT-PCR : iNOS, TNFα, IL-8, CCR-7, Arg-1, IL-10, TGF-β, CD206, CD163, Runx2, OCN, CAP et CEMP1.</p> <p>-Western blot : Atg5, LC3A/B et Béclin-1 (marqueurs de l'autophagie) et ALP, Col-1 et Runx2 (marqueurs ostéogéniques) et de iNOS, Arg-1 et β-caténine.</p> <p>-Immunofluorescence : iNOS, Arg-1 et β-caténine.</p> <p>- Analyse histologique : détection des vacuoles autophagiques dans les macrophages par coloration monodansylcadavérine et des dépôts minéraux de la culture des PDLSC par coloration au rouge d'alizarine S</p>	<p>-Le milieu conditionné dérivé de LiCl et des M1 a médié la différenciation ostéogénique et cémentogène des PDLSC.</p> <p>-Le traitement au LiCl (à forte dose) a induit la production d'Atg5, Atg7, Beclin-1, et la transition de LC3-I vers LC3-II qui semblent indiquer l'activation de l'autophagie dans les macrophages.</p> <p>-Le LiCl a induit la formation d'autophagosomes dans les macrophages. Au contraire, la présence de l'inhibiteur de Wnt a diminué l'activité autophagie induit par le LiCl.</p>
		<p><i>In vivo.</i></p> <p>Rats Lewis.</p>	<p>Les rats ont subi une intervention chirurgicale afin de créer un défaut osseux, puis ont été répartis au hasard dans (1) le groupe témoin (injection de PBS) ou (2) groupe de traitement (injection de LiCl). Le LiCl a été administré quotidiennement au niveau du défaut parodontal à la dose de 149 mg/kg. Les rats ont été sacrifiés à J7 et J14 après la chirurgie.</p>	<p>-Mesure de la quantité d'os alvéolaire par micro-CT.</p> <p>-Analyse histologique : détection ciment et ligament parodontal nouvellement formés par coloration AZAN et H&E.</p> <p>-Immunohistochimie : β-caténine, CD68, iNOS, Arg-1, CAP et ALP.</p>	<p>-Le stade précoce de la guérison du défaut parodontal implique une infiltration des macrophages (CD68⁺) associée à une augmentation de l'activation de la voie de Wnt/β-caténine.</p> <p>-Le LiCl a induit une plus grande réparation des tissus durs parodontaux et un ligament parodontal bien organisé, par rapport à l'administration de PBS.</p> <p>-Le LiCl active la voie de signalisation Wnt/β-caténine (expression de la β-caténine plus élevée à 1 et 2 semaines /groupe PBS).</p> <p>-L'administration locale de LiCl pendant 2 semaines a conduit à l'infiltration de macrophages, majoritairement M2. Les cellules présentant iNOS⁺ ont été largement diminuées avec le traitement au LiCl.</p>

Auteurs	Eléments en contact des macrophages et principe de l'étude	Type d'étude	Culture cellulaire/modèle expérimental impliquant les macrophages	Méthode	Résultats
Zhou, Jing et al. -2022 (110)	<p>Un biopolymère composite de calcium sulfate et betatricalcium phosphate CaSO4/β-TCP enrichi en Mg2+.</p> <p>Explorer le rôle de CaSO4/β-TCP enrichi en Mg2+ dans la régulation de la polarisation des macrophages et son impact sur la différenciation ostéogénique des cellules souches du ligament parodontal.</p>	<p><i>In vitro.</i></p> <p>Cellules de la lignée THP-1.</p> <p>MO: Les cellules de lignée THP-1 ont été stimulées avec 100 ng/ml de PMA.</p>	<p>-Des échafaudages CaSO4/β-TCP enrichis en Mg2+ ont été inoculés avec des cellules THP-1</p> <p>MO pendant 3 ou 7 jours.</p> <p>-Culture des PDLSC dans un milieu ostéoinducteur seul ou en présence du surnageant des macrophages et de l'échafaudage avec ou sans macrophages.</p>	<p>-Immunofluorescence : Analyse morphométrique des macrophages.</p> <p>-Cytométrie de flux : CD68, CD206, iNOS et Arg-1 (polarisation).</p> <p>-ELISA : BMP-2, IL-1β, IL-10, TGF-β1 et AKP dans le surnageant.</p> <p>-Western blot : smad2, RUNX2, ostérix et ostéopontine.</p> <p>-RT-PCR : CD68, CD206, iNOS, Arg-1 et smad2 et de 10 miARN et les lncARN possiblement impliqués dans la polarisation macrophages.</p>	<p>-Augmentation des marqueurs des M2 (Arg-1 et CD206) après l'ajout du biomatériau, indiquant une polarisation des MO en M2.</p> <p>-A partir du J3 d'incubation avec le biomatériau, les macrophages présentaient une morphologie en fuseau caractéristique des M2 contrairement au groupe témoin et à J7 les cellules présentaient des pseudopodes lamellaires contrairement au groupe témoin qui présentait des pseudopodes en forme d'étoile.</p> <p>-Les marqueurs d'activation des macrophages (smad2) ont augmenté comme les marqueurs d'activation des M2 (Arg-1 et CD206) lors de l'incubation avec le biomatériau.</p> <p>-miR-21-5p et PVT1 ont été confirmés en tant qu'ARNm candidats présélectionnés aidant dans la polarisation des macrophages.</p> <p>-La capacité de différenciation ostéogénique des PDLSC est significativement régulée à la hausse en présence de macrophages, mais pas avec la présence seule du surnageant des macrophages/biomatériau.</p>

CONCLUSION

La polarisation des macrophages vers un phénotype M2 après avoir éliminé les facteurs induisant l'inflammation lors de la parodontite est nécessaire afin de limiter les dégâts tissulaires, d'induire une guérison et d'obtenir un retour à un état d'homéostasie. Dans les études in vivo, l'augmentation des M2 dans les tissus parodontaux est associée à une amélioration des signes de la parodontite. De plus il ressort que les M2 induisent une différenciation cémentoblastique et ostéogénique chez les PDLSC et limite l'ostéoclastogénèse. Cependant malgré le faible nombre d'études sur les tissus humains, tous s'accordent sur le fait que plus que l'augmentation des macrophages résolutifs, c'est le rapport M1/M2 qui est un indicateur de la sévérité et sa diminution est associée à la phase de guérison. C'est pour cette raison qu'afin d'améliorer les thérapeutiques parodontales actuelles, plusieurs auteurs cherchent à obtenir un « switch » de la polarisation des macrophages M1 présents lors de la phase inflammatoire vers un phénotype M2. Les voies de signalisation intra-cellulaires et les interactions avec les pathogènes ont été également étudiées afin de mieux comprendre le comportement des macrophages résolutifs dans la parodontite. Malgré une meilleure compréhension de ces cellules et l'assurance que les macrophages résolutifs jouent un rôle clé dans la parodontite et surtout dans la fin de phase d'inflammation, la complexité des interactions de l'ensemble des acteurs majeurs de la réponse inflammatoires ne permet pas à ce jour d'obtenir une thérapeutique parodontale complémentaire fiable axée uniquement sur la modulation de la polarisation des macrophages.

LISTE DES ABREVIATIONS

A.a : aggregatibacter actinomycetemcomitans
AAV : virus adéno-associé
A2R : récepteur A2 de l'adénosine
Arg-1 : arginase-1
BoP : saignement au sondage
BMDM : macrophage dérivé de la moelle osseuse
BMSC : cellule souche de moelle osseuse
CAFÉ : ciment acellulaire à fibres extrinsèques
CAL : perte d'attache clinique
CD : cluster de différenciation
CD206 : cluster de différenciation 206 ou récepteur au mannose
CMH II : complexe majeur d'histocompatibilité de classe 2
COX-2 : cyclooxygénase-2
CSF-1 : facteur stimulant les colonies des macrophages aussi nommé M-CSF
CSF-2 : facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages aussi nommé GM-CSF.
DAMPs : Danger Associated Molecular Patterns
DC : cellules dendritiques
FACS : cytométrie de flux et tri cellulaire activé par fluorescence
GMSC : cellules souches mésenchymateuses gingivales
H&E : hématoxyline et éosine
HOIEC : cellules de l'épithélium orale immortalisées
IFN- γ : interféron- γ
IFN- γ R : récepteur de l'interféron- γ
IgG : immunoglobuline G
IL : interleukine
IL-1Ra : antagoniste du récepteur à l'interleukine 1
iNOS : Oxyde Nitric synthase 2
IP : indice de plaque
I.V. : intra-veineuse
KO : knockout
LAD : ligament alvéolo-dentaire
LIGHT : homologue de la lymphotoxine
LPS : lipopolysaccharide
M0 : macrophage non polarisé
M1 : macrophages inflammatoires
M2 : macrophages résolutifs
MEC : matrice extracellulaire
MET : microscopie électronique à balayage
Ms : macrophages
PAC : perte d'attache clinique
PAMPs : Pathogens Associated Molecular Patterns
PD : profondeur de poche

PDLSC : cellules souches du ligament parodontal
Pg: Porphyromonas gingivalis
PMA: phorbol myristate acetate
PMN: Polynucléaires neutrophiles
PPAR: Peroxysome Proliferator Activated Receptor
qRT-PCR : réaction en chaîne par polymérase en temps réel grâce à une transcriptase inverse
ROS : espèces réactives à l'oxygène
RNS : espèces réactives à l'azote
PBS : solution tampon de phosphate salin
PRRs : récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires
TAM : macrophages associés aux tumeurs
Th1 : lymphocytes T auxiliaires de type 1
Th2 : lymphocytes T auxiliaires de type 2
THP-1: lignée cellulaire monocyttaire humaine
TLR : Toll-Like récepteurs
TNF- α : tumor factor necrosis- α
S.C. : sous-cutané
SHED : cellules couches de dents déciduales
sEV : vésicules extracellulaires
SPHK1 : sphingosine kinase 1
TRAP : la phosphatase acide tartrate-résistante
VEGF : facteur de croissance endothélial vasculaire

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures :

[Figure 1](#) : genèse des macrophages d'origine monocyttaire et des macrophages résidents

[Figure 2](#) : Organigramme de la recherche de littérature d'après le modèle PRISMA.

Tableaux :

[Tableau 1](#) : marqueurs et moyens de détection des M2

[Tableau 2](#) : observation des M2 dans les tissus parodontaux

[Tableau 3](#) : interactions des M2 avec les pathogènes

[Tableau 4](#) : interactions des M2 avec d'autres cellules parodontales.

[Tableau 5](#) : les mécanismes impliqués dans la polarisation des macrophages vers un phénotype résolutif

[Tableau 6](#) : études des macrophages M2 dans la recherche de thérapeutiques de la parodontite

BIBLIOGRAPHIE

1. Bouchard P, Brochery B, Feghali M, Jaumet V, Kerner S, Korngold S, et al. Parodontologie & dentisterie implantaire. Volume 1, Volume 1,. Paris: Lavoisier Médecine Sciences; 2015. 1 vol. (XXVII-682 p.). (Odontologie sous la dir. de Bruno Tavernier).
2. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol.* juin 2018;45:S68-77.
3. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions: Classification and case definitions for periodontitis. *J Clin Periodontol.* juin 2018;45:S162-70.
4. Société Française de Parodontologie et d'implantologie orale - www.sfpio.com [Internet]. [cité 25 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.sfpio.com/>
5. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* févr 1998;25(2):134-44.
6. Knight ET, Liu J, Seymour GJ, Faggion CM, Cullinan MP. Risk factors that may modify the innate and adaptive immune responses in periodontal diseases. *Periodontology 2000.* 2016;71(1):22-51.
7. Barton GM. A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest.* 1 févr 2008;118(2):413-20.
8. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature.* juill 2008;454(7203):428-35.
9. Sugimoto MA, Sousa LP, Pinho V, Perretti M, Teixeira MM. Resolution of Inflammation: What Controls Its Onset? *Front Immunol.* 26 avr 2016;7:160.
10. Nathan C, Ding A. Nonresolving Inflammation. *Cell.* 19 mars 2010;140(6):871-82.
11. Yona S, Gordon S. From the Reticuloendothelial to Mononuclear Phagocyte System - The Unaccounted Years. *Front Immunol.* 2015;6:328.
12. Hunter M, Wang Y, Eubank T, Baran C, Nana-Sinkam P, Marsh C. Survival of monocytes and macrophages and their role in health and disease. *Front Biosci.* 1 janv 2009;14:4079-102.
13. Epelman S, Lavine KJ, Randolph GJ. Origin and functions of tissue macrophages. *Immunity.* 17 juill 2014;41(1):21-35.

14. Lavin Y, Mortha A, Rahman A, Merad M. Regulation of macrophage development and function in peripheral tissues. *Nat Rev Immunol.* 25 nov 2015;15(12):731-44.
15. Flannagan RS, Cosío G, Grinstein S. Antimicrobial mechanisms of phagocytes and bacterial evasion strategies. *Nat Rev Microbiol.* mai 2009;7(5):355-66.
16. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *The Journal of Immunology.* 1 avr 1986;136(7):2348-57.
17. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest.* 1 mars 2012;122(3):787-95.
18. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 Macrophages and the Th1/Th2 Paradigm. *J Immunol.* 15 juin 2000;164(12):6166-73.
19. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol.* janv 2003;3(1):23-35.
20. Stein M, Keshav S, Harris N, Gordon S. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. *J Exp Med.* 1 juill 1992;176(1):287-92.
21. Murray PJ. Macrophage Polarization. *Annual Review of Physiology.* 2017;79(1):541-66.
22. Nathan CF. Mechanisms of macrophage antimicrobial activity. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 1 janv 1983;77(5):620-30.
23. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends in Immunology.* déc 2004;25(12):677-86.
24. Mills CD. M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease. *Crit Rev Immunol.* 2012;32(6):463-88.
25. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of Cellular Physiology.* 2018;233(9):6425-40.
26. Atri C, Guerfali FZ, Laouini D. Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases. *Int J Mol Sci.* 19 juin 2018;19(6):1801.
27. Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, Sica A, Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *The Journal of Pathology.* 2013;229(2):176-85.
28. Parisi L, Gini E, Baci D, Tremolati M, Fanuli M, Bassani B, et al. Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders? *Journal of Immunology Research.* 2018;2018:1-25.

29. Wang L, Zhang S, Wu H, Rong X, Guo J. M2b macrophage polarization and its roles in diseases. *J Leukoc Biol.* août 2019;106(2):345-58.
30. Duluc D, Delneste Y, Tan F, Moles MP, Grimaud L, Lenoir J, et al. Tumor-associated leukemia inhibitory factor and IL-6 skew monocyte differentiation into tumor-associated macrophage-like cells. *Blood.* 15 déc 2007;110(13):4319-30.
31. Galván-Peña S, O'Neill LAJ. Metabolic reprogramming in macrophage polarization. *Front Immunol.* 2014;5:420.
32. Martinez FO, Sica A, Mantovani A, Locati M. Macrophage activation and polarization. *Front Biosci.* 1 janv 2008;13:453-61.
33. Colin S, Chinetti-Gbaguidi G, Staels B. Macrophage phenotypes in atherosclerosis. *Immunological Reviews.* 2014;262(1):153-66.
34. Ardura JA, Rackov G, Izquierdo E, Alonso V, Gortazar AR, Escribese MM. Targeting Macrophages: Friends or Foes in Disease? *Front Pharmacol.* 23 oct 2019;10:1255.
35. Sima C, Viniegra A, Glogauer M. Macrophage immunomodulation in chronic osteolytic diseases—the case of periodontitis. *J Leukoc Biol.* mars 2019;105(3):473-87.
36. Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature.* avr 2013;496(7446):445-55.
37. Yang J, Zhu Y, Duan D, Wang P, Xin Y, Bai L, et al. Enhanced activity of macrophage M1/M2 phenotypes in periodontitis. *Arch Oral Biol.* déc 2018;96:234-42.
38. Garaicoa-Pazmino C, Fretwurst T, Squarize CH, Berglundh T, Giannobile WV, Larsson L, et al. Characterization of macrophage polarization in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology.* 2019;46(8):830-9.
39. Zhou LN, Bi CS, Gao LN, An Y, Chen F, Chen FM. Macrophage polarization in human gingival tissue in response to periodontal disease. *Oral Diseases.* 2019;25(1):265-73.
40. Ballini A, Dipalma G, Isacco CG, Boccellino M, Di Domenico M, Santacrose L, et al. Oral Microbiota and Immune System Crosstalk: A Translational Research. *Biology (Basel).* 16 juin 2020;9(6):131.
41. Gonzalez OA, Novak MJ, Kirakodu S, Stromberg A, Nagarajan R, Huang CB, et al. Differential Gene Expression Profiles Reflecting Macrophage Polarization in Aging and Periodontitis Gingival Tissues. *Immunol Invest.* 2015;44(7):643-64.
42. Viniegra A, Goldberg H, Çil Ç, Fine N, Sheikh Z, Galli M, et al. Resolving Macrophages Counter Osteolysis by Anabolic Actions on Bone Cells. *J Dent Res.* sept 2018;97(10):1160-9.
43. Lam RS, O'Brien-Simpson NM, Lenzo JC, Holden JA, Brammar GC, Walsh KA, et al. Macrophage depletion abates *Porphyromonas gingivalis*-induced alveolar bone resorption in mice. *J Immunol.* 1 sept 2014;193(5):2349-62.

44. Miyashita Y, Kuraji R, Ito H, Numabe Y. Wound healing in periodontal disease induces macrophage polarization characterized by different arginine-metabolizing enzymes. *J Periodontal Res.* 2022 Apr;57(2):357-370
45. Yilmaz M, Demir E, Gürsoy M, Firatli E, Gürsoy UK. Baseline interleukin-10, CD163 and tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis gingival tissue levels in relation to clinical periodontal treatment outcomes: A 12-week follow-up study. *J Periodontol.* 2023 Jan;94(1):141-154
46. Yamaguchi T, Movila A, Kataoka S, Wisitrasameewong W, Ruiz Torruella M, Murakoshi M, et al. Proinflammatory M1 Macrophages Inhibit RANKL-Induced Osteoclastogenesis. *Infect Immun.* 19 sept 2016;84(10):2802-12.
47. Miao Y, He L, Qi X, Lin X. Injecting Immunosuppressive M2 Macrophages Alleviates the Symptoms of Periodontitis in Mice. *Front Mol Biosci.* 23 oct 2020;7:603817.
48. Chen X, Wan Z, Yang L, Song S, Fu Z, Tang K, et al. Exosomes derived from reparative M2-like macrophages prevent bone loss in murine periodontitis models via IL-10 mRNA. *J Nanobiotechnology.* 5 mars 2022;20:110.
49. Foey AD, Crean S. Macrophage Subset Sensitivity to Endotoxin Tolerisation by *Porphyromonas gingivalis*. *PLoS One.* 2013 Jul 15;8(7):e67955.
50. Holden JA, Attard TJ, Loughton KM, Mansell A, O'Brien-Simpson NM, Reynolds EC. *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide Weakly Activates M1 and M2 Polarized Mouse Macrophages but Induces Inflammatory Cytokines. *Infect Immun.* oct 2014;82(10):4190-203.
51. Huang CB, Alimova Y, Ebersole JL. Macrophage polarization in response to oral commensals and pathogens. *Pathog Dis.* 2016 Apr;74(3):ftw011.
52. Lam RS, O'Brien-Simpson NM, Holden JA, Lenzo JC, Fong SB, Reynolds EC. Unprimed, M1 and M2 Macrophages Differentially Interact with *Porphyromonas gingivalis*. *PLoS One.* 2016 Jul 6;11(7):e0158629.
53. Yu T, Zhao L, Huang X, Ma C, Wang Y, Zhang J, et al. Enhanced Activity of the Macrophage M1/M2 Phenotypes and Phenotypic Switch to M1 in Periodontal Infection. *Journal of Periodontology.* 2016;87(9):1092-102.
54. Belfield LA, Bennett JH, Abate W, Jackson SK. Exposure to *Porphyromonas gingivalis* LPS during macrophage polarisation leads to diminished inflammatory cytokine production. *Arch Oral Biol.* sept 2017;81:41-7.
55. Foey AD, Habil N, Al-Shaghдали K, Crean S. *Porphyromonas gingivalis*-stimulated macrophage subsets exhibit differential induction and responsiveness to interleukin-10. *Arch Oral Biol.* janv 2017;73:282-8.
56. Papadopoulos G, Shaik-Dasthagirisaheb YB, Huang N, Viglianti GA, Henderson AJ, Kantarci A, et al. Immunologic Environment Influences Macrophage Response to *Porphyromonas gingivalis*. *Mol Oral Microbiol.* juin 2017;32(3):250-61.

57. Yu S, Ding L, Liang D, Luo L. Porphyromonas gingivalis inhibits M2 activation of macrophages by suppressing α -ketoglutarate production in mice. *Molecular Oral Microbiology*. 2018;33(5):388-95.
58. Betancur D, Muñoz C, Oñate A. Expression of Macrophage Polarization Markers against the Most Prevalent Serotypes of Aggregatibacter actinomycetemomitans. *Microorganisms*. 9 juill 2022;10(7):1384.
59. Geng F, Liu J, Yin C, Zhang S, Pan Y, Sun H. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide induced RIPK3/MLKL-mediated necroptosis of oral epithelial cells and the further regulation in macrophage activation. *J Oral Microbiol*. 14(1):2041790.
60. Gu JY, Fu ZB, Jia-Lu Chen null, Liu YJ, Cao XZ, Sun Y. Endotoxin tolerance induced by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide alters macrophage polarization. *Microb Pathog. mars 2022;164:105448*.
61. Kang H, Lee MJ, Park SJ, Lee MS. Lipopolysaccharide-Preconditioned Periodontal Ligament Stem Cells Induce M1 Polarization of Macrophages through Extracellular Vesicles. *Int J Mol Sci*. 3 déc 2018;19(12):3843.
62. Li X, He XT, Kong DQ, Xu XY, Wu RX, Sun LJ, et al. M2 Macrophages Enhance the Cementoblastic Differentiation of Periodontal Ligament Stem Cells via the Akt and JNK Pathways. *STEM CELLS*. 2019;37(12):1567-80.
63. Liu J, Chen B, Bao J, Zhang Y, Lei L, Yan F. Macrophage polarization in periodontal ligament stem cells enhanced periodontal regeneration. *Stem Cell Res Ther*. 2019 Nov 15;10(1):320.
64. Liu J, Wang H, Zhang L, Li X, Ding X, Ding G, et al. Periodontal ligament stem cells promote polarization of M2 macrophages. *J Leukoc Biol*. 2022 Jun;111(6):1185-1197.
65. Konermann A, Stabenow D, Knolle PA, Held SAE, Deschner J, Jäger A. Regulatory role of periodontal ligament fibroblasts for innate immune cell function and differentiation. *Innate Immun*. oct 2012;18(5):745-52.
66. Hong R, Wang Z, Sui A, Liu X, Fan C, Lipkind S, et al. Gingival mesenchymal stem cells attenuate pro-inflammatory macrophages stimulated with oxidized low-density lipoprotein and modulate lipid metabolism. *Arch Oral Biol*. févr 2019;98:92-8.
67. Wang R, Ji Q, Meng C, Liu H, Fan C, Lipkind S, et al. Role of gingival mesenchymal stem cell exosomes in macrophage polarization under inflammatory conditions. *Int Immunopharmacol*. avr 2020;81:106030.
68. Nakao Y, Fukuda T, Zhang Q, Sanui T, Shinjo T, Kou X, et al. Exosomes from TNF- α -treated human gingiva-derived MSCs enhance M2 macrophage polarization and inhibit periodontal bone loss. *Acta Biomater*. 1 mars 2021;122:306-24.
69. Gao X, Shen Z, Guan M, Huang Q, Chen L, Qin W, et al. Immunomodulatory Role of Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth on Periodontal Regeneration. *Tissue Eng Part A*. sept 2018;24(17-18):1341-53.

70. Huang Y, Liu Q, Liu L, Huo F, Guo S, Tian W. Lipopolysaccharide-Preconditioned Dental Follicle Stem Cells Derived Small Extracellular Vesicles Treating Periodontitis via Reactive Oxygen Species/Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling-Mediated Antioxidant Effect. *Int J Nanomedicine*. 22 févr 2022;17:799-819.
71. Liu L, Guo S, Shi W, Liu Q, Huo F, Wu Y, et al. Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Derived Small Extracellular Vesicles Promote Periodontal Regeneration. *Tissue Eng Part A*. juill 2021;27(13-14):962-76.
72. Atomura R, Sanui T, Fukuda T, Tanaka U, Toyoda K, Taketomi T, et al. Inhibition of Sprouty2 polarizes macrophages toward an M2 phenotype by stimulation with interferon γ and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide. *Immun Inflamm Dis*. 26 févr 2016;4(1):98-110.
73. Xuan D, Han Q, Tu Q, Zhang L, Yu L, Murry D, et al. Epigenetic Modulation in Periodontitis: Interaction of Adiponectin and JMJD3-IRF4 Axis in Macrophages. *J Cell Physiol*. mai 2016;231(5):1090-6.
74. Wu X, Chen H, Wang Y, Gu Y. Akt2 Affects Periodontal Inflammation via Altering the M1/M2 Ratio. *J Dent Res*. mai 2020;99(5):577-87.
75. Ren J, Han X, Lohner H, Liang R, Liang S, Wang H. Serum- and Glucocorticoid-Inducible Kinase 1 Promotes Alternative Macrophage Polarization and Restrains Inflammation through FoxO1 and STAT3 Signaling. *J Immunol*. 1 juill 2021;207(1):268-80.
76. Wang L, Zhang T, Zhang Z, Wang Z, Zhou YJ, Wang Z. B cell activating factor regulates periodontitis development by suppressing inflammatory responses in macrophages. *BMC Oral Health*. 4 sept 2021;21:426.
77. Hou L, Ye Y, Gou H, Tang H, Zhou Y, Xu X, et al. A20 inhibits periodontal bone resorption and NLRP3-mediated M1 macrophage polarization. *Exp Cell Res*. 1 sept 2022;418(1):113264.
78. Zhang H, Zhang S, Dang X, Lin L, Ren L, Song R. GPNMB plays an active role in the M1/M2 balance. *Tissue and Cell*. 1 févr 2022;74:101683.
79. Fordham JB, Naqvi AR, Nares S. miR-24 Regulates Macrophage Polarization and Plasticity. *J Clin Cell Immunol*. oct 2015;6(5):362.
80. Anovazzi G, de Medeiros MC, Pigossi SC, Finoti LS, Mayer MPA, Rossa C, et al. Functional Haplotypes in Interleukin 4 Gene Associated with Periodontitis. *PLoS One*. 2017 Jan 23;12(1):e0169870.
81. Cui D, Lyu J, Li H, Lei L, Bian T, Li L, et al. Human β -defensin 3 inhibits periodontitis development by suppressing inflammatory responses in macrophages. *Molecular Immunology*. 1 nov 2017;91:65-74.
82. Li G, Pan J, Tang Q, Liu X, Wang L, Meng Y, et al. Anti-inflammatory Effects of PMX205 in Mouse Macrophage Periodontitis Model. *Iran J Immunol*. juin 2018;15(2):84-96.

83. Choe SH, Choi EY, Hyeon JY, Keum BR, Choi IS, Kim SJ. Effect of nifedipine, a calcium channel blocker, on the generation of nitric oxide and interleukin-1 β by murine macrophages activated by lipopolysaccharide from *Prevotella intermedia*. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1 janv 2021;394(1):59-71.
84. Choe SH, Choi EY, Hyeon JY, Keum BR, Choi IS, Kim SJ. Telmisartan, an angiotensin II receptor blocker, attenuates *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and interleukin-1 β in murine macrophages. *Int Immunopharmacol.* oct 2019;75:105750.
85. Li X, Qi M, Li C, Dong B, Wang J, Weir MD, et al. Novel nanoparticles of cerium-doped zeolitic imidazolate frameworks with dual benefits of antibacterial and anti-inflammatory functions against periodontitis. *J Mater Chem B.* 28 nov 2019;7(44):6955-71.
86. Chen MH, Wang YH, Sun BJ, Yu LM, Chen QQ, Han XX, et al. HIF-1 α activator DMOG inhibits alveolar bone resorption in murine periodontitis by regulating macrophage polarization. *Int Immunopharmacol.* oct 2021;99:107901.
87. Shi J, Zhang Y, Zhang X, Chen R, Wei J, Hou J, et al. Remodeling immune microenvironment in periodontitis using resveratrol liposomes as an antibiotic-free therapeutic strategy. *J Nanobiotechnology.* 20 déc 2021;19(1):429.
88. Sun Y, Sun X, Li X, Li W, Li C, Zhou Y, et al. A versatile nanocomposite based on nanoceria for antibacterial enhancement and protection from aPDT-aggravated inflammation via modulation of macrophage polarization. *Biomaterials.* 1 janv 2021;268:120614.
89. Wang Y, Li C, Wan Y, Qi M, Chen Q, Sun Y, et al. Quercetin-Loaded Ceria Nanocomposite Potentiate Dual-Directional Immunoregulation via Macrophage Polarization against Periodontal Inflammation. *Small.* 2021;17(41):2101505.
90. Shao F, Panahipour L, Omerbasic A, Tang F, Gruber R. Dalbergiones lower the inflammatory response in oral cells in vitro. *Clin Oral Investig.* août 2022;26(8):5419-28.
91. Tian Y, Li Y, Liu J, Lin Y, Jiao J, Chen B, et al. Photothermal therapy with regulated Nrf2/NF- κ B signaling pathway for treating bacteria-induced periodontitis. *Bioact Mater.* 5 août 2021;9:428-45.
92. Liu T, Han Q, Pan Y, Li J, Song H. Carbon Monoxide-Releasing Molecule-3 Regulates the Polarization of Lipopolysaccharide-Induced Macrophages. *Inflammation.* oct 2021;44(5):1737-49.
93. Shen Z, Kuang S, Zhang Y, Yang M, Qin W, Shi X, et al. Chitosan hydrogel incorporated with dental pulp stem cell-derived exosomes alleviates periodontitis in mice via a macrophage-dependent mechanism. *Bioactive Materials.* 1 déc 2020;5(4):1113-26.
94. Yamamichi K, Fukuda T, Sanui T, Toyoda K, Tanaka U, Nakao Y, et al. Amelogenin induces M2 macrophage polarisation via PGE2/cAMP signalling pathway. *Arch Oral Biol.* nov 2017;83:241-51.

95. Almqvist S, Werthén M, Lyngstadaas SP, Gretzer C, Thomsen P. Amelogenins modulate cytokine expression in LPS-challenged cultured human macrophages. *Cytokine*. 1 mai 2012;58(2):274-9.
96. Mizraji G, Heyman O, Van Dyke TE, Wilensky A. Resolvin D2 Restrains Th1 Immunity and Prevents Alveolar Bone Loss in Murine Periodontitis. *Front Immunol*. 2018 Apr 25;9:785.
97. He XT, Li X, Xia Y, Yin Y, Wu RX, Sun HH, et al. Building capacity for macrophage modulation and stem cell recruitment in high-stiffness hydrogels for complex periodontal regeneration: Experimental studies in vitro and in rats. *Acta Biomater*. 1 avr 2019;88:162-80.
98. Ni C, Zhou J, Kong N, Bian T, Zhang Y, Huang X, et al. Gold nanoparticles modulate the crosstalk between macrophages and periodontal ligament cells for periodontitis treatment. *Biomaterials*. juin 2019;206:115-32.
99. Wu RX, He XT, Zhu JH, Yin Y, Li X, Liu X, et al. Modulating macrophage responses to promote tissue regeneration by changing the formulation of bone extracellular matrix from filler particles to gel bioscaffolds. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. août 2019;101:330-40.
100. Zhuang Z, Yoshizawa-Smith S, Glowacki A, Maltos K, Pacheco C, Shehabeldin M, et al. Induction of M2 Macrophages Prevents Bone Loss in Murine Periodontitis Models. *J Dent Res*. févr 2019;98(2):200-8.
101. Figueiredo RDA, Ortega AC, Gonzalez Maldonado LA, De Castro RD, Avila-Campos MJ, Rossa C, et al. Perillyl alcohol has antibacterial effects and reduces ROS production in macrophages. *J Appl Oral Sci*. 2020;28:e20190519.
102. Galarraga-Vinueza ME, Dohle E, Ramanauskaite A, Al-Maawi S, Obreja K, Magini R, et al. Anti-inflammatory and macrophage polarization effects of Cranberry Proanthocyanidins (PACs) for periodontal and peri-implant disease therapy. *Journal of Periodontal Research*. 2020;55(6):821-9.
103. Mulhall H, DiChiara JM, Deragon M, Iyer R, Huck O, Amar S. Akkermansia muciniphila and Its Pili-Like Protein Amuc_1100 Modulate Macrophage Polarization in Experimental Periodontitis. *Infect Immun*. 2021 Jan; 89(1): e00500-20. doi: 10.1128/IAI.00500-20.
104. Bai B, Gu C, Lu X, Ge X, Yang J, Wang C, et al. Polydopamine functionalized mesoporous silica as ROS-sensitive drug delivery vehicles for periodontitis treatment by modulating macrophage polarization. *Nano Res*. déc 2021;14(12):4577-83.
105. Ding T, Kang W, Li J, Yu L, Ge S. An in situ tissue engineering scaffold with growth factors combining angiogenesis and osteoimmunomodulatory functions for advanced periodontal bone regeneration. *J Nanobiotechnology*. 2021 Aug 17;19(1):247.
106. Liu ZQ, Shang LL, Ge SH. Immunomodulatory effect of dimethyloxallyl glycine/nanosilicates-loaded fibrous structure on periodontal bone remodeling. *J Dent Sci*. juill 2021;16(3):937-47.

107. Zhang W, Guan N, Gao X qiu, Wang L yuan. All-Trans Retinoic Acid Modulates The Immune Status of M2 Macrophages in Experimental Periodontitis Induced by Porphyromonas Gingivalis in Mic [Internet]. 2021 [cité 14 avr 2022]. Disponible sur: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1142636/v1>
108. Daghreery A, Ferreira JA, Xu J, Golafshan N, Kaigler D, Bhaduri SB, et al. Tissue-specific melt electrowritten polymeric scaffolds for coordinated regeneration of soft and hard periodontal tissues. *Bioact Mater.* janv 2023;19:268-81.
109. Zheng X, Wang S, Xiao L, Han P, Xie K, Ivanovski S, et al. LiCl-induced immunomodulatory periodontal regeneration via the activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *J Periodontal Res.* août 2022;57(4):835-48.
110. Zhou J, Sun S, He Y, Yan T, Sun J, Pan J, et al. Role of magnesium-doped calcium sulfate and β -tricalcium phosphate composite ceramics in macrophage polarization and osteo-induction. *Odontology.* oct 2022;110(4):735-46.
111. He XT, Li X, Zhang M, Tian BM, Sun LJ, Bi CS, et al. Role of molybdenum in material immunomodulation and periodontal wound healing: Targeting immunometabolism and mitochondrial function for macrophage modulation. *Biomaterials.* 1 avr 2022;283:121439.

NANTES UNIVERSITÉ
UNITÉ DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Vu le Président du Jury,

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Vu le Doyen,

Pr Assem SOUEIDAN

BODIN (Justine). – Les macrophages résolutifs dans la parodontite. – 104f. ; ill. ; tabl. ; 111réf. ; 30cm (Thèse : Chir. Dent. ; Nantes ; 2023)

RESUME :

La présence des macrophages résolutifs exprimant un profil anti-inflammatoire consécutivement à celle des macrophages pro-inflammatoires, est nécessaire à un retour à l'homéostasie lors d'un événement inflammatoire. La parodontite est une maladie inflammatoire chronique d'origine infectieuse due à la persistance des bactéries parodontopathogènes et la non résolution de l'inflammation.

Dans quelles mesures la présence ou l'absence d'une polarisation des macrophages vers un phénotype anti-inflammatoire joue-t-elle un rôle dans la persistance de la parodontite ? Est-ce que la modulation de la polarisation des macrophages peut être un axe thérapeutique de la parodontite ?

L'objectif de ce travail porte sur l'avancée des connaissances sur le rôle des macrophages résolutifs dans la parodontite.

75 articles ont été inclus et analysés. Ces articles traitent des macrophages résolutifs selon leur fonction, leur comportement dans l'inflammation et la cicatrisation, leurs interactions avec les cellules parodontales ou les bactéries parodontopathogènes, leurs mécanismes d'activation ou encore la recherche de possibles moyens ou molécules capables d'induire cette polarisation à partir de macrophages naïfs ou pro-inflammatoires dans un intérêt de thérapeutique parodontale.

Les macrophages résolutifs semblent constituer une cible thérapeutique intéressante pour résoudre l'inflammation parodontale.

RUBRIQUE de CLASSEMENT : Parodontologie

MOTS CLÉS MESH :

Parodontite/ Periodontitis
Macrophage/Macrophage
Inflammation/Inflammation

JURY :

Président : le Professeur ALIOT-LICHT B.

Assesseur : le Professeur GAUDIN A.

Assesseur : le Docteur SERISIER S.

Directeur : le Docteur RENARD E.