

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER**

**FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE**

Année 2013

Thèse n°2013-TOU3-3050

# **THESE**

pour le

**DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE**

présentée et soutenue publiquement

par

**Marion DEL FABBRO**

Le 23/10/2013

-----  
**EFFETS DE LA CARENCE EN ŒSTROGENE SUR LE  
REMODELAGE DU TISSU OSSEUX ALVEOLAIRE**

Directeur de thèse : Docteur VALERA Marie-Cécile

-----  
**JURY**

Professeur Michel SIXOU

Docteur Philippe KEMOUN

Docteur Jean-François ARNAL

Docteur Marie-Cécile VALERA

Président

Assesseur

Assesseur

Assesseur



## FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

---

### ➔ DIRECTION

#### ADMINISTRATEUR PROVISOIRE

Mr SIXOU Michel

#### ASSESEURS DU DOYEN

##### • ENSEIGNANTS :

Mme GRÉGOIRE Geneviève  
Mr CHAMPION Jean  
Mr HAMEL Olivier  
Mr POMAR Philippe

##### • PRÉSIDENTE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE

Mme GRIMOUD Anne-Marie

##### • ÉTUDIANT :

Mr HAURET-CLOS Mathieu

#### CHARGÉS DE MISSION

Mr PALOUDIER Gérard  
Mr AUTHER Alain

#### RESPONSABLE ADMINISTRATIF

Mme GRAPELOUP Claude

### ➔ HONORARIAT

#### DOYENS HONORAIRES

Mr LAGARRIGUE Jean +  
Mr LODTER Jean-Philippe  
Mr PALOUDIER Gérard  
Mr SOULET Henri

### ➔ ÉMÉRITAT

Mr PALOUDIER Gérard

### ➔ PERSONNEL ENSEIGNANT

---

#### 56.01 PÉDODONTIE

##### *Chef de la sous-section :*

Professeur d'Université :

Maîtres de Conférences :

Assistants :

Chargés d'Enseignement :

##### *Mr VAYSSE*

Mme BAILLEUL-FORESTIER

Mme NOIRRIT-ESCLASSAN, Mr VAYSSE

Mr DOMINÉ, Mme GÖTTLE

Mme BACQUÉ, Mr TOULOUSE

#### 56.02 ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE

##### *Chef de la sous-section :*

Maîtres de Conférences :

Assistants :

Chargés d'Enseignement :

##### *Mr BARON*

Mr BARON, Mme LODTER, Mme MARCHAL-SIXOU, Mr ROTENBERG,

Mme ELICEGUI, Mme OBACH-DEJEAN, Mr PUJOL

Mr GARNAULT, Mme MECHRAOUI, Mr MIQUEL

#### 56.03 PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ, ODONTOLOGIE LÉGALE

##### *Chef de la sous-section :*

Professeur d'Université :

Maître de Conférences :

Assistant :

Chargés d'Enseignement :

##### *Mr HAMEL*

Mme NABET, Mr PALOUDIER, Mr SIXOU

Mr HAMEL, Mr VERGNES

Mr MONSARRAT

Mr DURAND, Mr PARAYRE

### **57.01 PARODONTOLOGIE**

***Chef de la sous-section :*** **Mr BARTHET**  
**Maîtres de Conférences :** Mr BARTHET, Mme DALICIEUX-LAURENCIN  
**Assistants :** Mr MOURGUES, Mme VINEL  
**Chargés d'Enseignement :** Mr. CALVO, Mr LAFFORGUE, Mr PIOTROWSKI, Mr SANCIER

### **57.02 CHIRURGIE BUCCALE, PATHOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE, ANESTHÉSIOLOGIE ET RÉANIMATION**

***Chef de la sous-section :*** **Mr CAMPAN**  
**Professeur d'Université :** Mr DURAN  
**Maîtres de Conférences :** Mr CAMPAN, Mr COURTOIS, Mme COUSTY  
**Assistants :** Mme BOULANGER, Mr FAUXPOINT, Mme FERNET-MAGNAVAL  
**Chargés d'Enseignement :** Mr GANTE, Mr L'HOMME, Mme LABADIE, Mr PLANCHAND, Mr SALEFRANQUE

### **57.03 SCIENCES BIOLOGIQUES (BIOCHIMIE, IMMUNOLOGIE, HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE, GÉNÉTIQUE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE, BACTÉRIOLOGIE, PHARMACOLOGIE**

***Chef de la sous-section :*** **Mr KÉMOUN**  
**Professeurs d'Université :** Mme DUFFAUT  
**Maîtres de Conférences :** Mme GRIMOUD, Mr KEMOUN, Mr POULET  
**Assistants :** Mr BLASCO-BAQUE, Mme GAROBY-SALOM, Mme SOUBIELLE  
**Chargés d'Enseignement :** Mr BARRÉ, Mr SIGNAT, Mme VALERA

### **58.01 ODONTOLOGIE CONSERVATRICE, ENDODONTIE**

***Chef de la sous-section :*** **Mr GUIGNES**  
**Maîtres de Conférences :** Mr DIEMER, Mr GUIGNES, Mme GURGEL-GEORGELIN, Mme MARET-COMTESSE  
**Assistants :** Mr ARCAUTE, Mlle DARDÉ, Mme DEDIEU, Mme DUEYMES, Mme FOURQUET, Mr MICHETTI  
**Chargés d'Enseignement :** Mr BALGUERIE, Mlle BORIES, Mr ELBEZE, Mr MALLET, Mlle PRATS,

### **58.02 PROTHÈSES (PROTHÈSE CONJOINTE, PROTHÈSE ADJOINTE PARTIELLE, PROTHÈSE COMPLÈTE, PROTHÈSE MAXILLO-FACIALE)**

***Chef de la sous-section :*** **Mr CHAMPION**  
**Professeurs d'Université :** Mr ARMAND, Mr POMAR  
**Maîtres de Conférences :** Mr BLANDIN, Mr CHAMPION, Mr ESCCLASSAN, Mme VIGARIOS  
**Assistants :** Mr CHABRERON, Mr DESTRUHAUT, Mr GALIBOURG, Mr HOBEILAH, Mme SOULES  
**Chargés d'Enseignement :** Mr ABGRALL, Mr FLORENTIN, Mr FOLCH, Mr GHRENASSIA, Mme LACOSTE-FERRE, Mme LASMOLLES, Mr LUCAS, Mr MIR, Mr POGÉANT, Mr RAYNALDY

### **58.03 SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES, OCCLUSODONTIQUES, BIOMATÉRIAUX, BIOPHYSIQUE, RADIOLOGIE**

***Chef de la sous-section :*** **Mme GRÉGOIRE**  
**Professeur d'Université :** Mme GRÉGOIRE  
**Maîtres de Conférences :** Mme JONJOT, Mr NASR  
**Assistants :** Mr AHMED, Mr CANIVET, Mr DELANNÉE  
**Chargés d'Enseignement :** Mme BAYLE-DELANNÉE, Mme MAGNE, Mr TREIL, Mr VERGÉ

---

*L'université Paul Sabatier déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.  
(Délibération en date du 12 Mai 1891).*

*Mise à jour au 2 octobre 2013*

## Remerciements personnels

Je tiens à remercier en tout premier lieu, ma famille, pour son soutien. Merci particulièrement à ma maman surtout d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir soutenu. Je remercie, mon père et Anne, pour leurs conseils et leurs encouragements dans les décisions que j'ai pu prendre jusqu'à présent; mon frère Thomas et mes sœurs de cœur Lisa et Fanny, pour tous les moments de rigolade passés ensemble, et qui sait peut-être cette thèse vous donnera-t-elle envie d'en faire une à votre tour.

Un immense merci à mon chéri Aurélien qui, grâce à sa rencontre, m'a permis de supporter plus facilement la fin de mes études en m'offrant son amour et son soutien. Merci également pour sa patience et son aide dans le déchiffrage des études en anglais.

Je remercie également ma meilleure amie, Cécile, sur qui je peux compter en permanence, qui a toujours été là pour me permettre de décompresser lors de nos nombreuses soirées arrosées, et qui m'a toujours été d'un soutien infailible à n'importe quel moment.

Merci à tous mes proches et mes amis pour tous ces moments passés ensemble qui font que l'on se souvient qu'il y a une vie en dehors des études et du travail. Pour tout ça et le reste, merci à vous tous.

A notre président du jury de thèse,

**Monsieur le Professeur Michel SIXOU**

- Administrateur provisoire de la Faculté de Chirurgie Dentaire de Toulouse,
- Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Responsable de la sous-section Sciences Biologiques,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier,
- Direction du Laboratoire « Parodontites et Maladies Générales »,
- Habilitation à Diriger des Recherches (H.D.R.),
- Lauréat de l'Université Paul Sabatier.

*Nous tenons à vous remercier de l'honneur que vous nous faites de présider notre jury de thèse.*

*Veillez trouver ici l'expression de ma haute considération et ma profonde gratitude.*

A notre directeur de thèse,

**Madame le Docteur Marie-Cécile VALERA**

- Assistante hospitalo-universitaire d’Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Master 2 Recherche, mention : Physiologie cellulaire intégrée et Physiopathologie,
- Docteur de l’Université Paul Sabatier – spécialité : Physiopathologie cellulaire, moléculaire et intégrée,
- Lauréate de l’Université Paul Sabatier.

*Merci de nous avoir fait l’honneur de nous encadrer pour ce travail qui fut passionnant.*

*Merci de vous être montrée toujours présente et disponible tout au long de notre thèse.*

A notre jury de thèse,

**Monsieur le Docteur Philippe KEMOUN**

- Maître de Conférences des Universités, Praticien hospitalier d’Odontologie,
- Responsable de la sous-section Sciences Biologiques,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier.

*Nous vous remercions d’avoir accepté de siéger à notre jury de thèse.*

*Merci pour l’enseignement de qualité que vous nous avez donné.*

*Veillez trouver ici l’expression de ma gratitude et mes sincères remerciements.*

A notre jury de thèse,

**Monsieur le Docteur Jean-François ARNAL**

- Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier
- Docteur en Sciences de la vie – Physiologie
- Ancien Interne des Hôpitaux
- Diplômé de la Faculté de Médecine de Saint-Antoine - Paris VI
- Habilité à diriger des recherches.

*Nous vous remercions de votre aimable présence  
à notre jury de thèse.*

*Veillez trouver ici notre sincère reconnaissance.*

# TABLE DES MATIERES

<b>Introduction.....</b>	<b>12</b>
<b>1. Rappel sur l'organisation et la physiologie du tissu osseux.....</b>	<b>13</b>
1.1 Organisation du tissu osseux alvéolaire.....	14
1.1.1 Architecture du tissu osseux alvéolaire.....	14
1.1.2 Histo-physiologie du tissu osseux alvéolaire.....	18
1.2 Physiologie osseuse.....	30
1.2.1 Principes généraux.....	30
1.2.2 Le cycle du remodelage osseux.....	30
1.2.3 Contrôles et facteurs de régulations du remodelage osseux.....	33
<b>2. Les œstrogènes.....</b>	<b>41</b>
2.1 La biosynthèse des œstrogènes.....	42
2.2 Contrôle de la production des œstrogènes.....	43
2.3 Les récepteurs aux œstrogènes.....	44
2.3.1 Structure.....	44
2.3.2 Localisations et distribution.....	46
2.3.3 Activation et mécanismes de signalisation.....	46
<b>3. Effets de la carence œstrogénique sur le tissu osseux alvéolaire.....</b>	<b>50</b>
3.1 Situation de carence oestrogénique.....	51
3.2 DMO et carence oestrogénique : études chez la femme.....	52
3.3 Os alvéolaire et modèles animaux de carence oestrogénique.....	56
<b>4. Effets de la carence oestrogénique sur le remodelage osseux.....</b>	<b>61</b>
4.1 Effets de la carence oestrogénique sur les différents facteurs impliqués dans le remodelage osseux.....	62
4.1.1 Implication du système RANK/RANKL/OPG dans la résorption osseuse post-ménopausique.....	62
4.1.2 TNF $\alpha$ .....	62
4.1.3 IFN $\gamma$ .....	63
4.1.4 TGF $\beta$ .....	63

4.1.5	IL-7 .....	64
4.1.6	Autres cytokines .....	65
4.2	Effets de la carence oestrogénique sur les acteurs cellulaires impliqués dans le remodelage osseux .....	65
4.2.1	Les lymphocytes T activés .....	65
4.2.2	Les lymphocytes B .....	67
4.2.3	Les ostéocytes: rôle de la sclérostine .....	67
4.3	Effets de la carence oestrogénique sur l'apoptose cellulaire dans le remodelage osseux. ....	68
4.4	Effets de la carence oestrogénique sur le stress oxydatif dans le remodelage osseux. ....	69
	<b>Synthèse.....</b>	<b>71</b>
	<b>Conclusion.....</b>	<b>74</b>
	<b>Liste des figures.....</b>	<b>75</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>76</b>

# INTRODUCTION

Chez la femme, l'évolution de la masse osseuse est en relation étroite avec les taux d'œstrogènes. Ils agissent sur l'os dès la puberté, conditionnent l'acquisition du capital osseux et permettent son maintien pendant toute la durée de l'activité génitale. Lorsque les concentrations en œstrogènes de l'organisme diminuent et que survient une situation de carence, le tissu osseux est directement impacté. La principale cause physiologique de la carence oestrogénique est la ménopause.

Dans toutes les situations de carence oestrogénique, on observe une perte osseuse liée à des modifications de l'activité du remodelage osseux et un déséquilibre de la balance formation/résorption. Cette perte progressive de la masse osseuse ainsi que la diminution de la qualité du tissu osseux conduisent à une plus grande fragilité du tissu osseux, directement responsable de l'augmentation du risque de fracture notamment au niveau des vertèbres, du col du fémur ou des poignets. En odontologie, l'influence de la carence en œstrogènes sur les os maxillaire et la mandibule est de plus en plus étudiée, notamment en raison de l'essor de l'implantologie dentaire.

Nous commencerons, dans un premier temps, par présenter le tissu osseux alvéolaire, le remodelage osseux et les facteurs de régulation de celui-ci. Dans un second temps, à travers l'analyse de la littérature, nous détaillerons les effets de la carence oestrogénique sur les os maxillaires et la mandibule. Enfin, nous décrirons les effets de la carence oestrogénique sur les différents facteurs impliqués dans le remodelage osseux.

# **1. Rappel sur l'organisation et la physiologie du tissu osseux.**

## **1.1 Organisation du tissu osseux alvéolaire<sup>[1-2]</sup>**

### **1.1.1 Architecture du tissu osseux alvéolaire**

L'os alvéolaire est défini comme la portion des os maxillaire et mandibulaire formant et supportant les alvéoles dentaires. Les procès alvéolaires se créent en même temps que le développement et l'éruption dentaire. Ils se résorbent ensuite graduellement avec la perte de la dent ou au cours d'un certain nombre de pathologies dentaires et péri-dentaires. L'organisation élémentaire du tissu osseux est similaire quel que soit l'os considéré, mais il existe des spécificités locales au niveau de l'os alvéolaire.

#### **1.1.1.1 Organisation macroscopique**

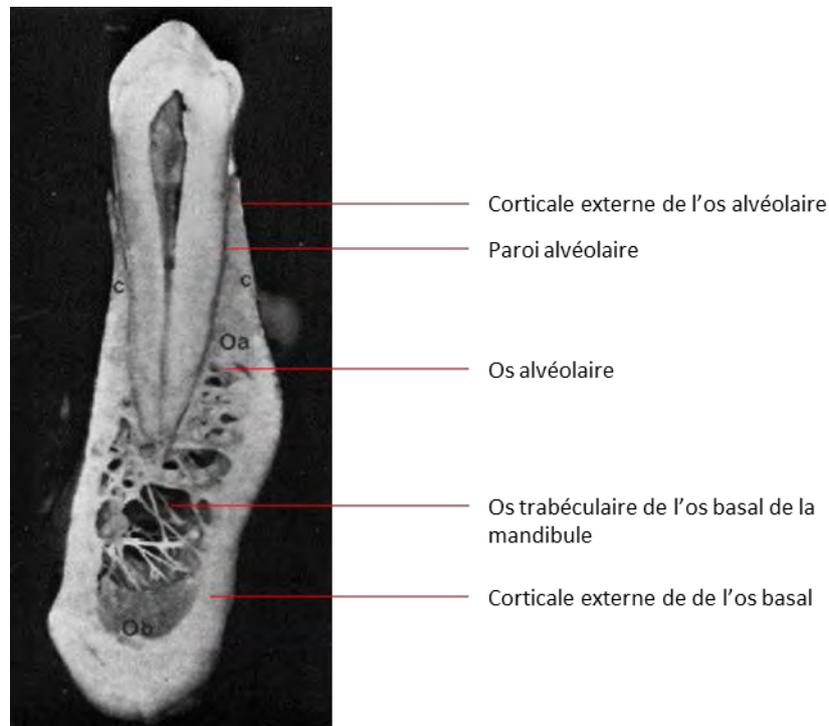
L'os alvéolaire est constitué en périphérie par une couche externe d'os compact (corticale externe) et une couche interne appelée paroi alvéolaire. Les portions centrales entre les corticales et la paroi alvéolaire (septa inter dentaire et inter radiculaire) sont constituées d'os trabéculaire.

#### **L'os cortical**

L'os cortical représente quasiment 90% du volume osseux total de l'organisme humain. La matrice osseuse occupe 95 % de sa composition.

- Corticale externe : Elle forme la paroi externe de l'os alvéolaire. Elle est recouverte par la gencive attachée et est en continuité avec la corticale de la portion basale. Elle est plus épaisse au maxillaire qu'à la mandibule. Son épaisseur croît de la ligne médiane aux molaires où elle est maximale, et est supérieure du côté lingual par rapport au côté vestibulaire. Elle est constituée histologiquement de systèmes lamellaires appliqués les uns contre les autres et de systèmes de Havers.

- Paroi alvéolaire : Elle tapisse la cavité alvéolaire qui reçoit les racines. C'est l'alvéole proprement dite, aussi appelée lame cribreuse ou lamina dura. Elle est constituée d'une portion d'os lamellaire et d'os fibreux où s'insèrent les principales fibres ligamentaires.



**Figure 1.** Anatomie de l'os alvéolaire et basal de la mandibule. Coupe sagittale au niveau d'une prémolaire inférieure. Adapté d'après [3].

### **L'os trabéculaire**

L'os trabéculaire constitue environ 10% du volume osseux total de l'organisme d'un adulte. La matrice osseuse ne représente que 20% de sa composition. Il forme le corps de l'os basal et de l'os alvéolaire. Egalement appelé os spongieux, sa structure est organisée en travées osseuses créant de vastes cavités appelées espaces médullaires et contenant la moelle osseuse. L'orientation des travées osseuses est dictée par la direction des forces mécaniques qui s'appliquent sur elles. La résistance aux forces appliquées est très importante, c'est pourquoi l'orientation des travées est différente selon la localisation de l'os considéré. Au niveau de l'os basal, l'orientation des travées osseuses est fonction des forces exercées par les muscles

masticateurs alors qu'au niveau de l'os alvéolaire, l'orientation de celle-ci s'oppose aux forces occlusales transmises par l'organe dentaire<sup>[4]</sup>.

L'os alvéolaire est constamment renouvelé en réponse à l'usure dentaire et la dérive mésiale. En effet, les dents se déplacent au cours de la vie d'un individu en raison de la migration physiologique (ou déplacement spontané). Ce déplacement dentaire spontané se produit dans une direction précise et varie suivant les espèces : chez l'homme, il est mésial et vertical.

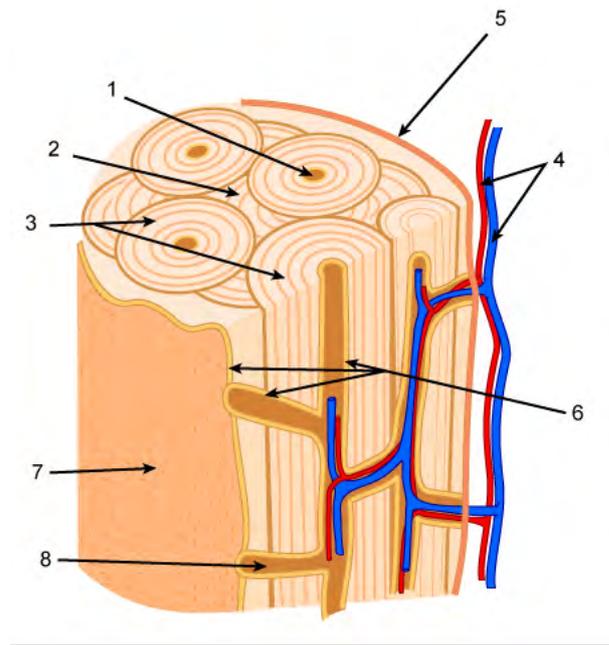
L'os spongieux des septa inter-dentaires et inter-radiculaires renferme des canaux nutritifs dits canaux perforants de Zukerkandl et Hirschfeld qui se terminent vers la crête alvéolaire pour livrer passage aux nerfs et vaisseaux.

### **Le périoste et l'endoste**

Le périoste constitue la portion la plus externe du tissu osseux. C'est un tissu conjonctif abondamment innervé et richement vascularisé. Il s'organise en deux couches spécialisées :

- Une couche interne, ostéogène, qui contient des cellules ostéoprogénitrices.
- Une couche externe, fibreuse, composée de tissu conjonctif dense. Elle contient de nombreux vaisseaux sanguins reliés aux canaux haversien par les canaux dit de Volkmann, ainsi que des fibres collagéniques en abondance. Certaines de ces fibres dites fibres de Sharpey sont incluses d'un côté au ciment et de l'autre superficiellement à l'os alvéolaire. Elles décrivent ainsi un système dento-périosté participant à la constitution du ligament parodontal.

L'endoste est une membrane de tissu conjonctif recouvrant la face interne de l'os compact et les trabécules de l'os spongieux. L'endoste est formé d'une seule couche qui contient des cellules ostéoprogénitrices et tient un rôle hématopoïétique.



**Figure 2. Organisation macroscopique du tissu osseux.**

1. canal de Havers; 2. système interstitiel; 3. systèmes de Havers; 4. vaisseaux sanguins; 5. périoste; 6. endoste; 7. tissu osseux spongieux tapissant la cavité médullaire; 8. canal de Volkmann.

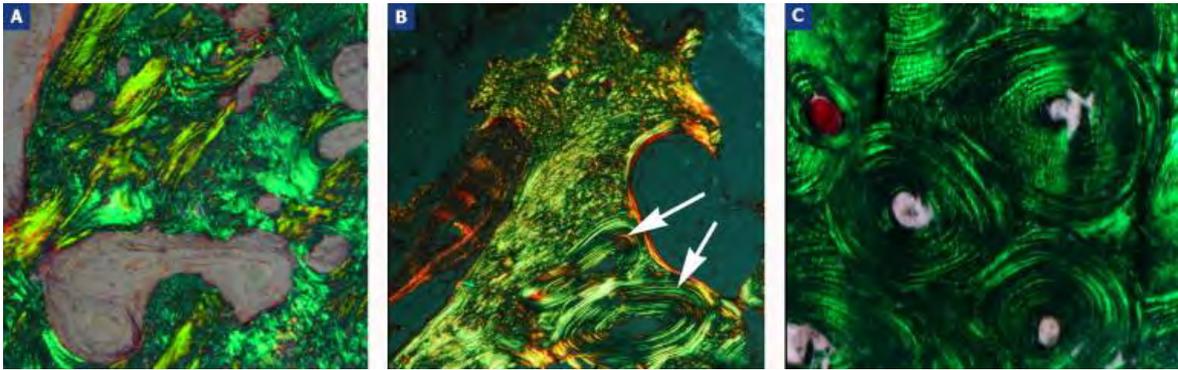
### 1.1.1.2 Organisation structurelle<sup>[5]</sup>

#### Structure primaire

On distingue deux types d'os ayant des caractéristiques structurelles différentes selon l'organisation des fibres de collagène et l'état de maturité du tissu osseux : l'os réticulaire et l'os lamellaire.

- L'os réticulaire encore appelé os tissé ou os fibreux est un os immature. Sa structure est non lamellaire et caractérisée par une disposition anarchique des fibres de collagène. Il s'agit d'un os mécaniquement faible. Il est normalement présent chez l'embryon et chez l'enfant où il est progressivement remplacé par de l'os lamellaire, mais on le trouve également au niveau des cals de fractures, de certaines tumeurs osseuses et dans la maladie osseuse de Paget.

- L'os lamellaire (ou mature) constitue les os des adultes. Sa texture lamellaire confère à l'os sa résistance mécanique. L'os lamellaire est constitué d'os spongieux et d'os compact, qui sont tous les deux structurés de manière lamellaire. L'os spongieux est constitué de lamelles plates tandis que l'os compact est formé de lamelles concentriques disposées autour d'un vaisseau sanguin.



**Figure 3. Structure primaire de l'os observée en microscopie de polarisation.**

A. Os à texture fibreuse non lamellaire. B. Mélange de plages d'os lamellaire et non lamellaire. C. Os cortical à texture lamellaire composé d'ostéons complets.

### **Structure secondaire**

Les fibres de collagène qui composent les systèmes de Havers sont organisées en structures lamellaires de 5 à 20 couches centrées sur le canal de Havers qui contient un vaisseau sanguin central. Un ostéon a un diamètre compris entre 200 et 300  $\mu\text{m}$ . Entre les ostéons, le tissu osseux est appelé os interstitiel qui, chez l'adulte, est le fruit du remodelage d'anciens ostéons.

### **1.1.2 Histo-physiologie du tissu osseux alvéolaire<sup>[6]</sup>**

Les phénomènes de formation et de résorption osseuse font intervenir respectivement des cellules ostéoprogénitrices et ostéorésorbantes d'origines différentes. On retrouve ces cellules à la surface des trabécules dans l'os spongieux,

à la surface de l'os cortical, sur les parois alvéolaires face au ligament parodontal, et au niveau des espaces médullaires.

### 1.1.2.1 Les cellules osseuses<sup>[7-8]</sup>

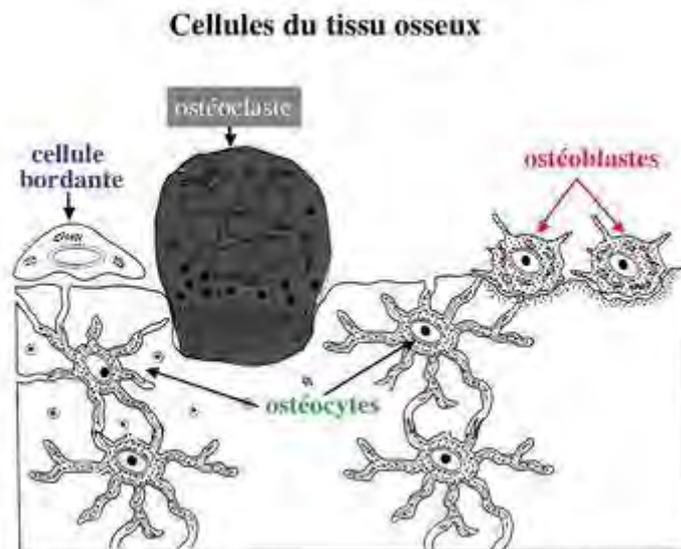


Figure 4. Les cellules du tissu osseux<sup>[8]</sup>.

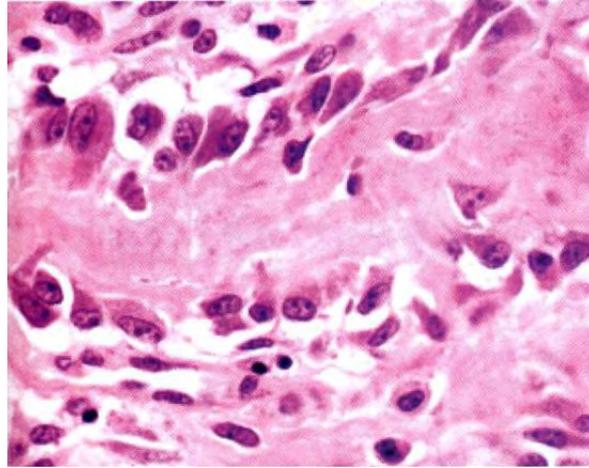
#### 1.1.2.1.1 Les cellules ostéoformatrices : la lignée ostéoblastique

##### Les ostéoblastes

L'ostéoblaste est la cellule sécrétrice des constituants de la matrice organique. Son origine est mésenchymateuse et il dérive d'une cellule souche pluripotente commune aux chondrocytes, fibroblastes, myocytes et adipocytes. Leur morphologie est directement liée à leur état métabolique. Les ostéoblastes non actifs présentent une morphologie fusiforme. Les ostéoblastes sécréteurs sont de forme polyédrique à cuboïdale et ont une taille variant de 10 à 80  $\mu\text{m}$ .

Les ostéoblastes tapissent les surfaces osseuses en cours de formation. Leur cytoplasme renferme un abondant réticulum endoplasmique granuleux, un appareil de Golgi très développé et de nombreuses mitochondries témoins d'une synthèse protéique importante. Ils sont caractérisés par une activité phosphatase alcaline importante.

Leur fonction principale est la synthèse de la trame protéique de l'os (collagène et protéines non collagéniques). À l'issue de la période de formation, les ostéoblastes peuvent se transformer en cellules bordantes, en ostéocytes ou mourir par apoptose.

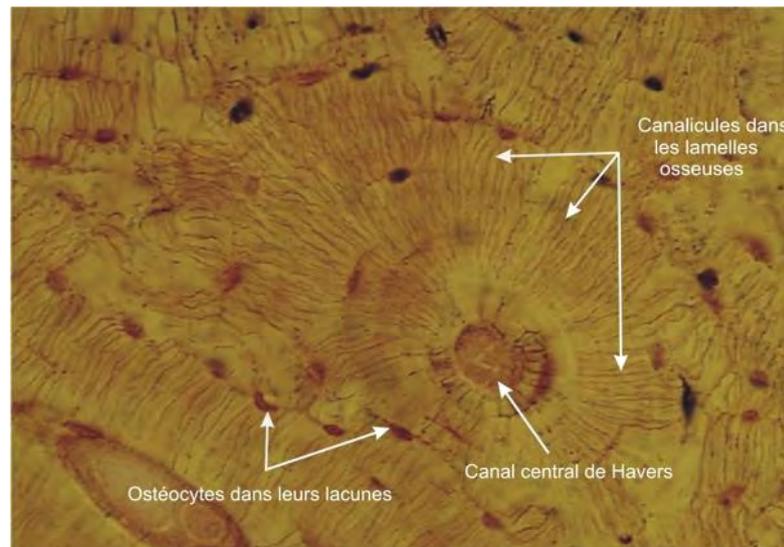


**Figure 5. Ostéoblastes actifs recouvrant un trabécule osseux<sup>[9]</sup>.**

### **Les ostéocytes<sup>[7,10]</sup>**

Les ostéocytes sont les cellules les plus abondantes de l'os. Un dixième environ des ostéoblastes matures se retrouvent « emmurés » dans la matrice minéralisée, au sein de logettes appelées ostéoplastes, et deviennent alors des ostéocytes. Ces cellules ne se divisent plus. Au cours de cette transformation, ils perdent une grande partie de leurs organites.

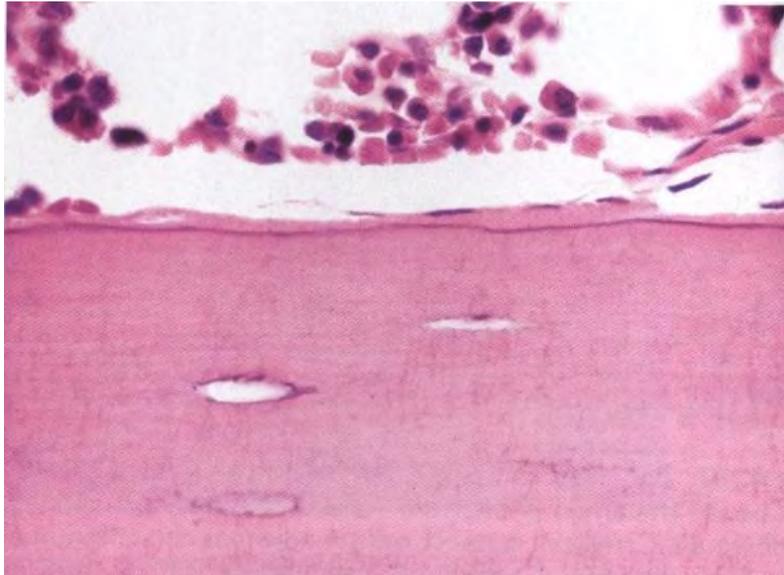
L'ostéocyte est une cellule étoilée possédant de très nombreux prolongements cytoplasmiques qui cheminent à travers un réseau de canalicules creusé dans la matrice osseuse. Ce réseau permet de relier les ostéocytes entre eux, mais aussi aux cellules de la surface. Au travers de ces canalicules circulent diverses informations chimiques et mécaniques. Les ostéocytes sont probablement les cellules qui orientent dans l'espace l'activité des ostéoblastes. De plus, ils expriment spécifiquement la sclérostine, puissant agent inhibiteur de la formation osseuse<sup>[11]</sup>.



**Figure 6. Fine tranche d'os compact calcifié et mise en évidence des fins canalicules associés aux lacunes contenant les ostéocytes<sup>[12]</sup>.**

### **Les cellules bordantes**

Les cellules bordantes sont des ostéoblastes devenus progressivement aplatis. Elles forment une couche cellulaire attachée et alignée le long des surfaces osseuses inactives. Différents rôles leur sont attribués. Unies entre elles et aux ostéocytes, elles pourraient participer au réseau de communications intercellulaires. Elles pourraient également constituer une barrière fonctionnelle entre la moelle osseuse et l'os calcifié. Les cellules bordantes seraient également une source de cellules ostéoblastiques de réserve capables de se transformer en cellules ostéogéniques sous l'action de certains stimuli. Enfin, elles pourraient jouer un rôle déterminant dans la modulation de l'activité ostéoclastique en libérant lors de l'activation d'un cycle de remodelage des substances chimiotactiques reconnues par les précurseurs ostéoclastiques.



**Figure 7. Cellules bordantes recouvrant un trabécule osseux<sup>[13]</sup>.**

#### **1.1.2.1.2 Origine et différenciation des cellules de la lignée ostéoblastique<sup>[14]</sup>**

Les cellules ostéoformatrices dérivent de cellules souches mésenchymateuses pluripotentes présentes dans la moelle osseuse. La formation osseuse est principalement dépendante du nombre d'ostéoblastes différenciés. La différenciation ostéoblastique est sous le contrôle de facteurs de régulation systémiques et locaux, d'interactions cellulaires et de facteurs de transcription.

- Les hormones les plus importantes contrôlant l'ostéoformation sont l'hormone parathyroïdienne (PTH), les hormones sexuelles en particulier les œstrogènes, les glucocorticoïdes et la vitamine D. De plus, plusieurs facteurs de croissance sont d'importants régulateurs du recrutement, de la différenciation et de la fonction de l'ostéoblaste. Les facteurs les plus importants sont : les *Insulin-like Growth Factors* (IGFs), les *Transforming Growth Factors  $\beta$*  (TGFs- $\beta$ ), les *Bone Morphogenetic Proteins* (BMPs) et les *Fibroblast Growth Factors* (FGFs).

- Plusieurs types d'interactions cellulaires ont un rôle inducteur ou permissif sur la différenciation ostéoblastique. Les jonctions formées par les connexines contrôlent l'activité fonctionnelle des ostéoblastes. L'invalidation de la connexine 43 chez la souris altère la fonction ostéoblastique et induit un retard d'ossification<sup>[15]</sup>.
- Parmi les facteurs régulant la différenciation des cellules souches vers la voie ostéoblastique, le facteur *Core-binding factor* (Cbfa)1 joue un rôle incontournable<sup>[16]</sup>. Son rôle a été démontré par son inactivation génique chez des souris mutantes, qui entraîne l'absence totale d'ossification<sup>[17]</sup>. En revanche, la surexpression de Cbfa1 dans des cellules oriente vers une différenciation ostéoblastique<sup>[18]</sup>. Son expression n'est pas spécifique au tissu osseux car Cbfa1 est aussi exprimé par les chondrocytes et jouerait également un rôle dans le développement dentaire<sup>[19]</sup>. Une fois les cellules souches engagées vers la voie ostéoblastique, un autre système est nécessaire pour leur différenciation en ostéoblastes matures : le système Wnt/ $\beta$ caténine. Il existe de nombreux inhibiteurs naturels de ce système, parmi lesquels on peut citer la sclérostine.

#### **1.1.2.1.3 Les cellules ostéorésorbantes : la lignée ostéoclastique<sup>[20]</sup>**

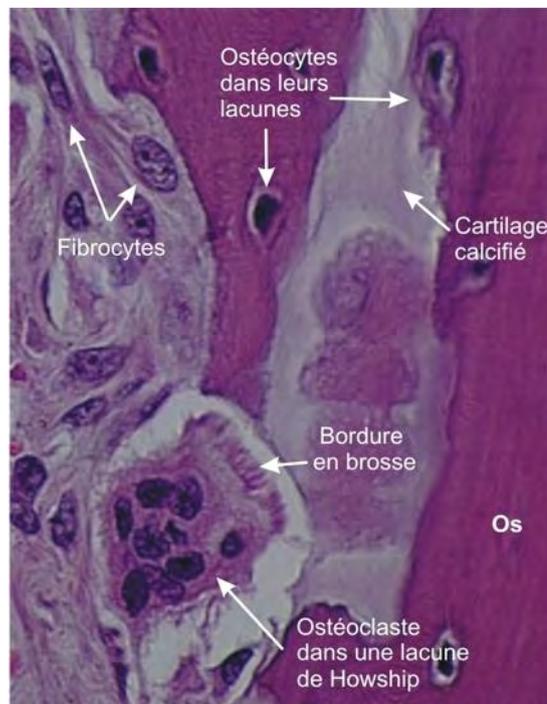
L'ostéoclaste est issu de la différenciation de cellules hématopoïétiques de la moelle communes aux monocytes et aux macrophages. Après une étape de multiplication dans la moelle, les cellules s'orientent vers une différenciation ostéoclastique. Les préostéoclastes mononucléés fusionnent pour former des ostéoclastes matures multinucléés, qui sont des cellules géantes de 100  $\mu$ m de diamètre en moyenne. Cette cellule mature possède un appareil de Golgi très développé autour de chaque noyau, de nombreuses mitochondries ainsi que d'importantes quantités de vésicules lysosomales.

Au repos ou en migration, l'ostéoclaste est une cellule étalée sans polarité membranaire particulière. Lorsqu'il devient actif, il acquiert une polarité verticale

avec la formation, au contact de l'os, d'une membrane spécialisée divisée en deux domaines :

- La zone d'ancrage, située à la périphérie de la cellule, établit un contact étroit et hermétique entre l'ostéoclaste et la matrice osseuse qui va délimiter le futur compartiment de résorption.
- La bordure plissée, formant la zone centrale de la membrane spécialisée, est constituée de nombreux replis aux niveaux desquels s'effectueront les principaux échanges lors de la dégradation du minéral osseux.

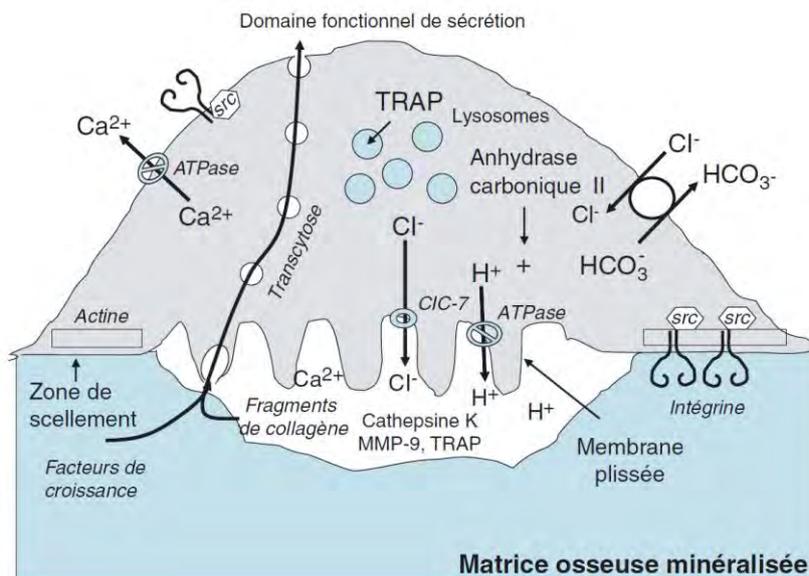
La durée de vie moyenne d'un ostéoclaste humain est de 2 semaines après lesquelles il entre en apoptose.



**Figure 8. Ostéoclastes<sup>[21]</sup>** : Une portion de la cellule fait face à une lacune de résorption de l'os, ou lacune de Howship. Dans cette lacune, la membrane cytoplasmique de l'ostéoclaste montre une bordure en brosse formée de fins prolongements membranaires.



**Figure 9. Ostéoclaste en cours de résorption osseuse vu en microscopie électronique à balayage<sup>[22]</sup>.**



**Figure 10. Représentation schématique de l'ostéoclaste<sup>[23]</sup>.**

Cette cellule est caractérisée sur la base de critères morphologiques, phénotypiques et fonctionnels. La capacité des ostéoclastes à dégrader de l'os ou de la dentine *in vitro* est le critère le plus convaincant car seules ces cellules remplissent une telle fonction<sup>[24]</sup>. Cette cellule peut aussi être caractérisée par la présence de phosphatase acide tartrate résistante (TRAP) contenue dans ses nombreux lysosomes ou d'autres enzymes, qui participent à l'activité de résorption comme l'anhydride carbonique II et la cathepsine K. Le récepteur à la calcitonine est également utilisé comme marqueur.

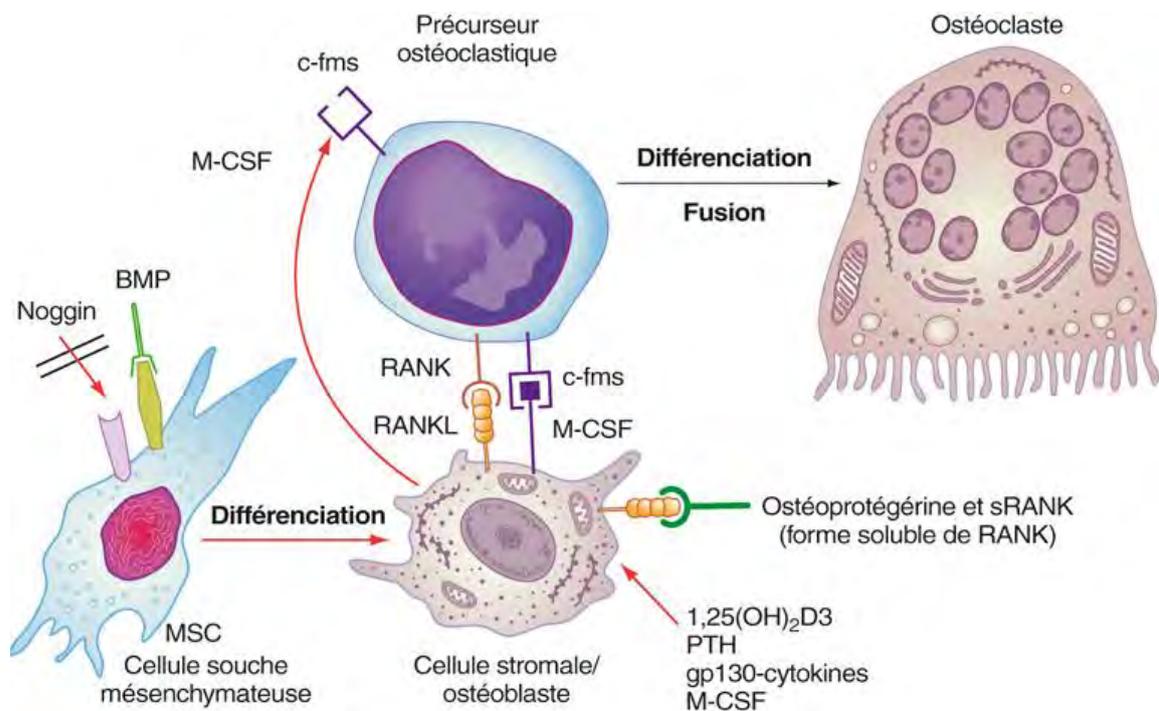
#### 1.1.2.1.4 Facteurs impliqués dans la différenciation ostéoclastique<sup>[25-30]</sup>

Les précurseurs des ostéoblastes sont indispensables à la différenciation des ostéoclastes. La découverte de facteurs ostéoblastiques agissant spécifiquement sur l'ostéoclaste a permis un développement considérable de la compréhension des mécanismes physiologiques.

- L'ostéoprotégérine (OPG) est la première molécule identifiée chez le rat et la souris<sup>[31]</sup>. Cette protéine ne possède pas de domaine transmembranaire et fait partie des formes solubles des récepteurs des *Tumor Necrosis Factors* (TNFs). Elle agit comme un récepteur-piège du *Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B Ligand* (RANKL) dont elle inhibe ainsi l'action. Les souris transgéniques déficientes en OPG (OPG<sup>-/-</sup>) développent une ostéoporose sévère avec une augmentation de la différenciation et de l'activité des ostéoclastes<sup>[32-33]</sup>. La surexpression de cette protéine conduit à une augmentation de la densité osseuse et à une ostéopétrose<sup>[34]</sup>. L'administration d'OPG chez le rat entraîne une augmentation de la densité minérale osseuse (DMO) et du volume osseux, avec une diminution du nombre d'ostéoclastes actifs<sup>[35]</sup>. De plus, l'OPG aurait également la capacité d'induire l'apoptose des ostéoclastes<sup>[30]</sup>.
- Le ligand de l'OPG est donc le RANKL, un puissant inducteur de la résorption osseuse, apparenté au TNF- $\alpha$ . RANKL est exprimé par le tissu lymphoïde et les cellules préostéoblastiques. La forme soluble recombinante du RANKL injectée à des souris entraîne une hypercalcémie et une augmentation de la résorption osseuse. Les souris dont le gène du RANKL est invalidé ont une ostéopétrose<sup>[36]</sup>.
- RANK appartient à la famille des récepteurs des TNFs. Dans l'os, RANK est uniquement exprimé dans les ostéoclastes et ses précurseurs. Dans les autres tissus, RANK est surtout exprimé dans les fibroblastes, les cellules dendritiques et les lymphocytes T et B.

RANK est essentiel à la différenciation et à la survie des ostéoclastes<sup>[37]</sup>. Les souris transgéniques RANK<sup>-/-</sup> développent une ostéopétrose et les précurseurs ostéoclastiques sont incapables de se différencier en ostéoclastes *in vitro* (en présence de RANKL et de M-CSF)<sup>[38]</sup>.

- Le facteur de croissance *Macrophage Colony-Stimulating Factor* (M-CSF) sécrété par les ostéoblastes est indispensable à la différenciation ostéoclastique mais pas suffisant<sup>[25]</sup>. L'association de M-CSF et d'une forme recombinante soluble de RANKL est apparue nécessaire et suffisante pour obtenir des ostéoclastes matures *in vitro*, en l'absence d'ostéoblastes ou de cellules stromales jusque-là indispensables<sup>[25]</sup>.



**Figure 11. Différenciation et activation des ostéoclastes par couplage ostéoblaste / ostéoclaste lors du remaniement physiologique<sup>[39]</sup>.**

## **Modulation du système RANK/RANKL/OPG**

L'expression de RANKL et de l'OPG par les cellules mésenchymateuses pré-ostéoblastiques et les ostéoblastes est modifiée par différents facteurs :

- Les glucocorticoïdes diminuent l'expression d'OPG par les ostéoblastes.
- L'expression de RANKL par les ostéoblastes est augmentée par les agents qui augmentent *in vitro* le développement des ostéoclastes tels que la vitamine D3, l'IL-1, PGE2 et la PTH<sup>[40-41]</sup>.
- Il est intéressant de noter également que Cbaf1 (le facteur de transcription qui induit le phénotype ostéoblastique) régule directement l'expression des gènes de RANKL et de l'OPG.

### **1.1.2.2 La Matrice Extra Cellulaire (MEC)<sup>[42]</sup>**

C'est l'ostéoblaste qui synthétise la matrice osseuse et régule sa minéralisation. La fraction organique de cette matrice est composée de collagène de type I auquel est liée la fraction minérale constituée essentiellement de cristaux d'hydroxyapatite de calcium  $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})_2]$ .

#### **1.1.2.2.1 Phase organique**

Le collagène représente 90 % de la matrice organique. C'est une glycoprotéine fibreuse, rigide, formant une triple hélice. Le collagène est synthétisé sous la forme de tropocollagène. Cinq molécules de tropocollagène sont ensuite agencées en microfibrilles. Une fibrille est ensuite constituée par l'assemblage régulier de microfibrilles conférant à cette molécule en microscopie électronique un aspect caractéristique strié, alternant bandes sombres et bandes claires. Les fibres collagéniques ainsi formées sont associées à des protéines non collagéniques sécrétées par les ostéoblastes, ainsi qu'à des protéines plasmatiques et des facteurs de croissance. Cette matrice nouvellement formée, appelée tissu ostéoïde, est minéralisée dans un second temps.

Les protéines non collagéniques ne constituent que 10 % du tissu organique et 2 % du poids total de l'os. On peut schématiquement classer les protéines non collagéniques en trois groupes :

- les protéines non collagéniques osseuses proprement dites, comme l'ostéocalcine, l'ostéonectine et l'ostéopontine.
- les protéines plasmatiques synthétisées dans d'autres organes et qui s'accumulent dans l'os à partir du plasma et des liquides interstitiels.
- les facteurs de croissance.

Les protéines non collagéniques participent non seulement à l'organisation macromoléculaire du tissu osseux, mais elles interviennent aussi dans de nombreux processus encore mal connus de la physiologie osseuse (mécanismes de la minéralisation, chimiotactisme cellulaire, phénomènes de couplage entre résorption et formation osseuses, etc.).

#### **1.1.2.2.2 Fraction minérale**

La phase inorganique de la matrice osseuse confère à l'os sa rigidité et sa résistance mécanique. Elle représente aussi une importante réserve minérale. En effet, environ 99 % du calcium de l'organisme, 85 % du phosphore et entre 40 et 60 % du sodium et du magnésium sont incorporés dans les cristaux qui constituent la substance minérale osseuse.

Elle est essentiellement composée de phosphate de calcium cristallisé sous forme d'hydroxyapatite. Les cristaux d'hydroxyapatite ont une forme hexagonale, aplatie et sont disposés dans les espaces interfibrillaires. Leur nombre et leur taille s'accroissent lentement au cours du processus de minéralisation secondaire.

#### **1.1.2.2.3 L'eau**

En très faible quantité dans le tissu osseux, elle ne représente que 10% de son volume total, alors qu'elle représente 60% du volume total de l'organisme.

## 1.2 Physiologie osseuse

### 1.2.1 Principes généraux<sup>[43-44]</sup>

Le remodelage osseux accomplit trois principales fonctions :

- Il permet tout d'abord à l'organisme de réguler l'équilibre minéral (homéostasie du calcium et du phosphate).
- Il constitue ensuite un mécanisme d'adaptation du squelette à son environnement mécanique, réduisant ainsi le risque de fracture.
- C'est enfin un mécanisme de renouvellement tissulaire et de réparation des dommages osseux, créés notamment lors des contraintes.

La première de ces fonctions est remplie à travers un remodelage qui ne dépend pas du site, dit « stochastique ». Pour rétablir l'équilibre minéral, la régulation mise en jeu est systémique et le tissu osseux dans son ensemble est sollicité jusqu'à ce que l'équilibre minéral soit restitué. Les deux autres fonctions exigent en revanche un remodelage site dépendant, c'est-à-dire, plus ciblé.

L'os alvéolaire est en perpétuel remaniement. Sa labilité physiologique est maintenue par un équilibre constant entre les phénomènes de formation et de résorption, assurant le renouvellement des structures osseuses.

A l'état normal, comme par exemple au cours de la migration physiologique des dents, la quantité d'os détruits est égale à la quantité d'os formés. Dans d'autre situation, comme l'hypofonction ou l'hyperfonction, la balance entre résorption et formation est déséquilibrée.

### 1.2.2 Le cycle du remodelage osseux

Le remodelage osseux est le résultat de l'activité de multiples unités cellulaires appelées *basal multicellular units* (BMUs). C'est au sein des BMUs qu'agissent de manière séquentielle et couplée dans le temps et l'espace les ostéoclastes et les

ostéoblastes. Chez l'adulte, le nombre d'unités actives à un instant donné est d'environ 1 million.

Le taux d'apparition de nouvelles BMU est plus important dans l'os trabéculaire que dans l'os cortical. Ainsi, l'os trabéculaire se renouvelle, chez l'humain, cinq à huit fois plus vite que l'os cortical.

Une BMU naît en un point et à un moment donné. Elle se déplace sur la surface osseuse à une vitesse évaluée à 25  $\mu\text{m}$  par jour et disparaît une fois l'os remplacé. Cette structure nécessite ainsi un apport constant de cellules précurseurs ostéoclastiques à l'avant du front de progression et ostéoblastiques à l'arrière.

### **Phase d'activation**

Il s'agit de la phase de recrutement des précurseurs mononucléés des ostéoclastes. Dans une BMU, le remodelage commence par une activation des cellules bordantes qui recouvrent les surfaces osseuses inactives. Ces cellules se rétractent et dégradent la couche collagénique sous-jacente. C'est ce phénomène qui attire par chimiotactisme les préostéoclastes sur la zone osseuse ainsi exposée.

### **Phase de résorption**<sup>[45]</sup>

La résorption débute par l'adhérence de l'ostéoclaste sur la travée osseuse avec constitution d'une « poche » hermétique entre la membrane plissée et os. Dans cette zone délimitée, l'ostéoclaste relargue des ions  $\text{H}^+$  grâce à une pompe à protons réduisant ainsi le pH. Il s'ensuit une dissolution de la phase minérale du tissu osseux. Arrive alors une phase de digestion de la matrice collagénique grâce à de nombreuses enzymes lysosomales telles que la cathepsine K et les métalloprotéases matricielles libérées par exocytose. Une partie des produits de dégradation de la matrice sont internalisés par des phénomènes d'endocytose pour être ensuite métabolisés ou relargués par la partie basolatérale de la membrane. Peu à peu apparaît une lacune de résorption (ou lacune de Howship).

### **Phase d'inversion**

La phase d'inversion correspond au remplacement des ostéoclastes par des cellules mononucléées de type macrophagique qui lissent le fond de la cavité. La disparition des ostéoclastes correspond au signal inducteur de la reformation osseuse et se

traduit par un comblement de la lacune avec notamment le dépôt de la ligne cémentante au fond de celle-ci.

### **Phase de reconstruction ou néo formation osseuse**

C'est à ce moment que survient le recrutement des ostéoblastes dans la lacune, qu'ils comblent en apposant une nouvelle matrice organique, qui sera ensuite minéralisée. L'activité de formation au sein d'une BMU dépend davantage du nombre initial d'ostéoblastes que de l'activité propre de chaque cellule. La vitesse d'apposition de la matrice osseuse est initialement élevée, puis diminue lorsque la lacune de résorption se comble. Vient enfin une phase de « quiescence » pendant laquelle la minéralisation secondaire de la matrice est finalisée. Cette étape correspond à une accumulation de minéraux dans la matrice indépendamment des cellules osseuses.

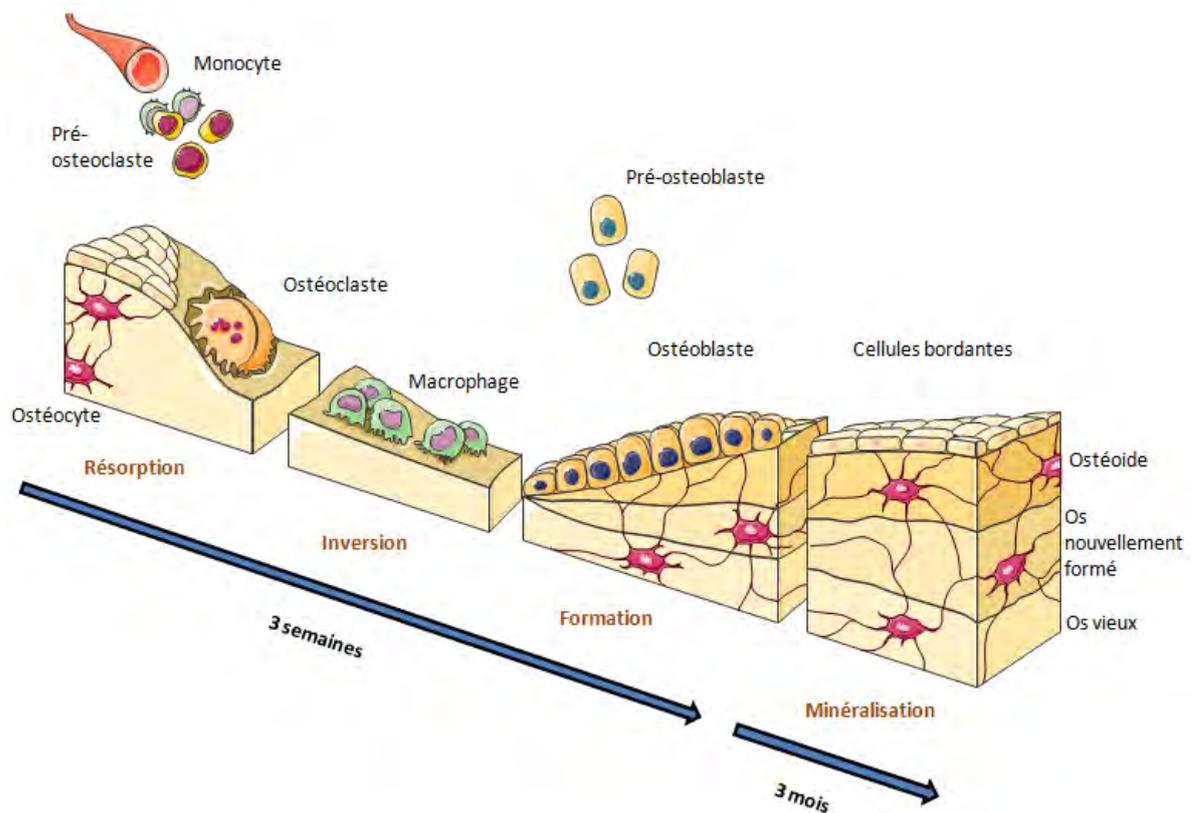


Figure 12. Représentation d'un cycle de remodelage osseux.

### 1.2.3 Contrôle et facteurs de régulations du remodelage osseux<sup>[46]</sup>

Le mécanisme cellulaire de renouvellement du tissu osseux est soumis à l'influence de facteurs exogènes et endogènes. Les plus importants sont les facteurs hormonaux et locaux, ainsi que les contraintes mécaniques.

#### 1.2.3.1 Facteurs systémiques

##### Vitamine D<sup>[47-49]</sup>

La vitamine D active est la 1,25(OH)2D3. Elle joue un rôle essentiel dans la régulation de l'homéostasie phosphocalcique et de la minéralisation du squelette. Elle stimule l'absorption digestive du calcium et du phosphate. Elle a aussi des effets directs sur les cellules osseuses, notamment en stimulant l'expression de nombreux gènes dans les ostéoblastes, tels que ceux de la phosphatase alcaline, l'ostéocalcine et le collagène de type I. Ces effets complexes peuvent varier selon l'état de différenciation de ces cellules. L'activité de la 1,25(OH)2D3 se fait par deux mécanismes d'action :

- Une action génomique à travers un récepteur spécifique assurant une régulation transcriptionnelle de l'expression de plusieurs gènes.
- Une action non génomique par le biais de protéines membranaires. Cette réponse non génomique permet une action rapide, en quelques minutes, de la 1,25(OH)2D3.

##### Parathormone<sup>[50-52]</sup>

La parathormone (PTH) est au centre de la régulation du métabolisme osseux, mais son action est complexe. La PTH est mise en jeu par l'hypocalcémie et amène une stimulation de la résorption osseuse. Il en résulte un flux de calcium de l'os vers le sang.

La PTH agit par le biais d'un récepteur présent sur les ostéoblastes mais absent des ostéoclastes<sup>[53]</sup>. Les effets de la PTH sont dépendants de la dose et du mode d'administration, continu ou intermittent. Ainsi, elle exerce un effet anabolique sur

le tissu osseux lorsqu'elle est administrée de façon intermittente<sup>[54]</sup>, avec une augmentation du nombre et de l'activité des ostéoblastes. En revanche, elle est catabolique lorsqu'elle est administrée de façon continue.

La PTH augmente la résorption osseuse en stimulant la différenciation des ostéoclastes et leur prolifération. Elle agit sur les cellules préostéoblastiques qui vont exprimer les facteurs locaux de différenciation ostéoclastiques (RANKL ...). Les effets de la PTH sur l'os peuvent également être indirects car la PTH induit la synthèse de nombreux facteurs locaux comme l'IL-6 ou les IGFs, et module l'activité du TGF- $\beta$  en stimulant son interaction avec son récepteur. De plus, elle inhibe l'expression de SOST, le gène de la sclérostine, par les ostéocytes, ce qui constitue un autre mode de contrôle de la formation osseuse<sup>[55]</sup>. Enfin, la PTH est le principal facteur qui stimule la synthèse rénale du 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> à partir de la vitamine D circulante.

Il existe, en plus de l'hormone parathyroïdienne, des peptides nommés PTHrp (*parathyroid-hormone-related peptides ou proteins*) qui activent les récepteurs de la PTH<sup>[56]</sup>. La principale différence entre la PTH et les PTHrp est que la PTH a une action endocrine : véhiculée par le sang, elle agit à distance de son lieu de sécrétion alors que les PTHrp agissent localement (action paracrine).

### **Calcitonine**<sup>[57]</sup>

La calcitonine est synthétisée principalement par les cellules C de la thyroïde. Elle est hypocalcémiante. La calcitonine inhibe directement la résorption osseuse, à travers des récepteurs spécifiques exprimés uniquement par les ostéoclastes. Sous l'action de la calcitonine, l'activité de l'anhydrase carbonique des ostéoclastes diminue, les ostéoclastes deviennent moins mobiles et leur activité de résorption est inhibée.

### **Hormones sexuelles**<sup>[58-59]</sup>

Les œstrogènes sont les principaux régulateurs hormonaux du niveau de remodelage du tissu osseux. Leurs rôles au niveau du tissu osseux seront abordés dans les parties 3 et 4 de ce travail.

Les androgènes ont également des effets sur le tissu osseux à travers des récepteurs spécifiques. La part de leurs effets directs reste encore mal appréciée, comparée à celle de leurs effets indirects par conversion oestrogénique. La progestérone stimule également la formation osseuse, indépendamment des œstrogènes.

### **Hormones thyroïdiennes**<sup>[60]</sup>

Les hormones thyroïdiennes augmentent le remodelage osseux. Cet effet résulte d'une augmentation du recrutement des BMUs et de leur fréquence d'activation. Chez l'humain, l'hyperthyroïdie est responsable d'une perte osseuse liée à un hyper-remodelage osseux, pouvant entraîner une perte précoce des dents.

Le mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes sur les cellules osseuses reste encore mal élucidé. Elles peuvent agir directement sur les ostéoblastes, qui possèdent au niveau membranaire des récepteurs spécifiques, pour stimuler la production des phosphatases alcalines, de l'ostéocalcine et des IGFs. Elles pourraient stimuler également la production de cytokines par les ostéoblastes ou les monocytes.

### **Hormone de croissance**

Elle est sécrétée par l'hypophyse et a des effets stimulateurs sur la formation osseuse pouvant être directs, en agissant sur des récepteurs spécifiques présents dans des tissus ou indirects, via la stimulation de la production d'IGF-I produite localement.

### **Autres hormones hypophysaires**<sup>[61-62]</sup>

Les hormones hypophysaires exercent des effets osseux indirects à travers le contrôle de la sécrétion des hormones périphériques sous leur dépendance. Elles peuvent également agir directement par le biais de récepteurs spécifiques exprimés par les cellules osseuses. Ainsi, la thyroïdostimuline hypophysaire exercerait des effets protecteurs sur la masse osseuse par diminution de l'activité ostéoclastique.

La *follicle stimulating hormone* (FSH) serait en partie responsable de la perte osseuse lors de l'ostéoporose post-ménopausique.

### 1.2.3.2 Facteurs locaux

#### **Bone morphogenetic proteins (BMPs)**<sup>[63]</sup>.

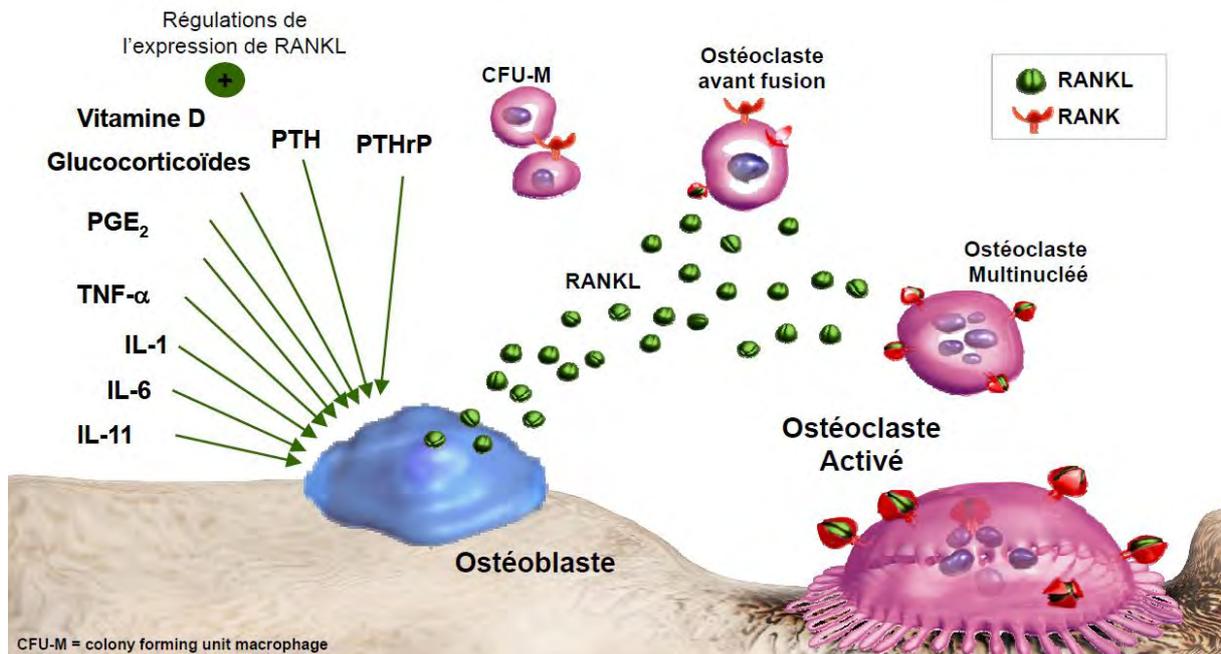
Les BMPs ont été définies initialement comme des protéines qui induisent la formation de cartilage et d'os. On sait aujourd'hui qu'elles agissent sur de nombreux autres tissus. Les BMPs interviennent à des niveaux différents dans le processus de l'ossification : aussi bien lors de la différenciation et de la prolifération cellulaire que lors de la formation de la matrice osseuse puis dans sa minéralisation.

#### **Colony stimulating factors (CSFs)**<sup>[64]</sup>

Ces facteurs, synthétisés par les cellules stromales de la moelle osseuse, régulent la prolifération et la différenciation des cellules hématopoïétiques. L'IL3 (*multilineage hematopoietic growth factor*), le *macrophage colony stimulating factor* (M-CSF), le *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF) et le *granulocyte colony stimulating factor* (G-CSF) sont les plus communs et sont synthétisés également par les ostéoblastes. Cette synthèse étant elle-même régulée par la PTH<sup>[82]</sup>.

#### **Système RANKL/OPG**<sup>[66-69]</sup>

Comme nous l'avons vu précédemment, le système RANK-L/OPG est le médiateur de la communication intercellulaire entre ostéoblastes et ostéoclastes. L'OPG et le RANKL ont des effets inverses sur l'ostéoclastogénèse. Plus précisément, c'est le ratio entre le niveau d'expression de RANKL et de son récepteur piège l'OPG par les ostéoblastes qui contrôle la résorption osseuse et donc le niveau de remodelage osseux.



**Figure 13. Regulation de l'expression de RANKL.** Adapté de Boyle WJ et al.<sup>[70]</sup>

### Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ )

Le TGF- $\beta$  est l'un des facteurs de croissance le plus abondamment stocké dans la matrice osseuse. Il est sécrété par les ostéoblastes et par de nombreux autres types cellulaires. Les effets du TGF- $\beta$  *in vitro* et *in vivo* sont complexes, stimulateurs ou inhibiteurs selon les conditions expérimentales. Ainsi, avec le même type cellulaire, des effets opposés peuvent être observés avec différentes concentrations de TGF- $\beta$  ou avec des cellules à des niveaux différents de différenciation.

De nombreux facteurs stimulant la résorption osseuse (PTH, IL1, ...) induisent la libération de TGF- $\beta$  à partir de la matrice osseuse *in vitro*. Inversement, la calcitonine inhibe cette libération. *In vitro*, les deux fonctions majeures du TGF- $\beta$  sont des effets sur la prolifération cellulaire et sur la formation de la matrice. Le TGF- $\beta$  a une action mitotique sur les précurseurs ostéoblastiques et une action chimiotactique sur les ostéoblastes. Il stimule la synthèse de collagène et de nombreuses protéines de la matrice osseuse<sup>[73]</sup>. Le TGF- $\beta$  1 est un facteur

chimiotactique qui recrute différents types cellulaires, notamment les précurseurs ostéoblastiques, aux sites de réparation et d'inflammation<sup>[74]</sup>. Toutefois, il ne peut induire de formation d'os en un site ectopique. En revanche, il peut stimuler la formation osseuse s'il est injecté à proximité de l'os, avec un effet anabolisant important<sup>[75-76]</sup>. Il présente également des effets inhibiteurs sur la résorption osseuse en inhibant la formation et l'activation des ostéoclastes<sup>[77]</sup> ou sur les ostéoclastes matures en induisant leur apoptose. Il joue ainsi un rôle capital dans la régulation du remodelage osseux<sup>[78]</sup>.

### **Insulin-like growth factors (IGFs)**<sup>[79]</sup>

Les IGFs jouent un rôle important dans la régulation de la croissance du tissu osseux et dans la différenciation cellulaire. Ces facteurs sont présents dans la circulation mais sont également synthétisés par les cellules osseuses.

L'IGF-1 a une action mitotique importante sur les ostéoblastes. Il joue également un rôle dans la différenciation ostéoblastique en augmentant la transcription des gènes du collagène et de l'ostéocalcine ainsi que la production de cytokines. Les teneurs en IGFs de l'os cortical diminuent avec l'âge, sans relation avec la perte osseuse. Leurs concentrations locales sont corrélées avec le nombre de BMUs et l'augmentation du remodelage. L'hormone de croissance, l'E2, les androgènes, la PTH et la PTHrp stimulent la production d'IGF-1 par l'ostéoblaste en culture.

### **Prostaglandines**<sup>[80]</sup>

Les prostaglandines sont produites localement par les ostéoblastes. La prostaglandine E2 (PGE2) est la principale prostaglandine synthétisée et possède des effets stimulateurs ou inhibiteurs sur la formation et la résorption osseuse selon la dose et le mode d'administration.

*In vivo*, la PGE2 peut stimuler l'activité de résorption en augmentant la prolifération des précurseurs ostéoclastiques. Les prostaglandines augmentent également la fréquence d'activation des BMUs<sup>[81]</sup>. Cependant d'autres études ont montré que la PGE2 était aussi capable d'inhiber la résorption osseuse en agissant sur les ostéoclastes matures<sup>[82]</sup>.

### 1.2.3.3 Autres facteurs de croissance et cytokines

#### **Epidermal growth factor (EGF)**

*In vitro*, il stimule la prolifération des cellules ostéoprogénitrices mais inhibe la synthèse de collagène par les ostéoblastes matures. Il est également capable de stimuler la résorption osseuse en augmentant la synthèse des prostaglandines.

#### **Fibroblast growth factor (FGF)<sup>[83]</sup>**

Les FGFs sont synthétisés par les ostéoblastes et sont stockés dans la matrice extracellulaire. Le FGF-1 et le FGF-2 augmentent la prolifération cellulaire ostéoblastique. Ils stimulent la synthèse de phosphatase alcaline et d'ostéocalcine. Ils inhibent la production de collagène et la réponse à la PTH. Il existe des interactions étroites entre les FGFs et d'autres facteurs locaux tels que le TGF- $\beta$ .

#### **Platelet derived growth factor (PDGF)<sup>[84]</sup>**

Il stimule la prolifération ostéoblastique.

#### **Transforming growth factor alpha (TGF- $\alpha$ )<sup>[85]</sup>**

C'est un polypeptide qui stimule le développement des précurseurs ostéoclastiques, donc la résorption, et inhibe la formation osseuse *in vitro*.

#### **Tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ )<sup>[86-87]</sup>**

Ce facteur est synthétisé par les monocytes, les macrophages activés, les kératinocytes et les cellules ostéoblastiques stimulés par l'IL-1, le M-CSF ou les lipopolysaccharides (LPS). Il stimule puissamment la résorption osseuse en augmentant la production d'ostéoclastes et en modifiant l'activité des ostéoclastes matures<sup>[88]</sup>. De plus, le TNF- $\alpha$  potentialise l'activité de l'IL-1. Il agit sur l'ostéoclastogenèse à la fois par des voies dépendantes et indépendantes de RANK/RANKL. Par exemple, le TNF $\alpha$  et le RANKL augmente, en synergie, l'expression de RANK dans les précurseurs des ostéoclastes<sup>[89]</sup>. Le TNF $\alpha$  stimule

d'une part, l'activité ostéoclastique<sup>[90]</sup> mais inhibe en même temps l'ostéoblastogénèse<sup>[91]</sup>. Ces deux éléments amenant à un déséquilibre entre la formation et la résorption osseuse.

#### **1.2.3.4 Interleukines<sup>[86-87,92]</sup>**

- L'IL1 stimule la résorption en agissant sur le recrutement, l'activité et l'apoptose des ostéoclastes, par des mécanismes dépendants ou non du système RANK/RANKL.
- L'IL-4 inhibe la résorption.
- L'IL-6 active la résorption et stimule l'activité ostéoclastique.
- L'IL-11 stimule l'activité ostéoclastique et l'ostéoclastogénèse.

## **2. Les œstrogènes**

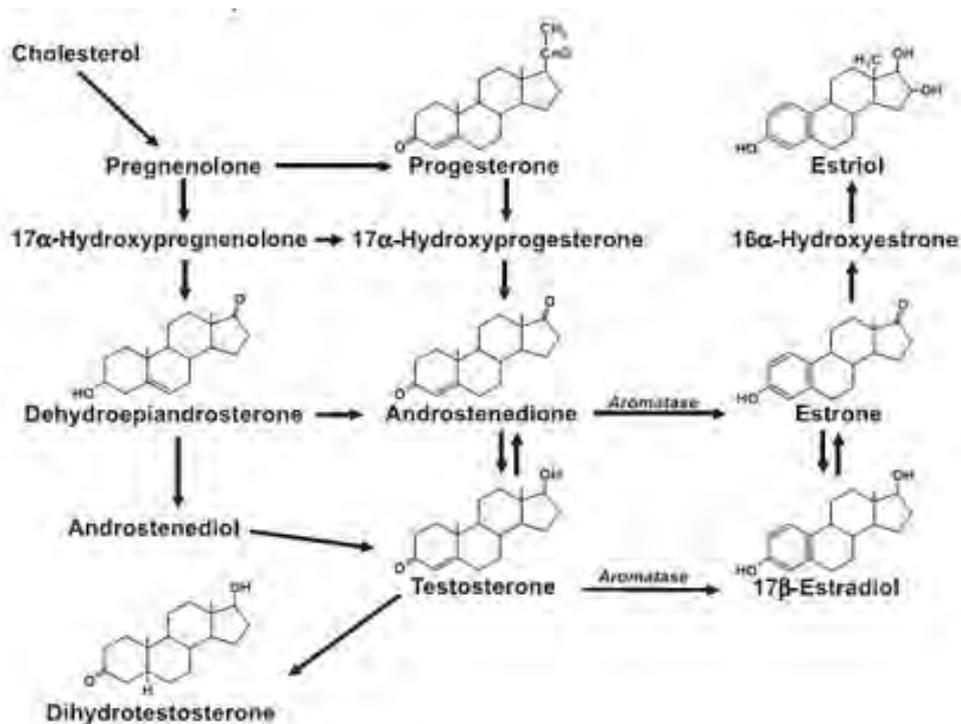
## 2.1 La biosynthèse des œstrogènes<sup>[93-94]</sup>

Les œstrogènes, à l'état naturel, sont sécrétés aussi bien chez le mâle que chez la femelle. Impliqués principalement dans la reproduction, ils interviennent aussi dans le développement du système nerveux central et dans l'homéostasie du squelette.

Les 3 principaux œstrogènes sont :

- le 17- $\beta$ -œstradiol (E2)
- l'œstrone (E1)
- l'œstriol (E3).

Dérivant du cholestérol, ils sont d'abord retrouvés sous forme d'androgènes. Ces précurseurs stéroïdiens seront convertis en E1 et en E2 par aromatisation. L'œstriol est quant à lui, un métabolite terminal de la transformation de l'E1 et de l'E2.



**Figure 14. La synthèse des œstrogènes à partir du cholestérol.**

Une fois lié aux lipoprotéines, le cholestérol subit de nombreuses transformations à l'origine des différents précurseurs stéroïdiens tels que l'androsténedione et la testostérone. Ces précurseurs sont transformés en œstrone, œstradiol ainsi qu'en œstriol par le processus de l'aromatisation.

L'œstrogène sécrété en plus grande quantité et ayant le plus puissant effet biologique chez la femme en âge de procréer est l'E2. Généralement sécrété par les cellules de la thèque et de la granulosa des follicules ovariens, il est aussi produit par le corps jaune et le placenta. Durant le cycle menstruel, la concentration d'E2 dans le sang varie : de la phase folliculaire à l'ovulation, le taux sérique d'E2 passe de 100 pg/ml à 600 pg/ml puis il décline à son niveau le plus bas, soit environ 50 pg/ml, en phase prémenstruelle.

Les œstrogènes, plus particulièrement l'œstrone et l'œstriol, sont aussi produits par le foie, la surrénale, les seins, les muscles et les tissus adipeux et nerveux. Ces sources secondaires deviennent importantes chez la femme après la ménopause. À ce moment, la concentration sérique d'E2 produit par les ovaires chute considérablement rejoignant le niveau retrouvé chez l'homme, soit de 5 à 20 pg/ml.

Deux autres hormones œstrogéniques sont synthétisées dans des conditions physiologiques particulières: l'E3 est synthétisé en grande quantité au cours de la grossesse, tandis que l'estetrol (E4) est fabriqué par les cellules du foie de fœtus.

De par leur faible niveau de sécrétion et leur faible affinité pour les récepteurs des œstrogènes (RE), les effets de l'œstrone, l'œstriol et de l'estetrol sont considérés comme secondaires par rapport aux effets du 17 $\beta$ -œstradiol.

## 2.2 Contrôle de la production des œstrogènes

La régulation de la biosynthèse des œstrogènes suit un axe physiologique appelé « axe hypothalamo-hypophyso-gonadique ». L'hypothalamus sécrète par impulsions (toutes les 60 à 90 minutes) une hormone : la gonadolibérine ou GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*). Elle est véhiculée jusqu'à l'hypophyse où elle stimule la sécrétion de deux hormones gonadotrophiques: la *Follicule Stimulating Hormone* (FSH) et la *Luteinizing Hormone* (LH). La FSH agit sur les cellules folliculaires granulaires, en y augmentant l'aromatation des androgènes en œstrogènes. Les hormones stéroïdiennes agissent au niveau hypophysaire en régulant l'expression des gènes codants pour les RE, les récepteurs à la

progestérone et à la GnRH. Elles agissent aussi au niveau hypothalamique en modifiant l'amplitude et la fréquence de libération de la GnRH.

## 2.3 Les récepteurs aux œstrogènes

Les RE sont des membres de la super famille des récepteurs nucléaires. Cette famille comprend d'autres membres comme les récepteurs à la vitamine D et les récepteurs aux stéroïdes comme le récepteur aux glucocorticoïdes, aux androgènes ou à la progestérone.

Le RE $\alpha$  fut découvert dans les années soixante par Jensen et Jacobson. Il s'agissait à l'époque de la première identification d'un récepteur des hormones stéroïdes. Il fut isolé et cloné par le groupe de Pierre Chambon en 1985 puis séquencé un an plus tard<sup>[95-96]</sup>. En 1996, un second type de récepteur des œstrogènes a été découvert, d'abord chez le rat<sup>[97]</sup> puis chez l'homme<sup>[98]</sup>. Ce nouveau type de récepteur a été nommé récepteur des œstrogènes  $\beta$  et a immédiatement suscité l'attention. Les observations qui ont été faites sur des souris ER $\alpha$ KO, ER $\beta$ KO et ER $\alpha$ ER $\beta$ KO ont permis une meilleure compréhension de l'impact physiologique des œstrogènes via leurs récepteurs<sup>[99]</sup>.

Un autre récepteur, appelé GPR30, couplé aux protéines G, a également été décrit comme étant activé par les œstrogènes au niveau membranaire.

### 2.3.1 Structure

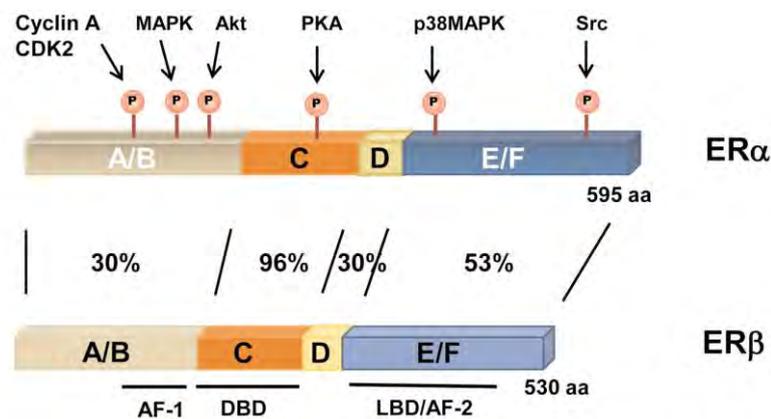
#### Les récepteurs RE $\alpha$ et RE $\beta$

Les récepteurs  $\alpha$  et  $\beta$  possèdent une structure moléculaire similaire composée de plusieurs domaines et sous-domaines :

- Un domaine de liaison au ligand (LBD) en C-terminal relativement conservé avec environ 53% d'homologie entre les récepteurs. Il contient la fonction transactivatrice dépendante du ligand (AF-2).
- Un domaine central, responsable de la liaison des RE à l'ADN (DBD). Il y a 96% d'homologie d'identité entre ce domaine pour RE $\alpha$  et RE $\beta$ , suggérant

que les deux récepteurs se lient aux mêmes éléments de réponse des œstrogènes (ERE).

- La région N-terminale est le domaine le plus variable entre les deux récepteurs. Il possède également plusieurs sites de phosphorylation sérine/thréonine pouvant être régulés par une variété de kinases, permettant ainsi l'interaction des RE avec différentes voies de signalisation. Le domaine A/B contient la fonction transactivatrice indépendante du ligand (AF-1). Le domaine AF-1 est plus actif pour le RE $\alpha$  que pour le RE $\beta$ .
- On retrouve aussi des sites de dimérisation. Ces récepteurs sont donc présents sous forme d'homodimères, soient RE $\alpha$ /RE $\alpha$  et RE $\beta$ /RE $\beta$ , ou sous forme d'hétérodimères (RE $\alpha$ /RE $\beta$ ) suite à leur activation<sup>[135]</sup>.



**Figure 15. Organisation structurale et fonctionnelle des isotypes  $\alpha$  et  $\beta$  du récepteur aux œstrogènes humain.**

Les deux récepteurs humains possèdent 6 domaines structuraux (notés de A à F). Cette figure présente également le pourcentage d'homologie de séquence des différents domaines de ces deux récepteurs. AF-1: *Activation Function-1*; AF-2: *Activation Function-2*; DBD: *DNA Binding Domain*; LBD: *Ligand Binding Domain*. D'après<sup>[101]</sup>.

Malgré leur structure semblable, les RE sont codés par deux gènes différents situés sur des chromosomes distincts. Le gène codant pour le RE $\alpha$  humain est situé sur le chromosome 6 alors que celui codant pour le RE $\beta$  humain est localisé sur le chromosome 14. Le RE $\alpha$  est une protéine de 595 acides aminés avec un poids moléculaire de 66 kDa. Le gène de RE $\beta$  donne une protéine de 530 acides aminés de poids moléculaire d'environ 60 kDa<sup>[102-103]</sup>.

### **Le récepteur GPR30**

Filardo et al. ont montré, dans un modèle de cellules cancéreuses exprimant le GPR30, une phosphorylation de ERK1/2 dépendante des œstrogènes en l'absence du RE $\alpha$ <sup>[104]</sup>. D'autres études ont également démontré la capacité du GPR30 à lier les œstrogènes et à stimuler l'expression des gènes œstrogéno-dépendants<sup>[105]</sup>. GPR30 pourrait aussi induire des réponses non génomiques telles que la régulation des flux de calcium ou l'activation des canaux potassiques.

### **2.3.2 Localisation et distribution**

Les RE varient quant à leurs emplacements et à leurs quantités dans l'organisme<sup>[106]</sup>. Le RE $\alpha$  se retrouve principalement au niveau des cellules stromales des ovaires et de l'endomètre. Les cellules de la granulosa des ovaires, les spermatides en développement des testicules et la prostate expriment plus fortement le RE $\beta$ . Ces récepteurs sont également présents dans les tissus qui ne sont pas classiquement impliqués dans la reproduction, tels les reins, les poumons, la moelle osseuse, les os, le cerveau et la muqueuse intestinale avec des degrés d'expression variables<sup>[107]</sup>. Dans un même tissu, le RE $\alpha$  et le RE $\beta$  peuvent posséder des localisations spécifiques.

Les difficultés dues à la spécificité des anticorps utilisés rendent difficile la mise en évidence de ces récepteurs au niveau des cellules osseuses. A l'heure actuelle, RE $\alpha$  semble être le médiateur de la majorité des actions de l'E2 sur ces cellules<sup>[108,110]</sup>.

### **2.3.3 Activation et mécanismes de signalisation<sup>[111-113]</sup>**

Pendant plusieurs années, le mode d'activation des récepteurs aux œstrogènes était défini selon deux voies principales, soient la voie génomique et la voie non-génomique. Désormais, on sait qu'il existe au moins 4 voies d'activation.

### **2.3.3.1 Le mécanisme classique : l'activité transcriptionnelle ERE dépendante**

En l'absence d'hormone, le récepteur aux œstrogènes est retrouvé sous forme de monomère associé à un grand nombre de protéines chaperonnes. Les RE sont séquestrés et inhibés par ces complexes multiprotéiques qui stabilisent leur conformation. L'œstrogène, qui est lié avec une grande affinité à la globuline de liaison des hormones sexuelles (*sex hormone-binding globulin, SHBG*) dans la circulation, diffuse librement au travers de la membrane plasmique et nucléaire. En présence d'œstrogènes intracellulaires, la conformation des RE se modifie pour devenir active. L'œstrogène se lie au domaine LBD et les protéines chaperonnes se dissocient. Ce complexe ligand/récepteur se dimérise (en homodimères ou en hétérodimères) et diffuse ensuite au noyau. Ces dimères se lieront, via leur domaine DBD, à un domaine spécifique de liaison à l'ADN appelé ERE (*estrogen-response element*).

### **2.3.3.2 L'activation transcriptionnelle ERE indépendante**

Il a été démontré que l'activation de la transcription peut également avoir lieu par l'intermédiaire d'autres éléments de transcription que le domaine ERE<sup>[114]</sup>. En réponse aux ligands, les RE sont ainsi capables de moduler la transcription de gènes ne possédant pas de séquence ERE dans leur région promotrice. Ce mécanisme n'implique pas l'interaction directe des récepteurs avec l'ADN. Les RE peuvent interagir avec d'autres facteurs de transcription tels que NF- $\kappa$ B, SP1 ou Fos/Jun. Par exemple, RE $\alpha$  peut se lier à la sous-unité c-rel de NF- $\kappa$ B et empêcher sa liaison au promoteur de l'IL-6, inhibant ainsi la production de la cytokine<sup>[115]</sup>.

Au niveau moléculaire, l'activation des éléments de réponse AP-1 par les RE nécessite l'interaction du complexe Fos/Jun avec les deux domaines de transactivation AF-1 et AF-2 et permet la régulation de gènes codant pour IGF-1 ou le TNF- $\beta$ .

### 2.3.3.3 L'activité transcriptionnelle indépendante du ligand

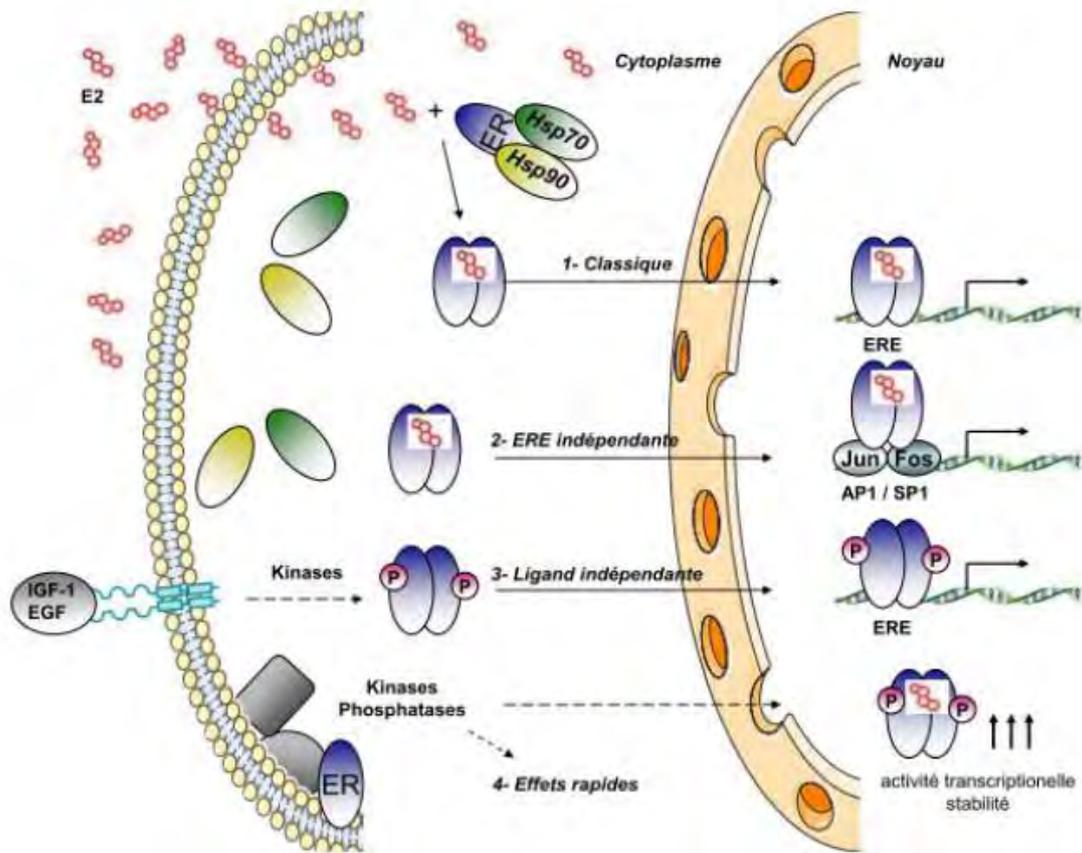
L'activation des RE peut être modulée en l'absence d'œstrogènes. Cette découverte a été mise en évidence par la capacité des facteurs de croissance comme l'EGF et l'IGF à activer le RE par le biais de phosphorylation et à augmenter la transcription de leurs gènes cibles<sup>[116]</sup>. La dopamine ainsi que le TGF- $\alpha$ , sont eux aussi connus pour exercer une activité transcriptionnelle dépendante des RE en l'absence d'œstrogène<sup>[111]</sup>. On suppose que ce mode d'activation permettrait l'activation des RE lorsque le niveau en E2 est bas comme chez l'homme ou les femmes ménopausées<sup>[112]</sup>.

### 2.3.3.4 La voie non-génomique dite rapide

Plusieurs groupes de recherche ont démontré des effets rapides induits par les œstrogènes<sup>[117]</sup>. Aujourd'hui, nous savons que ces effets sont le résultat d'une voie d'activation non-génomique qui découle de la capacité des RE à transmettre des signaux impliquant les *Mitogen-Activated Protein Kinases* (MAPK) ainsi que les *Phosphatidyl-Inositol 3-Kinases* (PI3K). La forme "membranaire" des RE est capable d'induire une variété de réponse cellulaire via l'activation rapide de kinases<sup>[111]</sup>. Un des effets de l'activation rapide par les œstrogènes est la sécrétion d'oxyde nitrique (NO) responsable de la vasodilatation et impliquée dans la régulation de la prolifération cellulaire et l'apoptose<sup>[118]</sup>. D'autre part, plusieurs études ont démontré l'interaction de la voie non-génomique avec la voie génomique<sup>[119]</sup>.

### 2.3.3.5 La voie indépendante des récepteurs

Il a été démontré que l'E2 agissait directement et rapidement sur les canaux calciques, indépendamment des RE, au niveau des entérocytes<sup>[120]</sup>. Cette activation amène l'augmentation de l'entrée du Ca<sup>2+</sup> ainsi que son absorption intestinale via l'action de la phospholipase C et de la protéine kinase C.



**Figure 16. Mécanisme d'action des récepteurs aux œstrogènes.**

1- Mécanisme d'action classique (direct) : après activation par le ligand, les dimères de récepteurs se lient à l'ADN au niveau de séquences spécifiques (ERE).

2- Mécanisme d'action ERE indépendant (indirect) : les dimères de récepteurs se lient à l'ADN via des interactions protéiques.

3- Mécanisme d'action ligand-indépendant : des facteurs de croissance activent des kinases qui phosphorylent les récepteurs et se fixent à l'ADN au niveau des séquences spécifiques ERE.

4- Mécanisme d'action non-génomique : les récepteurs localisés à la membrane activent des kinases, conduisant à des modifications rapides de protéines cytoplasmiques ou bien à des régulations transcriptionnelles.

Modifié d'après [121-122].

### **3.Effets de la carence œstrogénique sur le tissu osseux alvéolaire**

### 3.1 Situation de carence oestrogénique

La principale cause physiologique de la carence oestrogénique est la ménopause. On désigne par « ménopause » le moment où les règles s'arrêtent définitivement. Elle résulte de l'arrêt des sécrétions ovariennes consécutives à l'épuisement du capital folliculaire. Elle survient en moyenne à l'âge de 50 ans.

D'autres situations, pathologiques cette fois-ci, entraînent des carences oestrogéniques, parmi lesquelles on peut citer : l'aménorrhée secondaire prolongée (insuffisance ovarienne prématurée, syndrome de Turner, maladie auto-immune, chimiothérapie, radiothérapie, ovariectomies chirurgicales), l'aménorrhée primaire (maladie génétique), l'anorexie mentale ou encore l'hyperprolactinémie pathologique.

Dans toutes ces situations de carence oestrogénique, on observe une perte osseuse liée à des modifications de l'activité du remodelage osseux essentiellement marqué par une hyperactivité ostéoclastique, et une augmentation du recrutement et de l'activation des unités de remodelage osseux.

On parle d'ostéopénie ou d'ostéoporose selon la sévérité de la perte osseuse. Les définitions actuelles de l'ostéopénie et de l'ostéoporose ont été établies par l'OMS : elles reposent sur l'importance de la diminution de la densité minérale osseuse (DMO) mesurée par absorptiométrie biphotonique à rayons X :

- l'ostéopénie correspond à une densité minérale osseuse située entre -1 et -2,5 écarts-types de la valeur moyenne d'un adulte jeune.
- l'ostéoporose correspond à une densité minérale osseuse située au-dessous de 2,5 écarts-types de la valeur moyenne d'un adulte jeune.

Cette perte osseuse plus ou moins importante est multifactorielle. Elle dépend d'une part d'éléments survenus avant la ménopause, notamment la masse osseuse accumulée avant 30 ans, mais aussi de facteur génétique et nutritionnel. L'amplitude de la perte osseuse diffère en fonction du type d'os considéré : entre 30 et 80 ans, la femme perd en moyenne 50 % de son capital osseux trabéculaire et 30

% de son capital cortical. La perte osseuse trabéculaire subit une accélération brutale dans les années qui suivent la ménopause : la moitié de la perte osseuse totale survient dans la décennie qui suit la ménopause.

## **3.2 DMO et carence oestrogénique : études chez la femme**

Tandis que les effets de la privation oestrogénique sur la diminution de la qualité de l'os et l'augmentation du risque de fracture des os longs et des vertèbres sont bien établis, les effets sur l'os maxillaire et mandibulaire sont moins bien compris<sup>[123-124]</sup>.

### **DMO du squelette et DMO mandibulaire**

Dès 1960, des corrélations ont été recherchées entre ostéoporose et résorption osseuse à la mandibule<sup>[125]</sup>. Dans une série d'études, Kribbs et al.<sup>[126-130]</sup> furent les premiers à aborder la relation entre l'os alvéolaire et le squelette en général chez des femmes non malades, ostéoporotiques ou ostéopéniques. Les technologies utilisées dans ces études reflètent l'époque où elles ont été réalisées. L'état général du squelette a été déterminé sur le radius par absorptiométrie monophotonique au niveau de deux sites, et au niveau de la vertèbre lombaire L1 par absorptiométrie biphotonique et tomographie quantitative. Le volume et la densité de l'os mandibulaire ont été évalués par observation directe, radiographies rétroalvéolaire, occlusale et panoramique. L'évaluation de la densité faisait appel à un témoin étalon visible sur la radio. Chez les sujets sains, ils ont conclu qu'il n'existe pas de relation directe entre âge et masse osseuse mandibulaire, mais ils ont retrouvé une corrélation entre masse osseuse mandibulaire et masse osseuse mesurée sur le reste du squelette. Chez les sujets ostéoporotiques, un lien a été trouvé entre la densité osseuse mandibulaire et la densité des autres zones squelettiques considérées. Chez les sujets ostéopéniques, le calcium corporel total a été analysé et une corrélation entre ces mesures et la densité osseuse mandibulaire a été retrouvée. De plus, Taguchi et al. ont établi une relation entre la DMO de L3, la DMO de l'os alvéolaire et la masse d'os cortical mandibulaire<sup>[132]</sup>. Enfin, dans une étude

longitudinale de 2 ans, Payne et al. ont mesuré la hauteur et la DMO de l'os alvéolaire interproximal des secteurs postérieurs par radiographie et ont constaté que la perte d'os alvéolaire était plus importante chez les femmes ostéoporotiques ou ostéopéniques que chez les femmes ayant une densité minérale osseuse normale (mesuré au niveau des vertèbres)<sup>[137]</sup> .

Quelques études reposent sur des mesures de hauteur de crêtes édentées. Dans ce contexte, la carence oestrogénique s'associe à une importante résorption de l'os alvéolaire<sup>[138]</sup>, la résorption osseuse est plus importante chez les femmes ostéoporotiques et il y a une corrélation entre la DMO systémique et la résorption des crêtes<sup>[139]</sup>. Toutefois, il est impossible de savoir, en présence d'une patiente ostéoporotique édentée, si la perte des dents résulte d'une pathologie générale ostéopénique ou d'une affection locale telle que la maladie parodontale, ni quelle est la part respective de chaque pathologie dans l'édentement.

D'autres études n'ont pas établi de lien clair entre la hauteur d'os alvéolaire ou le niveau de gencive attachée et la DMO des vertèbres ou du fémur<sup>[133-134]</sup>. Dans une étude longitudinale (10ans) réalisée chez des patients édentés, Tuncay et coll. n'ont trouvé aucune relation entre les valeurs mandibulaires (mesurées par céphalométrie), le sexe, l'âge de l'édentement et l'état du squelette<sup>[135]</sup>.

### **DMO et état dentaire**

- DMO mandibulaire et état dentaire

En 2011, Munakata et al. ont comparé la DMO mandibulaire, la largeur de l'os trabéculaire et celle de l'os cortical dans les secteurs molaires partiellement édentés de 72 femmes avant pose d'implant<sup>[148]</sup>. 30 de ces femmes n'étaient pas encore ménopausées et les 42 autres l'étaient. Ils ont relevé une DMO trabéculaire et une largeur d'os cortical plus basse chez les femmes ménopausées dans les secteurs édentés. Une autre étude réalisée sur une population de femmes ostéoporotiques montre une diminution de la densité osseuse mandibulaire, un risque accru de perte des dents, ainsi qu'une résorption plus importante suite à la perte des dents par comparaison avec des patientes saines du même âge<sup>[131]</sup>. De façon concordante, à

partir 330 femmes japonaises ménopausées, Taguchi et al. remarquent que les femmes recevant un traitement hormonal substitutif pour lutter contre la carence oestrogénique ont un nombre plus élevé de dents dans les secteurs postérieurs<sup>[141]</sup>. Ils ne relèvent cependant pas de différence significative pour le nombre total de dents présentes sur les arcades entre les femmes suivant un traitement hormonal et celle qui n'en suivent pas.

#### - DMO du squelette et état dentaire

Quelques années plus tôt, l'équipe de Taguchi avait comparé, chez 90 femmes ménopausées, la DMO de la vertèbre lombaire L3 avec la masse osseuse mandibulaire, la hauteur d'os alvéolaire et le nombre de dents présentes sur l'arcade, en tenant compte de l'indice de masse corporelle de chacune, du nombre d'années depuis lesquelles elles étaient ménopausées et de leur état parodontal<sup>[142]</sup>. Des corrélations ont été retrouvées entre la DMO mandibulaire des secteurs postérieurs et le nombre de dents restantes, et la hauteur d'os alvéolaire et la DMO de L3. Dans une étude portant sur 329 femmes ménopausées, Krall et al. ont retrouvé une DMO lombaire significativement plus basse dans le groupe de patientes ayant reçu une prothèse dentaire avant 40 ans<sup>[143]</sup>. Dans une autre étude du même auteur, 189 femmes ont été suivies sur une période de 7 ans. Le risque relatif de perte dentaire a été relié aux valeurs densitométriques au niveau de la hanche, des vertèbres et plus généralement de l'ensemble du corps<sup>[144]</sup>. Dans une large étude portant sur 1171 patientes turques, une faible DMO au niveau des vertèbres lombaires et du col du fémur est retrouvée pour le groupe de femmes édentées<sup>[145]</sup>. Toutefois, certaines études n'ont pas permis de mettre en évidence un lien entre la perte des dents et la DMO des vertèbres lombaires<sup>[149-150]</sup>. D'après une étude incluant 355 femmes ménopausées édentées ou non, le moment de la perte des dents et le nombre de dents absentes ne sont pas liés à la perte osseuse mesurée au niveau du fémur et des vertèbres<sup>[136]</sup>.

D'autres études ont tenté d'établir un lien entre la perte des dents et la DMO aux niveaux des métacarpiens. Une première étude, effectuée en 1983 sur 2000 femmes

blanches âgées de 60 à 69 ans, suggérait déjà un lien entre la perte des dents, la sévérité de l'ostéoporose (mesurée aux niveaux des métacarpiens) et le tabagisme<sup>[146]</sup>. Dans une étude effectuée sur 190 femmes japonaises, Inagaki et al. ont constaté que la fréquence des maladies parodontales était significativement plus élevée dans les groupes de patientes à faible DMO métacarpienne et le nombre de dents restantes plus bas<sup>[147]</sup>.

Dans les études citées, des biais ont été relevés. On y compare des os de structures différentes: la mandibule est un os essentiellement cortical mais est souvent comparée à des pièces squelettiques composées majoritairement d'os trabéculaire (vertèbres). De plus, les modifications de hauteur et de densité étant parfois peu importantes dans l'os mandibulaire, il est difficile d'établir une relation entre ces paramètres et la masse osseuse générale sur un faible nombre de sujets<sup>[140]</sup>. Enfin, les radiographies qui ont été utilisées, même associées à des témoins de densité, ne peuvent détecter une modification minérale inférieure à 30 %. Ceci est particulièrement vrai pour les radiographies panoramiques (avec ou sans correction de distorsion) qui ont été corrélées avec le statut osseux général<sup>[152-155]</sup>.

En conclusion, en raison des variations dans les populations étudiées (âge, état de santé...), des différences dans l'histoire des soins dentaires et des techniques de mesure utilisées, il est difficile de comparer l'ensemble de ces études et d'établir un lien certain entre la DMO systémique, la DMO mandibulaire et la perte des dents<sup>[151]</sup>. Aucune méta-analyse n'est à ce jour disponible, mais au regard de la littérature, il nous semble qu'une corrélation existe entre DMO du squelette et DMO mandibulaire chez les femmes ménopausées. De plus, cette diminution de la DMO lors de carences oestrogéniques serait reliée à une augmentation de la perte des dents.

### 3.3 Os alvéolaire et modèles animaux de carence oestrogénique

Etant donnée les difficultés à mener des études sur des sujets humains, les études des effets de la carence oestrogénique sur les maxillaires ont été réalisées sur les animaux et plus particulièrement sur les rongeurs. L'utilisation de rate ou de souris ovariectomisées comme modèle d'ostéoporose est largement répandue<sup>[156]</sup>. L'ovariectomie (OVX) est nécessaire pour induire une situation de carence oestrogénique car il n'existe pas de ménopause chez le rongeur<sup>[157]</sup>.

Cependant, l'utilisation de rongeurs comme modèle d'ostéoporose post-ménopausique présente des inconvénients :

- la masse osseuse de la rate alimentée convenablement ne diminue pas au cours du vieillissement,
- les rongeurs sont dépourvus d'os lamellaire et le remodelage n'existe pas dans l'os cortical, démunis d'ostéons haversiens,
- l'ovariectomie n'induit pas l'apparition de fractures chez la rate, même très âgée ou carencée en calcium,
- en l'absence d'une restriction alimentaire, la prise de poids des rates, entraînée par la boulimie induite par la castration, peut perturber la perte osseuse induite par la carence oestrogénique.

Les primates non humains, qui développent un processus de ménopause similaire à celui de la femme sont des modèles prometteurs, leur système endocrinien étant plus proche de celui des humains<sup>[158]</sup>. Cependant, si l'utilisation des modèles murins ne pose pas de problème financiers ou juridiques particuliers, le principal obstacle à l'utilisation plus fréquente des singes dans les travaux sur l'ostéoporose est lié au prix très élevé de ces animaux et, surtout, à la législation draconienne réglementant leurs conditions d'élevage.

### **Perte osseuse alvéolaire**

De nombreuses études animales ont montré qu'une perte osseuse alvéolaire était obtenue après ovariectomie<sup>[159-164]</sup>. Différentes techniques d'analyse (densitométrie, histomorphométrie, microtomographie X) ont confirmé la perte rapide d'os alvéolaire au niveau mandibulaire en corrélation avec la réduction de l'os trabéculaire dans les métaphyses des os longs. Cependant, une étude n'observe une diminution du volume osseux de la mandibule des rates ovariectomisées qu'à partir de 200 jours post-opératoires<sup>[165]</sup>. Si les modifications du volume ne sont appréciables que tardivement, il n'est pas impossible que de nombreuses modifications structurelles aient lieu plus tôt.

Une étude fondée sur une méthodologie inadaptée (densitométrie des pixels sur radiographie), effectuée sur un temps très court (4 semaines), n'a pas réussi à mettre en évidence un effet de la privation oestrogénique sur la perte osseuse alvéolaire des maxillaires chez des rates ovariectomisées ou non<sup>[166]</sup>. D'autres études confirment ce résultat<sup>[167-168]</sup>. On peut souligner par ailleurs que chez les rongeurs, la forme irrégulière des os des maxillaires, l'éruption continue des incisives, ainsi que les forces occlusales particulières qui s'exercent sur leurs dents du fait de leur comportement de rongeurs peuvent avoir atténuées l'influence attendue de l'ovariectomie sur l'os alvéolaire et contribuées à ces résultats négatifs.

### **Cicatrisation osseuse**

Quelques études chez le rat ont montré que la carence en œstrogène diminuait la cicatrisation osseuse alvéolaire<sup>[169-173]</sup>. Les travées d'os alvéolaire sont plus espacées et les espaces médullaires plus larges. Cependant, certains auteurs observent des différences entre les groupes de rates non-OVX et OVX uniquement lorsqu'ils font varier un autre paramètre, comme par exemple un régime pauvre en calcium ou l'ingestion de caféine<sup>[174-175]</sup>. Une étude montre que l'ovariectomie ne retarde pas le processus de cicatrisation mais diminue la masse osseuse nouvellement formée au site de l'extraction<sup>[176]</sup>. A l'inverse, Pereira et al. démontrent un retard de la cicatrisation pour le groupe de rates ovariectomisées associé à une diminution de la formation osseuse<sup>[177]</sup>.

## **Mastication**

Une étude récente s'est intéressée à l'influence de la mastication sur la DMO alvéolaire en comparant une zone d'os alvéolaire proche des dents avec une portion d'os alvéolaire plus éloignée<sup>[178]</sup>. Or, on sait aujourd'hui que l'os proche des dents subit un remodelage plus actif que celui qui en est éloigné<sup>[179]</sup>. L'étude a été réalisée sans extraction, grâce à la microtopographie à rayons X puis grâce à un logiciel de visualisation 3D. Dans le groupe OVX, une plus grande variation locale de la DMO a été retrouvée et le pourcentage d'os immature est plus élevé dans les zones soumises aux contraintes masticatoires chez les rates présentant une carence oestrogénique. Le manque d'œstrogène amplifierait donc le remodelage osseux déjà présent en raison de la mastication.

Ceci est aussi vérifié dans les études sur les mouvements orthodontiques. En effet, il a été rapporté qu'en situation de carence oestrogénique, les mouvements dentaires étaient plus rapides (en raison d'un remodelage osseux accéléré) et qu'après arrêt des forces de tractions, les dents présentaient une stabilité moindre<sup>[180-181]</sup>.

Enfin, une étude montre que la carence oestrogénique aggrave la perte osseuse trabéculaire et augmente la fragilité osseuse de l'os alvéolaire soutenant une dent en situation d'hypofonction<sup>[162]</sup>. Lorsque la charge mécanique fonctionnelle est réduite par l'extraction de la dent antagoniste et le stress occlusal ainsi supprimé, on observe dans l'os alvéolaire un élargissement de la cavité médullaire plus important chez les rongeurs ovariectomisés.

## **Micro-architecture osseuse**

Une étude s'est intéressée aux changements micro-architecturaux de l'os alvéolaire chez des femelles singes OVX en comparant les changements densitométriques alvéolaires à ceux observés au niveau du rachis lombaire<sup>[183]</sup>. Douze singes femelles ont été sacrifiées 76 semaines après l'opération : 6 OVX et 6 SHAM (non-OVX). L'os mandibulaire a été scanné au niveau de la 2<sup>nd</sup> molaire mandibulaire par micro-CT. La microarchitecture trabéculaire a été analysée grâce à une méthode de "caractérisation du réseau trabéculaire". C'est une méthode dans laquelle, les

anastomoses ou "nœuds" entre travées sont identifiés, les travées avec une extrémité libre sont mesurées, ainsi que les travées reliant deux nœuds ou les travées reliant les corticales au reste du réseau trabéculaire. On est ainsi en mesure de compter avec précision le nombre de "nœuds", le nombre d'extrémités libres et le nombre de travées interconnectées. Ces données ont été ensuite exprimées en pourcentage par rapport au volume total de tissu analysé. Au niveau vertébral, la DMO a été mesurée par absorptiométrie biphotonique à rayons X à T0 (jours de l'opération) et t +4, 8, 13, 25, 39, 52,76 jours.

Une corrélation entre la DMO lombaire et le nombre de "nœuds trabéculaires" a été établie. Il n'a pas été noté de différences significatives entre le volume osseux du groupe SHAM et du groupe OVX mais les images révèlent, entre autre au niveau du septum (figure 17), des espaces médullaires élargies chez le groupe OVX. La structure trabéculaire est plus fragmentée et semble former des "îlots isolés" dans un espace médullaire plus grand. Les trabécules retrouvées sont plutôt en forme de "tige" chez le groupe OVX alors que le groupe SHAM présente des travées plus larges, en formes "d'assiettes". Une très légère différence de hauteur de crête osseuse a été relevée.

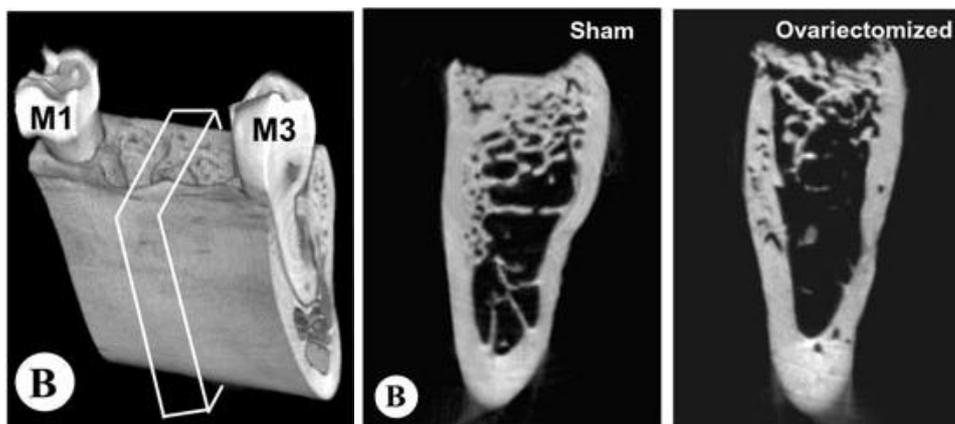


Figure 17. Vu frontale en 2D de la coupe B passant par le septum inter radiculaire<sup>[183]</sup>.

Cette étude montre donc que, si le volume ne change pas, la structure elle, est modifiée et la fragilité osseuse semble augmentée par la fragmentation des trabécules. Cette "déconnexion" des réseaux trabéculaires réduit la résistance mécanique de l'os alvéolaire.

En conclusion, les études chez les rongeurs montrent que la carence oestrogénique entraîne une perte osseuse alvéolaire ainsi que des changements micro-architecturaux de l'os alvéolaire. L'ovariectomie a un impact sur la cicatrisation osseuse alvéolaire et amplifie le remodelage osseux déjà présent en raison de la mastication.

## **4.Effets de la carence oestrogénique sur le remodelage osseux**

## 4.1 Effets de la carence oestrogénique sur les différents facteurs impliqués dans le remodelage osseux

### 4.1.1 Implication du système RANK/RANKL/OPG dans la résorption osseuse post-ménopausique

La découverte du système RANK/RANKL/OPG a rapidement initié de nombreuses études dans diverses situations où une perte osseuse est observée, notamment au cours de la ménopause<sup>[184-185]</sup>. Comme nous l'avons déjà évoqué, on sait qu'il existe une régulation locale de la balance OPG/RANK-L et que *in vitro*, l'E2 augmente la production d'OPG par des lignées ostéoblastiques et stromales<sup>[186]</sup>. Chez les femmes ostéoporotiques, on retrouve des niveaux d'OPG circulants élevés<sup>[187]</sup>. Ce phénomène pourrait viser à compenser la résorption osseuse accrue. De plus, les marqueurs de la résorption osseuse diminuent de 80 % après une injection unique d'OPG à des femmes ménopausées<sup>[188]</sup>. L'implication du système RANK/RANKL/OPG semble donc évidente et ces molécules offrent des perspectives thérapeutiques intéressantes dans le domaine de l'ostéoporose et des pathologies qui s'accompagnent de résorption osseuse.

### 4.1.2 TNF $\alpha$

La privation œstrogénique induit une augmentation du niveau de remodelage osseux qui est en rapport avec une libération par les cellules du micro-environnement osseux, de cytokines telles que les interleukines et le TNF $\alpha$ .

Il n'y a pas de perte osseuse chez les souris OVX « TNF $\alpha$  KO » et chez les souris à qui il manque le récepteur p55 du TNF $\alpha$ <sup>[189]</sup>. De plus, les souris insensibles au TNF $\alpha$ <sup>[190]</sup> (à cause d'une surexpression d'un récepteur soluble du TNF $\alpha$ ) et les souris traitées avec un inhibiteur du TNF $\alpha$ <sup>[191]</sup> sont protégées de la perte osseuse induite par l'ovariectomie. Enfin, la présence d'un niveau de TNF $\alpha$  élevé dans la moelle osseuse des animaux OVX et dans les cellules sanguines périphériques chez les femmes ménopausées a été relevée dans plusieurs études<sup>[192]</sup>.

### 4.1.3 IFN $\gamma$

On sait aujourd'hui que l'E2 à une action directe sur l'IFN $\gamma$ <sup>[193]</sup> et que la privation œstrogénique provoque une augmentation du relargage de l'IFN $\gamma$  dans le micro-environnement médullaire. *In vitro*, l'IFN $\gamma$  ralentit la formation des ostéoclastes par une action ciblée sur leurs précurseurs<sup>[194-196]</sup>. De plus, l'IFN $\gamma$  est capable d'induire la production d'anion superoxyde (radicaux libres) dans les ostéoclastes. L'anion superoxyde induit l'apoptose des progéniteurs des ostéoclastes et supprime l'activité des ostéoclastes matures<sup>[197]</sup>. Cependant, l'IFN $\gamma$  stimule aussi la formation des ostéoclastes indirectement en stimulant l'activation des LT<sup>[198]</sup>.

L'implication de l'IFN $\gamma$  dans la perte osseuse induite par l'ovariectomie est suggéré par le fait qu'il n'y a pas de perte osseuse en réponse à l'ovariectomie chez les souris KO pour le récepteur de IFN $\gamma$ <sup>[200]</sup>. On peut noter également que les souris IFN $\gamma$  KO sont protégées de la perte osseuse alvéolaire induite par une infection<sup>[201]</sup>. Enfin, l'IFN $\gamma$  est efficace comme traitement de l'ostéopétrose en restaurant la formation des ostéoclastes et donc la résorption osseuse chez l'homme<sup>[202]</sup> et le rongeur<sup>[203]</sup>.

### 4.1.4 TGF $\beta$

Les études sur un modèle de souris transgéniques où les voies de signalisation induites par le TGF $\beta$  sont spécifiquement bloquées dans les LT ont contribué à une meilleure compréhension des effets de ces cytokines sur la perte osseuse induit par la carence œstrogénique<sup>[204]</sup>. Ces animaux sont sévèrement ostéopéniques à cause d'une résorption osseuse accélérée et sont complètement résistants à l'effet d'une administration d'E2 qui viendrait reconstituer le tissu osseux. En somme, l'E2 prévient la perte osseuse par un mécanisme dépendant de TGF $\beta$  et les voies de signalisation induite par TGF $\beta$  dans les LT permettent le maintien de l'homéostasie osseuse.

### 4.1.5 IL-7

L'IL-7 est une puissante cytokine inductrice de la destruction osseuse. L'implication de l'IL7 dans la régulation du remodelage osseux est démontrée par plusieurs études :

- Les souris KO pour le récepteur de l'IL-7 ont un volume osseux et une densité minérale osseuse plus élevés que la normale<sup>[205]</sup>.
- Les souris ayant une surexpression de l'IL-7 ont des cavités médullaires plus larges, une augmentation de l'ostéolyse de l'os cortical, des surfaces osseuses érodées, une masse osseuse diminuée, une augmentation du nombre des ostéoclastes mais aucun changement dans les ostéoblastes<sup>[206]</sup>.
- Le traitement des souris avec un anticorps anti-IL-7 inhibe la perte osseuse induite par l'ovariectomie et la prolifération des précurseurs des lymphocytes T dans le thymus. L'augmentation du nombre de LT et la production de TNF $\alpha$  et IFN $\gamma$  sont ainsi fortement inhibées<sup>[207]</sup>.
- Lee et al.<sup>[208]</sup> montrent que la perte osseuse corticale après l'ovariectomie est similaire pour les souris sauvages et les souris déficientes en l'IL-7 et soutiennent l'hypothèse que seul l'os trabéculaire subirait une ostéolyse suite à l'ovariectomie.

De plus, on retrouve dans plusieurs études l'hypothèse selon laquelle l'IL-7 pourrait stimuler la production de RANKL par les LT. On constate en effet ce phénomène chez l'humain dans une étude de Weitzmann et al.<sup>[209]</sup>. Chez la souris, Toraldo et al. ont constaté qu'une injection d'IL-7 provoque une destruction osseuse par induction de la production de RANKL et TNF $\alpha$  par les LT<sup>[210]</sup>.

Il existe un lien entre la carence oestrogénique et les niveaux d'IL-7 puisque ceux-ci sont significativement élevés après ovariectomie<sup>[211]</sup>. L'IL-7 pourrait être un effecteur, en aval, de l'action des IGFs dans la perte d'os trabéculaire induite par l'ovariectomie. En effet la présence d'IGFs apparait indispensable pour que l'ovariectomie induise une perte d'os trabéculaire<sup>[212]</sup>.

### 4.1.6 Autres cytokines

- IL-6 : L'injection d'anticorps anti-IL-6 est capable d'inhiber la perte osseuse induite par l'ovariectomie chez la souris, ce qui laisse penser que l'IL-6 a un rôle clé dans l'ostéolyse lors de la privation oestrogénique<sup>[213]</sup>.
- Il-17 : Dans une étude très récente, cette nouvelle cytokine semblerait être impliquée dans l'ostéolyse provoquée par la carence en E2<sup>[215]</sup>. Les chercheurs ont constaté, chez les rates OVX que la carence en E2 augmentait la différenciation des lymphocytes Th17 producteurs d'IL-17 et cela semble favoriser l'ostéoclasie. De plus, les rates OVX traitées avec des anticorps anti IL-17 ont une perte d'os trabéculaire plus faible<sup>[215]</sup>.

## 4.2 Effets de la carence oestrogénique sur les acteurs cellulaires impliqués dans le remodelage osseux

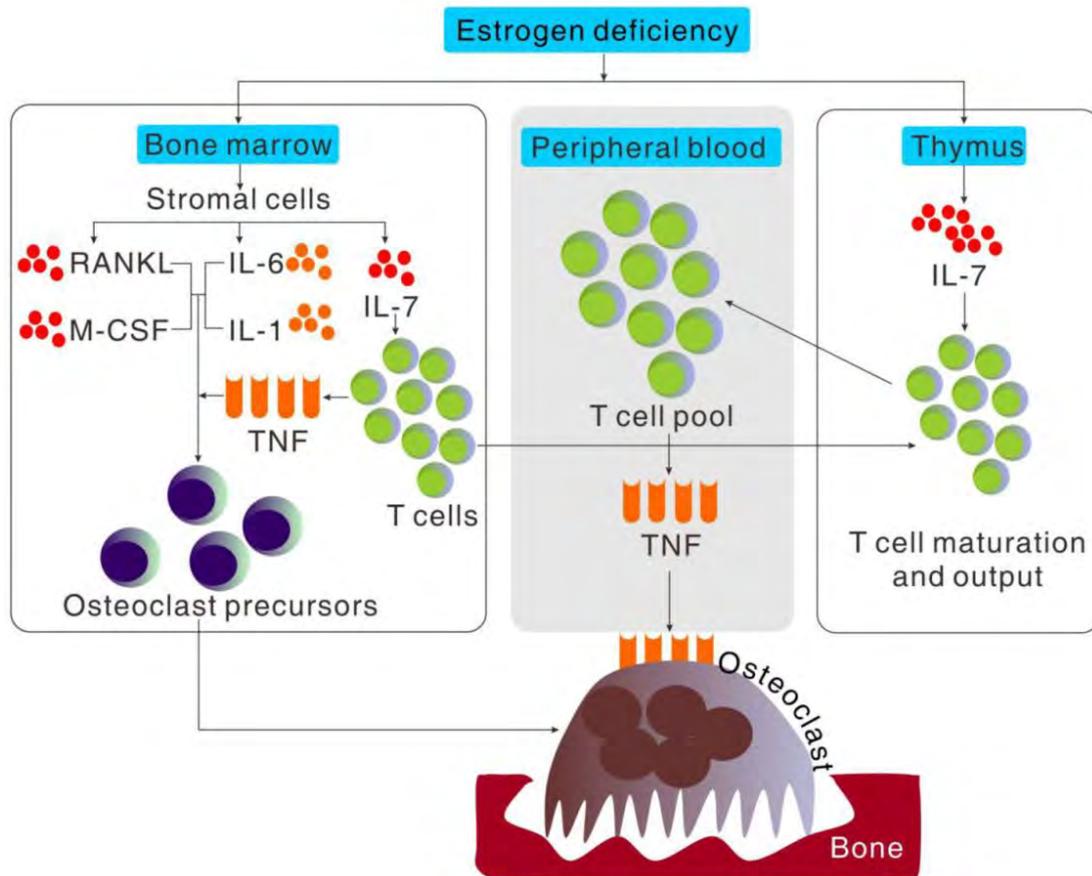
Les interactions entre l'os et le système immunitaire sont nombreuses. Les cellules osseuses fournissent le microenvironnement nécessaire au développement des cellules hématopoïétiques, à la différenciation des lymphocytes B et B mémoires, et à la différenciation des lymphocytes T mémoires. Les cellules osseuses sont influencées par de nombreuses cytokines et protéines de surface sécrétées par les lymphocytes.

### 4.2.1 Les lymphocytes T activés<sup>[189,216-217]</sup>

Comme nous l'avons précédemment évoqué, les LT activés jouent un rôle clé dans la régulation de la formation des ostéoclastes par l'augmentation de la production de TNF $\alpha$  et du RANKL<sup>[218-220]</sup>.

Les LT jouent un rôle majeur dans l'ostéolyse car les mesures de l'os trabéculaire (microtomographie quantitative périphérique) révèlent que les souris « nues » (athymiques) sont totalement protégées de la perte d'os trabéculaire induite par l'ovariectomie<sup>[189,200,204]</sup>. L'importance particulière de la production de TNF $\alpha$  par

les LT, *in vivo*, a été démontrée par une étude dans laquelle, la reconstitution des souris nues avec des LT en provenance de souris de type sauvage restaurait la perte osseuse induite l'ovariectomie mais la reconstitution avec des LT en provenance de souris déficientes en TNF $\alpha$  ne la restaurait pas<sup>[189]</sup>.



**Figure 18. Régulation des cytokines impliquées dans l'ostéoclastogénèse induite par la carence en œstrogènes.**

Le déficit en œstrogènes entraîne une augmentation de la production de l'IL-7, en particulier dans le thymus, la moelle osseuse et la rate. L'augmentation de la production d'IL-7 dans la moelle osseuse stimule la prolifération et l'activation des LT. Il s'en suit une augmentation de la production de TNF $\alpha$ . Le déficit en œstrogènes augmente également la production par les cellules stromales de cytokines telles que l'IL-6, IL-1, RANKL et M-CSF, qui favorisent la prolifération et la différenciation des précurseurs des ostéoclastes. D'après [221].

### 4.2.2 Les lymphocytes B<sup>[222-225]</sup>

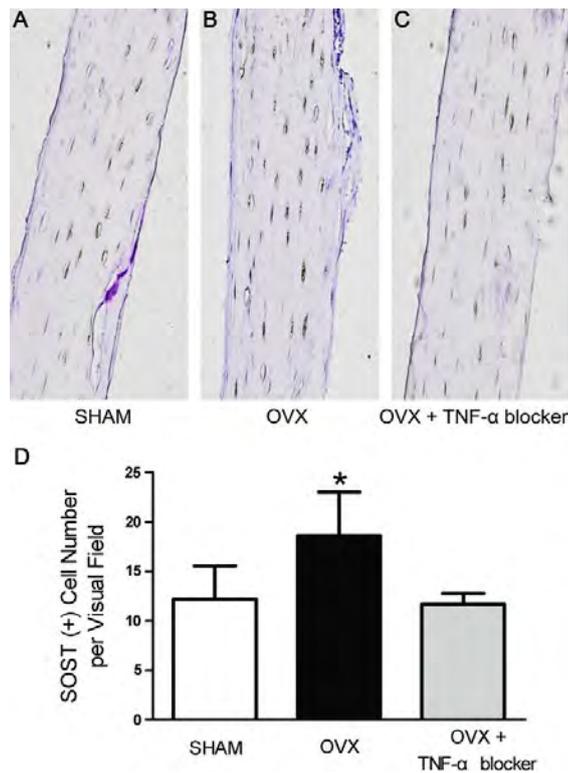
Les lymphocytes B participent également à la résorption osseuse en favorisant l'ostéoclastogénèse. Ils expriment le RANKL et servent de progéniteurs pour les ostéoclastes (ce qui a été démontré *in vitro*, sous l'effet de RANKL). En effet, il existe un progéniteur hématopoïétique commun aux lymphocytes B (en présence d'IL7) et aux ostéoclastes (en présence de RANKL et M-CSF). Paradoxalement, les cellules de la lignée ostéoblastiques semblent apporter un soutien à la différenciation des lignées lymphocytaires B. Les souris transgéniques déficientes en ostéoblastes ont un sévère déficit en pro lymphocytes B, ce qui confirme le rôle de soutien important que joueraient les ostéoblastes.

Par ailleurs, après ovariectomie, le nombre de lymphocytes B dans la moelle osseuse est approximativement doublé. Cependant, la perte d'os trabéculaire après l'ovariectomie est similaire chez les souris sauvages et les souris déficientes en LB matures<sup>[226]</sup>.

### 4.2.3 Les ostéocytes: rôle de la sclérostine

Les recherches chez des patients atteints de sclérostose ont mené à l'identification de la sclérostine, un inhibiteur de la formation osseuse<sup>[230]</sup>. La sclérostine est produite par les ostéocytes et inhibe la formation osseuse en inhibant la stimulation des BMPs par les ostéoblastes par le blocage de la voie de signalisation Wnt<sup>[231]</sup>. Les souris SOST<sup>-/-</sup> (SOST : gène de la sclérostine) ont une masse osseuse très élevée<sup>[232]</sup> et, au contraire, une surexpression de SOST entraîne une ostéoporose.

Dans des modèles murins, la production de sclérostine augmente lors de carences en E2 (figure 19) et chez les femmes ménopausées, les niveaux de sclérostine circulante sont élevés.



**Figure 19. Coloration immunohistochimique de la sclérostine sur une coupe de fémur congelé** : groupe SHAM (A), groupe OVX (B), groupe OVX + bloqueur du TNF $\alpha$  (C). (200x). L'Immunohistochimie montre une expression plus intense de la sclérostine (brun) dans le fémur du groupe OVX que dans le fémur du groupe SHAM et du groupe OVX+ bloqueur du TNF $\alpha$ . Les barres représentent la moyenne et les écarts-types du nombre de cellules positives pour la sclérostine par champ visuel de chaque échantillon. D'après [233].

### 4.3 Effets de la carence oestrogénique sur l'apoptose cellulaire dans le remodelage osseux.

L'E2 a un effet protecteur vis-à-vis de l'apoptose des ostéocytes<sup>[234]</sup> et est capable d'induire directement l'apoptose des ostéoclastes<sup>[235-236]</sup>. Il est également responsable de l'apoptose des thymocytes et perturbe la maturation des lymphocytes dans le thymus. La perte osseuse consécutive à la privation oestrogénique pourrait être ainsi en partie due à la disparition de l'effet de l'E2 vis-à-vis de l'apoptose cellulaire.

#### **4.4 Effets de la carence oestrogénique sur le stress oxydatif dans le remodelage osseux.**

Le stress oxydatif est actuellement considéré comme étant l'un des processus de base des dommages cellulaires et tissulaires impliqués dans les grandes pathologies dégénératives (athérosclérose, cancer ...) et de façon plus générale dans le vieillissement. Les radicaux libres de notre organisme sont contrôlés par des antioxydants. Quand cet équilibre est rompu (soit par une baisse de l'activité anti oxydante, soit par une augmentation du nombre de radicaux libres), il survient un stress oxydatif. Nous regrouperons sous le terme de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) les espèces chimiques oxygénées comme les radicaux libres, les ions oxygénés et les peroxydes.

Des résultats *in vivo* et *in vitro* montrent que l'augmentation de la quantité de DRO dans le tissu osseux est un mécanisme qui contribuerait à la destruction osseuse accélérée lors d'une situation de carence oestrogénique. Chez la rate adulte, on sait que l'ovariectomie induit un stress oxydatif et altère l'expression d'antioxydant [237]. Chez la femme, les DRO pourraient jouer un rôle dans la perte osseuse post ménopausique [238-239].

D'autre part, plusieurs recherches ont été menées sur le glutathion. Le glutathion, sous forme réduite, est l'antioxydant majeur des cellules, les protégeant notamment des radicaux libres. L'administration d'agents augmentant la concentration intracellulaire de glutathion dans l'os prévient la perte osseuse provoquée par la carence oestrogénique chez la souris, alors que la réduction de la quantité de glutathion augmente cette perte osseuse [240].

D'autres études se sont intéressées aux effets de l'oxyde nitrique (NO). L'administration de nitroglycérine (NTG) (qui est transformée par les mitochondries en NO) chez des rates OVX semble prévenir la perte osseuse [241-242]. Il a été remarqué également qu'en présence d'un inhibiteur de la nitrique oxyde

synthase, l'administration d'E2 après l'ovariectomie était inefficace pour ré-inverser la balance formation/résorption. D'autres éléments, notamment chez l'humain, penche également en faveur de l'implication du NO dans la perte osseuse post ménopausique. En effet, la NTG prévient significativement les fractures liées à l'ostéoporose chez les femmes ménopausées<sup>[243]</sup>. L'effet protecteur de l'E2 pourrait donc être en partie médié par le NO.

Les mécanismes d'actions des DRO ainsi que les cellules cibles qui régulent la masse osseuse sont encore mal compris. Il a été montré que les ostéoclastes pouvaient à la fois être générés et être activés par les DRO<sup>[244]</sup>. De plus, l'enzyme glutathion peroxydase qui lutte contre les radicaux libres et est responsable de la dégradation intracellulaire du peroxyde d'hydrogène, est l'enzyme antioxydante exprimée majoritairement par les ostéoclastes et son expression est augmentée par l'E2<sup>[245]</sup>.

Ces données suggèrent que la carence en E2 diminuerait les niveaux d'antioxydant, augmentant de ce fait la quantité des DRO et augmenterait les quantités de TNF en améliorant la production de cette cytokine par les ostéoclastes, et en stimulant l'expression des LT producteur de TNF.

# SYNTHESE

La carence oestrogénique s'accompagne d'un déséquilibre du remodelage osseux qui conduit à une diminution progressive de la masse osseuse totale et à une réduction de la qualité du tissu osseux. L'analyse de la littérature nous montre que les pièces squelettiques telles que les vertèbres ou le col du fémur ont été relativement bien étudiées tandis que l'intérêt porté à l'impact sur l'os alvéolaire n'est que très récent.

## **Effet de la carence œstrogénique sur la quantité et la qualité du tissu osseux alvéolaire**

Chez les animaux, et spécialement chez les rongeurs, la majorité des études a démontré que la carence oestrogénique provoquée par l'ovariectomie entraîne une perte d'os alvéolaire ainsi que des modifications de la structure trabéculaire.

Ces modifications structurelles seraient plus importantes au niveau des sites osseux soumis à un fort remodelage, comme au sein de l'os constituant les septa inter radiculaire et inter dentaire. Parmi les changements observés, on retrouve une modification de la forme des trabécules, un élargissement des espaces médullaires et une variation de la densité minérale osseuse. Toutes ces variations locales ont été davantage étudiées chez les primates non humains et les rongeurs que chez les sujets humains. En effet, la complexité anatomique des os maxillaires chez l'homme, les variations individuelles qui découlent de l'histoire des traitements dentaires, les habitudes occlusales et la présence de pathologies telles les parodontites rendent difficile la réalisation d'études comparatives précises.

## **Effet de la carence en œstrogène sur la densité minérale osseuse**

Bien que les méthodologies ainsi que les sites étudiés diffèrent d'une étude à l'autre, la majorité des études a établi une corrélation entre la DMO mandibulaire et la DMO. Par la suite, de nombreux travaux ont été menés pour tenter d'établir une

corrélation entre l'état dentaire et la densité minérale osseuse de la mandibule mais également d'autres sites squelettiques. Les études montrent que les patientes ménopausées, ostéoporotiques ou non, ont un état dentaire moins bon que les patientes qui ne sont pas en situation de carence oestrogénique. Toutefois, en l'absence de méta analyse, il n'est pas possible d'affirmer que la déficience en œstrogènes entraîne une diminution de la DMO mandibulaire responsable d'une augmentation du risque de perte des dents.

### **Effet de la carence en œstrogène sur la cicatrisation alvéolaire**

La diminution des niveaux d'œstrogènes semblerait affecter les processus de cicatrisation osseuse et influencer la quantité et la qualité de l'os nouvellement formé. C'est le cas chez les rongeurs où plusieurs études ont mis en évidence un retard de cicatrisation alvéolaire après extraction dentaire. Ces résultats n'ont cependant pas encore été validés chez la femme. Les sites étudiés et les moyens utilisés doivent être standardisés pour pouvoir obtenir des résultats comparables. L'os alvéolaire maxillaire et mandibulaire est soumis à des contraintes locales importantes qui semblent jouer un rôle prépondérante dans le maintien ou la perte de masse osseuse locale, y compris en cas de carence oestrogénique.

### **Effet de la carence en œstrogène sur le remodelage osseux**

Malgré les progrès réalisés dans notre compréhension des processus impliqués dans la perte osseuse consécutive à la carence en œstrogènes, les mécanismes impliqués sont complexes et difficiles à étudier *in vivo*. Les œstrogènes ont des effets directs sur les cellules osseuses mais aussi de nombreux effets indirects, agissant sur la réponse immunitaire adaptative et le stress oxydatifs.

#### **➤ *Apoptose***

La chute des taux d'E2 entraîne une diminution de l'apoptose des ostéoclastes responsable, en partie, de l'augmentation de leur nombre mais aussi d'un allongement de leur durée de vie.

➤ *Stress oxydatif*

Plusieurs études suggèrent que de faibles taux d'E2 favoriseraient l'augmentation des DRO mais également une diminution de certaines molécules antioxydantes. Ce stress oxydatif semble jouer un rôle dans le déséquilibre du remodelage osseux et dans l'augmentation de la résorption osseuse.

➤ *La sclérostine*

L'augmentation de cette molécule chez les patientes ménopausées et les rongeurs ovariectomisés est un phénomène encore peu étudié mais qui pourrait participer au déséquilibre du remodelage osseux lors de la carence en E2.

➤ *Lymphocytes T et cytokines*

De nombreuses études ont démontré, *in vivo*, l'implication de diverses cytokines telles que les interleukines, le TNF $\alpha$ , le TGF $\beta$  ou encore l'IFN $\gamma$ . Plus surprenant, les lymphocytes T et B semblent également jouer un rôle dans le déséquilibre du remodelage osseux. On sait aujourd'hui que l'IL-7 et l'IFN $\gamma$  sont responsables d'une augmentation de l'activation des lymphocytes T et que ces lymphocytes sont capables de sécréter des molécules qui stimulent puissamment l'ostéoclastogenèse telle que le TNF $\alpha$  et la RANKL.

➤ *Déséquilibre du système RANK/RANKL/OPG*

Le RANKL et l'OPG sont des molécules clés de la régulation du remodelage osseux. L'augmentation de la sécrétion du RANKL fait partie des mécanismes responsables de la destruction osseuse observée dans la carence oestrogénique.

## CONCLUSION

L'allongement de la durée de vie amène les femmes à passer presque un tiers de leur vie en situation de carence oestrogénique. Cette carence de longue durée entraîne une augmentation des pathologies associées comme l'ostéoporose. On ne peut pas encore parler de réelle ostéoporose mandibulaire ou maxillaire. Cependant, des modifications de la microarchitecture trabéculaire ainsi que des perturbations au niveau de la cicatrisation alvéolaire pourraient affecter les femmes en situation de carence oestrogénique qui ne bénéficie pas de traitement hormonal substitutif.

La sauvegarde du tissu osseux alvéolaire fait partie des défis majeurs de l'odontologie. Le développement des techniques de régénération tissulaire, de greffes osseuses, d'orthodontie ou encore d'implantologie nécessite une meilleure compréhension des mécanismes du remodelage osseux. Ces connaissances sont aussi indispensables pour la mise au point de nouvelles molécules thérapeutiques et de nouveaux matériaux bioactifs. L'étude de l'effet de la carence en œstrogènes doit être poursuivie afin d'assurer une meilleure prise en charge des patientes en situation de carence oestrogénique.

Le 04/09/2013,

Signature



# LISTE DES FIGURES

- Figure 1.** Anatomie de l'os alvéolaire et basal de la mandibule.
- Figure 2.** Organisation macroscopique du tissu osseux.
- Figure 3.** Structure primaire de l'os observé en microscopie de polarisation.
- Figure 4.** Les cellules du tissu osseux.
- Figure 5.** Ostéoblastes actifs recouvrant un trabécule osseux.
- Figure 6.** Fine tranche d'os compact calcifié.
- Figure 7.** Cellules bordantes recouvrant un trabécule osseux.
- Figure 8.** Grande cellule multinuclée ou ostéoclaste.
- Figure 9.** Ostéoclaste en cours de résorption osseuse vu en microscopie électronique à balayage
- Figure 10.** Représentation schématique de l'ostéoclaste.
- Figure 11.** Différenciation et activation des ostéoclastes par couplage ostéoblaste / ostéoclaste lors du remaniement osseux physiologique.
- Figure 12.** Représentation d'un cycle de remodelage osseux.
- Figure 13.** Régulation de l'expression de RANKL. Adapté de Boyle WJ et al.<sup>[24]</sup>.
- Figure 14.** La synthèse des œstrogènes à partir du cholestérol.
- Figure 15.** Organisation structurale et fonctionnelle des isotypes  $\alpha$  et  $\beta$  du récepteur aux œstrogènes humain.
- Figure 16.** Mécanisme d'action des récepteurs aux œstrogènes.
- Figure 17.** Vu frontale en 2D de la coupe B passant par le septum inter radiculaire.
- Figure 18.** Régulation des cytokines impliquées dans l'ostéoclastogénèse induite par la carence en œstrogènes.
- Figure 19.** Coloration immuno-histochimique de la sclérostine sur une coupe de fémur congelé.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]Goldberg M. Manuel d'histologie et de biologie buccale. Paris : Masson, 1997.
- [2]Triller M. Histologie dentaire. Paris : Masson, 1987.
- [3]<http://www.db-gersite.com/HISTOLOGIE/EPITHDIG/cbgsoe/Rhiza/RhizaVIII.jpg>.
- [4]Moon HS, Won YY, Kim KD, Ruprecht A, Kim HJ, Kook HK, Chung MK. The three-dimensional microstructure of the trabecular bone in the mandible. *Surg Radiol Anat.* 2004 Dec;26(6):466-73.
- [5]Fawcett D. et Jensch R. Histologie: l'essentiel. Paris: Maloine, 2002.
- [6]Stevens A, Lowe J. Histologie humaine. 3e éd. Paris : Elsevier, 2006.
- [7]Ehrlich PJ, Lanyon LE. Mechanical strain and bone cell function: a review. *Osteoporos Int* 2002; 13:688-700.
- [8]<http://histoblog.viabloga.com/texts/le-tissu-osseux>.
- [9]Rosenberg AE, Sanford IR. Bone In : Histology for pathologists Dir. Stacey E.Mills Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2007:75-95.
- [10]Aarden EM, Burger EH, Nijweide PJ. Function of osteocytes in bone. *J Cell Biochem* 1994; 55:287-299.
- [11]Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Lowik CW, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J* 2005; 19:1842-4.
- [12]Clermont Y, Lalli M, Zsuzsanna Bencsath-Makkai. Atlas d'histologie en microscopie électronique.
- [13]Clermont Y, Lalli M, Zsuzsanna Bencsath-Makkai. Atlas d'histologie en microscopie électronique.
- [14]Stein GS, Lian JB. Molecular mechanisms mediating proliferation/differentiation interrelationships during progressive development of the osteoblast phenotype. *Update Endocr Rev* 1995; 4:290-7
- [15]Talbot J, Verrecchia F. Communication intercellulaire et remodelage osseux. *Biologie Aujourd'hui* 2012; 206(2):125-134.
- [16]Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997; 89:747-54.
- [17]Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, et al. Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 1997; 89 : 755-64.
- [18]Kojima H, Uemura T. Strong and rapid induction of osteoblast differentiation by *Cbfa1/Til-1* overexpression for bone regeneration. *J Biol Chem.* 2005; 280(4):2944-53.
- [19]Inada M, Yasui T, Nomura S, Miyake S, Deguchi K, Himeno M, et al. Maturational disturbance of chondrocytes in *Cbfa1*-deficient mice. *Dev Dyn* 1999 ; 214 : 279-90.
- [20]Wang Z, McCauley LK. Osteoclasts and odontoclasts: signaling pathways to development and disease. *Oral Dis.* 2011 Mar;17(2):129-42.
- [21]Clermont Y, Lalli M, Zsuzsanna Bencsath-Makkai. Atlas d'histologie en microscopie électronique.

- [22]ARNETT T. Gallery of bone cells. URL : [http://www.ucl.ac.uk/cdb/research/arnett/gallery\\_bone1](http://www.ucl.ac.uk/cdb/research/arnett/gallery_bone1).
- [23]Takahashi N, Udagawa N, Takami M, Suda T. Cells of bone: osteoclast generation. Principles of bone biology, Vol 1, 2nd edition San Diego: Academic Press 2002.
- [24]Väänänen HK, Laitala-Leinonen T. Osteoclast lineage and function. Arch Biochem Biophys. 2008 May 15;473(2):132-8.
- [25]Cappellen D, Luong-Nguyen NH, Bongiovanni S, Grenet O, Wanke C, Susa M. Transcriptional program of mouse osteoclast differentiation governed by the macrophage colony-stimulating factor and the ligand for the receptor activator of NFkappa B. J Biol Chem 2002; 277:21971-82.
- [26]Jimi E, Akiyama S, Tsurukai T, Okahashi N, Kobayashi K, Udagawa N, et al. Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function. J Immunol 1999; 163:434-42.
- [27]Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/ RANK system. Endocrinology. 2001; 142:5050–5055.
- [28]Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. Cell 1998 93:165-76.
- [29]Li J, Sarosi I, Yan XQ, Morony S, et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:1566–1571.
- [30]Shiotani A, Takami M, Itoh K, Shibasaki Y, Sasaki T. Regulation of osteoclast differentiation and function by receptor activator of NFkB ligand and osteoprotegerin. Anat Rec 2002; 268:137-46
- [31]Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell 1997 89:309-19.
- [32]Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, et al. Osteoprotegerin - deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. Genes Dev 1998; 12:1260-8.
- [33]Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, et al. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor osteoprotegerin. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1998; 247:610–615.
- [34]Ross AB, Bateman TA, Kostenuik PJ, Ferguson VL, Lacey DL, Dunstan CR, Simske SJ: The effects of osteoprotegerin on the mechanical properties of rat bone . J Mater Sci Mater Med 2001, 12 :583-588
- [35]Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, and Higashio K. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. Biochem Biophys Res Commun 1997; 234:137-42.
- [36]Lo Iacono N, Blair HC, Poliani PL, Marrella V, Ficara F, Cassani B, et al. Osteopetrosis rescue upon RANKL administration to Rankl(-/-) mice: a new therapy for human RANKL-dependent ARO. J Bone Miner Res. 2012Dec;27(12):2501-10.
- [37]Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96:3540-5.
- [38]Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, Rohrbach K, Brasel K, De Smedt T, et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. Genes Dev 1999; 13:2412-24.
- [39]Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function, 8th Edition.

- [40]Hofbauer LC, Khosla S, Lacey DL, Dunstan CR, Boyle WJ, Riggs BL. The role of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrin regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 2–12.
- [41]Morony S, Capparelli C, Lee R, Shimamoto G, Boone T, Lacey DL, et al. A chimeric form of osteoprotegerin inhibits hypercalcemia and bone resorption induced by IL-1b, TNF-a, PTH, PTHrp, and 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. *J Bone Miner Res* 1999;14:1478–85.
- [42]Dewynter G, Montero JL. Aspects chimiques fondamentaux de la structure et de la biosynthèse du collagène. In: Theot L, Vidal J, Dossa J, editors. Collection « Biologie de l'appareil locomoteur ». Villeurbanne: Sauramps Médical; 1989. p. 9-17.
- [43]Courret I. Biologie du remodelage osseux. *J Nuc Med* 2004; 28(2) :52-65.
- [44]ParfittAM. Targeted and nontargeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone* 2002; 30:5-7.
- [45]Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000. 289:1504–1508.
- [46]De Vernejoul MC, Marie PJ. Facteurs systémiques et locaux du remodelage osseux. In: Maladies métaboliques osseuses de l'adulte. Paris: Flammarion; 1996. p. 53-61.
- [47]Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 1998; 78:1193-231.
- [48]Suda T, Ueno Y, Fujii K, Shinki T. Vitamin D and bone. *J Cell Biochem* 2003; 88(2) :259-266.
- [49]White C, Gardiner E, Eisman J. Tissue specific and vitamin D responsive gene expression in bone. *Mol Biol Rep* 1998; 25:45-61.
- [50]Swarthout JT, D'Alonzo RC, Selvamurugan N, Partridge NC. Parathyroid hormone-dependent signaling pathways regulating genes in bone cells. *Gene* 2002; 282:1-7.
- [51]Weir EC, Insogna KL, Horowitz MC. Osteoblast-like cells secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in response to parathyroid hormone and lipopolysaccharide. *Endocrinology*. 1989; 124(2):899-904.
- [52]Yan J, Sun W, Zhang J, Goltzman D, Miao D. Bone marrow ablation demonstrates that excess endogenous parathyroid hormone plays distinct roles in trabecular and cortical bone. *Am J Pathol*. 2012; 181(1):234-44.
- [53]Fujita T, Fukuyama R, Izumo N, Hirai T, Meguro T, Nakamuta H, et al. Transactivation of core binding factor alpha1 as a basic mechanism to trigger parathyroid hormone-induced osteogenesis. *Jpn J Pharmacol* 2001; 86:405-16.
- [54]Drake MT, Srinivasan B, Mödder UI, Ng AC, Undale AH, Roforth MM, et al. Effects of intermittent parathyroid hormone treatment on osteoprogenitor cells in postmenopausal women. *Bone*. 2011; 49(3):349-55.
- [55]Bellido T, Ali AA, Gubrij I, Plotkin LI, Fu Q, O'Brien CA, et al. Chronic elevation of parathyroid hormone in mice reduces expression of sclerostin by osteocytes: a novel mechanism for hormonal control of osteoblastogenesis. *Endocrinology* 2005; 146:4577-83.
- [56]Mannstadt M, Juppner H, Gardella TJ. Receptors for PTH and PTHrP: their biological importance and functional properties. *Am J Physiol* 1999; 277:665-75.
- [57]Wallach S, Farley JR, Baylink DJ, Brenner-Gati L. Effects of calcitonin on bone quality and osteoblastic function. *Calcif Tissue Int* 1993; 52:335-9
- [58]Rickard DJ, Subramaniam M, Spelsberg TC. Molecular and cellular mechanisms of estrogen action on the skeleton. *J Cell Biochem* 1999; 33:123-32.
- [59]Spelsberg TC, Subramaniam M, Riggs BL, Khosla S. The actions and interactions of sex steroids and growth factors/cytokines on the skeleton. *Mol Endocrinol* 1999; 13:819-28.

- [60]Klaushofer K, Varga F, Glantschnig H, Fratzl-Zelman N, Czerwenka E, Leis HJ, et al. The regulatory role of thyroid hormones in bone cell growth and differentiation. *J Nutr* 1995; 125:1996-2003.
- [61]Abe E, Mariani RC, Yu W, Wu XB, Ando T, Li Y, et al. TSH is a negative regulator of skeletal remodeling. *Cell*. 2003; 115:151-62.
- [62]Sun L, Peng Y, Sharrow AC, Iqbal J, Zhang Z, Papachristou DJ, et al. FSH directly regulates bone mass. *Cell* 2006; 125:247-60.
- [63]Yamaguchi A, Komori T, Suda T. Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1. *Endocr Rev* 2000; 21:393-411.
- [64]Felix R, Elford PR, Stoercklé C, Cecchini M, Wetterwald A, Trechsel U, et al. Production of hemopoietic growth factors by bone tissue and bone cells in culture. *J Bone Miner Res*. 1988; 3(1):27-36.
- [65]Horowitz MC, Coleman DL, Flood PM, Kupper TS, Jilka RL. Parathyroid hormone and lipopolysaccharide induce murine osteoblast-like cells to secrete a cytokine indistinguishable from granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Clin Invest*. 1989; 83(1):149-57.
- [66]Hofbauer LC, Khosla S, Lacey DL, Dunstan CR, Boyle WJ, Riggs BL. The role of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 2–12.
- [67]Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implication of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA* 2004 28:490–495
- [68]Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96:3540-5.
- [69]Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N, et al. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998; 139:1329-37.
- [70]Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003; 423:337-42.
- [71]Chantry D, Turner M, Abney E, Feldmann M. Modulation of cytokine production by transforming growth factor-beta. *J Immunol*. 1989; 142(12):4295-300.
- [72]Roberts AB, Anzano MA, Wakefield LM, Roche NS, Stern DF, Sporn MB. Type beta transforming growth factor: a bifunctional regulator of cellular growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985; 82(1):119-23.
- [73]Hock JM, Canalis E, Centrella M. Transforming growth factor-beta stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *Endocrinology*. 1990 Jan;126(1):421-6.
- [74]Pfeilschifter J, Wolf O, Naumann A, Minne HW, Mundy GR, Ziegler R. Chemotactic response of osteoblastlike cells to transforming growth factor beta. *J Bone Miner Res*. 1990; 5(8):825-30.
- [75]Chen TL, Bates RL. Recombinant human transforming growth factor beta 1 modulates bone remodeling in a mineralizing bone organ culture. *J Bone Miner Res*. 1993; 8(4):423-34.
- [76]Marcelli C, Yates AJ, Mundy GR. In vivo effects of human recombinant transforming growth factor beta on bone turnover in normal mice. *J Bone Miner Res* 1990; 5:1087-96.
- [77]Chenu C, Pfeilschifter J, Mundy GR, Roodman GD. Transforming growth factor beta inhibits formation of osteoclast-like cells in long-term human marrow cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988; 85(15):5683-7.
- [78]Bonewald LF. Regulation and regulatory activities of transforming growth factor beta. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 1999; 9:33-44

- [79] Marcus R. Skeletal effects of growth hormone and IGF-I in adults. *Endocrine* 1997; 7:53-5.
- [80] Lasfargues Jean Jacques. Role des prostaglandines au cours du remaniement physiologique et pathologique de l'os alveolaire. *odontologie*. Paris 5 Montrouge, 1990. 1990PA05M181.
- [81] Tian XY, Zhang Q, Zhao R, Setterberg RB, Zeng QQ, Iturria SJ, Ma YF, Jee WS. Continuous PGE2 leads to net bone loss while intermittent PGE2 leads to net bone gain in lumbar vertebral bodies of adult female rats. *Bone*. 2008 May;42(5):914-20.
- [82] Chenu C, Kurihara N, Mundy GR, Roodman GD. Prostaglandin E2 inhibits formation of osteoclastlike cells in long-term human marrow cultures but is not a mediator of the inhibitory effects of transforming growth factor beta. *J Bone Miner Res*. 1990 J; 5(7):677-81.
- [83] Bailly K, Soulet F, Leroy D, Amalric F, Bouche G. Uncoupling of cell proliferation and differentiation activities of basic fibroblast growth factor. *FASEB J*. 2000; 14:333-44.
- [84] Canalis E, Varghese S, McCarthy TL, Centrella M. Role of platelet derived growth factor in bone cell function. *Growth Regul*. 1992; 2(4):151-5.
- [85] Ibbotson KJ, Harrod J, Gowen M, D'Souza S, Smith DD, Winkler ME, et al. Human recombinant transforming growth factor alpha stimulates bone resorption and inhibits formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986; 83(7):2228-32.
- [86] Pfeilschifter J, Chenu C, Bird A, Mundy GR, Roodman GD. Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclastlike cells in vitro. *J Bone Miner Res*. 1989; 4(1):113-8.
- [87] Pfeilschifter J, Koditz R, Pfohl M, Schatz H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocr Rev* 2002; 23:90-119.
- [88] Lam J, et al. TNF- $\alpha$  induce osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J. Clin. Invest*. 2000; 106:1481-1488.
- [89] Zhang YH, Heulsmann A, Tondravi MM, Mukherjee A, and Abu-Amer Y. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF) Stimulates RANKL-induced Osteoclastogenesis via Coupling of TNF Type 1 Receptor and RANK Signaling Pathways. *J Biol Chem* 2001; 276:563-568.
- [90] Fuller K, Murphy C, Kirstein B, Fox SW, Chambers TJ. TNF  $\alpha$  potently activates osteoclasts, through a direct action independent of and strongly synergistic with RANKL. *Endocrinology* 2002; 143:1108-1118.
- [91] Nanes MS. Tumor necrosis factor- $\alpha$ : molecular and cellular mechanisms in skeletal pathology. *Gene*. 2003 321:1-15.
- [92] Cappellen D, Luong-Nguyen NH, Bongiovanni S, Grenet O, Wanke C, Susa M. Transcriptional program of mouse osteoclast differentiation governed by the macrophage colony-stimulating factor and the ligand for the receptor activator of NF $\kappa$ B. *J Biol Chem* 2002; 277:21971-82.
- [93] Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med*. 2002; 346:340-352.
- [94] Simpson ER. Sources of estrogen and their importance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 86(3-5): 225-23.
- [95] Greene GL, Gilna P, Waterfield M, Baker A, Hort, Y, Shine, J. Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. *Science* 1986 231:1150-1154.
- [96] Walter P, Green S, Greene G, Krust A, Bornert JM, Jeltsch JM, et al. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82:7889-7893.
- [97] Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93:5925-5930

- [98] Mosselman S, Polman J, Dijkema R. ER beta : identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett* 1996; 392:49-53.
- [99] Dervis E. Oral implications of osteoporosis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2005; 100:349–356.
- [100] Lindberg MK, et al. Estrogen receptor (ER)-beta reduces ERalpha regulated gene transcription, supporting a "ying yang" relationship between ERalpha and ERbeta in mice. *Molecular Endocrinology* 2003; 17(2): 203-208.
- [101] Roman-Blas JA, Castañeda S, Largo R, Herrero-Beaumont G. Osteoarthritis associated with estrogen deficiency. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(5):241.
- [102] Matthews J, Gustafsson JA. Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta. *Mol Interv.* 2003; 3:281-292.
- [103] Zhao C, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA. Estrogen receptor beta: an overview and update. *Nucl Recept Signal.* 2008; 6:e003.
- [104] Filardo EJ, Quinn JA, Bland KI, Frackelton AR. Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF. *Mol Endocrinol.* 2000; 14:1649-1660.
- [105] Prossnitz ER, Maggiolini M. Mechanisms of estrogen signaling and gene expression via GPR30. *Mol Cell Endocrinol.* 2009; 308:32-38.
- [106] Bord S, Horner A, Beavan S, Compston J. Estrogen receptors alpha and beta are differentially expressed in developing human bone. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:2309-14.
- [107] Enmark E, Gustafsson JA. Oestrogen receptors - an overview. *J Intern Med* 1999; 246: 133-138.
- [108] Almeida M, Iyer S, Martin-Millan M, Bartell SM, Han L, Ambrogini E, et al. Estrogen receptor- $\alpha$  signaling in osteoblast progenitors stimulates cortical bone accrual. *J Clin Invest.* 2013 Jan; 123(1):394-404.
- [109] Barkhem T, et al. Differential response of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta to partial estrogen agonists/antagonists. *Mol. Pharmacol.* 1998; 54:105–112.
- [110] Martin-Millan M, et al. The estrogen receptor-alpha in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not on cortical bone. *Mol Endocrinol* 2010; 24(2):323–334.
- [111] Hall JM, Couse JF, Korach KS. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J Biol Chem* 2001; 276: 36869-36872.
- [112] Hart L, Davie JR. The estrogen receptor: more than the average transcription factor. *Biochem Cell Biol* 2002; 80: 335-341.
- [113] Mendelsohn ME, Karas RH. Rapid progress for non-nuclear estrogen receptor signaling. *J Clin Invest.* 2010; 120(7):2277-9.
- [114] Migliaccio S, Marino M. Estrogens and estrogen receptors: new actors in the plot of transcriptional regulation of genomic responses. *Calcif Tissue Int* 2003; 72:181-182.
- [115] Galien R, Garcia T. Estrogen receptor impairs interleukin-6 expression by preventing protein binding on the NF-kappaB site. *Nucleic Acids Res* 1995; 25:2424-2429.
- [116] Smith CL. Cross-talk between peptide growth factor and estrogen receptor signaling pathways. *Biol Reprod* 1998 58:627-632.
- [117] Chetana M, Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science.* 2005; 307:1625-1630.

- [118]Wang TH, Fu XD, Yang D, Tan Z, Pan JY. Membrane estrogen receptor mediates the rapid nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *Sheng Li Xue Bao*. 2003; 55(2):213-8.
- [119]Bjornstrom L, Sjoberg M. Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Mol Endocrinol*. 2005; 19:833- 842.
- [120]Picotto G, Vazquez G, Boland R. 17beta-oestradiol increases intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration in rat enterocytes. *Biochem J*. 1999; 339:71-77.
- [121]Heldring N, Pike A, Andersson S, Matthews J, Cheng G, Hartman J, et al. Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiol Rev* 2007 87(3): 905-931.
- [122]Reid G, Denger S, Kos, M Gannon F. "Human estrogen receptor-alpha: regulation by synthesis, modification and degradation." *Cell Mol Life Sci* 2002; 59(5): 821- 831.
- [123]Jeffcoat MK, Lewis CE, Reddy MS, Wang CY, Redford M. Post-menopausal bone loss and its relationship to oral bone loss. *Periodontol* 2000; 23:94-102.
- [124]Jeffcoat MK. The association between osteoporosis and oral bone loss. *J Periodontol* 2005;76:2125-32.
- [125]Groen JJ, Duyvensr F, Halsted JA. Diffuse alveolar atrophy of the jaw (non-inflammatory form of parodontal disease) and pre-senile osteoporosis. *Gerontol Clin* 1960; 2:68-86.
- [126]Kribbs PJ, Chestnut CH, Ott SM, Kilcoyne RF. Relationship between mandibular and skeletal bone in a population of normal women. *J Prosthet Dent*. 1990; 63:86-9.
- [127]Kribbs PJ, Chestnut CH, Ott SM, Kilcoyne RF. Relationship between mandibular and skeletal bone in an osteoporotic population. *J Prosthet Dent*. 1989; 62:703-7.
- [128]Kribbs PJ, Smith DE, Chesnut CH. Oral findings in osteoporosis. Part I: Measurement of mandibular bone density. *J Prosthet Dent* 1983; 50: 576-9.
- [129]Kribbs PJ, Smith DE, Chestnut CH., 3rd Oral findings in osteoporosis, Part II: Relationship between residual ridge and alveolar bone resorption and generalized skeletal osteopenia. *J Prosthet Dent*. 1983; 50:719-24.
- [130]Kribbs PJ. Comparison of mandibular bone in normal and osteoporotic women. *J Prosthet Dent* 1990; 63:218-222.
- [131]Kribbs P. Two-year changes in mandibular bone mass in an osteoporotic population. *J Prosthet Dent* 1992;67:653-5.
- [132]Taguchi A, Tanimoto K, Suei Y, Ohama K, Wada T. Relationship between the mandibular and lumbar vertebral bone mineral density at different postmenopausal stages. *Dentomaxillofac Radiol* 1996; 25: 130-5.
- [133]Hildebolt CF. Osteoporosis and oral bone loss. *Dento maxilla fac Radiol* 1997; 26:3-15.
- [134]Pilgram TK, Hildebolt CF, Yokoyama N, et al. Relationships between longitudinal changes in radiographic alveolar bone height and probing depth measurements: data from postmenopausal women. *J Periodontol* 1999; 70:829-833.
- [135]Tuncay OC, Thomson S, Abadi B, Ellinger C. Cephalometric evaluation of the changes in patients wearing complete dentures. A ten-year longitudinal study. *J Prosthet Dent* 1984; 51:169-80
- [136]Klemetti E, Vainio P. Effect of bone mineral density in skeleton and mandible on extraction of teeth and clinical alveolar height. *J Prosthet Dent* 1993; 70:21-25.
- [137]Payne JB, Reinhardt RA, Nummikoski PV, Patil KD. Longitudinal alveolar bone loss in postmenopausal osteoporotic/osteopenic women. *Osteoporosis Int* 1999; 10:34-40.
- [138]Hirai T, Ishijima T, Hashikawa Y, Yajima T. Osteoporosis and reduction of residual ridge in edentulous patients. *J Prosthet Dent* 1993; 69: 49-56.

- [139]Soikkonen K, Ainamo A, Xie Q. Height of the residual ridge and radiographic appearance of bony structure in the jaws of clinically edentulous elderly people. *J Oral Rehabil* 1996; 23:470–5.
- [140]Pilgram TK, Hildebolt CF, Yokoyama N, et al. Relationships between longitudinal changes in radiographic alveolar bone height and probing depth measurements: data from postmenopausal women. *J Periodontol* 1999; 70:829–833.
- [141]Taguchi A, Sanada M, Suei Y, Ohtsuka M, Nakamoto T, Lee K, et al. Effect of estrogen use on tooth retention, oral bone height, and oral bone porosity in Japanese postmenopausal women. *Menopause (New York NY)* 2004;11:556–62.
- [142]Taguchi A, Suei Y, Ohtsuka M, Otani K, Tanimoto K, Hollender LG (1999). Relationship between bone mineral density and tooth loss in elderly Japanese women. *Dentomaxillofac Radiol* 1999; 28:219-223.
- [143]Krall EA, Dawson-Hughes B, Papas A, Garcia RI. Tooth loss and skeletal bone density in healthy postmenopausal women. *Osteoporos Int* 1994; 4:104–9.
- [144]Krall EA, Garcia RI, Dawson-Hughes B. Increased risk of tooth loss is related to bone loss at the whole body, hip, and spine. *Calcif Tissue Int* 1996; 59:433–7.
- [145]Gur A, Nas K, Kayhan O, Atay MB, Akyuz G, Sindal D, et al. The relation between tooth loss and bone mass in postmenopausal osteoporotic women in Turkey: a multicenter study. *J Bone Miner Metab* 2003; 21:43–7.
- [146]Daniell HW. Postmenopausal tooth loss. Contributions to edentulism by osteoporosis and cigarette smoking. *Arch Intern Med.* 1983; 143:1678-1682.
- [147]Inagaki K, Kurosu Y, Kamiya T, Kondo F, Yoshinari N, Noguchi T, et al. Low metacarpal bone density, tooth loss, and periodontal disease in Japanese women. *J Dent Res* 2001;80:1818–22.
- [148]Munakata M, Tachikawa N, Honda E, Shiota M, Kasugai S .Influence of menopause on mandibular bone quantity and quality in Japanese women receiving dental implants.. *Arch Osteoporos.* 2011 Dec;6(1-2):51-7.
- [149]Earnshaw SA, Keating N, Hosking DJ, Chilvers CE, Ravn P, McClung M, et al. Tooth counts do not predict bone mineral density in early postmenopausal Caucasian women. *Int J Epidemiol* 1998; 27:479-483.
- [150]Mohammad AR, Bauer RL, Yeh CK. Spinal bone density and tooth loss in a cohort of postmenopausal women. *Int J Prosthodont* 1997; 10:381-385.
- [151]Lockington TJ, Bennett GC. Osteoporosis and the jaws: questions remain to be answered. *Gerodontology* 1994 11:67-75.
- [152]Horner K, Devlin H, Harvey L. Detecting patients with low skeletal bone mass. *J Dent* 2002; 30:171–5.
- [153]Klemetti E, Colmakov S, Heiskanen P, Vianio P, Lassila V. Panoramic mandibular index and bone mineral densities in postmenopausal women. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1993;75
- [154]Mudda JA, Bajaj M, Patil VA. A Radiographic comparison of mandibular bone quality in pre- and post-menopausal women in Indian population. *J Indian Soc Periodontol.* 2010; 14(2):121-5
- [155]Procchio M, Lorenzetti M, Bassi F. The effect of mandibular bone density assessed by orthopantomography on the bone resorption of the alveolar crests. *Minerva Stomatol* 1993; 42:497–500.
- [156]Barlet JP, Coxam V, Davicco MJ, Gaumet N. Modèles animaux d'ostéoporose post-ménopausique. *Reprod Nutr Dev.* 1994; 34 :221-236.
- [157]Wronski TJ, Yen CF. The ovariectomized rat as an animal model for postmenopausal bone loss. *Cells Mater* 1991 (Suppl 1):69-74.

- [158]Thorndike EA, Turner AS. In search of an animal model for postmenopausal diseases. *Front Biosci* 1998; 3:17-26.
- [159]Ishihara A, Sasaki T, Debari K, et al. Effects of ovariectomy on bone morphology in maxillae of mature rats. *J. Electron. Microsc.* 1999; 48:465–469.
- [160]Jiang G, Matsumoto H, Fujii A. Mandible bone loss in osteoporosis rats. *J. Bone Miner. Metab.*2003; 21:388–395.
- [161]Kuroda S, Mukohyama H, Kondo H, et al. Bone mineral density of the mandible in ovariectomized rats: analyses using dual energy X-ray absorptiometry and peripheral quantitative computed tomography. *Oral Dis* 2003; 9:24-28.
- [162]Rawlinson SC, Boyde A, Davis GR, Howell PG, Hughes FJ, Kingsmill VJ. Ovariectomy vs. hypofunction: their effects on rat mandibular bone. *J Dent Res* 2009; 88:615-620.
- [163]Tanaka M, Ejiri S, Toyoka E, Kohno S, Ozawa H. Effects of ovariectomy on trabecular structures of rats alveolar bone. *J Periodont Res* 2002; 37:161-165.
- [164]Tanaka M, Toyooka E, Kohno S, Ozawa H, Ejiri S. Long-term changes in trabecular structure of aged rat alveolar bone after ovariectomy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95:495–502.
- [165]Elovic RP, Hipp JA, Hayes WC. Ovariectomy decreases the bone area fraction of the rat mandible. *Calcif Tissue Int* 1995; 56:305–310.
- [166]Moriya Y, Ito K, Murai S. Effects of experimental osteoporosis on alveolar bone loss in rats. *J Oral Sci* 1998; 40:171–5.
- [167]Amadei SU, Souza DM, Brandão AA, Rocha RF. Influence of different durations of estrogen deficiency on alveolar bone loss in rats. *Braz Oral Res.* 2011 Nov-Dec; 25(6):538-43.
- [168]Bezerra JP, de Siqueira A, Pires AG, Marques MR, Duarte PM, Bastos MF. Effects of Estrogen Deficiency and/or Caffeine Intake on Alveolar Bone Loss, Density and Healing: A Study in Rats. *J Periodontol.* 2012.
- [169]Shoji K, Basso N, Elsubeihi ES, Heersche JNM. Shortterm effect of ovariectomy on osteoprogenitors in the healing rat mandibular incisor extraction socket. *Osteoporos. Int.*2008 19:1193–1201.
- [170]Zecchin KG, Pereira MC, Coletta RD, Graner E, Jorge J. Ovariectomy reduces the gelatinolytic activity and expression of matrix metalloproteinases and collagen in rat molar extraction wounds. *Calcif Tissue Int* 2005; 76:136-145.
- [171]Shoji K, Elsubeihi ES, Heersche JN. Effects of ovariectomy on turnover of alveolar bone in the healed extraction socket in rat edentulous mandible. *Arch Oral Biol* 2011; 56:114-120.
- [172]Shimizu M, Furuya R, Kawawa T, Sasaki T. Bone wound healing after maxillary molar extraction in ovariectomized aged rats: quantitative backscattered electron image analysis. *Anat Rec* 2000; 259:76-85.
- [173]Teo' filo JM, Brentegani LG, Lamano-Carvalho TL. Bone healing in osteoporotic female rats following intra-alveolar grafting of bioactive glass. *Arch. Oral Biol.* 2004 49:755–762.
- [174]Hara T, Sato T, Oka M, Mori S, Shirai H. Effects of ovariectomy and/or dietary calcium deficiency on bone dynamics in the rat hard palate, mandible and proximal tibia. *Arch. Oral Biol.* 2001; 46: 443–451.
- [175]Prado RF, Silveira VÁ, Rocha RF, Vasconcellos LM, Carvalho YR. Effects of experimental osteoporosis and low calcium intake on postextraction sockets of rats. *Int J Exp Pathol.* 2012; 93(2):139-47.
- [176]Tanaka S, Shimizu M, Debari K, Furuya R, Kawawa T, Sasaki T. Acute effects of ovariectomy on wound healing of alveolar bone after maxillary molar extraction in aged rats. *Anat Rec* 2001; 262:203-212.

- [177]Pereira MC, Zecchin KG, Campagnoli EB, Jorge J. Ovariectomy delays alveolar wound healing after molar extractions in rats. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65:2248-2253.
- [178]Ames MS, Hong S, Lee HR, Fields HW, Johnston WM, Kim DG. Estrogen deficiency increases variability of tissue mineral density of alveolar bone surrounding teeth. *Arch Oral Biol*. 2010 Aug; 55(8):599-605.
- [179]Rapoff AJ, Rinaldi RG, Hotzman JL, Daegling DJ. Elastic modulus variation in mandibular bone: a microindentation study of macaca fascicularis. *Am J Phys Anthropol* 2008; 135:100–9.
- [180]Arslan SG, Arslan H, Ketani A, Hamamci O. Effects of estrogen deficiency on tooth movement after force application: an experimental study in ovariectomized rats. *Acta Odontol Scand* 2007; 65:319–23.
- [181]Yamashiro T, Takano-Yamamoto T. Influences of ovariectomy on experimental tooth movement in the rat. *J Dent Res* 2001; 80:1858–61.
- [182]Ejiri S, Tanaka M, Watanabe N, Anwar RB, Yamashita E, Yamada K, et al. Estrogen deficiency and its effect on the jaw bones. *J Bone Miner Metab* 2008; 26:409–15.
- [183]Binte Anwar R, Tanaka M, Kohno S, Ikegame M, Watanabe N, Nowazesh Ali M, Ejiri S. Relationship between porotic changes in alveolar bone and spinal osteoporosis. *J Dent Res*. 2007; 86(1):52-7.
- [184]Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implication of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA* 2004 28:490–495.
- [185]Wright HL, McCarthy HS, Middleton J, Marshall MJ. RANK, RANKL and osteoprotegerin in bone biology and disease. *Curr Rev Musculoskelet Med* 2009; 2:56-64.
- [186]Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 1999; 140:4367–4370.
- [187]Oh KW, Rhee EJ, Lee WY, Kim SW, Oh ES, Baek KH, et al. The relationship between circulating osteoprotegerin levels and bone mineral metabolism in healthy women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004; 61(2):244-9.
- [188]Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, Arrighi M, Leese PT, Dunstan CR. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2001; 16:348-60.
- [189]Roggia C, et al. Up-regulation of TNF-producing T cells in the bone marrow: a key mechanism by which estrogen deficiency induces bone loss in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001; 98:13960–13965.
- [190] Ammann P, et al. Transgenic mice expressing soluble tumor necrosis factor-receptor are protected against bone loss caused by estrogen deficiency. *J Clin. Invest.* 1997; 99:1699–1703.
- [191]Kimble R, Bain S, Pacifici R. The functional block of TNF but not of IL-6 prevents bone loss in ovariectomized mice. *J. Bone Min. Res.* 1997; 12:935–941.
- [192]Ralston SH, Russell RGG, Gowen M. Estrogen inhibits release of tumor necrosis factor from peripheral blood mononuclear cells in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 1990 ; 5:983–988.
- [193]Fox HS, Bond BL, Parslow TG. Estrogen regulates the IFN-gamma promoter. *J. Immunol* 1991; 146:4362–4367.
- [194]Fox SW, Chambers TJ. Interferon gamma directly inhibits TRANCE-induced osteoclastogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2000; 276:868–872.
- [195]Takahashi N, Mundy GR, Roodman GD. Recombinant human interferon-gamma inhibits formation of human osteoclast-like cells. *J Immunol.* 1986; 137(11):3544-9.

- [196]Takayanagi H, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling crosstalk between RANKL and IFN-gamma. *Nature*. 2000; 408:600–605.
- [197]Yang S, Madyastha P, Ries W, Key LL. Characterization of interferon gamma receptors on osteoclasts: effect of interferon gamma on osteoclastic superoxide generation. *J. Cell. Biochem*. 2002; 84:645–654.
- [198]Gao Y, Grassi F, Ryan MR, Terauchi M, Page K, Yang X, et al. IFN-gamma stimulates osteoclast formation and bone loss in vivo via antigen-driven T cell activation. *J Clin Invest*. 2007; 117(1):122-32.
- [199]Kotake S, et al. IFN-gamma-producing human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes via the expression of RANKL. *J. Immunol* 2005; 35:3353–3363.
- [200]Cenci S, et al. Estrogen deficiency induces bone loss by increasing T cell proliferation and lifespan through IFN-gamma-induced class II transactivator. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003; 100:10405–10410.
- [201]Baker PJ, Dixon M, Evans RT, Dufour L, Roopenian DC. CD4 (+) T cells and the pro inflammatory cytokines gamma interferon and interleukin-6 contribute to alveolar bone loss in mice. *Infect. Immun*.1999; 67: 2804–2809.
- [202]Key LL, et al. Long-term treatment of osteopetrosis with recombinant human interferon gamma. *N. Engl. J. Med*. 1995; 332:1594–1599.
- [203]Rodríguez RM, Key LL, et al. Combination macrophage-colony stimulating factor and interferon-gamma administration ameliorates the osteopetrotic condition in microphthalmic (mi/mi) mice. *Pediatr. Res*. 1993; 33:384–389.
- [204]Gao Y, et al. Estrogen prevents bone loss through transforming growth factor beta signaling in T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004; 101:16618–16623.
- [205]Miyaura C, Onoe Y, Inada M, Maki K, Ikuta K, Ito M, et al. Increased B-lymphopoiesis by interleukin 7 induces bone loss in mice with intact ovarian function: similarity to estrogen deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(17):9360-5.
- [206]Valenzona, H.O., Pointer, R., Ceredig, R., and Osmond, D.G. 1996. Prelymphomatous B cell hyperplasia in the bone marrow of interleukin-7 transgenic mice: precursor B cell dynamics, microenvironmental organization and osteolysis. *Exp. Hematol*. **24**:1521–1529.
- [207]Ryan MR, et al. 2005. An IL-7-dependent rebound in thymic T cell output contributes to the bone loss induced by estrogen deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005; 102:16735–16740.
- [208]Lee SK, et al. Interleukin-7 influences osteoclast function in vivo but is not a critical factor in ovariectomy-induced bone loss. *J Bone Miner Res* 2006; 21(5):695-702.
- [209]Weitzmann MN, Cenci S, Rifas L, Brown C, Pacifici R. 2000. Interleukin-7 stimulates osteoclast formation by up-regulating the T- cell production of soluble osteoclastogenic cytokines. *Blood*. 2000 96:1873–1878.
- [210]Toraldo G, Roggia C, Qian WP, Pacifici R, Weitzmann MN. IL-7 induces bone loss in vivo by induction of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand and tumor necrosis factor alpha from T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003; 100:125–130.
- [211]Weitzmann MN, Roggia C, Toraldo G, Weitzmann L, Pacifici R. 2002. Increased production of IL-7 uncouples bone formation from bone resorption during estrogen deficiency. *J. Clin. Invest*. 2002; 110:1643–1650.
- [212]Lindberg MK, et al. Liver-derived IGF-I is permissive for ovariectomy-induced trabecular bone loss. *Bone* 2006; 38:85–92.
- [213]Pacifici R, et al. Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991; 88:5134–5138.

- [214]Wei S, Kitaura H, Zhou P, Ross FP, Teitelbaum SL. IL-1 mediates TNF-induced osteoclastogenesis. *J. Clin. Invest.* 2005 115:282–290.
- [215]Tyagi AM, Srivastava K, Mansoori MN, Trivedi R, Chattopadhyay N, Singh D. Estrogen deficiency induces the differentiation of IL-17 secreting Th17 cells: a new candidate in the pathogenesis of osteoporosis. *PLoS One.* 2012;7(9):e44552.
- [216]Grassi F, Pacifici R. Ovariectomy increases the formation of T cell niches at the resorption surfaces. *J. Bone Miner. Res.* 2005; 20:Abs F395.
- [217]Takayanagi H, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling crosstalk between RANKL and IFN-gamma. *Nature.* 2000; 408:600–605.
- [218]Horwood NJ, et al. Activated T lymphocytes support osteoclast formation in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 265:144–150.
- [219]Weitzmann MN, et al. T cell activation induces human osteoclast formation via receptor activator of nuclear factor kappaB ligand-dependent and –independent mechanisms. *J. Bone Miner. Res.* 2001 16:328–337.
- [220]Wong BR, Josien R, Lee DY, B Sauter, HL Li, RM Steinman, Choi Y. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J. Exp. Med.* 1997. 186:2075–2080.
- [221]Zhao R. Immune regulation of osteoclast function in postmenopausal osteoporosis: a critical interdisciplinary perspective. *Int J Med Sci.* 2012; 9(9):825-32.
- [222]Horowitz MC, Fretz JA, Lorenzo JA. How B cells influence bone biology in health and disease. *Bone* 2010; 47(3):472-9.
- [223]Manabe N, et al. Connection between B lymphocyte and osteoclast differentiation pathways. *J Immunol* 2001; 167:2625–2631.
- [224]Mansour A, Anginot A, Mancini SJ, Schiff C, Carle GF, Wakkach A, et al. Osteoclast activity modulates B-cell development in the bone marrow. *Cell Res.* 2011; 21(7):1102-15.
- [225]Sato T, Shibata T, Ikeda K, Watanabe K. Generation of bone-resorbing osteoclasts from B220+ cells: its role in accelerated osteoclastogenesis due to estrogen deficiency. *J. Bone Miner. Res.* 2001; 16:2215–2221.
- [226]Li Y, Li A, Yang X, Weitzmann MN. Ovariectomy-induced bone loss occurs independently of B cells. *J Cell Biochem* 2007;100:1370–1375.
- [227]Speziani C, Rivollier A, Gallois A, Coury F, Mazzorana M, Azocar O, et al. Murine dendritic cell transdifferentiation into osteoclasts is differentially regulated by innate and adaptive cytokines. *Eur J Immunol.* 2007; 37(3):747-57.
- [228]Hazenber JG, Taylor D, Lee TC. The role of osteocytes and bone microstructure in preventing osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2007 ;18(1):1-8
- [229]Tan SD, de Vries TJ, Kuijpers-Jagtman AM, Semeins CM, Everts V, Klein-Nulend J. Osteocytes subjected to fluid flow inhibit osteoclast formation and bone resorption. *Bone.* 2007; 41(5):745-51.
- [230]Balemans W, Ebeling M, Patel N, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Hum Mol Genet* 2001;10(5):537-543.
- [231]Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C, Hayes T, Skonier JE, et al. Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist, *EMBO J.* 2003; 22:6267–6276.
- [232]Li X, Ominsky MS, Niu QT, Sun N, Daugherty B, D’Agostin D, et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength, *J. Bone Miner. Res.* 2008; 23:860–869.

- [233]Kim BJ, Bae SJ, Lee SY, Baek JE, Park SY, Lee S et al. TNF- $\alpha$  mediates the stimulation of sclerostin expression in an estrogen-deficient condition. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012; 424(1):170-5.
- [234]Tomkinson A, Gevers EF, Wit JM, Reeve J, Noble BS. The role of estrogen in the control of rat osteocyte apoptosis. *J Bone Miner Res.* 1998; 13(8):1243-50.
- [235]Kameda T, Mano H, Yuasa T, Mori Y, Miyazawa K, Shiokawa M. Estrogen inhibits bone resorption by directly inducing apoptosis of the bone-resorbing osteoclasts. *J Exp Med.* 1997; 186(4):489-95.
- [236]Zallone A. Direct and indirect estrogen actions on osteoblasts and osteoclasts. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1068:173-179.
- [237]Muthusami S, et al. Ovariectomy induces oxidative stress and impairs bone antioxidant system in adult rats. *Clin. Chim. Acta.* 2005; 360:81–86.
- [238]Basu S, Michaelsson K, Olofsson H, Johansson S, and Melhus H. Association between oxidative stress and bone mineral density. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 288:275–279.
- [239]Maggio D, et al. Marked decrease in plasma antioxidants in aged osteoporotic women: results of a cross-sectional study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003 88:1523–1527.
- [240]Lean JM, et al. A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss. *J. Clin. Invest* 2003; 112:915–923.
- [241]Hao YJ, Tang Y, Chen FB, Pei FX. Different doses of nitric oxide donor prevent osteoporosis in ovariectomized rats. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2005; 435:226–231.
- [242]Wimalawansa SJ, De Marco G, Gangula P, Yallampalli C. Nitric oxide donor alleviates ovariectomy-induced bone loss. *Bone.* 1996; 18:301–304.
- [243]Jamal SA, Cummings SR, Hawker GA. Isosorbide mononitrate increases bone formation and decreases bone resorption in postmenopausal women: a randomized trial. *J. Bone Miner. Res.* 2004; 19:1512–1517.
- [244]Ha H, et al. Reactive oxygen species mediate RANK signaling in osteoclasts. *Exp. Cell Res.* 2004; 301:119–127.
- [245]Lean JM, Jagger CJ, Kirstein B, Fuller K, Chambers TJ. Hydrogen peroxide is essential for estrogen-deficiency bone loss and osteoclast formation. *Endocrinology* 2005; 146:728–735.

---

## **EFFETS DE LA CARENCE EN OESTROGENE SUR LE REMODELAGE DU TISSU OSSEUX ALVEOLAIRE**

---

RESUME EN FRANÇAIS : La carence oestrogénique s'accompagne d'un déséquilibre du remodelage osseux qui conduit à une diminution progressive de la masse osseuse totale et à une réduction de la qualité du tissu osseux. L'intérêt porté aux conséquences de ce déséquilibre sur le tissu osseux alvéolaire n'est que très récent et les mécanismes impliqués de plus en plus étudiés. Une étude de la littérature nous permet de faire l'état des connaissances actuelles des effets de la privation ostrogénique sur l'os maxillaire et mandibulaire chez les animaux et chez les femmes, ainsi que des effets sur les différents facteurs impliqués dans le remodelage osseux.

---

TITRE EN ANGLAIS : Effects of estrogen deficiency on alveolar bone remodeling

---

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : CHIRURGIE DENTAIRE

---

MOTS-CLES : remodelage osseux, oestrogene, os alvéolaire, ménopause, ostéoclaste

---

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :  
Faculté de Chirurgie dentaire  
3 chemin des maraîchers  
31 062 Toulouse Cedex

---

Directrice de thèse : Dr Marie-Cécile VALERA