

**UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER**  
**FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE**

Année 2018

Thèse n°2018 TOU3 3077

# **THESE**

Pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement

Par

**Karim DJEBALI**

le 20/12/2018

## **PARODONTITE ET MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN: ENTRE DYSBIOSE ET IMMUNO-INFLAMMATION**

Directeur de thèse : Docteur Vincent BLASCO-BAQUE

### **JURY**

Président

1<sup>er</sup> assesseur

2<sup>ème</sup> assesseur

3<sup>ème</sup> assesseur

Professeur Philippe KEMOUN

Professeur Cathy NABET

Docteur Sara LAURENCIN-DALICIEUX

Docteur Vincent BLASCO-BAQUE



➔ DIRECTION

DOYEN

Mr Philippe POMAR

ASSESEUR DU DOYEN

Mme Sabine JONOT

CHARGÉS DE MISSION

Mr Karim NASR

Mr HAMEL Olivier

Mr Franck DIEMER

PRÉSIDENTE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE

Mme Cathy NABET

RESPONSABLE ADMINISTRATIF

Mme Muriel VERDAGUER

➔ HONORARIAT

DOYENS HONORAIRES

Mr Jean LAGARRIGUE †

Mr Jean-Philippe LODTER †

Mr Gérard PALOUDIER

Mr Michel SIXOU

Mr Henri SOULET

➔ ÉMÉRITAT

Mr Damien DURAN

Mme Geneviève GRÉGOIRE

Mr Gérard PALOUDIER

➔ PERSONNEL ENSEIGNANT

**Section CNU 56 : Développement, Croissance et Prévention**

56.01 ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE et ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE (Mme BAILLEUL- FORESTIER)

ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE

Professeurs d'Université : Mme BAILLEUL-FORESTIER, Mr. VAYSSE  
Maîtres de Conférences : Mme NOIRRIT-ESCLASSAN, Mme VALERA, Mr. MARTY  
Assistants : Mme BROUTIN, Mme GUY-VERGER  
Adjoint d'Enseignement : Mr. DOMINE, Mme BROUTIN,

ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE

Maîtres de Conférences : Mr BARON, Mme LODTER, Mme MARCHAL, Mr. ROTENBERG,  
Assistants : Mme YAN-VERGNES, Mme ARAGON  
Adjoint d'Enseignement : Mme DIVOL,

56.02 PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ, ODONTOLOGIE LÉGALE (Mr. HAMEL)

Professeurs d'Université : Mr. SIXOU, Mme NABET, Mr. HAMEL  
Maître de Conférences : Mr. VERGNES,  
Assistant: Mr. ROSENZWEIG,  
Adjoints d'Enseignement : Mr. DURAND, Mlle. BARON, Mr LAGARD

## **Section CNU 57 : Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale**

### **57.01 CHIRURGIE ORALE, PARODONTOLOGIE, BIOLOGIE ORALE** (Mr. COURTOIS)

#### **PARODONTOLOGIE**

Maîtres de Conférences : Mr. BARTHET, Mme DALICIEUX-LAURENCIN, Mme VINEL  
Assistants : Mr. RIMBERT, Mme. THOMAS  
Adjoints d'Enseignement : Mr. CALVO, Mr. LAFFORGUE, Mr. SANCIER, Mr. BARRE, Mme KADDECH

#### **CHIRURGIE ORALE**

Maîtres de Conférences : Mr. CAMPAN, Mr. COURTOIS, Mme COUSTY,  
Assistants : Mme COSTA-MENDES, Mr. BENAT,  
Adjoints d'Enseignement : Mr. FAUXPOINT, Mr. L'HOMME, Mme LABADIE, Mr. RAYNALDI,

#### **BIOLOGIE ORALE**

Professeur d'Université : Mr. KEMOUN  
Maîtres de Conférences : Mr. POULET, Mr BLASCO-BAQUE  
Assistants : Mr. LEMAITRE, Mr. TRIGALOU, Mme. TIMOFEEVA, Mr. MINTY  
Adjoints d'Enseignement : Mr. PUISSOCHET, Mr. FRANC, Mr BARRAGUE

## **Section CNU 58 : Réhabilitation Orale**

### **58.01 DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX** (Mr ARMAND)

#### **DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE**

Professeur d'Université : Mr. DIEMER  
Maîtres de Conférences : Mr. GUIGNES, Mme GURGEL-GEORGELIN, Mme MARET-COMTESSE  
Assistants : Mr. GAILLAC, Mme. RAPP, Mr. MOURLAN, Mme PECQUEUR, Mr. DUCASSE, Mr FISSE  
Adjoints d'Enseignement : Mr. BALGUERIE, Mr. MALLET, Mme FOURNIER

#### **PROTHÈSES**

Professeurs d'Université : Mr. ARMAND, Mr. POMAR  
Maîtres de Conférences : Mr. CHAMPION, Mr. ESCLASSAN, Mme VIGARIOS, Mr. DESTRUHAUT  
Assistants : Mr. EMONET-DENAND, Mr. LEMAGNER, Mr. HENNEQUIN, Mr. CHAMPION, Mme. DE BATAILLE  
Adjoints d'Enseignement : Mr. BOGHANIM, Mr. FLORENTIN, Mr. FOLCH, Mr. GALIBOURG, Mr. GHRENASSIA, Mme. LACOSTE-FERRE, Mr. POGEANT, Mr. GINESTE, Mr. LE GAC, Mr. GAYRARD, Mr. COMBADAZOU, Mr. ARCAUTE,

#### **FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX**

Maîtres de Conférences : Mme JONJOT, Mr. NASR, Mr. MONSARRAT  
Assistants : Mr. CANCEILL, Mr. OSTROWSKI, Mr. DELRIEU  
Adjoints d'Enseignement : Mr. AHMED, Mme MAGNE, Mr. VERGÉ, Mme BOUSQUE

-----  
Mise à jour pour le 05 novembre 2018

# Remerciements

A ma mère et à mon père, merci d'avoir toujours été là pour Leila, Sabine, Fawzi et moi. Vous avez mis en place toutes les conditions pour que nous réussissions, mais jamais rien ne sera à la hauteur de ce que vous avez accompli au cours de votre vie, en Tunisie et ici en France. Et merci de m'avoir soutenu et encouragé à faire ce que j'aime. Si j'en suis là aujourd'hui, c'est seulement grâce à vous. Nous avons la chance d'avoir des parents aussi exceptionnels. Je vous aime !

A Leila, Sabine et Fawzi, merci de m'avoir encouragé et guidé sur mon chemin. On dit souvent que le petit dernier de la famille est gâté, et c'est bien vrai. Vous avez toujours été là quoi qu'il arrive, et je vous en serai toujours reconnaissant. Je vous souhaite toute la réussite ! Fawzi, prend soin de tes dents un peu quand même. Leila, que la force soit avec toi ! Sabine, quand tu veux tu me rejoins à Boston.

A toute ma famille de près ou de loin, que vous soyez ici en France ou en Tunisie, et aussi celle qui veille sur nous depuis tout là-haut.

A Eléna, merci d'être à mes côtés depuis bientôt 3 ans et d'avoir supporté mes multiples absences durant mes stages à l'étranger. Je suis très heureux que tu aies l'opportunité de faire ton stage dans un super labo à Toronto ! On se retrouve là-bas !

A mon fidèle ami, Benoit, je repense à tous les délires qu'on a pu avoir depuis la maternelle. Tu le sais ! Ces derniers temps n'ont pas été faciles pour toi et j'en suis désolé, mais tu as fait preuve d'une force de caractère qui ne peut être qu'admirable. Je sais que tu t'en sortiras quoi qu'il arrive ! Merci aussi à Mohamed, JC, Gylou, Ludo, Marvin, Malaury, Jimmy, Justin et toute la clique. Force à vous !

A Kévin, merci d'avoir toujours été présent depuis qu'on se connaît. Force à toi et profite bien en Amérique du Sud. Il faudrait plus de personne comme toi, des personnes ayant des projets concrets pour améliorer ce monde. Je suis admiratif ! Merci aussi à Pierrot, Pascal, Mathieu, Yacine et Max pour tous les bons moments passés depuis le lycée et les super délires qu'on a pu avoir dans nos périples.

A Morad, j'espère que tout se passe bien à Marseille ! Tu manques ici, et merci pour tous les délires qu'on a eus depuis qu'on se connaît de la fac dentaire. Merci aussi à Wendyam, Cédric, Sylvain et Wafa et bon courage dans vos carrières.

A Yassine, Sonia, Youssef, Momo et Marlone et toute la clique de Clément Ader.

A Philippe Pomar et à Michel Attiogbé pour avoir été disponible et pour m'avoir soutenu dans mes projets d'études. Merci pour votre implication avec les étudiants.

A Brice et Dyani Gaudillière, au Dr. Walker, à Amy, Ed, Xiaoyuan, Kaz, Di, Tony et Athena. Merci de m'avoir accepté dans vos labos. J'ai passé des moments inoubliables avec vous.

Je dédie cette thèse à tous les êtres humains qui ont pour but d'améliorer la condition de cette planète, et qui ne se laissent pas corrompre par le capital. Vous êtes les vrais héros !

A notre président de jury,

**Monsieur le Professeur Philippe KEMOUN,**

- Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier,
- Habilitation à diriger les recherches (HDR)
- Lauréat de l'Université Paul Sabatier

*Vous nous faites l'honneur de présider cette thèse et de juger notre travail.*

*Nous vous remercions de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à notre thèse et pour les enseignements que vous nous avez prodigués avec pédagogie et professionnalisme.*

*Nous vous remercions de votre implication dans le parcours de chacun, et tout particulièrement de votre guidance et de l'aide que vous nous avez apporté dans nos projets d'études. Il vous est très honorable de vous impliquer de cette manière dans les ambitions de chacun de vos étudiants.*

*Nous vous prions d'accepter l'expression de notre profond respect et de notre gratitude.*

A notre jury de thèse,

**Madame le Professeur Cathy NABET,**

- Professeur des Universités, Praticien hospitalier d'Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Diplôme d'Etudes Approfondies de Santé Publique – Epidémiologie
- Docteur de l'Université Paris XI,
- Habilitation à Diriger des Recherches (HDR),
- Lauréate de la Faculté de Médecine,
- Lauréate de l'Université Paul Sabatier,
- Lauréate de l'Académie Nationale de Chirurgie Dentaire

*Nous sommes très honorés que vous ayez accepté de siéger dans ce jury afin de juger ce travail.*

*Merci pour votre implication auprès des étudiants et pour votre bienveillance. Vous savez vous intéresser à chaque personne et les accompagner le long de leur parcours.*

*Votre activité de recherche, d'enseignement et hospitalière honore la faculté.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre profond respect.*

A notre jury de thèse,

**Madame le Docteur Sara LAURENCIN-DALICIEUX,**

- Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier,
- Diplôme Universitaire de Parodontologie
- Lauréate de l'université Paul Sabatier

*Nous vous remercions de nous faire l'honneur de faire partie de notre jury.*

*Merci pour l'intérêt que vous avez porté à notre travail.*

*Nous vous remercions pour votre gentillesse, vos qualités humaines ainsi que pour la qualité pédagogique dont vous avez fait preuve que cela soit durant les unités d'enseignements ou les activités hospitalières au cours de nos années d'études.*

*Veillez recevoir le témoignage de notre profond respect.*

A notre directeur de thèse,

## **Monsieur le Docteur Vincent BLASCO-BAQUE,**

- Maître de Conférence Universitaire et Praticien Hospitalier à la Faculté de Chirurgie Dentaire de Toulouse
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Maîtrise Sciences, Technologies, Santé, mention : Biologie, Santé
- Master 2 de Recherche en « Physiopathologie des approches expérimentales aux nouvelles thérapeutiques »
- Docteur de l'Université Paul Sabatier,
- Lauréat de l'Université Paul Sabatier
- Diplôme Inter-Universitaire d'Endodontie de la Faculté de Chirurgie Dentaire de Toulouse
- Responsable Diplôme Inter-Universitaire de Médecine bucco-dentaire du Sport

*Nous vous remercions d'avoir accepté de diriger cette thèse.*

*Il nous est très honorable d'être dirigé par vos compétences, vous qui avez, en plus de l'expertise de chirurgien-dentaire, une expertise et activité de recherche au sein de l'institut des maladies métaboliques et cardiovasculaires (I2MC) qui démontrent l'exemple d'une carrière vers laquelle nous aimerions tendre.*

*Un grand merci pour votre sympathie, votre professionnalisme et vos conseils qui nous ont aidés à finaliser cette thèse.*

*Veillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.*

# Sommaire

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>p.13</b>
<b>PARTIE 1. COLONISATION BACTERIENNE: LES PREMIERS INSTANTS DE VIE .....</b>	<b>p.14</b>
1. Les premiers jours de vie .....	p.15
1.1 Le mode d'accouchement .....	p.15
1.2 Le mode de nutrition .....	p.16
1.3 Exposition aux antibiotiques .....	p.17
2. Du 1 <sup>er</sup> au 24 <sup>e</sup> mois de vie .....	p.17
3. Après les 24 premiers mois de vie .....	p.18
4. Le microbiote oral .....	p.18
<b>PARTIE 2. CONSTRUCTION ET MATURATION DU SYSTEME IMMUNITAIRE .....</b>	<b>p.20</b>
1. Caractéristiques du microbiote intestinal .....	p.20
2. Microbiote intestinal et système immunitaire .....	p.21
2.1 Souris germ-free et perturbations immunitaires .....	p.21
2.2 Immunologie muqueuse et microbiote .....	p.22
2.3 Métabolites microbiens et immunité .....	p.23
3. Plasticité bactérienne mais impact immunitaire profond .....	p.24
<b>PARTIE 3. PARODONTITE CHRONIQUE : IMMUNO-INFLAMMATION ET</b>	
<b>DYSBIOSE ORALE .....</b>	<b>p.25</b>
1. Définition et caractéristiques .....	p.25
2. Immunopathologie du parodonte : de la surveillance immunitaire à son hyperactivation .....	p.26
3. Dysbiose orale : cause ou conséquence de la maladie parodontale ? .....	p.29
4. Biofilm : une communauté nécessaire à l'installation de la maladie parodontale .....	p.31
5. Evasion immunitaire et perpétuation de l'inflammation parodontale .....	p.32

<b>PARTIE 4. PARODONTITE CHRONIQUE ET MICI : MEME PHYSIOPATHOLOGIE, MAIS EXISTE-T-IL UNE INTERRELATION ?</b>	<b>p.36</b>
1. Définition des MICI	p.36
2. Epidémiologie	p.37
3. Relation entre parodontite chronique et MICI	p.39
3.1 Influence des MICI sur la parodontite chronique	p.39
3.1.1 Epidémiologie	p.39
3.1.2 Eléments de réponse biologiques	p.41
3.2 Influence de la parodontite chronique sur les MICI	p.42
3.2.1 L'effet direct de « bactéries clés » parodontales	p.42
3.2.2 L'effet indirect de « bactéries clés » parodontales	p.43
3.2.3 Inflammation systémique chronique	p.44
4. Perspective de prise en charge de ces pathologies	p.44
4.1 Prévention et diagnostic	p.45
4.2 Thérapeutique	p.45
4.2.1 Introduction de la médecine de précision	p.45
4.2.1.1 Cibler spécifiquement un pathogène	p.46
4.2.1.2 Utilisation de prébiotiques	p.46
4.2.1.3 Utilisation de probiotiques	p.47
4.2.1.4 Photothérapie	p.47
4.2.2 Modulation de la réponse de l'hôte	p.48
<b>PARTIE 5. PARTIE EXPERIMENTALE</b>	<b>p.50</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>p.65</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>p.66</b>

## Index des figures

<b>Figure 1.</b> Les effets de la parodontite .....	p.25
<b>Figure 2.</b> Réponses immunitaires dans la parodontite chronique .....	p.28
<b>Figure 3.</b> Dysbiose et maladie parodontale .....	p.30
<b>Figure 4.</b> Cascade du système du complément .....	p.32
<b>Figure 5.</b> Dysbiose et réponse inflammatoire .....	p.34
<b>Figure 6.</b> Caractéristiques des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin .....	p. 37
<b>Figure 7.</b> Epidémiologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin .....	p. 38
<b>Partie expérimentale - Figure 1.</b> Protocole expérimental et approche analytique .....	p.56
<b>Partie expérimentale - Figure 2.</b> Une analyse Elastic Net basée sur la signalisation cellulaire (csEN) identifie les caractéristiques de signalisation immunitaire systémiques associées à la ChP avant traitement parodontal .....	p.57
<b>Partie expérimentale - Figure 3.</b> Le modèle csEN révèle des altérations immunitaires systémiques associées à la ChP qui sont rétablis après traitement parodontal .....	p.59
<b>Partie expérimentale - Figure 4.</b> Le traitement parodontal standard modifie certains aspects de la manifestation immunitaire systémique de la ChP .....	p.61
<b>Partie expérimentale - Figure S1.</b> Stratégie de sélection des populations immunitaires .....	p.79

## Index des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Caractéristiques des études épidémiologiques incluses .....	p.40
<b>Partie expérimentale - Tableau 1.</b> Données démographiques .....	p.54
<b>Partie expérimentale - Tableau 2.</b> Données cliniques de la cohorte de patients .....	p.55
<b>Partie expérimentale - Tableau S1.</b> Anticorps utilisés .....	p.80
<b>Partie expérimentale - Tableau S2.</b> Matrice de pénalisation .....	p.82
<b>Partie expérimentale - Tableau S3.</b> Caractéristiques immunitaires du modèle csEN, classées par p-value .....	p.86
<b>Partie expérimentale - Tableau S4.</b> Caractéristiques immunitaires d'intérêt .....	p.87

# Introduction

Les découvertes récentes dans la recherche sur la parodontite reconnaissent que la destruction parodontale est due à une réponse inflammatoire exacerbée de l'hôte, associée à une dysbiose du microbiote oral. Les termes « gingivite » et « parodontite » reconnaissent de par leur étymologie cette réponse inflammatoire à une irritation chronique orchestrée par la composante bactérienne.

En effet, une dysbiose, qui caractérise un état de déséquilibre en terme d'abondance ou d'influence relative d'une espèce microbienne dans un écosystème, émerge comme une cause potentielle des désordres inflammatoires muqueux, comme la parodontite ou encore les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Les mécanismes menant à une dysbiose sont très peu compris et donc sous intense investigation.

Le microbiote intestinal est le plus grand réservoir bactérien du corps humain ( $10^{14}$ , soit 10 fois plus de bactéries que de cellules humaines dans l'intestin), et de nombreuses actions lui sont associés telles que la digestion mais aussi l'induction, l'éducation et la fonction du système immunitaire ainsi que la participation à notre système neuro-endocrine. On peut considérer le microbiote intestinal comme un organe à part-entière. Il est fortement personnalisé et facilement influencé par des facteurs environnementaux, incluant le régime alimentaire. De plus, la diversité métagénomique (contenu génétique bactérien) inhérente dépasse largement la capacité métabolique de son hôte. Lorsque la relation symbiotique avec notre microbiote intestinal est perturbée, cela est considéré comme une des causes de nombreuses maladies systémiques telles que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).

Le microbiote oral pourrait être considéré comme un cofacteur du microbiote intestinal. Hormis sa composante locale, la parodontite est associée à de nombreuses pathologies systémiques via sa composante inflammatoire et microbienne. Ainsi, une surveillance de la santé buccale est primordiale, car elle est souvent qualifiée comme le "miroir de la santé et de la maladie". Les problèmes au sein de la cavité buccale pourraient bien devenir des marqueurs précoces de futures maladies systémiques.

Plus particulièrement, il existe une association entre la parodontite chronique et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. L'objectif de cette thèse est d'identifier les mécanismes biologiques liés à cette association.

Dans ce but, nous allons aborder la mise en place des microbiotes et leur relation avec notre système immunitaire afin de comprendre l'établissement et le maintien de la relation microbiote/hôte. Ensuite, nous allons comprendre le rôle de cette relation dans la parodontite chronique et les MICI et analyser l'influence bidirectionnelle de ces pathologies. Enfin, dans la partie expérimentale, nous allons explorer les répercussions de la parodontite chronique sur le système immunitaire périphérique car l'installation d'une inflammation systémique chronique serait favorable à l'établissement des MICI. De plus, nous allons investiguer si ces répercussions peuvent être rétablies par la mise en place d'une thérapie parodontale.

# Colonisation bactérienne : les premiers instants de vie

La colonisation bactérienne des voies aéro-digestives et de la peau du fœtus commence immédiatement dès la naissance (1,2). A ce moment-là, c'est un incroyable « tsunami » de micro-organismes sous forme de bactéries endogènes maternelles ou exogènes qui colonise ainsi le nouveau-né précédemment « stérile ». En parallèle, cela nécessite une non-réaction du système immunitaire de l'hôte.

Il est possible qu'un contact microbien pendant la vie prénatale ait lieu, ce qui pourrait effectivement engendrer une tolérance immunitaire instruite par la mère en préparation de cette première inoculation de microorganismes pendant l'accouchement (3). En effet, il est primordial de préparer les muqueuses immunologiquement immature afin de permettre un consortium microbiote-hôte physiologique (2).

Suite à l'accouchement, on observe trois différentes phases dans l'établissement du microbiote intestinal de l'enfant durant les premières années de vie :

- Les premiers jours, ce microbiote se compose différemment selon le mode d'accouchement, le mode de nutrition et l'exposition aux antibiotiques. Il est dominé par des bactéries opportunistes aérobies ou anaérobies facultatives qui exploitent les conditions naïves de l'intestin du nouveau-né.
- Les stages intermittents du développement, du 1<sup>er</sup> au 24<sup>ème</sup> mois, sont plus dynamiques et le microbiote intestinal apparaît être principalement sensible aux perturbations inhérentes au développement du nourrisson, mais aussi à son mode de nutrition et à la prise d'antibiotiques. Cette période correspond à une sensible « fenêtre critique » où même une perturbation transitoire du microbiote peut impacter la santé à long terme.
- A partir du 24<sup>ème</sup> mois, le microbiote intestinal se stabilise graduellement jusqu'à ressembler à celui d'une configuration adulte, qui est caractérisé par une plus haute diversité microbienne et une meilleure résilience au changement. Cette période fait le parallèle avec une transition alimentaire de liquide à solide, un important catalyseur pour la maturation de ce microbiote.

## **1. Les premiers jours de vie**

Lors de l'accouchement, le nouveau-né est colonisé par une multitude d'organismes bactériens menant à l'installation d'un microbiote primaire, dit microbiote néonatal, à travers les différents sites du corps et notamment au sein du tractus gastro-intestinal.

Etant donné la mise en lumière de l'importance de notre microbiote ces deux dernières décennies, de nombreuses études scientifiques se sont intéressées aux processus de colonisation initiale suivi du développement de celui-ci chez le nouveau-né (3–7). Cependant, une grande majorité de ces études se sont seulement focalisées sur le microbiote intestinal. Un outil majeur pour l'analyse du microbiote intestinal est l'analyse du microbiote fécal, qui serait donc indirectement représentatif des communautés bactériennes résidant dans le colon.

Il en résulte que les communautés bactériennes maternelles sont définies comme majoritairement responsables de la transmission intergénérationnelle des microbiotes (3,6,7). En effet, nous allons voir que le mode d'accouchement ainsi que régime alimentaire et l'exposition aux antibiotiques, influencent l'établissement, la composition et le maintien d'un microbiote primaire favorable à la santé du nouveau-né.

### **1.1 Le mode d'accouchement**

Le fœtus, dit « stérile » au sein du placenta, sera colonisé par les espèces bactériennes présentes dans son environnement pendant et après l'accouchement. Ces communautés bactériennes seront donc celles qui établiront le microbiote néonatal qui accompagnera le développement du nouveau-né lors de ses premiers jours de vie.

En ce sens, le mode d'accouchement affecte énormément la composition du microbiote néonatal. De nombreuses études qui ont comparé le microbiote intestinal de nouveau-nés nés par voie basse ou nés par césarienne ont observées une nette distinction de son établissement, même si les données ne sont pas unanimes en termes de composition bactérienne.

Une naissance par voie basse semble favoriser une colonisation par les espèces bactériennes appartenant au microbiote vaginal maternel (3,7). Durant les premiers jours de vie, leur microbiote intestinal présenterait une prédominance des genres *Lactobacilles*, *Bifidobactéries*, *Prevotella*, *Enterocoques*, *Escherichia/Shigella*, *Streptocoques*, *Rothia*, *Staphylocoques* ou *Enterobacteries* selon les cas (3–8), reflétant une communauté bactérienne qui ressemble en composition avec la communauté bactérienne vaginale et fécale de la mère (4).

En contraste, le microbiote intestinal d'un enfant né par césarienne présente une ressemblance significativement amoindrie avec les microbiotes maternels. Leur microbiote intestinal est composé de bactéries appartenant au genres *Staphylocoques*, *Streptocoques*, *Haemophilus*, *Enterobacteries* ou *Veillonella* selon les cas (4,7), indiquant que les espèces bactériennes de la peau, mais aussi celles provenant de l'environnement hospitalier, sont les premières colonisatrices de ces nouveau-nés car ils n'ont pas été en contact avec le microbiote vaginal et fécal de leur mère (3,4,7).

Ces résultats démontrent l'importance du facteur environnemental dans l'établissement et la composition du microbiote primaire. En effet, il se constitue d'espèces bactériennes colonisatrices opportunistes associées aux différents environnements avec lesquels le nouveau-né a été initialement en contact.

En conclusion, la transmission verticale intergénérationnelle du microbiote de la mère au nouveau-né est compromise lors d'un accouchement par césarienne.

## **1.2 Le mode de nutrition**

Suite à ce « tsunami » bactérien colonisant le nouveau-né pendant sa naissance, le mode de nutrition mis en place conduit à des schémas de développement et de maintien du microbiote qui sont distincts en termes de composition (9).

Une source majeure d'entretien du microbiote oral et intestinal est le lait maternel, en opposition au lait artificiel (lait infantile) (10).

Le lait maternel renforce les défenses muqueuses non seulement en pourvoyant des SIgA et SIgM maternelles mais aussi en délivrant des cellules immunitaires, cytokines, facteurs de croissance en plus d'éléments nutritifs essentiels à la bonne composition et fonction du microbiote du nouveau-né et du nourrisson (11). Il est aussi pourvoyeur de bactéries car il comprend majoritairement les genres *Streptocoques*, *Staphylocoques* et dans une moindre présence *Bifidobactéries* et *Lactobacilles* (12), qui sont parmi les premiers colonisateurs de l'intestin et de la cavité buccale.

Le lait maternel contient une haute concentration d'oligosaccharides avec des activités prébiotiques, stimulant la croissance d'espèces bactériennes produisant l'acide lactique, acquises depuis les communautés vaginales maternelles et qui sont considérés comme une fraction majoritairement bénéfique du microbiote du nouveau-né (10,11).

Comme le cite l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) : « Le colostrum, sécrétion lactée jaunâtre et épaisse produite à la fin de la grossesse, constitue, ainsi que le préconise l'OMS, l'aliment parfait pour le nouveau-né qui doit commencer à s'alimenter dès la première heure qui suit la naissance. L'allaitement exclusif au sein est recommandé jusqu'à l'âge de six mois. De six mois à deux ans, voire plus, l'allaitement doit être complété par une autre alimentation » (13).

### **1.3 L'exposition aux antibiotiques**

Les facteurs majeurs affectant le transfert intergénérationnel du microbiote incluent également l'exposition aux antibiotiques. Chez les nouveau-nés et les nourrissons en particulier, les antibiotiques pourraient interférer avec le développement normal du microbiote néonatal vers un microbiote "adulte" (6). De ce fait, l'extinction d'espèces bactériennes et la perte de diversité microbienne sont augmentées.

Il est intéressant de constater que la distinction et la perte de diversité du microbiote inhérente à une naissance par césarienne pourrait être imputée de manière partielle à des conditions cliniques sous-jacentes comme la prise d'antibiotiques (4).

## **2. du 1<sup>er</sup> au 24<sup>ème</sup> mois de vie**

La composition du microbiote néonatal et sa fonction associée sont relativement homogènes entre tous les sites anatomique du corps à la naissance (14). Dans les stades précoces du développement, le microbiote intestinal est généralement faible en diversité et dominé par deux phyla majeurs : Actinobacteria et Proteobacteria (3). En fonction du temps, le microbiote intestinal devient de plus en plus diversifié avec l'émergence et la dominance des phyla Firmicutes et Bacteroidetes, et cela peu importe le mode d'accouchement (15).

En effet, les perturbations du microbiote pendant la première année entraînent des effets transitoires plutôt que des altérations permanentes sur la composition de celui-ci. Il apparaît ainsi que l'avantage d'adaptation des espèces microbiennes qui dominent les différents microbiotes à un âge plus mature surpasse l'avantage initial des espèces bactériennes opportunistes qui sont moins bien adaptées à l'environnement intestinal. Cela conduit à une réorganisation significative du microbiote primaire à travers plusieurs sites anatomiques en construction (14,16).

Différentes communautés bactériennes se développent ainsi selon un site anatomique spécifique avec des métabolismes et fonctions bactériennes concomitantes reflétant la probable adaptation à une « niche » environnementale (14). Par exemple, des changements progressifs dans l'environnement intestinal comme le développement intrinsèque de la muqueuse et une décroissance de la concentration en oxygène pourraient imposer une stricte sélection pour ne retenir que les espèces hautement adaptées à ce milieu (16).

De ce fait, la distinction microbienne inhérente au mode d'accouchement diminue graduellement durant cette période et la composition du microbiote se diversifie (14). Les communautés bactériennes qui dominent les premières semaines de vie déclinent pour laisser place à une composition, diversité et capacité fonctionnelle bactérienne engendrant des microbiotes en concordance avec un âge plus mature (3,4,9). Cette similarité croissante indique que les microbiotes entrent dans une maturation graduelle finement régulée et cela peu importe le mode d'accouchement (3,4,17).

Cependant, deux nuances inhérentes au mode d'accouchement persistent. Les nourrissons nés par césarienne présentent un microbiote intestinal moins diversifié avec une colonisation par les espèces appartenant aux Bacteroidetes qui est retardée (18). De plus, même si la distinction inhérente au mode d'accouchement s'atténue graduellement durant cette période, les communautés bactériennes initialement acquises ont un rôle direct dans la protection et le développement de l'hôte durant les premières semaines de vie. Cette communauté initiale peut engendrer des pathologies néo-natales comme l'entérocolite nécrisante (19).

### **3. Après les 24 premiers mois de vie**

La composition du microbiote et sa fonction se sont significativement répandus et diversifiés en parallèle du développement anatomique du nourrisson. Concernant le microbiote intestinal, un nouveau facteur vient participer à de tels changements démographiques et fonctionnels. Ce nouveau facteur est le sevrage du lait maternel (ou du lait infantile) et l'introduction d'une alimentation solide (4,9). Le sevrage associé à la prise d'une alimentation solide induit une maturation conséquente de ce microbiote.

Ainsi, les caractéristiques du microbiote intestinal de l'enfant convergent vers celui d'un adulte, caractérisé par un profil bactérien restreint aux phyla Bacteroidetes et Firmicutes, suivis par une relative présence d'Actinobacteries et Proteobacteries. Une configuration adulte est caractérisée par une diversité bactérienne élevée ainsi qu'une meilleure résilience aux perturbations.

Chez l'adulte, la densité et la composition du microbiote sont affectées par des gradients chimiques, nutritionnels et immunologiques le long du tractus intestinal.

Dans l'intestin grêle, il y a typiquement des hauts niveaux d'acide, d'oxygène, de peptides antimicrobiens, en plus d'une introduction quotidienne d'aliments et un faible temps de transit, ce qui rend le microbiote local très variable au sein d'une même journée (20).

En contraste, les conditions inhérentes au côlon engendrent une communauté dense, stable et diverse, majoritairement anaérobie avec la capacité de digérer les carbohydrates complexes qui sont non digérés le long de l'intestin grêle (20). Malgré ces caractéristiques, il reste relativement facile de perturber la composition du microbiote intestinal. Il peut être modifié par la prise répétée d'antibiotiques et il peut être impacté par une modification du style de vie et un changement alimentaire (21) conséquent sur la durée.

### **4. Le microbiote oral**

Peu d'équipes scientifiques se sont focalisées sur l'établissement du microbiote oral et de son développement durant les premières années de vie.

Le Human Microbiome Project (22) lancé par le National Institute of Health (NIH) en 2008 aux Etats-Unis ambitionne de caractériser les différents microbiotes et microbiomes humains, incluant ceux de la cavité buccale. La caractérisation des microbiotes au sein de la cavité buccale est plus simple du fait de son accessibilité mais plus longue du fait de la présence de multiples habitats tels que la langue, les tissus mous, le palais, la salive en plus du biofilm supra- et sous-gingival. Cependant, ce projet se concentre sur une caractérisation au sein d'une cohorte d'adultes sains seulement (23).

Comme le microbiote intestinal, l'établissement et le développement du microbiote oral semble être modulé par plusieurs facteurs, dont le mode d'accouchement et le régime alimentaire (24).

Les espèces appartenant aux *Streptocoques* sont habituellement les premières à coloniser la cavité buccale (25). Le genre *Streptocoques* reste le genre dominant dans la cavité buccale du nourrisson édenté, accompagné du genre *Veillonella* et *Neisseria*. Ces espèces bactériennes composent ainsi le microbiote salivaire du nourrisson édenté (25).

L'éruption des dents crée de nouveaux habitats bactériens : le biofilm dentaire, supra- et sous-gingival ainsi que le sulcus gingival, qui est nourri par le fluide sulculaire. Avec la salive, ce fluide est critique dans la maintenance de l'intégrité du sulcus. Il contient des peptides antimicrobiens, des immunoglobulines, et des nutriments qui supportent la flore bactérienne sous-gingivale résidente.

Chez l'adulte sain, les principales communautés bactériennes identifiées dans la cavité buccale se limitent à six phyla majeurs: Bacteroidetes, Firmicutes, Fusobacteries, Actinobacteries, Proteobacteries et Spirochetes (23,26–28).

Le microbiote salivaire comprend majoritairement les genres *Streptocoques* et *Veillonella* (Firmicutes), *Haemophilus* et *Neisseria* (Proteobacteries), *Rothia* (Actinobacteries), *Prevotella* et *Porphyromonas* (Bacteroidetes), et *Fusobacterium* (Fusobacteries) (29,30).

Le microbiote de la plaque dentaire supra-gingivale est lui représenté par 6 genres: *Streptocoques* et *Veillonella* (Firmicutes), *Corynebacterium*, *Actinomyces* et *Rothia* (Actinobacteries), et *Fusobacterium* (Fusobacteries) (28).

Le microbiote de la plaque dentaire sous-gingivale est impliqué dans la maladie parodontale. Une hypothèse, celle de la « bactérie clé », suggère qu'une espèce bactérienne spécifique en faible abondance peut initier une inflammation parodontale en « transformant » une flore saine en une flore pathogène. Cependant, la communauté scientifique doit d'abord définir ce qu'est une flore saine afin de pouvoir caractériser les espèces qui composent une flore pathogène.

Il est intéressant de noter que des évidences récentes suggèrent que les espèces bactériennes orales pourraient coloniser l'intestin. Par exemple, *Bifidobacterium dentium* a été trouvé en forte abondance et prévalence dans le microbiote intestinal d'une cohorte d'enfant (31). Cela suggère la présence potentielle et l'influence de certaines espèces bactériennes provenant de la cavité buccale dans la composition et la fonction du microbiote intestinal chez l'enfant et l'adulte.

# Microbiote : construction et maturation du système immunitaire

## 1. Caractéristiques du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est un facteur primordial de la santé humaine. Aujourd'hui, il est défini comme un organe à part entière et il est souvent porté comme le garant de notre santé et de notre bien-être. L'environnement intestinal qui le circonscrit est considéré comme notre deuxième cerveau au vu du nombre de terminaisons neuronales présentes. Il participe donc à notre système neuro-endocrin. De plus, il est aussi impliqué dans le métabolisme, la physiologie intestinale, la digestion et la dégradation des xénobiotiques (32).

Le nombre de microorganismes habitant le tractus gastro-intestinal est estimé à plus de  $10^{14}$ , soit 10 fois plus de bactéries que de cellules humaines et plus de 100 fois plus de matériel génomique (microbiome) (33). Ainsi, la diversité métagénomique microbienne dépasse largement la capacité métabolique de son hôte.

Les données compilées à partir du Human Microbiome Project identifient 12 phyla dans lesquels 90% appartiennent aux Proteobactéries, Firmicutes, Actinobactéries et Bacteroidetes (17,23). Le microbiote intestinal n'est pas aussi divers que les microbiotes des différents sites anatomiques mais il révèle un haut niveau de redondance fonctionnel. Les espèces bactériennes retrouvées dans les selles adultes, reflétant en présumé le microbiote du côlon, sont très bien adaptées à leur environnement et proviennent majoritairement de deux phyla dominant: Firmicutes et Bacteroidetes (34,35)

L'alimentation est le facteur majeur dans la définition de ce microbiote et dans la santé de l'hôte (21). Une alimentation riche en graisse et protéines favorise les Bacteroides, alors qu'une alimentation riche en fibre augmente la prévalence de Prevotella, qui sont deux genres appartenant au phylum Bacteroidetes (36). Une autre étude stipule qu'une alimentation occidentale avec un faible apport en fibres est associée à un appauvrissement global de ce phylum (37).

Une diminution de la production d'acide gras à chaîne courte (AGCC) est évidente chez les personnes consommant un régime pauvre en fibres complexes, ce qui est notable puisque les AGCC jouent un rôle important dans la santé de l'hôte via des mécanismes anti-inflammatoires notamment (38). L'administration d'un régime pauvre en fibres à des souris entraîne une réduction de la diversité microbienne intestinale, dont la restauration requiert la ré-administration de fibres en combinaison avec les genres bactériens manquants (39).

## **2. Microbiote intestinal et système immunitaire**

Le microbiote joue un rôle fondamental dans l'induction, l'éducation et la fonction du système immunitaire de l'hôte (40). Une relation intime existe entre le microbiote et le système immunitaire, donnant lieu à une nouvelle discipline regroupant la microbiologie et l'immunologie. L'investigation du rôle du microbiote, et notamment du microbiote intestinal, dans de nombreuses pathologies inflammatoires se fait au travers de son interaction avec le système immunitaire. Il est important de noter que l'établissement du microbiote néonatal ainsi que ses successions se déroulent intimement en parallèle du développement, de l'expansion et de l'éducation du système immunitaire innée et adaptatif (41).

La maturation de notre système immunitaire est probablement directement ou indirectement influencée par la présence de certaines espèces bactériennes commensales. La période postnatale représente une période critique durant laquelle la colonisation bactérienne et sa perturbation peuvent avoir des effets profonds sur la morphologie et le développement du système immunitaire, et à posteriori sur l'établissement de pathologies immuno-inflammatoires précoces (6).

### **2.1 Souris germ-free et perturbations immunitaires**

Un modèle pertinent dans l'étude de la relation du microbiote avec le système immunitaire est l'analyse de souris germ-free (souris gnotobiotiques). Les souris germ-free sont des souris élevées dans des conditions stériles et en l'absence de colonisation microbienne. Ces souris sont caractérisées par un système immunitaire profondément sous-développé. L'utilisation de souris germ-free a donc permis à la communauté scientifique de développer le concept que le microbiote influence le système immunitaire.

Plusieurs études *in-vivo* chez des souris germ-free ont révélées que l'absence de colonisation bactérienne commensale a un effet profond sur la structure et le développement fonctionnel du système immunitaire. Cela inclut des défauts dans le développement des tissus lymphoïdes primaires et secondaires tels que la rate, le thymus et les ganglions lymphatiques (40,42).

Ces souris présentent un nombre réduit d'immunoglobulines circulantes, une lymphopénie des structures lymphoïdes, un pool réduit de leucocytes au sein de la moelle osseuse et une fonction immunitaire innée et adaptative aberrante. Elles possèdent une muqueuse et un tissu lymphoïde gastro-intestinal (GALT), dont les plaques de Peyer, qui sont très peu développés et cela est associé à une déficience de différentes cellules de l'immunité (43). Elles présentent notamment une baisse de fréquence des lymphocytes T CD4+ et CD8+ intestinaux, dont les lymphocytes T régulateurs (44,45).

En effet, le côlon des souris germ-free contient des niveaux décroissant de lymphocytes T régulateurs (Treg) (46). Les Treg, qui sont un sous-groupe de lymphocytes T CD4+, sont les sources majeures de la cytokine anti-inflammatoire IL-10. De plus, ces cellules sont capables de reconnaître les antigènes dérivés de bactéries commensales et sont responsables de la maintenance de la tolérance aux bactéries intestinales (47,48).

Les lymphocytes B des souris germ-free exhibent un défaut général de production d'IgA et d'IgG1 dans les muqueuses, et cette fonction peut être totalement rétabli après l'introduction d'un microbiote (49). Concernant la déficience majeure en lymphocytes T CD4+, cela peut aussi être rétabli par le traitement de ces souris avec des polysaccharides A (PSA) tiré de la capsule d'une bactérie commensale spécifique : *Bacteroides fragilis* (45).

Les attributs de la bactérie commensale *Bacteroides fragilis* sont un exemple intéressant du rôle que jouent les bactéries commensales sur le système immunitaire. *Bacteroides fragilis* produit un polysaccharide A de surface (PSA) qui permet de diminuer la production de la cytokine pro-inflammatoire IL-17 et qui promeut l'expression d'IL-10 par les lymphocytes T CD4+, et notamment les Treg, à travers sa liaison avec le récepteur Toll-Like Receptor 2 (TLR2) (50,51). Cette bactérie semble avoir une propriété unique inductrice de Treg associés à la muqueuse intestinale.

Une dysbiose intestinale favoriserait un déséquilibre Th17/Treg avec une dominance des lymphocytes T CD4+ helpers (Th) sécrétant la cytokine pro-inflammatoire IL-17 (Th17) sur les lymphocytes T régulateurs (Tregs) qui sont les gardiens de l'homéostasie (52,53). Le maintien de ce déséquilibre favorise la perpétuation d'une inflammation intestinale chronique. La reconnaissance du PSA de *Bacteroides fragilis* par le récepteur TLR2 exprimé sur les Treg induit leur activation, ce qui conduit à la suppression de la réponse inflammatoire en gardant les lymphocytes T CD4+ de type pro-inflammatoire (dont Th17) sous contrôle afin de rétablir un équilibre Th17/Treg et de préserver la fonction de barrière intestinale (54,55).

## 2.2 Immunologie muqueuse et microbiote

Un exemple important des conséquences d'une maturation périnatale dysrégulée du système immunitaire muqueux intestinal est l'entérocolite ulcéro-nécrosante (56). L'entérocolite ulcéro-nécrosante (NEC) est une inflammation aigue du tractus gastro-intestinal observée durant la période néonatale et qui aboutit fréquemment à un décès avant l'âge d'un an. NEC est associée à une naissance prématurée et à une perturbation du microbiote intestinal, où une forte présence de Proteobactéries est prédictive de la maladie. Ainsi, le système immunitaire immature de ces nouveau-nés déclenche une réponse immuno-inflammatoire exacerbée en réponse à la présence de ce microbiote (19). Histologiquement, cette pathologie est caractérisée par une apoptose massive des cellules épithéliales de l'intestin : les entérocytes.

En effet, la barrière épithéliale de l'intestin joue aussi un rôle très important dans l'interaction microbiote-hôte. Les entérocytes sont trouvées à l'interface entre le microbiote intestinal et le système immunitaire muqueux et ils jouent un rôle significatif dans une variété de fonctions immunitaires (57). Leurs fonctions immunitaires se déroulent généralement soit au travers des Toll-Like Receptors (TLRs) et des Nod-Like Receptors (NODs) capables de reconnaître directement les éléments bactériens, soit au travers de l'intégration d'effecteurs moléculaires produits par les espèces bactériennes intestinales (58).

Ainsi, nous comprenons que le microbiote intestinal influence le système immunitaire de l'hôte principalement de deux manières : par des composants ou par des métabolites bactériens. Plusieurs exemples mettent en avant l'implication de métabolites spécifiques dérivés d'espèces bactériennes dans la régulation du développement et de la différenciation de cellules immunitaires par modifications épigénétiques. Par conséquent, il est proposé que le développement d'une dysbiose et le type de métabolites en résultant puissent provoquer des réponses immunitaires aberrantes (59,60).

### 2.3. Métabolites microbiens et immunité

Parmi les métabolites bactériens, les acides gras à chaîne courte (AGCC) sont les plus fréquemment étudiés. Ils ont récemment été mis en avant dans le contrôle de multiples aspects de l'immunité et du métabolisme (59,61–63).

Les carbohydrates complexes non digestibles comme la cellulose font partie intégrante de l'alimentation humaine. Cependant, nous manquons des enzymes nécessaires pour dégrader de tels polysaccharides complexes. En revanche, les bactéries anaérobies du côlon fermentent ces fibres et cela résulte en une production d'AGCC comme l'acétate, le propionate et le butyrate. Ces métabolites sont ensuite détectés par l'hôte à travers différents récepteurs membranaires ou intracellulaires (59).

L'acétate et le propionate sont produits majoritairement par les Bacteroidetes, alors que le butyrate l'est principalement par les Firmicutes (64). Une alimentation occidentale avec un faible apport en fibres a été associée à un appauvrissement significatif des Bacteroidetes (37).

De plus, ces AGCC ont la propriété d'induire une expansion sélective des Treg dans le côlon. En effet, le fait de nourrir des souris germ-free avec des AGCC rétablit le nombre de Treg du côlon à un niveau similaire à celui observé chez les souris conventionnelles (61). Ces AGCC favorisent la différenciation des lymphocytes T naïfs en Treg en inhibant les histones désacétylases (HDAC) qui ont pour fonction de désacétyler les histones ce qui entraîne une baisse d'expression génique au niveau des zones concernées (65). L'inhibition de ces enzymes favorise la lecture et l'expression du gène FoxP3+, qui est un marqueur de différenciation des Treg, et du gène IL-10, une cytokine anti-inflammatoire, dans les Treg du côlon (61,65). Le rôle du butyrate comme inhibiteur de l'histone désacétylase 3 (HDAC 3) a aussi été démontré dans la suppression de la réponse inflammatoire par les macrophages intestinaux (59,66).

Un autre exemple proéminent de l'impact du microbiote sur la fonction immunitaire est le métabolisme microbien du tryptophane. Le tryptophane fait partie des 9 acides aminés essentiels pour l'Homme et il est donc apporté par l'alimentation. Il a été montré que les *Lactobacilles* commensaux utilisent le tryptophane comme source d'énergie pour produire des ligands du récepteur nucléaire aryl hydrocarbon (AhR) qui est un facteur critique dans l'organogenèse des follicules lymphoïdes intestinaux (67). L'assimilation de tryptophane permet donc de générer des métabolites microbiens essentiels au développement des structures immunitaires intestinales.

### **3. Plasticité bactérienne mais impact immunitaire profond**

De l'autre côté de la barrière épithéliale, 80% des cellules du système immunitaire du corps résident sur la face sous-jacente de la muqueuse intestinale (lamina propria). Il est donc tout à fait compréhensible que le microbiote intestinal joue un rôle majeur vis-à-vis du système immunitaire.

Parce que les interactions microbiote-système immunitaire apparaissent jouer un rôle important dans le développement immunitaire durant l'enfance, il est légitime de penser qu'une disruption de ce dialogue peut résulter en des anomalies immunitaires persistantes qui augmentent les susceptibilités aux maladies chroniques tardives (68).

En effet, une intensité de stimulation et une diversité microbienne réduite peut résulter en une maturation immunitaire anormale chez le jeune enfant (69,70). Une exposition multiple des enfants aux antibiotiques est associée à un risque augmenté de développement d'obésité (71), de diabète (72), de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (73), d'asthme (74) et d'allergies (75). Par exemple, l'utilisation d'antibiotiques dans les 6 premiers mois de vie est associée à une susceptibilité accrue au développement d'allergies et d'asthme chez l'enfant à 6 ans d'âge (76). L'exposition aux antibiotiques pendant l'enfance et particulièrement pendant la première année de vie est associée à un risque accru de développer une MICI (77,78).

Ainsi, la communauté scientifique a commencée à définir une période critique du développement durant laquelle une disruption des interactions microbiote/hôte peut mener à des défauts persistants et parfois définitifs dans le développement et l'éducation de cellules immunitaires spécifiques.

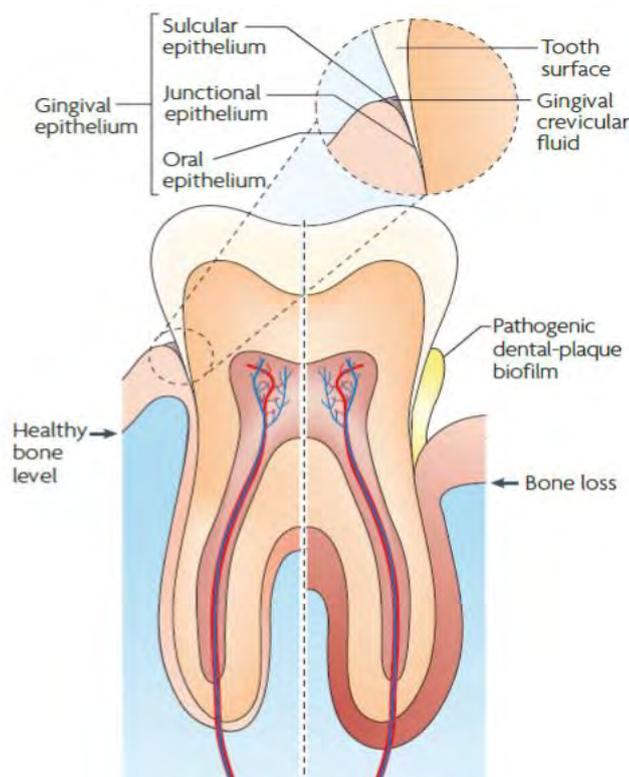
Cette période est ainsi nommée « fenêtre critique » car il est spéculé que même une perturbation transitoire du microbiote durant cette période puisse impacter la physiologie de l'hôte à long terme (3,79–82).

# La parodontite chronique: immuno-inflammation et dysbiose orale

## 1. Définition et caractéristiques

La parodontite est une des maladies chronique les plus fréquentes de l'humanité. C'est une maladie immuno-inflammatoire multifactorielle médiée par une dysbiose du microbiote oral (83). Elle entraîne la dégénération du parodonte qui est la structure supportant les dents et qui est constituée du cément, du ligament parodontal et de l'os alvéolaire. Elle conduit souvent à la perte des dents si la maladie n'est pas stabilisée. Elle touche principalement les adultes, mais une parodontite agressive peut parfois survenir chez les enfants et les adolescents. Sa forme sévère atteint plus de 740 millions de personnes autour du monde (84).

L'habitat prédominant des espèces bactériennes associées à la parodontite est le sulcus, où les bactéries sont retrouvées dans des microenvironnements distincts : le biofilm associé à la plaque dentaire sous-gingivale, le fluide sulculaire et l'épithélium jonctionnel (85,86).



*Richard P. Darveau; Nature Reviews Microbiology 8, 481–490 (2010)*

**Figure 1. Les effets de la parodontite.** Le tissu parodontal en bonne santé (à gauche) contient le desmodonte et de l'os alvéolaire, qui soutient la racine de la dent. En outre, l'épithélium oral recouvre ce tissu de soutien, et un épithélium jonctionnel spécialisé le relie à la surface de la dent. L'espace situé entre la surface épithéliale et la dent s'appelle le sulcus et est rempli de fluide crevical gingival. En cas de parodontite (à droite), un biofilm surmonté d' plaque dentaire s'accumule à la surface de la dent et de la racine et provoque la destruction du desmodonte et de l'os alvéolaire, ce qui est la cause la plus courante de perte de dents dans le monde.

La muqueuse gingivale, contrairement à la muqueuse intestinale, ne possède pas une épaisse couche de mucus pour empêcher le contact entre la communauté microbienne et la surface de la cellule épithéliale. En particulier, l'épithélium jonctionnel est fourni d'une seule couche cellulaire pavimenteuse à sa base. Ainsi, l'épithélium composant le sulcus gingival est un site d'exposition bactérienne privilégié en raison de son épaisseur, de sa porosité et de son contact étroit avec le biofilm dentaire (87). Comme l'épithélium intestinal, l'épithélium gingival cliniquement sain exprime une large gamme de TLRs (88). Cependant, on ne sait pas si les cellules épithéliales gingivales régulent l'expression de ces récepteurs pour réduire les interactions microbiennes comme le font les entérocytes (89,90).

## **2. Immunopathologie du parodonte : de la surveillance immunitaire à son hyperactivation**

Au contact d'un sulcus sain, le système immunitaire assure une surveillance tout en tolérant les communautés bactériennes commensales afin de maintenir une homéostasie parodontale. Des études histologiques révèlent un infiltrat immunitaire riche en lymphocytes T, faible en lymphocytes B et la présence d'un réseau de cellules présentatrices d'antigènes (CPA) dont le but est d'orchestrer l'immunité locale (91). Au sein de cet infiltrat, les neutrophiles sont les cellules immunitaires les plus largement représentées ce qui reflète la nécessité d'une surveillance continue de la barrière gingivale (92,93).

L'analyse des principaux sous-ensembles de lymphocytes T présents dans cet environnement a conclu que les lymphocytes T CD4+ auxiliaires prédominaient sur les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques. Dans le compartiment des lymphocytes T CD4+ auxiliaires, 10 à 15% sont des lymphocytes T CD4+ Foxp3+ qui sont des Treg, les lymphocytes T régulateurs (91).

Au contact d'un sulcus atteint par la maladie parodontale, la différence cellulaire la plus notable est l'abondance significativement plus élevée de neutrophiles (94).

Les neutrophiles jouent un rôle important dans la maladie parodontale compte tenu de leur hyperréactivité inflammatoire (95). Des neutrophiles hyperactifs, surnuméraires ou dysrégulés peuvent causer des dommages tissulaires collatéraux à travers la sécrétion de substances toxiques, inflammatoires et des enzymes dégradant les tissus environnants (96,97). En effet, d'amples évidences cliniques montrent que les neutrophiles sont les médiateurs d'une portion significative de la destruction parodontale, et leur nombre dans les tissus locaux est positivement corrélé avec la sévérité de l'atteinte (94,98,99).

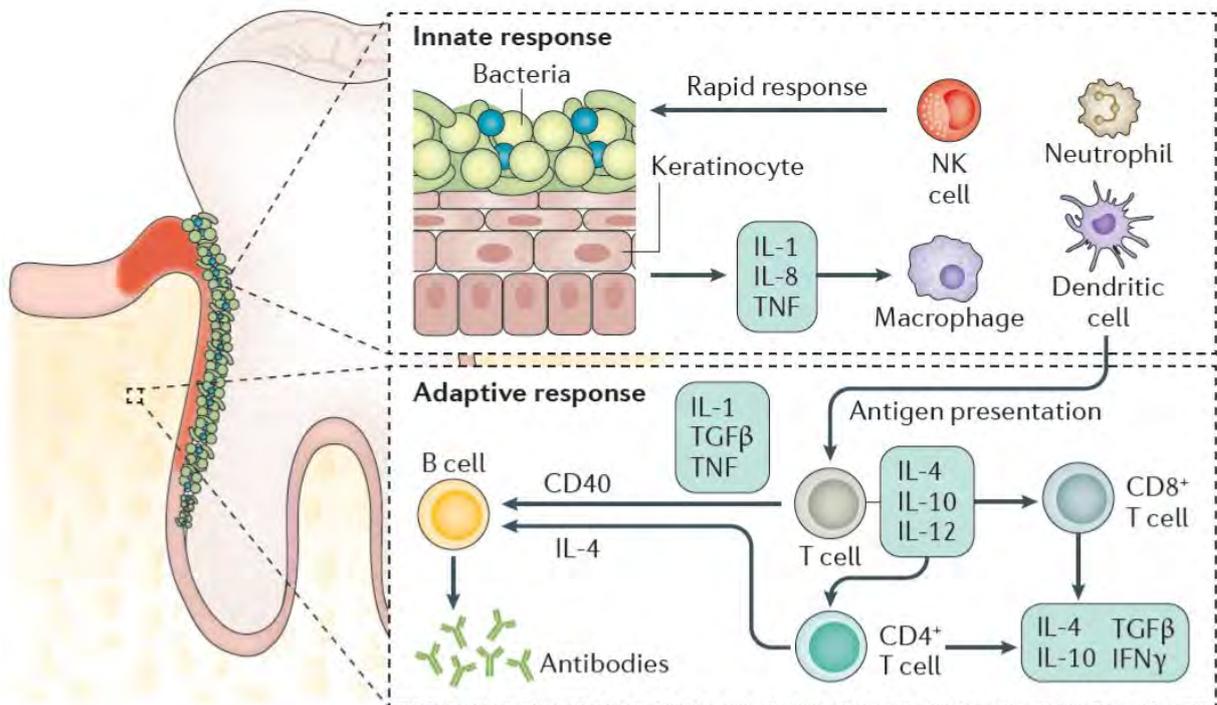
Dans la maladie parodontale, les monocytes/macrophages sont aussi d'importants contributeurs de la dégradation des tissus. Les patients atteints de parodontite présentent un nombre plus élevé de monocytes/macrophages dans les tissus parodontaux. Cela est associé à des taux plus élevés de métalloprotéases matricielles (MMP), enzymes responsables de la dégradation de la matrice extracellulaire, par rapport aux individus témoins (100).

De plus, les monocytes/macrophages sont capables de se différencier en ostéoclastes en réponse au TNF- $\alpha$  et en présence de RANKL (101). Il a été démontré que des taux significativement plus élevés de la protéine RANKL sont associés aux macrophages dans les tissus atteints par la parodontite, ce qui conduit à la différenciation de ces cellules en ostéoclastes responsables de la destruction de l'os alvéolaire (102). Des agents pathogènes parodontaux, tel que *P. gingivalis*, activent les monocytes/macrophages et stimulent la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires tels que l'IL-1, le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 et le PGE2 qui participent à la destruction des tissus (103). Ces caractéristiques font des monocytes/macrophages des acteurs prépondérants de la destruction parodontale (104).

Les lymphocytes T restent un sous-groupe dominant de cellules immunitaires présentes au sein de la lésion parodontale (91). On dénote aussi une régulation positive des réponses à l'IL-17. Cette cytokine est considérée comme favorisant la perte osseuse inflammatoire, à travers la régulation à la hausse de RANKL, un ligand intervenant dans le métabolisme osseux et dans l'activation de l'ostéoclastogénèse (105,106).

La principale source d'IL-17 est identifiée comme provenant du compartiment des lymphocytes T CD4+. En particulier, un sous-groupe de lymphocytes T CD4+ auxiliaires (Th) nommé Th17 a un rôle direct dans l'ostéoclastogénèse et la perte osseuse associée à la parodontite car elles sont la source majeure cette cytokine (91,107,108). Cela confirme un rôle important des lymphocytes T CD4+ auxiliaires dans l'homéostasie et l'immunopathogénèse parodontale.

En conclusion, la réponse inflammatoire parodontale est principalement médiée par les neutrophiles, les monocytes/macrophages et les lymphocytes B et T. Cela résulte en une production de médiateurs inflammatoires, tels que les cytokines, chimiokines et les enzymes protéolytiques qui contribuent au maintien de l'inflammation, à la dégradation des tissus et à la résorption osseuse.



Denis F. Kinane and al; *Nature Reviews Disease Primers* **3**, 17038 (2017)

**Figure 2. Réponses immunitaires dans la parodontite chronique.** Les interactions hôte-pathogène qui se produisent au niveau du sulcus gingival et du site de la poche parodontale sont caractérisées par une infiltration de neutrophiles et de granulocytes (cellules polynucléaires), induite par des gradients chimiotactiques créés par les bactéries et la réponse inflammatoire mais aussi par l'infiltration de lymphocytes à la suite de la présentation de l'antigène par les cellules dendritiques. Le milieu pro-inflammatoire résultant comprend des cytokines telles que le facteur de nécrose tumorale (TNF), des interleukines, l'interféron- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) et le facteur de croissance TGF $\beta$ , ainsi que des anticorps produits contre les composants du biofilm.

Cette réponse immunitaire inflammatoire est produite dans le but de résoudre l'état de dysbiose microbienne. Cependant, les bactéries parodontales peuvent manipuler les réponses immunitaires – comme avec les neutrophiles et le système du complément – pour améliorer leur action et perpétuer un état inflammatoire qui devient chronique (109).

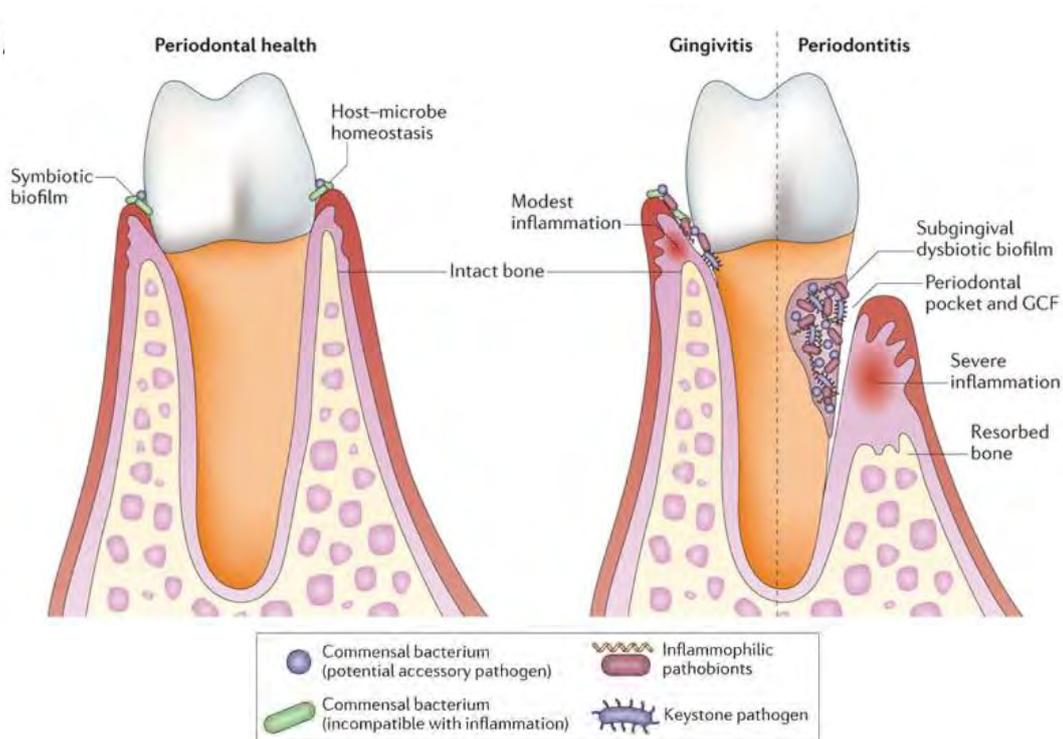
### **3. Dysbiose orale : cause ou conséquence de la maladie parodontale ?**

Antonie van Leeuwenhoek est un savant néerlandais du XVII<sup>e</sup> siècle qui est connu pour être un des précurseurs de la microbiologie grâce aux améliorations qu'il apporta au microscope. Il a rapporté pour la première fois avoir vu des «animalcules» au sein de son propre tartre dentaire en usant de son microscope amélioré. Depuis, les microbiologistes ont suivi le progrès technologique et ont continué à toujours mieux caractériser les micro-organismes buccaux.

Ainsi, un groupe de bactéries anaérobies formant le « complexe rouge » qui inclut *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* et *Tannerella forsythia* a été considéré comme agent causant la parodontite. Cette attribution a été basée sur le fait de la virulence de ces espèces bactériennes et sur leur forte association avec les sites atteints par la parodontite chronique. Cependant, deux cent sujets sains participant au Human Microbiome Project étaient positifs pour ce qu'on appelle communément les pathogènes parodontaux, incluant ceux du « complexe rouge ». Mais ces sujets étaient cliniquement asymptomatiques, ce qui laisse penser que ces pathogènes parodontaux doivent être déclassifiés en tant qu'organismes commensaux opportunistes.

C'est pour cela qu'aujourd'hui il est préférable de parler de dysbiose bactérienne orale plutôt que de pathogènes parodontaux spécifiques. Un état de dysbiose bactérienne orale est défini par un déséquilibre dans l'abondance relative ou l'influence d'une ou de plusieurs espèces bactériennes. Cela conduit à la transition d'une communauté commensale vers une communauté pathogénique qui peut ainsi initier une maladie orale et extraorale chez les individus susceptibles. Il faut donc comprendre que certaines « bactéries clés » possèdent un rôle majeur dans le processus de dysbiose (110,111).

La parodontite chronique est caractérisée par une transition d'un microbiote composé majoritairement de bactéries gram-positives à un microbiote composé de bactéries gram-négatives (112). Ainsi, la stabilité de la communauté bactérienne est un prédicteur de la santé parodontale tandis que les changements affectant cette communauté sont associés aux modifications de l'état clinique parodontal (113,114).



Ingar Olsen, John D. Lambris & George Hajishengallis; *Journal of Oral Microbiology*, 9:1 (2017)

**Figure 3. Dysbiose et maladie parodontale.** Transition d'un état de santé parodontale et d'une homéostasie hôte-microbe vers une gingivite (inflammation parodontale sans perte osseuse) et vers la parodontite associée à une dysbiose bactérienne, à une formation de poches parodontales et à une perte osseuse inflammatoire.

Une des « bactéries clés » impliquée dans la dysbiose bactérienne orale est *Porphyromonas Gingivalis*. Cette bactérie est la plus étudiée dans les modèles de parodontite chronique ainsi que dans l'investigation de l'association entre parodontite chronique et certaines maladies systémiques. L'étude de cette bactérie gram-négative est un exemple pour la compréhension de la manière dont une espèce bactérienne améliore la pathogénicité d'une communauté polymicrobienne et pour élucider comment celle-ci détourne la réponse immunitaire de l'hôte.

#### **4. Biofilm : une communauté nécessaire à l'installation de la maladie parodontale**

*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) est une bactérie opportuniste d'abondance faible (113). Cette bactérie est capable de provoquer directement la parodontite par son introduction dans la cavité buccale de modèles animaux. Cependant, il a été établi que l'installation d'une parodontite provoquée par l'introduction de *P. gingivalis* requiert la présence préalable d'un microbiote commensal.

En effet, *P. gingivalis* est incapable d'initier une parodontite chez les souris germ-free (gnotobiotique) malgré sa colonisation de la cavité buccale (83,115). En revanche, dès qu'un microbiote commensal est préalablement présent, son introduction est capable de perturber celui-ci et de mener à une dysbiose bactérienne entraînant la parodontite. De ce fait, même en faible abondance, *P. gingivalis* est considéré comme une « bactérie clé » sachant son habileté à induire une communauté bactérienne dysbiotique (116).

Pour rappel, l'hypothèse de la « bactérie clé » suggère qu'une espèce bactérienne spécifique, même en faible quantité relative, puisse influencer une communauté microbienne de façon disproportionnée à son abondance en « transformant » une flore saine en une flore pathogénique (83).

Ce concept est intégré au sein d'un nouveau modèle proposé pour la pathogenèse des maladies parodontales connu sous le nom de «synergie polymicrobienne et dysbiose» (SPD). Selon le modèle SPD, la réponse immunitaire de l'hôte au sein du parodonte est initialement subvertie par des «pathogènes clés», dont la colonisation et les activités métaboliques sont assistées par des «pathogènes accessoires», et cette réponse immunitaire est ensuite suractivée par les pathobiontes ce qui conduit à une rupture de l'homéostasie associée à une inflammation parodontale destructrice chez les hôtes susceptibles (85,110).

Le mécanisme par lequel les espèces bactériennes commensales contribuent à cette pathologie reste inconnu, mais une altération de la composition et une augmentation de la densité microbienne commensale ont été reportés dans divers contextes de l'inflammation du parodonte (83). Connaître le changement métabolique clé responsable de l'émergence de bactéries commensales avec un potentiel pathogénique dans ce microenvironnement sera essentiel pour la compréhension de l'initiation de cette pathologie.

Au centre de ce nouveau modèle de la pathogenèse parodontale est la subversion active de la réponse immunitaire de l'hôte de façon à permettre la persistance de pathogènes (ou bactéries commensales opportunistes) dans un environnement local inflammatoire et l'induction de pathologies au niveau systémique.

## 5. Evasion immunitaire et perpétuation de l'inflammation

L'excellente revue scientifique « *Porphyromonas gingivalis* disturbs host-commensal homeostasis by changing complement function » par Ingar Olsen, John D. Lambris et George Hajishengallis illustre parfaitement ce concept-là (117). Dans cette revue, il est décrit comment *P. gingivalis*, généralement présent à un ratio < 0,01% du microbiote oral, peut altérer ce microbiote commensal dans des modèles animaux. Cela se déroule principalement en manipulant la réponse immunitaire innée de l'hôte, et notamment la fonction du complément, comme nous allons le voir ci-dessous.

*P. gingivalis* a la capacité de manipuler le dialogue entre le système du complément et le récepteur TLR2 de façon à promouvoir une dysbiose et initier une parodontite chez des modèles animaux.

Il est aussi mentionné qu'il manipule la réponse immunitaire adaptative en favorisant sélectivement la différenciation et le recrutement des lymphocytes Th17 (118), une sous population de lymphocyte T qui est impliquée dans la destruction des tissus parodontaux comme vu précédemment.

Le système du complément est la première ligne de défense de l'hôte contre les pathogènes. C'est un groupe de 25 protéines du sérum faisant partie de l'immunité innée. Douze de ces protéines sont directement impliquées dans les mécanismes d'élimination des pathogènes, les autres régulent finement l'activité des premières afin d'éviter une réaction auto-immune. Il existe à ce jour trois voies bien connues d'activation du complément : la voie classique, la voie alterne et la voie des lectines. Ces trois voies convergent toutes vers la voie effectrice, c'est-à-dire la voie commune et terminale de la cascade qui aboutit au complexe d'attaque membranaire.

La protéine C3 est le pivot de chacune des voies d'activation du complément. A ce moment, C3 est clivé par la C3 convertase en C3a et C3b. Par la suite, C3b (ou C5 convertase) clive le fragment C5 en C5a et C5b dans la poursuite de la cascade. Les protéines de C5b à C9 en s'assemblant forment le « complexe d'attaque membranaire » qui est en l'occurrence l'élément permettant la lyse des cellules pathogènes.

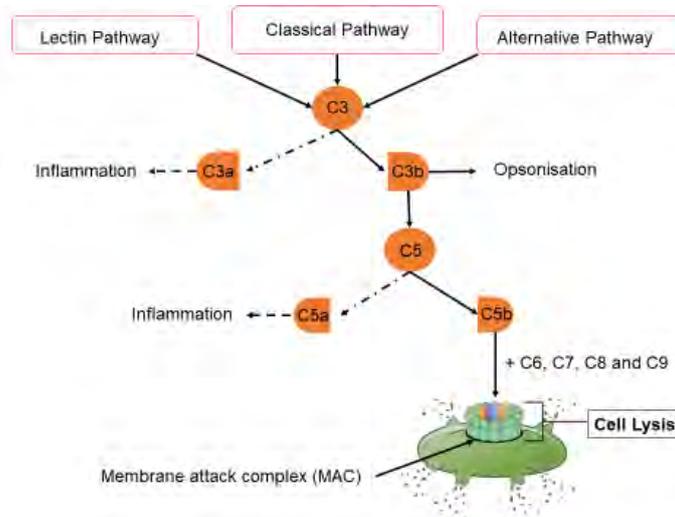


Figure 4. Cascade du système du complément

En ce qui concerne les mécanismes de subversion du système du complément dans la parodontite, les gingipains de *P. gingivalis*, qui sont des protéinases, sont impliquées dans la plupart d'entre elles. Ces protéinases clivent les constituants du tissu parodontal, les anticorps et les composants du système du complément tels que la protéine C3 en deux fragments C3a-like et C3b-like. Il convient de noter que l'inactivation de la protéine C3 inhibe les trois voies d'activation du complément.

Les gingipains ont aussi la capacité de cliver la protéine C5 en fragments C5a et C5b, tout comme le fait normalement la C5 convertase de l'hôte. Ainsi, *P. gingivalis* génère de la C5a biologiquement active et le fragment C5b qui en résulte est aussitôt dégradé par ces mêmes gingipains. Cela empêche ainsi la formation du complexe d'attaque membranaire (C5b-C9).

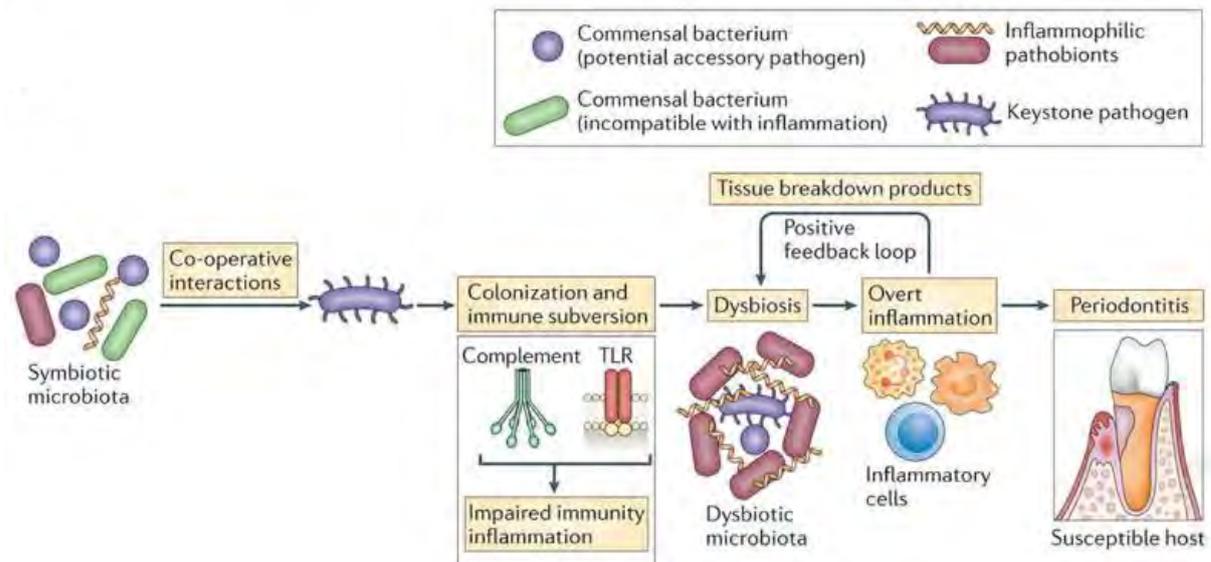
La génération et l'accumulation locale de C5a biologiquement active peut activer le récepteur C5aR1 sur les leucocytes. *P. gingivalis* exprime également des ligands, dont les lipopolysaccharides (LPS), qui activent le récepteur TLR2 sur les leucocytes. Ces caractéristiques permettent à *P. gingivalis* d'induire une co-activation de C5aR1 et TLR2 à la fois chez les neutrophiles et chez les macrophages.

Chez les neutrophiles, la co-activation de C5aR1 et TLR2 déclenche l'ubiquitination et la dégradation protéasomale de la protéine adaptatrice MyD88 qui est responsable de la signalisation du TLR2, ce qui entrave la réponse antimicrobienne des neutrophiles.

Cependant, cette co-activation active une seconde protéine adaptatrice du TLR2 qui est la protéine Mal (Myd88 Adaptator Like) et qui est impliquée dans une seconde voie de signalisation. Cette seconde voie de signalisation conduit à l'activation de la phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K). Cela conduit à la suppression de la phagocytose des bactéries par les neutrophiles en inhibant la GTPase RhoA et la polymérisation de l'actine, qui sont des molécules impliquées dans le réarrangement du cytosquelette nécessaire à la phagocytose. En parallèle, l'activation de la PI3K augmente la production de cytokines inflammatoires. Grâce à ces caractéristiques, *P. gingivalis* induit à la fois l'inhibition des activités antimicrobiennes et l'activation de processus inflammatoires chez les neutrophiles.

Chez les macrophages, *P. gingivalis* induit l'activation du C5aR1 ce qui initie la signalisation intracellulaire de Ca<sup>2+</sup> afin d'augmenter de manière synergique les faibles réponses de l'AMP cyclique (AMPC) provoquées par l'activation du TLR2 seul. L'activation de la protéine kinase A (PKA) dépendante de l'AMPC qui suit entraîne l'inhibition de l'expression du facteur de transcription nucléaire NF-κB et la glycogène synthase kinase-3β. Ces effets inhibiteurs provoquent la suppression des capacités cytotoxiques dépendantes de la nitric oxide synthase et donc la production d'oxyde nitrique (NO), un radical libre cytotoxique.

Cependant, l'induction de cytokines pro-inflammatoires (telles que l'IL-1β, l'IL-6 et le TNFα) par les macrophages est renforcée par cette co-activation C5aR1/TLR2. Pour résumer, *P. gingivalis* inhibe la voie dépendante de l'oxyde nitrique (NO) nécessaire à la destruction intracellulaire des bactéries, sans affecter la capacité globale des macrophages à induire des réponses inflammatoires.



Ingar Olsen, John D. Lambris & George Hajishengallis; *Journal of Oral Microbiology*, 9:1 (2017)

**Figure 5. Dysbiose et réponse inflammatoire.** La parodontite est induite par une communauté polymicrobienne chez les hôtes susceptibles, dans laquelle différents membres remplissent des rôles distincts qui convergent de manière synergique pour provoquer une inflammation destructive. Les agents pathogènes clés, dont la colonisation est facilitée par des agents pathogènes accessoires, subvertissent initialement la réponse de l'hôte, ce qui crée une communauté bactérienne dysbiotique dans laquelle les pathobiontes suractivent la réponse inflammatoire et induisent une dégradation du tissu parodontal, notamment la résorption de l'os alvéolaire. L'inflammation et la dysbiose se renforcent mutuellement car les produits de dégradation des tissus inflammatoires véhiculés dans les poches via le fluide sulculaire sont utilisés comme nutriments par le microbiote dysbiotique. Ce processus génère un cycle pathogène auto-perpétuant qui peut être à la base de la chronicité de la parodontite.

L'expérimentation sur modèles animaux de parodontite confirme l'importance du système du complément dans la pathogenèse de la lésion parodontale.

En effet, *P. gingivalis* est incapable de provoquer une dysbiose et une perte osseuse alvéolaire chez les souris génétiquement déficientes en récepteur C5aR1. De même, chez des souris préalablement atteinte par la parodontite chronique, un traitement oral avec un antagoniste du récepteur C5aR1 a conduit à la suppression de la dysbiose et de l'inflammation associée.

Les souris génétiquement déficientes en protéine C3 qui sont colonisées par *P. gingivalis* présentent significativement moins d'inflammation parodontale et de perte osseuse alvéolaire que les souris témoins. L'importance de la protéine C3 dans la pathogenèse de la maladie parodontale a été définitivement confirmée chez des primates traités localement avec un puissant inhibiteur de C3 car cela a conduit à l'échec d'installation d'une parodontite induite par *P. gingivalis* ou même à l'observation de la génération d'une parodontite spontanée.

Bien que cette excellente revue se concentre sur *P. gingivalis* et la subversion du système du complément, il convient de noter que d'autres « bactéries clés » associées à la parodontite chronique, telles que *Treponema denticola* et *Tannerella forsythia*, peuvent également subvertir efficacement certains aspects de la réponse immunitaire de l'hôte. Cela dans le but également de promouvoir la pathogénicité du biofilm (119).

En conclusion, la synergie polymicrobienne émergente et le modèle dysbiotique suggèrent que la réponse immunitaire est initialement subvertie par des « pathogènes clés » aidés par des pathogènes accessoires. Cette réponse immunitaire est ensuite suractivée par cette synergie polymicrobienne, liant rupture de l'homéostasie parodontale et inflammation destructive chez les individus susceptibles. Le tissu parodontal est ainsi chroniquement exposé à une communauté microbienne dysbiotique et cela conduit à une inflammation locale chronique pouvant impacter la santé « extra-orale » chez les individus susceptibles. Cela pourrait favoriser le développement de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) via l'exposition chronique aux composantes bactériennes et inflammatoires inhérentes à la parodontite chronique.

# **Parodontite chronique et MICI : même physiopathologie, mais existe-t-il une interrelation ?**

La parodontite est associée à de nombreuses maladies inflammatoires chroniques depuis plus de deux décennies, telles que les maladies cardiovasculaires, la polyarthrite rhumatoïde, le diabète, le cancer colorectal et récemment la maladie d'Alzheimer. De manière intéressante, la parodontite chronique et les MICI sont souvent présentées en tant que comorbidités.

## **1. Définition des MICI**

D'après l'INSERM, « les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, ou MICI, regroupent la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Toutes deux sont des maladies inflammatoires multifactorielles qui se caractérisent par l'inflammation chronique de la paroi d'une partie du tube digestif liée à une hyperactivité du système immunitaire en réponse à des éléments du microbiote intestinal.

Dans la maladie de Crohn, cette inflammation peut être localisée à tous les niveaux du tube digestif, de la bouche à l'anus, même si c'est au niveau de l'intestin qu'on la retrouve le plus souvent. Dans la rectocolite hémorragique, elle est localisée au niveau du rectum et du côlon. Ces maladies évoluent par poussées inflammatoires de durée et de fréquence extrêmement variables selon les patients. Ces poussées alternent avec des phases de rémission. Il n'existe actuellement aucun traitement curatif. Les atteintes extra-intestinales sont fréquentes et notamment au niveau oral avec des aphtes, des caries et des maladies parodontales. » (120)

Les signes cliniques des MICI sont caractérisés par la coexistence de signes locaux et extra-intestinaux qui peuvent affecter les articulations, la peau, le foie, le sang et la cavité buccale. Ces signes extra-intestinaux peuvent précéder ou suivre les signes intestinaux de plusieurs années (121).

## CAUSES DE CES MALADIES : Aucune cause identifiée

Plusieurs gènes de susceptibilité mais aussi des facteurs environnementaux sont suspectés ainsi que des modifications de la flore intestinale ( sources : presse.inra.fr). De nombreuses études sont en cours, sur le rôle de l'environnement notamment : la pollution, les additifs alimentaires, les effets des antibiotiques durant l'enfance, l'hygiène de vie dans les pays industrialisés.

### PARTIES DU CORPS TOUCHÉES

**CROHN :**  
Sur les différents segments du tube digestif de la bouche jusqu'à l'anus

**RCH :**  
Rectum  
Côlon

### SYMPTÔMES

**Inflammation du tube digestif provoquant :**

- Douleurs abdominales
- Diarrhées ( Entre 4 et 20 selles par jour)
- Impériosité des selles
- Perte d'appétit et amaigrissement
- Grande fatigue
- Fièvre

Alternance entre phase de poussée (**crise**) et de rémission

**SYMPTÔMES EXTRA DIGESTIFS**

L'inflammation peut se localiser en dehors de l'intestin et provoquer des manifestations rhumatismales, oculaires et/ou cutanées

## 2 MALADIES QUI NE SE GUÉRISSENT PAS

**Objectif des médicaments existants :**

**Agir sur la poussée de la maladie selon la sévérité des lésions**

Aminosalicylés, corticoïdes, immunomodulateurs, biothérapies

**Chirurgie :**

**Elle n'est pas curative mais peut soulager les malades**

**CROHN :** 1 Malade sur 2 est opéré dans les 10 ans suivant le diagnostic

**RCH :** 1 Malade sur 3 dans les 20 années suivant le diagnostic (source : www.prokto.com)

<https://www.afa.asso.fr/categorie/maladie-de-crohn-rch.html>

Figure 6. Caractéristiques des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).

## 2. Epidémiologie

Les MICI affectent plus de 10 millions de personnes dans le monde. C'était une maladie très rare dont la prévalence a commencée à augmenter dramatiquement dans la seconde moitié du 20<sup>e</sup> siècle dans le monde occidental et à un ratio double chaque décennie, pour ensuite augmenter dans les pays émergents lors de ces deux dernières décennies (122).

Si leur fréquence varie considérablement d'un pays à l'autre, les taux les plus importants sont retrouvés dans les pays industrialisés, notamment en Europe du Nord-Ouest et aux Etats-Unis. En France, la prévalence est d'environ 5 nouveaux cas de maladie de Crohn et autant de rectocolite hémorragique sont diagnostiquées chaque année pour 100 000 habitants. Elles sont de plus en plus fréquentes et concernent 250 000 personnes. La prévalence augmente en revanche de façon exponentielle dans les pays en cours d'industrialisation (pays du Maghreb, Asie, Afrique du Sud...).

Les MICI sont le plus souvent diagnostiqués chez des sujets jeunes, âgés de 15 à 35 ans. Toutefois, elles peuvent survenir à tout âge et 20% des cas concernent des enfants.

# MICI : MALADIE DE CROHN ET RCH

\* MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin. RCH : Rectocolite hémorragique

NOMBRE DE MALADES :  
**10 MILLIONS DANS LE MONDE**  
**3 MILLIONS EN EUROPE**  
**250 000 EN FRANCE**

■ HAUTE  
■ INTERMÉDIAIRE  
■ BASSE



**8000 NOUVEAUX CAS  
CHAQUE ANNÉE**



**1 CAS DIAGNOSTIQUÉ TOUTES LES HEURES**  
**20 % SONT DES ENFANTS**

**QUEL ÂGE ?**

**PIC DE DIAGNOSTIC ENTRE 15 ET 35 ANS**



**Des maladies qui ont doublé  
chez les 13-19 ans**

(www.sciencedirect.com)

**Une MICI chez l'enfant ou l'adolescent est souvent  
responsable d'un ralentissement de la croissance**

<https://www.afa.asso.fr/categorie/maladie-de-crohn-rch.html>

Figure 7. Epidémiologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

### **3. Relation entre parodontite chronique et MICI**

La pathogenèse de la parodontite chronique semble similaire à celle des MICI, et cela implique une interaction complexe entre le microbiote oral ou intestinal respectivement et la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte. Cette dernière est influencée par des facteurs génétiques aussi bien qu'environnementaux. Dans ces deux conditions, un déséquilibre de la réponse immunitaire contre une communauté microbienne dysbiotique résulte en une inflammation chronique non résolue entraînant une destruction des tissus associés.

Quelques similarités entre l'environnement bactérien intestinal et oral :

- Une faible abondance de « bactéries pathogènes » ou opportunistes est normal et sans risque si une personne est saine
- Les communautés bactériennes sont organisées en biofilm
- Elles côtoient toutes les deux un épithélium de surface qui est relativement perméable
- Une alimentation riche en carbohydrates simples et en sucre modifie les communautés microbiennes
- Le microbiote oral pourrait influencer la composition et la fonction du microbiote intestinal
- Un déséquilibre ou une dysbiose associée à une hyper-réaction immunitaire est favorable à l'établissement d'une pathologie locale et extra-locale

Il est donc proposé que les MICI puissent favoriser le développement d'une parodontite et que la parodontite chronique puisse être un facteur de risque des MICI.

#### **3.1 Influence des MICI sur la parodontite chronique**

##### **3.1.1 Epidémiologie**

Plusieurs études épidémiologiques ont été menées suite à l'hypothèse d'une possible augmentation de la prévalence de la maladie parodontale chez les patients atteints de MICI. Ces études ont présentées des résultats conflictuels et sont présentées dans le Tableau 1.

**Tableau 1. Caractéristiques des études épidémiologiques incluses**

Référence	Type d'étude	Patients	Indices parodontaux mesurés	Résultats principaux
Grossner-Schreiber et al. (2006)	cas /témoins	62 cas de MICI - 46 avec CD - 16 avec UC 59 témoins sains	IP SS PP %PA≥4mm %PA≥5mm	- nombre de perte d'attache ≥ 4 et 5mm supérieur mais pas statistiquement significatif - aucune différence parodontale significative entre cas et témoins selon les indices cliniques
Habashneh et al. (2012)	cas /témoins	160 cas de MICI - 59 avec CD - 101 avec UC 100 témoins sains	PP: 6 sites/dent PA: 6 sites/dent SS: 4 sites/dent recession gingivale IP IG	- l'IP et l'IG sont plus élevés chez les cas - récession gingivale plus élevée chez UC que chez CD et témoins - sévérité de l'atteinte parodontale supérieure chez UC que chez CD et témoins - étendue de l'atteinte parodontale supérieure chez les cas - association positive entre parodontite et MICI
Vavricka et al. (2013)	étude de cohorte	113 patients - 69 avec CD - 44 avec UC 113 volontaires sains	PA PP SS	- CD périanale = facteur prédictif de PP et de SS élevés - risque de parodontite augmenté significativement chez les patients atteints de MICI - pas d'association entre activité clinique des MICI et indices parodontaux
Koutsochri stou et al. (2015)	cas /témoins	55 cas de MICI - 36 avec CD - 19 avec UC 55 témoins sains	IP PP score CPITN IG	- fort besoin de traitement parodontal chez les cas (évalué par le score CPITN), malgré une hygiène orale similaire entre les 2 groupes
Brito et al. (2008)	cas /témoins	179 cas de MICI - 99 avec CD - 80 avec UC 74 témoins sains	PP PA SS IP	- la prévalence de parodontite est significativement plus élevée chez les cas - fumer est un modificateur d'effet
Flemming et al. (1991)	non connu	107 patients - 46 avec CD - 61 avec UC Contrôle =données épidémiologiques*	IP PP PA SS IG 2 sites par dent/2 cadrans	- la fréquence d'atteinte parodontale est supérieure mais la sévérité est inférieure chez les patients en comparaison des données du *Oral Health of United States Adults

MICI : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, CD : maladie de Crohn, UC : rectocolite hémorragique, IP : indice de plaque, SS : saignement au sondage, PP : profondeur de poche, PA : perte d'attache, IG : indice gingival, CPITN : community periodontal index of treatment needs = indice des besoins en traitement parodontaux

Selon la majorité de ces études épidémiologiques, les patients atteints de MICI présentent une prévalence de maladie parodontale significativement augmentée. De plus, la sévérité et l'étendue des lésions parodontales sont aussi augmentées d'après certaines de ces études.

Les raisons pour lesquelles les patients atteints de MICI présentent une santé parodontale dégradée n'ont pas été étudiées de manière exhaustive. Cependant, plusieurs éléments biologiques peuvent être apportés.

### 3.1.2 Eléments de réponse biologiques

Un des facteurs responsable de la susceptibilité accrue à la maladie parodontale chez les patients atteints de MICI est le microbiote oral. Van Dyke et al. (123) a évalué le microbiote parodontal de patients atteints de MICI et a observé une présence majoritaire du genre *Wolinella*. Said et al (124) a lui observé une augmentation significative du genre *Prevotella* dans le microbiote salivaire des patients atteints de MICI. Fait important, une forte abondance de « bactéries clés » telles que *Campylobacter rectus*, *Porphyromonas gingivalis* et *Tannerella forsythia* a aussi été trouvée dans le sulcus gingival de ces patients (125). On observe donc une perturbation et une modification du microbiote oral chez les patients atteints de MICI.

La survenue de la maladie parodontale pourrait être impactée par l'inflammation systémique chronique qui est présente chez les patients atteints de MICI. De plus, la survenue de manifestations buccales chez les patients en phase active peut être le résultat d'une altération de l'activité des cytokines dans l'ensemble du tractus gastro-intestinal.

En effet, la destruction du tissu parodontal est modulée par l'activation de diverses cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) et par un stress oxydatif anormal qui sont des caractéristiques retrouvées dans la pathogenèse des MICI (97,126–128). Des taux accrus de cytokines pro-inflammatoires ont été observées dans la salive de patients atteints de MICI et en particulier chez les patients en phase active (129). De plus, Rezaie et al. a observé une capacité antioxydante significativement réduite au sein de la salive de patients en phase active de maladie de Crohn (126). Ainsi, les niveaux de cytokines pro-inflammatoires et les paramètres de stress oxydatif mesurés dans la salive pourraient expliquer l'augmentation de la prévalence de maladie parodontale chez ces patients.

Nous devons aussi considérer qu'un métabolisme osseux altéré est fréquent chez les patients atteints de MICI où une perte osseuse excessive est une constatation fréquente. Les raisons de ce métabolisme osseux altéré sont partiellement comprises, mais il est supposé que la corticothérapie, la carence en calcium et en vitamine D, l'hypogonadisme, la malnutrition, le tabagisme, la consommation d'alcool et la réduction de l'activité physique sont tous des facteurs contributifs (130).

Les manifestations buccales précèdent souvent l'apparition des symptômes intestinaux chez ces patients, et le chirurgien-dentiste doit soupçonner la présence de ces pathologies si les manifestations buccales pathognomoniques sont présentes (lésions polypoïdes hyperplasie focale). La détérioration de la santé bucco-dentaire chez ces patients implique la nécessité d'effectuer des examens bucco-dentaires et parodontaux fréquents.

### 3.2 Influence de la parodontite chronique sur les MICI

La communauté scientifique s'interroge sur les évidences et les mécanismes par lesquels les organismes bactériens se dissémineraient depuis leur habitat parodontal vers les sites distants. Et cela afin de perturber la surveillance immunitaire et l'homéostasie et ainsi promouvoir ou accélérer un processus pathogénique. Dans ce cadre-là, les hypothèses proposées expliquant que la maladie parodontale puisse favoriser le développement d'une MICI ont inclus:

I/ L'effet direct de « bactéries clés parodontales » sur la physiologie intestinale

II/ L'effet indirect de « bactéries clés parodontales » sur la physiologie par altération du microbiote intestinal

III/ L'induction d'une inflammation systémique chronique par circulation périphérique de « bactéries clés parodontales »

#### 3.2.1 L'effet direct de « bactéries clés» parodontales

Les bactéries de la cavité buccale se déversent dans le tractus gastro-intestinal par la salive à la fréquence d'au minimum  $10^{12}$  bactéries chaque jour. Le fluide salivaire contient environ  $10^9$  bactéries/mL pour 1 à 1,5L déglutit par jour. Il est donc envisageable que les « bactéries clés » parodontales puissent aller coloniser l'intestin et y exercer leur activité pathogénique.

Des études récentes ont montrées que certaines bactéries parodontopathogènes (*Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter concisus*) sont associées à des symptômes cliniques relatifs aux MICI (131–133). Les souches de *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) retrouvées et isolées depuis les tissus de biopsie intestinale de patients atteints de MICI sont significativement plus invasives que celles isolées depuis les patients sains (132). *F. nucleatum* a aussi été associée au développement et à la pathogénicité du cancer colorectal (134,135). De plus, une étude récente démontre qu'un nombre significatif de patients atteints de cancer colorectal présentent des souches identiques de *F. nucleatum* dans les tissus cancéreux et dans le fluide salivaire, suggérant que certaines souches associées au cancer colorectal sont d'origine buccale (136). Concernant la bactérie *Campylobacter concisus*, des souches orales entériques invasives ont été détectées chez 50% des patients atteints de MICI mais aucune n'a été détectée chez les patients sains (133).

Atarashi et al. (137) a montré que des souches de *Klebsiella* isolées du fluide salivaire de patients atteints de la maladie de Crohn peuvent induire une sévère inflammation intestinale quand ils colonisent l'intestin de souris possédant des susceptibilités génétiques aux MICI. Des études additionnelles seraient intéressantes afin d'évaluer l'influence de pathogènes parodontaux sur l'expression de gènes de susceptibilités aux MICI.

Un facteur majeur de susceptibilité génétique aux MICI est la mutation du gène NOD2/CARD15. Cette mutation est retrouvée chez 15 à 20% des patients atteints de MICI. Une mutation de ce gène entraîne une exacerbation de la réaction inflammatoire contre les bactéries de la flore intestinale endogène (4). L'activation du récepteur NOD2 permet la régulation des réactions inflammatoires et apoptotiques en régulant l'activité des TLRs. Ainsi, une perturbation du rôle du récepteur NOD2 entraîne une perte de contrôle des réponses inflammatoires et apoptotiques. Cependant, la mutation du gène NOD2/CARD15 n'est pas une condition nécessaire au développement des MICI. Cette prédisposition génétique doit être combinée à des facteurs environnementaux (hygiène de vie, alimentation, dysbiose bactérienne intestinale...) pour initier la maladie (138).

### 3.2.2 L'effet indirect de « bactéries clés » parodontales

*P. gingivalis* et d'autres « bactéries clés » parodontales pourraient également induire des altérations du microbiote intestinal. Il ne serait donc pas surprenant qu'une perturbation du microbiote oral puisse engendrer une perturbation de son homologue intestinal. Une étude rapporte que les espèces bactériennes représentées dans la cavité buccale et dans le côlon ont autour de 45% de correspondance (139).

Un microbiote intestinal sain est majoritairement composé de bactéries strictement anaérobies et dominé par les phyla Bacteroidetes et Firmicutes. Cependant, la relative abondance de Firmicutes et la diversité globale du microbiote intestinal sont significativement réduites chez les patients atteints de MICI (140,141).

Les effets systémiques d'une administration orale unique de *P. gingivalis* ont été analysés chez un modèle murin. Cette administration unique a impactée la démographie microbienne intestinale comme en témoigne une proportion accrue du phylum Bacteroidetes et une diminution de la proportion du phylum Firmicutes. Cela est aussi associé à une régulation à la baisse de l'expression de protéines de jonction de l'épithélium intestinal. De plus, une inflammation systémique et une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires dans le côlon ont aussi été observés chez ces souris (142,143).

Cela démontre que *P. gingivalis* a la capacité d'altérer la composition microbienne intestinale, ce qui est associé à une perturbation de la fonction de barrière de l'épithélium qui favorise une perméabilité intestinale accrue favorable à l'établissement d'une endotoxémie bactérienne. Ainsi, certaines « bactéries clés » parodontales pourraient nuire indirectement à la physiologie intestinale par perturbation de son microbiote.

### 3.2.3 Inflammation systémique chronique

Certaines espèces bactériennes ont été retrouvées dans la circulation sanguine après des procédures dentaires (144). Par exemple, la bactériémie induite par la réalisation d'un détartrage et surfaçage radiculaire est détectable à 5 min et disparaît après 30 minutes (145,146). La porosité de la muqueuse gingivale est supérieure à celle de la muqueuse intestinale, et le parodonte atteint d'inflammation présente un épithélium de surface plus poreux qu'un parodonte sain, ce qui favoriserait le passage de bactéries dans l'afflux sanguin après chaque brossage quotidien ou soin dentaire. De ce fait, une bactériémie fréquente due à l'inflammation parodontale pourrait aussi résulter en une inflammation systémique chronique et favoriser la pathogénèse des MICI. Cette hypothèse est abordée dans la partie expérimentale (page 50).

## **4. Perspective de prévention et de prise en charge**

Comme vu précédemment, le microbiote joue un rôle fondamental dans l'induction, l'éducation et la fonction du système immunitaire de l'hôte. Ainsi, selon la théorie de l'hygiène (147), les changements modernes dans notre style de vie tels que les changements alimentaires, l'amélioration sanitaire et la sur-prescription d'antibiotiques sont quelques facteurs qui ont modifiés le microbiote. Ils sont étudiés comme potentiels conducteurs de l'augmentation soudaine de maladies immuno-inflammatoires dans le monde industriel (148).

L'OMS recommande l'intégration de la prévention des pathologies buccales dans la prévention des maladies inflammatoires chroniques en vue de leurs nombreuses associations (149). En effet, il est légitime de soupçonner une dysbiose et d'explorer le microbiote oral quand les inflammations du tractus gastro-intestinal ne répondent pas aux traitements médicaux standards. Rétablir un microbiote oral sain pourrait améliorer certaines pathologies systémiques et la prise en charge de l'inflammation parodontale devrait être partie intégrante de la thérapeutique des MICI.

Ainsi, le diagnostic, le pronostic et le traitement assistés par microbiote seraient très prometteurs pour la prise en charge à long terme des maladies immuno-inflammatoires telles que la parodontite chronique et les MICI. Ces objectifs ont ouvert la porte à une nouvelle discipline qui concentre de nombreux efforts de recherche scientifique.

## 4.1 Prévention et diagnostic

Aujourd'hui, la prévention de la parodontite chronique est particulièrement difficile car la maladie parodontale est généralement indolore et les patients recherchent rarement des soins précoces. Il est donc fréquent que la maladie ait atteint un degré de gravité avancé avant d'être diagnostiquée et de pouvoir initialiser une thérapeutique.

Les progrès rapides de la recherche sur le microbiote et microbiome humain soutiennent que le profilage et les interventions sur celui-ci offriront des possibilités substantielles d'amélioration du diagnostic et de la thérapeutique.

Le fluide salivaire présente un important pool de biomarqueurs. De plus, les perspectives de détection précoce et de monitoring des pathologies buccales et systémiques par simple prélèvement salivaire sont sous intense investigation (150–153). Cette approche est prometteuse car la collecte d'un échantillon salivaire est simple, non invasive et peut faire l'objet d'un examen bucco-dentaire de routine. De plus, les échantillons salivaires sont plus facilement obtenus lors de visites cliniques que les échantillons fécaux.

Parmi le pool de biomarqueurs salivaires, le biomarqueur bactérien est privilégié. La diversité du microbiote salivaire reste stable dans la durée chez l'adulte sain (154–157). De ce fait, les variations dans le profil du microbiote salivaire peuvent offrir un aperçu corrélatif de l'apparition ou de la progression de pathologies locales comme la parodontite (158–160) et de pathologies systémiques associées à une dysbiose comme les MICI (150,153,161,162).

Un objectif partagé par les chercheurs et les cliniciens est d'évaluer et de surveiller de manière non invasive l'état physiopathologique des individus sains et malades. L'exploration du fluide salivaire en tant qu'outil de diagnostic et de monitoring peut remplir cet objectif. Il deviendrait un moyen sûr et efficace d'identification des pathologies dans une pratique courante de médecine préventive.

## 4.2 Thérapeutique

### 4.2.1. Introduction à la médecine de précision

Les résultats les plus spectaculaires de thérapie basée sur le microbiote ont été obtenus dans le contexte de la colite récurrente à *Clostridium difficile*. En effet, le transfert du microbiote intestinal d'un donneur sain par transplantation fécale permet la guérison totale de cette colite avec un taux de succès à hauteur de 95% (163).

Le microbiote est très variable inter-individuellement. Cependant, il peut être rapidement profilé puis modifié par différents facteurs ce qui donne l'opportunité de développer des thérapeutiques individualisées en médecine de précision.

#### 4.2.1.1 Cibler spécifiquement un pathogène

Les efforts de recherche biomédicale ont précédemment été placés dans l'élimination de communautés bactériennes. Cependant, de nombreuses espèces bactériennes sont bénéfiques pour la santé (164). Les antibiotiques traditionnels éradiquent les bactéries de façon non sélective et perturbent les microbiotes de manière globale ce qui engendre potentiellement des effets adverses. La mauvaise prescription et la surutilisation des antibiotiques sont aujourd'hui responsables de mutations et résistances bactériennes qui constituent un risque majeur d'épidémie mondiale selon l'OMS (165).

De nouveaux efforts sont ainsi placés dans le développement d'antibiotiques pathogènes-spécifiques. Une illustration est le développement d'un antibiotique spécifique de *Streptococcus mutans*, une bactérie cariogène présente dans le biofilm dentaire (166). Cependant, la diffusion des molécules antibiotiques jusqu'aux espèces bactériennes associées en biofilm reste toujours un obstacle majeur à ce type de thérapeutique.

Pour remédier à ce problème, le développement de bactériophages est reconsidéré dans la thérapeutique antibactérienne. Du fait de la spécificité d'un phage pour une espèce bactérienne et de leur bonne diffusion au sein d'un biofilm, les bactériophages sont des candidats potentiels dans la modulation des communautés bactériennes (167,168). Ainsi, en identifiant l'affinité d'un phage particulier, il serait possible de retirer spécifiquement une espèce bactérienne de sa communauté.

#### 4.2.1.2 Utilisation de prébiotiques

A l'instar de cibler spécifiquement une espèce bactérienne, le développement et l'utilisation de prébiotiques paraît plus intéressant. Un prébiotique est « un composé non-digestible qui, via sa métabolisation par les micro-organismes, module la composition et/ou l'activité du microbiote, conférant par là un bénéfice physiologique à l'hôte ». L'utilisation de prébiotiques a pour but d'augmenter la proportion et l'influence d'espèces bactériennes bénéfiques pour ainsi modifier la composition et la fonction du microbiote de façon positive.

Une stratégie possible dans la prévention et le traitement de la parodontite chronique et des MICI serait de favoriser la croissance sélective d'organismes bactériens antagonistes des « bactéries pathogènes clés » pour engendrer une compétition et faire résistance à la transition vers une communauté bactérienne dysbiotique. L'utilisation de prébiotiques serait donc prometteuse dans le traitement de pathologies basées sur des dysbioses microbiennes mais aussi dans la maintenance d'un microbiote stable chez les populations à risque (169).

#### 4.2.1.3 Utilisation de probiotiques

Les probiotiques sont « des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé ». Le concept de probiotique est intéressant et pertinent pour lutter contre le problème grandissant des résistances aux antibiotiques. Ces organismes peuvent être synthétisés (170) ou isolés depuis des individus sains pour promouvoir la santé buccale et intestinale (171).

Il a été démontré que les espèces bactériennes commensales limitent la colonisation de l'hôte par les agents bactériens opportunistes et pathogènes. Cela en raison de leur compétition pour des métabolites définis au sein de la même niche écologique dans le cadre d'un processus appelé « résistance à la colonisation » (172,173). Il serait donc bénéfique de compléter un patient avec des probiotiques spécifiques afin de supprimer l'influence des agents bactériens opportunistes et limiter le développement d'une pathologie.

En plus du rôle de compétition, les probiotiques de nouvelle génération pourraient être sélectionnés pour leur profil métabolique. Les espèces bactériennes intestinales productrices d'AGCC inductrices du recrutement et de l'activation des lymphocytes T régulateurs (Treg) pourraient être sélectionnées. Certains *Bacteroides* possédant des fonctions immuno-modulatrices pourraient aussi être utilisés en tant que probiotiques de nouvelle génération à action spécifique pour un traitement personnalisé.

#### 4.2.1.4. Photothérapie

La photothérapie est une technologie prometteuse pour la modulation de l'écosystème du biofilm dentaire. Son utilisation est une nouvelle approche dans le traitement prophylactique et curatif des maladies parodontales (168,174). C'est une technique de contrôle de plaque qui restreint sélectivement la croissance et le métabolisme de pathogènes du biofilm par photo-inactivation. Cette technique peut être plus efficace pour le contrôle et la maintenance à long terme du biofilm parodontal (175).

La photothérapie utilise les effets de la lumière bleue pour altérer la composition bactérienne de la plaque dentaire humaine *in vivo*. L'exposition à la lumière bleue affecte sélectivement un petit segment de la population bactérienne qui comprend certains des pathogènes parodontaux les plus importants (174). Cela photo-inactive les espèces bactériennes à pigmentation noire telles que *P. gingivalis* et *Prevotella* car ces espèces produisent et accumulent des porphyrines photosensibles en intracellulaire (176). L'excitation de ces porphyrines par la lumière bleue induit la production subséquente d'espèces réactives de l'oxygène qui sont cytotoxiques au sein de ces bactéries.

Le but du traitement parodontal est de rétablir une situation d'homéostasie entre le tissu parodontal et ses communautés polymicrobiennes. Le traitement le plus ancien, le plus efficace et le plus largement utilisé est l'élimination physique du biofilm et de la plaque dentaire par détartrage et surfaçage radiculaire. Aujourd'hui, la photothérapie pourrait offrir les avantages suivants par rapport à ce traitement standard: une application rapide et indolore de la lumière, une sélectivité pour les pathogènes, une pénétration de la lumière dans les tissus et la plaque dentaire et pour finir, un bénéfice clinique, microbiologique et immunologique possible avec un impact minimal sur le microbiote commensal.

#### 4.2.2 Modulation de la réponse de l'hôte

Afin d'augmenter les chances de succès d'une thérapie parodontale ou intestinale, une intervention sur les deux composantes de la relation microbiote/hôte se doit d'être mise en œuvre. Une modulation de la réponse de l'hôte devrait donc être mise en place en complément de la thérapie microbienne.

La parodontite chronique et les MICI sont caractérisés par une inflammation chronique non résolue et une dégénération des tissus associés. Jusqu'à présent, la résolution de l'inflammation était considérée comme un événement passif. Or, durant la dernière décennie, il a été découvert que la résolution de l'inflammation constitue une séquence active d'événements médiés par des médiateurs lipidiques tels que les lipoxines, les résolvines et les protectines, provenant de la conversion enzymatique des acides gras polyinsaturés (177).

Les lipoxines, les résolvines et les protectines sont produites par les voies de l'acide arachidonique (178). Ces molécules sont des agonistes clés des voies de résolution qui induisent la restauration de l'homéostasie tissulaire (179,180). L'utilisation de ces médiateurs lipidiques pro-résolvants constituerait donc une stratégie prometteuse pour aider à la résolution de la maladie parodontale et des MICI.

Les médiateurs lipidiques les plus étudiés sont les résolvines, l'accent étant mis sur la résolvine E-1 (RvE1). Des résultats prometteurs ont été mis en avant chez des modèles murins suite à l'utilisation de cette molécule. Des expériences *in vivo* chez le rat atteint de parodontite induite par ligature ont montrés qu'un traitement local par application d'une solution de RvE1 a significativement réduit l'infiltration de cellules inflammatoires et entraîné une sous-régulation de l'expression de gènes associés à l'inflammation dans les tissus gingivaux traités (181).

Toujours chez le rat atteint de parodontite, un traitement parodontal par la molécule RvE1 permet une réduction de la densité d'ostéoclastes ainsi qu'une réversion de la destruction osseuse et de l'expression de gènes inflammatoires au niveau local. De manière intéressante, l'analyse du microbiote sous-gingival après traitement a montré des changements significatifs dans la composition bactérienne, ce qui tend à confirmer que l'inflammation joue un rôle dans l'entretien de certaines espèces bactériennes (181). Les capacités d'inhibition de la résorption osseuse et d'ostéo-induction de la résolvine RvE1 ont aussi été confirmées *in vivo* chez le lapin (179). Hormis les résolvines, les lipoxines ont aussi démontrés des capacités anti-inflammatoires, anti-ostéoclastiques et ostéoinductrices (182).

En conclusion, ces médiateurs lipidiques offrent la promesse d'aider l'hôte dans la résolution de l'inflammation initiée par de multiples mécanismes. Le potentiel de traiter la maladie parodontale et les MICI avec ces médiateurs lipidiques est clair, et de futures études cliniques sont attendues (183–185).

Ainsi, une intervention sur les deux composantes de la relation microbiote/hôte en combinant médecine de précision et modulation de la réponse de l'hôte permettrait la guérison de ces pathologies immuno-inflammatoires chroniques.

# Partie expérimentale : Profil immunitaire des conséquences systémiques de la parodontite chronique

Laboratoire de correspondance :

Laboratoire de Brice Gaudillière  
300 Pasteur Drive, Grant S260  
Stanford, CA 94305

Auteurs: Aghaeepour, Alpagot, Ando, Angst, Choi, Choisy, Culos, Djebali, Einhaus, Ganio, Gaudilliere, Gaudilliere, Han, Helms, Maghaireh, Okada, Stanley, Tanada, Tingle, Tsai

## 1. Objectifs

Cette étude vise à identifier une signature immunitaire périphérique attribuable à la parodontite chronique (ChP) et à analyser l'effet d'une thérapeutique parodontale sur celle-ci. Cette étude a été réalisée grâce à l'analyse des sous-groupes de cellules immunitaires en cytométrie de masse à partir d'échantillons de sang prélevés depuis une cohorte de patients atteints de ChP.

La cytométrie de masse utilise des métaux conjugués à des anticorps pour analyser jusqu'à 45 marqueurs différents qu'ils soient membranaires, cytoplasmiques ou nucléaires. Cette technologie permet donc l'interrogation simultanée de multiples voies de signalisation dans chaque cellule immunitaire présente dans un échantillon de sang.

Les principaux objectifs de cette étude sont les suivants: 1) déterminer si l'état immunologique périphérique des patients atteints de ChP diffère de celui des individus sains, 2) identifier les composants cellulaires impliqués dans l'état immunologique périphérique associé à la ChP, 3) déterminer si la réalisation d'un traitement parodontal standard permet le rétablissement de cette perturbation immunitaire périphérique.

La mise en évidence d'une modulation immunitaire périphérique responsable d'une réponse inflammatoire systémique aberrante due à la parodontite chronique permettrait de considérer la maladie parodontale comme un facteur de risque dans la pathogénèse des MICI. Le rétablissement de cette perturbation immunitaire périphérique suite à la réalisation d'un traitement parodontal permettrait de souligner la nécessité d'une prise en charge parodontale chez les populations à risque.

## 2. Matériel et méthode

- Design de l'étude :

Cette étude prospective a été menée à la faculté de médecine de l'Université de Stanford (Stanford, Californie). Le traitement des participants et le prélèvement des échantillons de sang ont été effectués au Bell Dental Center (San Leandro, Californie) après approbation du comité de révision institutionnelle de Stanford. Tous les participants ont signé un consentement éclairé. Les personnes âgées de plus de 18 ans et qui présentent une parodontite chronique (ChP) généralisée, modérée ou sévère, selon les critères du système de classification de l'Académie Américaine de Parodontologie (186), ont été considérées comme éligibles à l'inclusion dans la cohorte des patients. Les individus adultes sains et sans ChP ont été considérés comme éligibles à l'inclusion dans la cohorte contrôle.

Tous les participants ont reçu une prise de sang au moment du consentement, représentant la base de référence (BL). Un sous-groupe de participants de chaque cohorte d'étude (comprenant 7 individus contrôles et 9 patients atteints de ChP) a subi un traitement consistant en un détartrage et un surfaçage radiculaire pour la cohorte patient ou un détartrage prophylactique pour la cohorte contrôle, suivi d'instructions d'hygiène buccale spécifiques et d'une distribution d'un bain de bouche à 0,12% de Chlorhexidine. Une deuxième prise de sang a été réalisée trois semaines (3wk) après cette intervention (Fig. 1A). Les données démographiques des participants et l'état parodontal des patients sont respectivement énumérés dans les tableaux 1 et 2.

- Traitement des échantillons :

Les échantillons de sang total prélevés avant (BL) et 3 semaines (3wk) après l'application du traitement parodontal standard ont soit été non stimulés, soit stimulés pendant 15 minutes à 37° C avec l'une des quatre conditions de stimulation suivantes (Fig. 1A): le lipopolysaccharide (LPS) de *P. gingivalis* (PgLPS) à 1 µg/mL (InvivoGen); l'interféron (IFN)α à 100 ng/ml (PBL Assay Science); le TNFα à 100 ng/ml (PeproTech); ou un cocktail de cytokines contenant les interleukines (IL)-2/4/6 et le facteur stimulant les colonies de granulocytes-macrophages (GM-CSF) à raison de 100 ng/ml chacun (BD). Les échantillons stimulés ou non ont ensuite été fixés avec un stabilisateur protéomique (SmartTube Inc.) et stockés à -80° C jusqu'à utilisation ultérieure.

- Cytométrie de masse :

Les échantillons ont, suite à leur décongélation, été mis en suspension dans un tampon de lyse érythrocytaire hypotonique (SmartTube, Inc.) conformément aux instructions du fabricant. Les cellules isolées de chaque échantillon ont été taguées par code-barres (un code-barres spécifique définit un participant spécifique) comme décrit précédemment (187) puis réunies collectivement pour être ensuite marquées par un panel de 45 paramètres pour la caractérisation complète des activités des principaux sous-groupes de cellules immunitaires périphériques (Tableau S1). Le pool de cellules a ensuite été incubé avec un intercalant de l'ADN contenant de l'iridium (Fluidigm) pendant une nuit à 4° C. Le pool de cellules a ensuite été analysé au cytomètre de masse Helios (Fluidigm) en utilisant des billes de normalisation (188) puis normalisé collectivement en utilisant Normalizer v0.1 MATLAB Compiler Runtime (MathWorks). Le fichier normalisé a été décodé (décodage des codes-barres afin d'approprier chaque cellule à chaque participant correspondant) avec un outil de décodage intégré au logiciel MATLAB (189). La discrimination des sous-groupes de cellules immunitaires a ensuite été réalisée de façon manuelle en utilisant Cytobank (Figure S1). Les 18 types de cellules incluses dans l'analyse sont répertoriés dans le tableau S2.

Trois catégories de caractéristiques immunitaires ont ainsi été obtenues:

- Fréquence cellulaire: les numérations cellulaires sont exprimées en pourcentage de leucocytes pour les neutrophiles et en pourcentage de cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) pour tous les autres types de cellules immunitaires.
- Signalisations immunitaires endogènes: les activités de signalisation intracellulaires endogènes ont été mesurées à partir des échantillons sanguins non stimulés par analyse de l'intensité des protéines phosphorylées (p) pP38, pMAPKAPK2, pS6, NF- $\kappa$ B, pCREB, pERK1/2, pSTAT1, pSTAT3, pSTAT5, pSTAT6, et de la protéine I $\kappa$ B totale. Pour chaque type de cellule, l'activité est calculée comme la valeur transformée par la fonction  $\operatorname{argsinh}$  (argument sinus hyperbolique) de l'intensité de chaque protéine de signalisation phosphorylée.
- Signalisations immunitaires fonctionnelles: les activités de signalisation intracellulaire fonctionnelles ont été mesurées à partir des échantillons sanguins stimulés par 1  $\mu\text{g/mL}$  de *Pg*LPS, 100 ng/mL d'IFN $\alpha$ , 100 ng/mL de TNF $\alpha$  ou un cocktail de cytokines contenant 100 ng/mL d'IL-2/4/6 et de GM-CSF par analyse de l'intensité des protéines phosphorylées mentionnées précédemment. Pour chaque type de cellule, l'activité est calculée comme le rapport transformé par la fonction  $\operatorname{argsinh}$  (argument sinus hyperbolique) de l'intensité de chaque protéine de signalisation phosphorylée entre les conditions stimulées et non stimulées.

- Analyse statistique :

L'Elastic Net (190) est une méthode de régularisation et de sélection de caractéristiques particulièrement adaptée aux ensembles de données dans lesquelles les prédicteurs sont plus nombreux que les observations. Ici, le nombre de caractéristiques immunitaires mesurées (prédicteurs) dépasse largement le nombre de participants à l'étude (observations). La méthode Elastic Net (EN) dépendante de la signalisation cellulaire, ou cell-signaling Elastic Net (csEN), développée par Aghaeepour et al. (191), une adaptation de la méthode de régression régularisée EN, s'est avérée plus performante que l'algorithme EN existant. Ainsi, dans cette étude, nous avons adapté et inclus dans l'algorithme une matrice de pénalisation qui a précédemment été implémentée. Cette matrice de pénalisation est basée sur la signalisation cellulaire pour discriminer si chaque réponse de signalisation initiée après chaque stimulation est appuyée ou non par une connaissance bibliographique préalable des voies de transduction du signal (Tableau S2).

### 3. Résultats :

#### ***Profilage unicellulaire des réponses immunitaires périphériques chez les patients atteints de ChP***

Trente participants ont été inclus dans cette étude. Cela correspond à quinze individus contrôles et quinze patients atteints de ChP qui ont subi un traitement parodontal standard au Bell Dental Center (San Leandro, Californie) et à la Faculté de médecine de l'Université de Stanford (Stanford, CA). Un patient a été exclu de l'analyse en raison de la présence fortuite d'une maladie auto-immune et un contrôle a été exclu de l'analyse en raison du développement d'une infection de la main durant l'étude. Les données démographiques des participants et l'état parodontal clinique des patients sont respectivement présentés dans les tableaux 1 et 2.

Un sous-ensemble de 16 participants à l'étude a été suivi pendant 3 semaines après le traitement parodontal standard (Fig. 1A) consistant en un détartrage et surfaçage radiculaire (patients ChP, n = 9) ou une prophylaxie dentaire (contrôles, n = 7) associée à une transmission d'instructions d'hygiène buccale et une distribution de bain de bouche à 0,12% de Chlorhexidine.

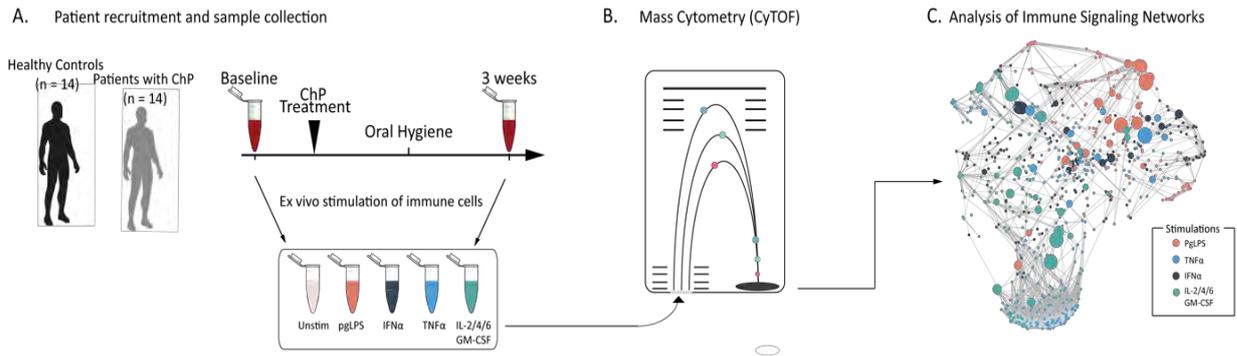
**Tableau 1. Données démographiques**

		<b>Patients with ChP (n = 14)</b>	<b>Healthy Controls (n = 14)</b>	<b>Test Significance</b>
<b>Age</b>	Mean (Range) ± SD	42.2 (29-61) ±10.5	36.5 (26-57) ± 8.07	t-test p = 0.12
<b>Sex</b>	Male (n) Female (n)	6 8	6 8	chi-square p = 1.00
<b>Race/Ethnicity n (%)</b>	African American Asian Caucasian Latino	2 (14%) 3 (21%) 0 (0%) 9 (64%)	2 (14%) 6 (43%) 3 (21%) 3 (21%)	chi-square p = 0.072
<b>Comorbidities</b>	Anemia Hypertension Morphea Thyroid Disease	1 1 0 1	0 0 1 0	

**Tableau 2. Données cliniques de la cohorte de patients**

<b>Periodontal Classification</b>	Generalized Moderate ChP (n)	10
	Generalized Severe ChP (n)	4
<b>Deepest Periodontal Pocket (mm)</b>	Mean $\pm$ SD	7.60 $\pm$ 1.12
<b>Largest Clinical Attachment Loss (mm)</b>	Mean $\pm$ SD	8.42 $\pm$ 1.73
Number of pockets $\geq$ 5mm	Median (Range)	36 (7-84)
<b>Number of teeth with furcation involvement</b>	Median (Range)	0 (0-2)
<b>Number of sites with radiographic calculus</b>	Median (Range)	8 (2-27)

Des échantillons de sang périphérique ont été prélevés au départ (n = 28 ; BL) et 3 semaines après le traitement parodontal standard (n=16 ; 3wk) et analysés en utilisant un protocole de cytométrie de masse comprenant 45 paramètres (tableau S1). Un total de 900 caractéristiques immunitaires ont été extraites de chaque échantillon sanguin incluant les fréquences des 18 sous-groupes de cellules immunitaires représentant les principaux compartiments innées et adaptatifs (Figure S2), les activités de signalisation intracellulaire endogènes et les activités de signalisation intracellulaire fonctionnelles en réponse à une série de stimulations immunitaires cellule- et récepteur-spécifiques (stimulation par *Pg*LPS, IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$  et un cocktail contenant IL-2, IL-4, IL-6 et GM-CSF) (Fig.1A). Ces caractéristiques immunitaires sont dérivées de mesures effectuées à partir d'échantillons de sang total ce qui a permis l'évaluation fonctionnelle de tous les sous-groupes de cellules immunitaires périphériques tout en minimisant les perturbations dues à des manipulations supplémentaires.

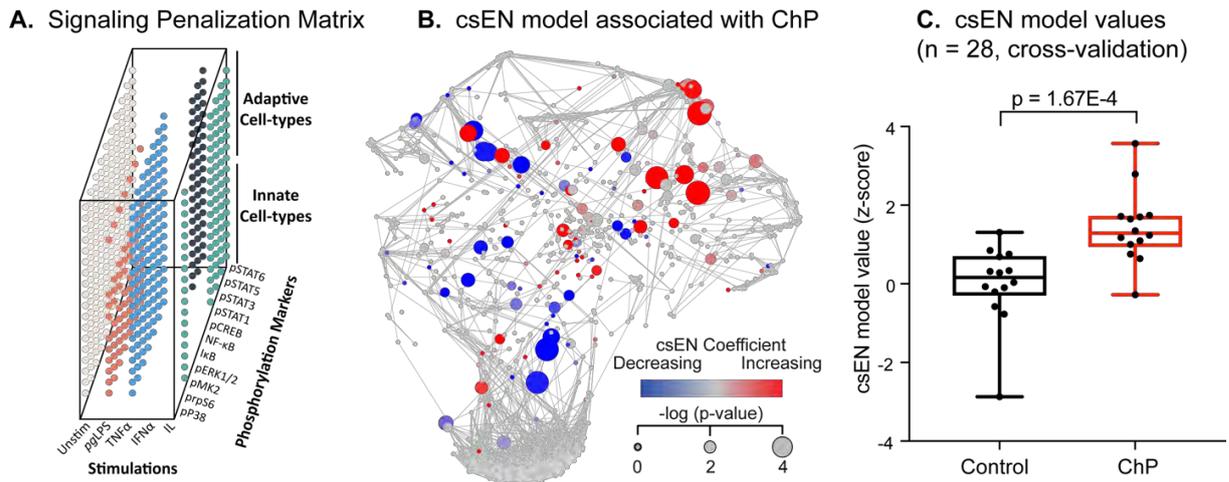


**Figure 1. Protocole expérimental et approche analytique.** (A) Des échantillons de sang périphérique provenant de 14 patients et 14 individus sains appariés ont été prélevés au départ (BL) avec un sous-groupe de participants (n=16) ayant subi la réalisation d'un traitement parodontal standard ainsi qu'un prélèvement sanguin supplémentaire 3 semaines (3wk) après le traitement. (B) Les échantillons de sang total ont soit été non stimulés, soit stimulés avec des ligands récepteur-spécifiques, incluant le lipopolysaccharide isolé de *P. gingivalis* (*pgLPS*), l'interféron (IFN)- $\alpha$ , le facteur de nécrose tumorale (TNF)- $\alpha$  et un cocktail de cytokines constitué de l'interleukine (IL)-2, IL-4, IL-6 et du facteur stimulant les colonies de granulocytes-macrophages (GM-CSF). Les échantillons ont été traités pour une analyse par cytométrie de masse. (C) L'analyse Elastic Net (EN) de l'ensemble de données de cytométrie de masse a formé un réseau de corrélation de caractéristiques immunitaires mettant en évidence des réponses de signalisation intracellulaires coordonnées associées à la ChP. Les nœuds sont colorés en fonction de la condition de stimulation indiquée.

### ***L'analyse des réseaux de signalisation immunitaire identifie une signature immunitaire périphérique de la ChP***

L'ensemble des données de cytométrie de masse a formé un réseau de corrélation mettant l'accent sur l'inter-connectivité des caractéristiques immunitaires mesurées (Fig. 1C). Ainsi, la nature fortement inter-corrélée des données de cytométrie de masse justifie l'utilisation de l'algorithme csEN (191). Cet algorithme intègre les connaissances préalables de l'activation des voies de signalisation cellule- et récepteur-spécifiques pour prioriser les caractéristiques de signalisation canoniques en adéquation avec les stimulations utilisées. Cette priorisation a été réalisée en intégrant dans l'analyse une matrice de pénalisation basée sur la signalisation cellulaire (Fig. 2A).

L'algorithme csEN a d'abord été appliqué à l'ensemble de données qui dérive de l'analyse par cytométrie de masse des échantillons de sang prélevés avant traitement parodontal (BL). Cet algorithme a identifié un modèle statistiquement rigoureux qui différencie les patients des individus contrôles en fonction de leur réponse au *PgLPS*, à l'IFN $\alpha$ , au TNF $\alpha$  et au cocktail de cytokines IL-2/4/6 et GM-CSF ( $p$ -value =  $1,673 \times 10^{-4}$ , Fig. 2A et 2B). Les composants de ce modèle sont visualisés sur le réseau de corrélation sous la forme de nœuds rouges qui représentent des réponses immunitaires accrues ou de nœuds bleus qui représentent des réponses immunitaires diminuées chez les patients atteints de ChP (Fig. 2B). Les caractéristiques individuelles sélectionnées par le modèle sont répertoriées dans le tableau S3.



**Figure 2. Une analyse Elastic Net basée sur la signalisation cellulaire (csEN) identifie les caractéristiques de signalisation immunitaire systémiques associées à la ChP avant traitement parodontal. (A)** Matrice de pénalisation basée sur la signalisation cellulaire précédemment mise en œuvre pour l'analyse csEN et qui permet de déterminer si la réponse de signalisation à chaque condition de stimulation est corroborée par une connaissance préalable des voies de transduction du signal. **(B)** Le CSEN a identifié des caractéristiques de signalisation immunitaire permettant de différencier les échantillons prélevés chez les patients atteints de ChP de ceux prélevés des individus contrôles au départ (BL). Chaque nœud est coloré par le coefficient attribué par le modèle. Le rouge/bleu indique des caractéristiques élevées/diminuées dans les échantillons des patients au départ (BL). La taille des nœuds est proportionnelle à la p-value de la différence entre la cohorte des patients et la cohorte contrôle (test de Wilcoxon rank-sum). **(C)** La valeur unique du modèle csEN attribué à chacun des 28 participants est représentée par chaque z-score du box-plot et cela démontre que le modèle différencie de manière significative les patients atteints de ChP des individus contrôles au départ de l'étude (BL).

L'analyse csEN a fourni un modèle multivarié robuste composé de réponses immunitaires périphériques - une signature immunitaire périphérique - étroitement associée à la ChP. Fait intéressant, une analyse de la fréquence des cellules immunitaires n'a démontrée aucune différence entre les échantillons de patients atteints de ChP et les individus contrôles, ce qui suggère que la lecture fonctionnelle des réponses immunitaires fournit davantage d'informations que l'évaluation de la distribution cellulaire seule afin de caractériser le statut immunologique des patients atteints de ChP. Ces résultats suggèrent que la ChP est associée à une dérégulation profonde des réponses immunitaires systémiques qui est détectable dans les échantillons de sang périphérique.

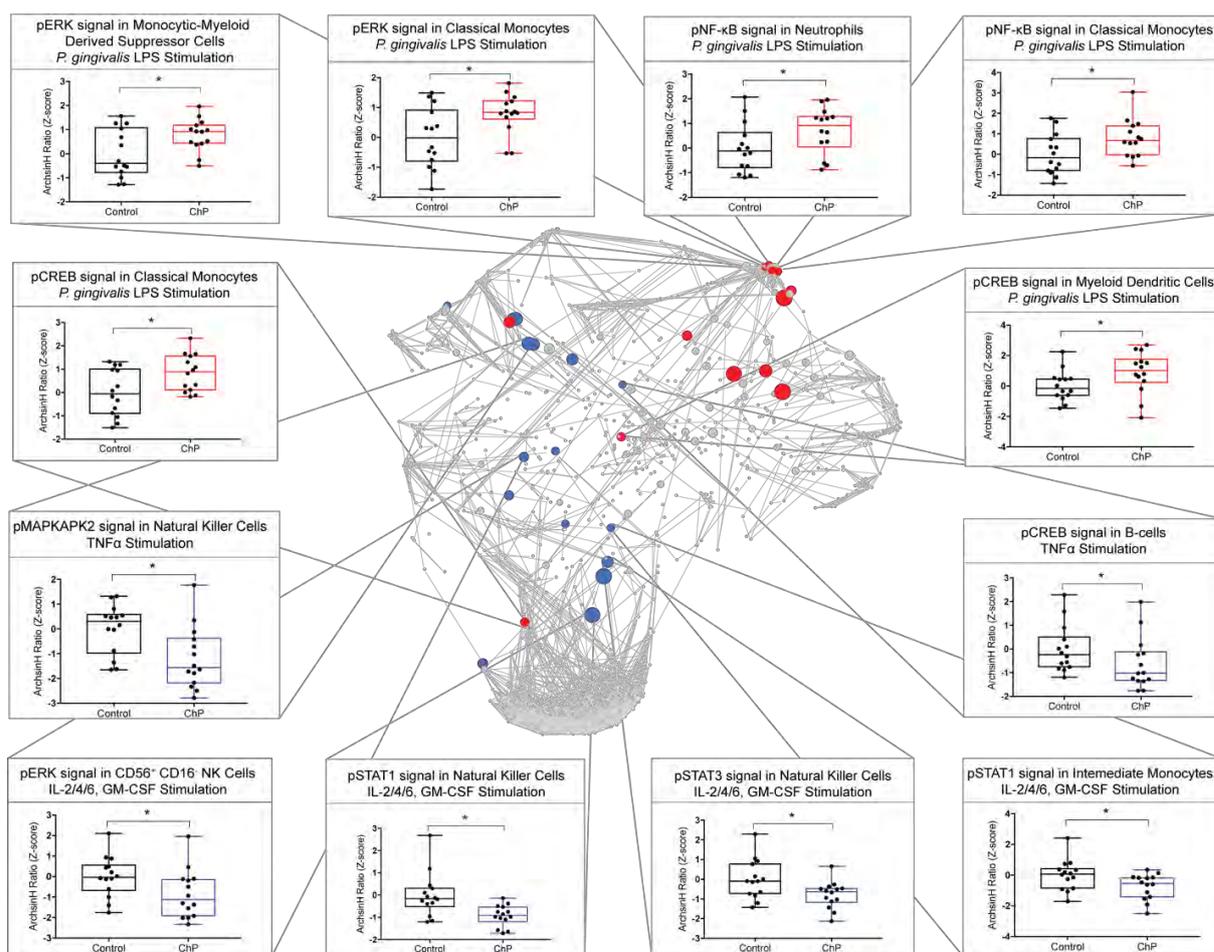
### ***La ChP est associée à des dysfonctionnements immunitaires périphériques profonds et cellule-spécifiques***

Pour évaluer plus en détail les implications biologiques de cette signature immunitaire, les caractéristiques immunitaires constituant le modèle csEN ont été examinées individuellement. Les composants du modèle csEN ont été classés en fonction de la force de leur association avec la ChP [-log (p-value), test Wilcoxon rank-sum]. Sur les 37 composants csEN qui diffèrent entre les patients atteints de ChP et les individus contrôles en analyse univariée, la majorité sont des réponses de signalisation au cocktail de cytokines (40%) et au *Pg*LPS (35%). Les réponses de signalisation des cellules immunitaires innées représentent 76% de ces caractéristiques, incluant les cellules NK, les monocytes, les cellules dendritiques et les neutrophiles. Tandis que 34% sont des réponses de signalisation dans les cellules immunitaires adaptatives, comprenant les lymphocytes T<sub>naïfs</sub> CD8+, les lymphocytes T<sub>mémoires</sub> CD4+, les lymphocytes T CD45RA+ Tbet+ CD4+, les lymphocytes T CD45RA- Tbet+ CD4+ (Th1) et les lymphocytes B.

17 de ces 37 caractéristiques sont des caractéristiques de réponses canoniques dont l'activation des voies de signalisation en réponse à des stimulations spécifiques est préalablement connue (représentées en gras dans le tableau S4). Les 20 autres caractéristiques sont des réponses non canoniques ce qui suggère que les stimulations utilisées ont induits des réponses de signalisation intracellulaires croisées et indépendantes du récepteur ciblé dans les compartiments innés et adaptatifs.

6 des 17 caractéristiques de réponses canoniques représentent une réponse de différentes cellules immunitaires innées au *Pg*LPS chez les patients atteints de ChP. Cela inclut une augmentation de l'intensité de pCREB, NF-κB et pERK dans les monocytes classiques, NF-κB dans les neutrophiles, pCREB dans les cellules dendritiques myéloïdes et pERK dans les cellules myéloïdes suppressives monocytiques (mMDSC). Ces réponses de signalisation à la stimulation par le *Pg*LPS sont toutes augmentées chez les patients atteints de ChP par rapport aux individus contrôles (Fig. 3). Cela suggère que la ChP est associée à des réponses de signalisation relatives aux récepteurs TLR-2/4 qui sont exacerbées dans les cellules immunitaires innées périphériques.

Contrairement aux réponses de signalisation au *Pg*LPS, les composants du modèle csEN représentant les réponses de signalisation aux stimulations TNFα, IFNα ou IL-2/4/6 et GM-CSF sont diminuées chez les patients atteints de ChP par rapport aux individus contrôles (Fig. 3). Ces composants csEN incluent une diminution de la réponse de signalisation pMAPKAPK2 au TNFα et des réponses de signalisation pSTAT1, pSTAT3 et pERK à l'IL-2/4/6 et au GM-CSF dans des sous-ensembles de cellules NK, une diminution de la réponse de signalisation pSTAT1 à l'IL-2/4/6 et au GM-CSF dans les monocytes intermédiaires, et une diminution de la réponse de signalisation pCREB au TNFα dans les lymphocytes B.



**Figure 3. Le modèle csEN révèle des altérations immunitaires systémiques associées à la ChP qui sont rétablis après traitement parodontal. (Centre)** Réseau immunitaire mettant en évidence les composants individuels canoniques du modèle csEN qui diffèrent significativement avant (BL) mais plus après traitement parodontal (3wk) chez les patients atteints de ChP. Un nœud rouge représente une réponse élevée tandis qu'un nœud bleu représente une réponse diminuée chez les patients atteints de ChP. Les composants du modèle csEN qui ne sont pas modifiés par le traitement sont grisés. **(Périphérie)** Box-plots représentant les composants individuels canoniques du modèle csEN au départ (BL) qui sont rétablis par le traitement parodontal (rapport arsinh des échantillons stimulés par rapport aux échantillons non stimulés, Z-score).

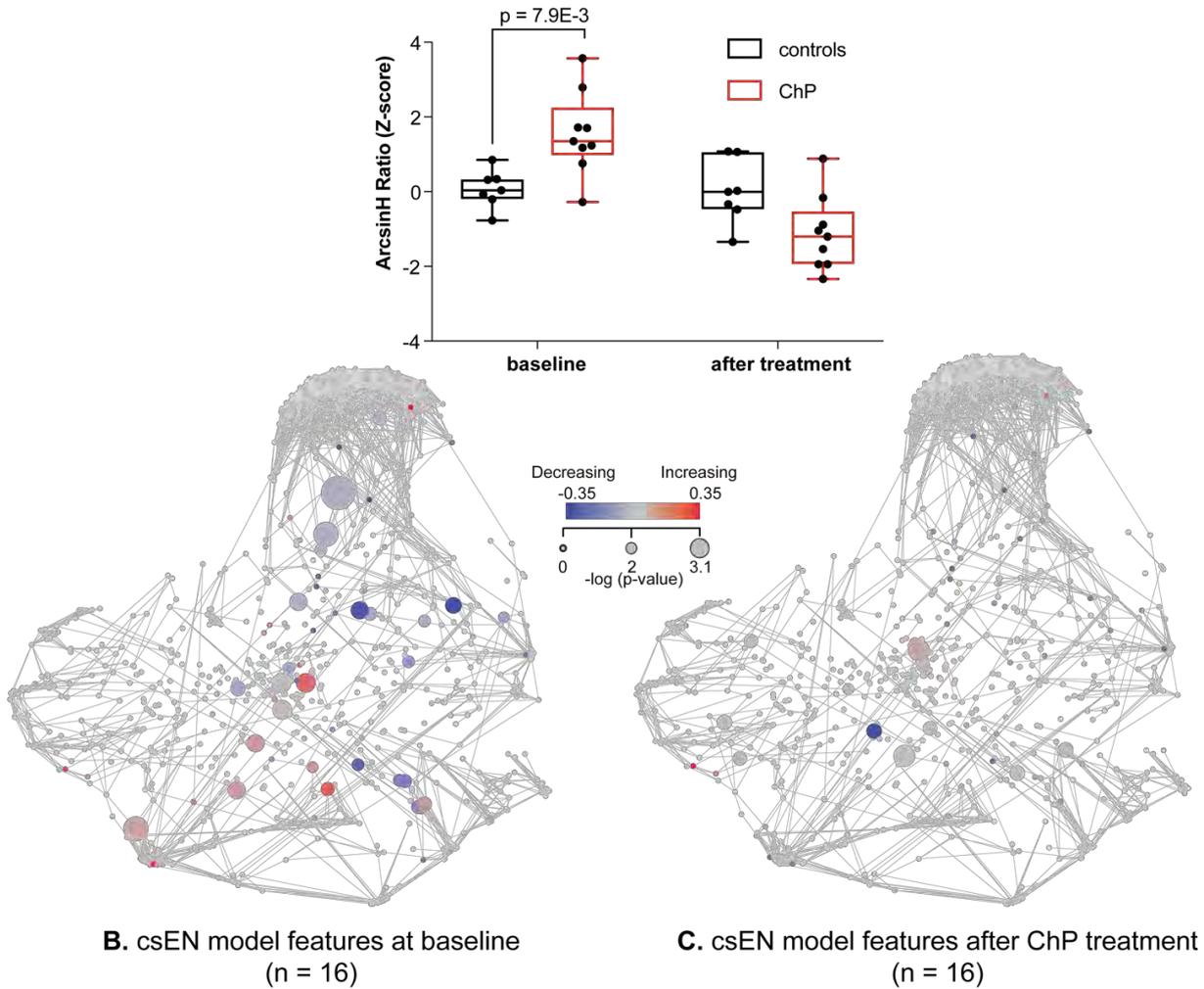
Ces résultats suggèrent que la capacité de sous-ensembles de cellules immunitaires spécifiques à répondre à un challenge inflammatoire est altérée dans les échantillons de sang périphérique de patients atteints de ChP. Les dysfonctionnements immunitaires les plus importants sont observés dans les cellules immunitaires innées et comprennent une exacerbation des réponses TLR2/4 au *Pg*LPS et une diminution des réponses de signalisation au TNF $\alpha$ , à l'IFN $\alpha$  et à l'IL-2/4/6/GM-CSF. Il est important de noter que les composants individuels du modèle csEN identifiés ici ne sont ni significativement associés au sexe (t-test d'échantillons indépendants), ni à la race (1-way ANOVA) et ni à l'âge (corrélations de Pearson) du patient (Bonferroni-corrected  $\alpha = 0,0014$ ).

Cependant, nous reconnaissons que d'autres variables cliniques ou démographiques potentiellement associées à la ChP et qui n'ont pas été prises en compte dans l'étude, telles que la nutrition, le statut socio-économique ou une maladie non diagnostiquée, peuvent affecter les réponses des cellules immunitaires périphériques. Pour déterminer si les différences observées dans les réponses immunitaires entre les patients atteints de ChP et les individus contrôles résultent spécifiquement de la dysbiose orale caractéristique de la ChP, les réponses immunitaires ont de nouveau été examinées trois semaines (3wk) après la réalisation d'un traitement parodontal standard chez un sous-ensemble de patients.

***Les dysfonctions immunitaires périphériques associées à la ChP disparaissent après la réalisation d'un traitement parodontal.***

16 participants ont reçu un traitement clinique adapté à leur statut parodontal consistant en un détartrage et surfaçage radiculaire (patients) ou une prophylaxie dentaire (individus contrôles), des instructions d'hygiène buccale ainsi qu'un bain de bouche à la Chlorhexidine dans le but de réduire l'inflammation et la charge bactérienne sous et supra-gingivales. Des échantillons de sang total ont été prélevés trois semaines (3wk) après le traitement clinique et analysés par cytométrie de masse. Le modèle csEN formé sur l'ensemble de données immunologiques provenant des 28 participants de départ (BL) a été appliqué à l'ensemble de données obtenu à partir de l'analyse d'échantillons de sang prélevés chez les 16 participants ayant subi le traitement clinique. Cette analyse csEN a fourni une valeur unique par participant avant et après le traitement de la ChP. Ces données montrent que les valeurs du modèle csEN étaient significativement différentes chez les patients atteints de ChP par rapport aux individus contrôles ( $p$ -value =  $7,9 \times 10^{-3}$  ; Fig. 4A) au départ (BL) mais que cette différence n'existait plus après la réalisation du traitement parodontal. Ce changement est visualisé sur les réseaux de corrélation formés à partir des 16 participants ayant subi le traitement parodontal (Fig. 4A et B). Les différences de signalisation entre les deux cohortes de l'étude sont plus importantes au départ (Fig. 4B) qu'à trois semaines après le traitement (Fig. 4C). Ces résultats suggèrent que la signature immunitaire systémique de la ChP identifiée dans cette étude est conduite, au moins en partie, par des processus pathologiques locaux qui sont rétablis après traitement parodontal.

### A. csEN model values before and after ChP treatment



**Figure 4. Le traitement parodontal standard modifie certains aspects de la manifestation immunitaire systémique de la ChP. (A)** Box-plot représentant les valeurs attribuées par le modèle csEN aux patients atteints de ChP et aux individus contrôles avant et après la réalisation d'un traitement parodontal. Les valeurs du csEN attribuées aux patients atteints de ChP sont augmentées avant ( $n = 16$ , test de Wilcoxon rank-sum  $p = 7,9 \times 10^{-3}$ ) mais plus après le traitement parodontal (test de Wilcoxon ;  $p = 1,67 \times 10^{-4}$ ). **(B-C)** Représentation graphique des valeurs des composants du modèle csEN pour les 16 participants ayant subi un traitement parodontal. Les nœuds sont colorés par la différence des médianes des activités de signalisation (transformation arcsinh) entre les patients atteints de ChP et les individus contrôles. La taille des nœuds varie en fonction de la p-value (test de Wilcoxon rank-sum, unilatéral). **B.** Avant le traitement parodontal. **C.** Après le traitement parodontal.

#### **4. Discussion**

Cette étude a introduit une nouvelle application de la technologie de cytométrie de masse afin de fournir une analyse approfondie des manifestations immunologiques systémiques se produisant chez les patients atteints de ChP, avant et trois semaines après la réalisation d'un traitement parodontal. L'analyse csEN des réseaux de signalisation immunitaire a identifié un modèle csEN statistiquement rigoureux composé de réponses immunitaires périphériques qui permet de classer avec précision les patients atteints de ChP et les individus contrôles présentant un parodonte sain. Ces résultats mettent en lumière la présence d'une signature immunitaire périphérique de la ChP qui spécifie l'état inflammatoire systémique des patients atteints par la maladie parodontale.

L'analyse longitudinale des réponses immunitaires périphériques avant et après traitement parodontal a révélé une plasticité remarquable du système immunitaire périphérique chez les patients atteints de ChP. De manière générale, le résultat de toutes les réponses immunitaires mesurées et capturées par l'analyse csEN différenciait fortement les patients atteints de ChP des individus contrôles au départ de l'étude. Cependant, les différences de valeurs du modèle csEN entre les individus contrôles et les patients ont été nettement réduites 3 semaines après la prise en charge parodontale. Ces résultats suggèrent que les perturbations immunologiques périphériques observées avant la réalisation du traitement sont imputables à la ChP, plutôt qu'à des comorbidités cliniques ou démographiques non prises en compte dans cette étude. Ces résultats soulignent également la capacité du système immunitaire périphérique des patients atteints de ChP de passer d'un état dysfonctionnel à un état relativement normal après une intervention de trois semaines ciblant les manifestations locales de la ChP (192).

De manière intéressante, bien que les réponses immunitaires périphériques soient en moyenne similaires entre les patients et les individus contrôles après la réalisation du traitement parodontal, il existe une variabilité élevée entre les patients. Cette variabilité peut refléter des états immunologiques spécifiques à un patient qui sous-tendrait à des différences individuelles dans l'expression physiopathologique de la ChP.

L'état inflammatoire systémique des patients atteints de ChP repose sur l'intégration de millions d'événements immunitaires interconnectés. La capacité de quantifier simultanément ces événements immunitaires à l'échelle monocellulaire n'a été que récemment possible avec le développement de technologies d'analyse monocellulaires telles que la cytométrie de masse. Cependant, le grand ensemble de données immunologiques dérivées de l'analyse par cytométrie de masse d'échantillons cliniques pose plusieurs problèmes de calcul. Le premier défi est dû au nombre de caractéristiques immunitaires mesurées, qui dépasse largement la taille de l'échantillon et conduit à des découvertes faussement positives. Le deuxième défi est dû à la nature hautement corrélée des événements immunologiques, qui reflète les interactions coordonnées entre les cellules immunitaires (193). L'analyse csEN, qui a récemment démontré qu'elle surpasse d'autres méthodes couramment utilisées dans l'analyse de jeux de données de cytométrie de masse à haute dimension (191), permet de relever ces deux défis.

Cette analyse csEN a révélé des réponses immunitaires spécifiques qui différaient entre les patients atteints de ChP et les individus contrôles. Dix-sept de ces caractéristiques immunitaires identifiées ont été activées le long de voies de signalisation canoniques en réponse à des stimulations spécifiques de récepteurs. D'autres réponses immunitaires associées à la ChP pointaient sur des réponses de signalisation non canoniques, telles que STAT5 et STAT6 dans les cellules immunitaires innées en réponse à la stimulation par le *Pg*LPS, ou STAT6 dans les cellules NK en réponse au TNF $\alpha$ , reflétant vraisemblablement un dialogue intracellulaire entre voies de signalisation ou des communications cellule-cellule.

Les composants les plus informatifs de la signature immunitaire de la ChP comprennent des éléments de signalisation TLR2/4 en réponse au *Pg*LPS dans plusieurs types de cellules immunitaires innées. La stimulation des échantillons de sang périphérique avec du *Pg*LPS a entraîné une activation de pNF- $\kappa$ B (neutrophiles, monocytes classique), de pCREB (monocytes classiques, cellules dendritiques myéloïdes) et de pERK (monocytes classiques, cellules myéloïdes suppressives monocytiques) par rapport aux individus contrôles. Ces résultats sont en accord avec les rapports antérieurs indiquant une exacerbation de l'activation des neutrophiles dans les tissus gingivaux locaux ainsi que dans le sang périphérique de patients atteints de ChP (109). Par exemple, Ling et al. ont observé une augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, IL-8 et IL-1 $\beta$ , par les neutrophiles périphériques en réponse à *P.gingivalis* chez des patients atteints de ChP (194). L'augmentation des réponses de signalisation au *Pg*LPS suggère un effet de « priming » de la ChP sur les cellules immunitaires innées périphériques, peut-être par une régulation à la hausse des récepteurs TLR2 et TLR4. Il reste à déterminer si le « priming » observé résulte d'une exposition chronique à des agents pathogènes parodontaux présents dans la circulation sanguine ou indirectement, à la libération chronique de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  à partir des tissus parodontaux.

D'autres découvertes sont inattendues. Par exemple, contrairement aux réponses innées augmentées après stimulation des cellules immunitaires par *Pg*LPS, une atténuation des réponses de signalisation aux cytokines pro-inflammatoires TNF $\alpha$  et IL-2/4/6, GM-CSF a été observée dans les cellules NK, les monocytes intermédiaires et les lymphocytes B. Ces observations étaient particulièrement retrouvées dans les cellules NK. Les réponses des cellules NK chez les patients ChP ont été caractérisées par une diminution de pMAPKAPK2 et de pCREB en réponse au TNF $\alpha$ , ainsi que par une diminution de pSTAT1, de pSTAT3 et de pERK en réponse à l'IL-2/4/6, GM-CSF. La littérature sur les cellules NK est principalement axée sur les mécanismes locaux et suggère que l'activité des cellules NK favorise la destruction parodontale. Chez les souris, les agents pathogènes parodontaux peuvent activer la sécrétion d'IFN $\gamma$  et de TNF $\alpha$  par les cellules NK, ce qui entraîne la stimulation des fibroblastes et des ostéoclastes, puis la dégradation de la matrice extracellulaire et de l'os alvéolaire (195). Ces études indiquent également une expansion des cellules NK dans les tissus parodontaux locaux (196). Nos résultats concernant la diminution de la fonction des cellules NK périphériques chez les patients atteints de ChP suggèrent que l'évaluation de la réponse des cellules NK dans la circulation peut ne pas refléter leur fonction locale.

En revanche, l'anergie relative des cellules NK observée dans le sang périphérique des patients atteints de ChP peut être impliquée dans la pathogenèse de maladies systémiques liées à la parodontite, telles que les infections systémiques (endocardite, pneumonie) et les tumeurs malignes (197).

L'étude a certaines limites. Le petit échantillon (n = 28) recruté dans une seule clinique peut ne pas représenter la population générale. Des études ultérieures sur des échantillons plus importants provenant de plusieurs sites cliniques seront nécessaires pour valider ces résultats. Comme toutes les comorbidités et les facteurs de confusion potentiels ne peuvent pas être éliminés, une étude établissant un lien entre la pathologie parodontale et la réponse immunitaire périphérique sera essentielle à l'avenir pour mieux comprendre le dysfonctionnement systémique. De plus, étant donné que l'état parodontal a tendance à rechuter en l'absence de traitement d'entretien oral fréquent, nous nous attendons à ce que la signature immunitaire de la ChP soit réapparue sur une période de plusieurs semaines à plusieurs mois, ce qui n'est pas pris en compte dans la présente étude avec un suivi de trois semaines seulement. Bien que la cytométrie de masse permette de mesurer plus de 40 paramètres par cellule, la liste des marqueurs phénotypiques et des réponses de signalisation testées n'est pas exhaustive, pas plus que le panel de stimulations. Cependant, cette approche fournit le cadre analytique pour élargir le criblage immunologique afin de permettre l'évaluation de tous les dysfonctionnements des cellules immunitaires associées à la ChP.

Ainsi, notre étude a révélée des dysfonctionnements systémiques des cellules immunitaires chez les patients atteints de ChP et a démontré que ces perturbations sont rétablies par la réalisation d'un traitement parodontal. Cela met en avant la réversibilité de la signature immunitaire périphérique de la ChP. Les résultats ici présents soulignent la nécessité d'une prise en charge parodontale afin de prévenir la progression systémique de la ChP dans les populations à risque.

## Conclusion

Une relation microbiote/hôte équilibrée est une relation nécessaire et favorable au maintien de la santé tout le long de la vie. En conséquence, une dysbiose, qui se traduit par une altération qualitative et fonctionnelle d'un microbiote, est une piste permettant de comprendre l'origine de certaines maladies sous-tendues par des mécanismes inflammatoires.

Ainsi, la mise en place d'une relation symbiotique avec nos microbiotes, qui intervient dès la naissance, est nécessaire au développement correct et à la fonction de notre système immunitaire. Cependant, le maintien de cette relation durant l'enfance et la vie adulte peut notamment être perturbé par des facteurs environnementaux comme l'alimentation ou l'exposition aux antibiotiques.

Une perturbation de cette relation est observée dans la parodontite chronique et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Ces pathologies, pour lesquelles il existe une association épidémiologique, présentent aussi des mécanismes physiopathologiques similaires. Ces mécanismes sont traduits par une dysbiose des microbiotes respectifs associée à une hyperactivation du système immunitaire menant à une inflammation chronique non résolue responsable de la destruction des tissus associés.

Il existe une interaction pathogénique complexe entre la maladie parodontale et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. En effet, une pathologie peut influencer sur le développement de l'autre via sa composante microbienne et inflammatoire. Cela se traduit par l'établissement d'une altération du microbiote et d'une inflammation exacerbée. Cependant, les données actuelles proviennent de résultats préliminaires majoritairement issus de modèles animaux et cela reste à confirmer chez l'Homme.

Cependant, les résultats de la partie expérimentale démontrent que les patients atteints de parodontite chronique présentent une perturbation des réponses immunitaires périphériques responsable d'une inflammation systémique chronique. Cette perturbation serait favorable à l'établissement de réponses immunitaires aberrantes à des éléments du microbiote intestinal et au développement de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. La réalisation d'un traitement parodontal chez ces patients permet de restaurer cette perturbation immunitaire périphérique, ce qui souligne la nécessité d'une prise en charge parodontale chez les populations à risque.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Drell T, Štšepetova J, Simm J, Rull K, Aleksejeva A, Antson A, et al. The Influence of Different Maternal Microbial Communities on the Development of Infant Gut and Oral Microbiota. *Sci Rep* [Internet]. 30 août 2017 [cité 23 mai 2018];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5577157/>
2. Macpherson AJ, Agüero MG de, Ganal-Vonarburg SC. How nutrition and the maternal microbiota shape the neonatal immune system. *Nat Rev Immunol*. août 2017;17(8):508.
3. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis* [Internet]. 2 févr 2015 [cité 23 mai 2018];26. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4315782/>
4. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe*. 13 mai 2015;17(5):690-703.
5. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLOS Biol*. 26 juin 2007;5(7):e177.
6. Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, Henderson N, Jay M, Li H, et al. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Sci Transl Med*. 15 juin 2016;8(343):343ra82.
7. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 29 juin 2010;107(26):11971-5.
8. Avershina E, Storrø O, Øien T, Johnsen R, Pope P, Rudi K. Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children. *FEMS Microbiol Ecol*. 1 janv 2014;87(1):280-90.
9. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 mars 2011;108(Suppl 1):4578-85.
10. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res*. mars 2013;69(1):1-10.
11. Hanson LA. Session 1: Feeding and infant development breast-feeding and immune function. *Proc Nutr Soc*. août 2007;66(3):384-96.
12. Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schütte UME, Beck DL, Abdo Z, et al. Characterization of the Diversity and Temporal Stability of Bacterial Communities in Human Milk. *PLoS ONE* [Internet]. 17 juin 2011 [cité 29 mai 2018];6(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3117882/>
13. OMS | Allaitement [Internet]. WHO. [cité 23 mai 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/topics/breastfeeding/fr/>

14. Chu DM, Ma J, Prince AL, Antony KM, Seferovic MD, Aagaard KM. Maturation of the Infant Microbiome Community Structure and Function Across Multiple Body Sites and in Relation to Mode of Delivery. *Nat Med.* mars 2017;23(3):314-26.
15. Bäckhed F. Programming of Host Metabolism by the Gut Microbiota. *Ann Nutr Metab.* 2011;58(Suppl. 2):44-52.
16. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(5):1035S-1045S.
17. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J.* 1 juin 2017;474(11):1823-36.
18. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut.* avr 2014;63(4):559-66.
19. Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, Qamar S, Petrof EO, Sun J, et al. 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J.* août 2009;3(8):944-54.
20. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol.* janv 2016;14(1):20-32.
21. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 23 janv 2014;505(7484):559-63.
22. NIH Human Microbiome Project - Home [Internet]. [cité 26 mai 2018]. Disponible sur: <https://hmpdacc.org/>
23. Methé BA, Nelson KE, Pop M, Creasy HH, Giglio MG, Huttenhower C, et al. A framework for human microbiome research. *Nature.* 13 juin 2012;486(7402):215-21.
24. Zaura E, Nicu EA, Krom BP, Keijser BJB. Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 26 juin 2014 [cité 27 mai 2018];4. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4071637/>
25. Cephas KD, Kim J, Mathai RA, Barry KA, Dowd SE, Meline BS, et al. Comparative Analysis of Salivary Bacterial Microbiome Diversity in Edentulous Infants and Their Mothers or Primary Care Givers Using Pyrosequencing. *PLOS ONE.* 10 août 2011;6(8):e23503.
26. Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome. *Nature.* 13 juin 2012;486(7402):207-14.
27. Zaura E, Keijser BJ, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy « core microbiome » of oral microbial communities. *BMC Microbiol.* 15 déc 2009;9:259.
28. Keijser BJB, Zaura E, Huse SM, van der Vossen JMBM, Schuren FHJ, Montijn RC, et al. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J Dent Res.* nov 2008;87(11):1016-20.
29. Nasidze I, Li J, Quinque D, Tang K, Stoneking M. Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Res.* avr 2009;19(4):636-43.

30. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *J Clin Microbiol.* nov 2005;43(11):5721-32.
31. Avershina E, Storrø O, Øien T, Johnsen R, Wilson R, Egeland T, et al. Bifidobacterial Succession and Correlation Networks in a Large Unselected Cohort of Mothers and Their Children. *Appl Environ Microbiol.* janv 2013;79(2):497-507.
32. Microbiote intestinale (flore intestinale) [Internet]. Inserm. [cité 24 mai 2018]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinale-flore-intestinale>
33. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science.* 25 mars 2005;307(5717):1915-20.
34. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time. *Science.* 18 déc 2009;326(5960):1694-7.
35. Pérez-Cobas AE, Gosalbes MJ, Friedrichs A, Knecht H, Artacho A, Eismann K, et al. Original article: Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach. *Gut.* nov 2013;62(11):1591.
36. FindIt@Stanford - Lane Medical Library: Evolution, human-microbe interactions, and life history plasticity. [Internet]. [cité 16 nov 2017]. Disponible sur: <http://sfx.stanford.edu/local?sid=Entrez:PubMed&id=pmid:28792414>
37. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 17 août 2010;107(33):14691-6.
38. Sonnenburg ED, Sonnenburg JL. Starving our Microbial Self: The Deleterious Consequences of a Diet Deficient in Microbiota-Accessible Carbohydrates. *Cell Metab.* 4 nov 2014;20(5):779-86.
39. Sonnenburg ED, Smits SA, Tikhonov M, Higginbottom SK, Wingreen NS, Sonnenburg JL. Diet-induced extinction in the gut microbiota compounds over generations. *Nature.* 14 janv 2016;529(7585):212-5.
40. Belkaid Y, Hand T. Role of the Microbiota in Immunity and inflammation. *Cell.* 27 mars 2014;157(1):121-41.
41. Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science.* 29 avr 2016;352(6285):539-44.
42. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiome shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.* mai 2009;9(5):313-23.
43. Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol.* juin 2004;4(6):478-85.
44. Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science.* 8 juin 2012;336(6086):1268-73.
45. Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell.* 15 juill 2005;122(1):107-18.

46. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. Induction of Colonic Regulatory T Cells by Indigenous Clostridium Species. *Science*. 21 janv 2011;331(6015):337-41.
47. Lathrop SK, Bloom SM, Rao SM, Nutsch K, Lio C-W, Santacruz N, et al. Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature*. 21 sept 2011;478(7368):250-4.
48. Cebula A, Seweryn M, Rempala GA, Pabla SS, McIndoe RA, Denning TL, et al. Thymus-derived regulatory T cells control tolerance to commensal microbiota. *Nature*. 9 mai 2013;497(7448):258-62.
49. Crabbé PA, Nash DR, Bazin H, Eyssen H, Heremans JF. Immunohistochemical observations on lymphoid tissues from conventional and germ-free mice. *Lab Invest J Tech Methods Pathol*. mai 1970;22(5):448-57.
50. Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*. 29 mai 2008;453(7195):620-5.
51. Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 6 juill 2010;107(27):12204-9.
52. Wu H-J, Ivanov II, Darce J, Hattori K, Shima T, Umesaki Y, et al. Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells. *Immunity*. 25 juin 2010;32(6):815-27.
53. Wu H-J, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes*. 1 janv 2012;3(1):4-14.
54. Round JL, Lee SM, Li J, Tran G, Jabri B, Chatila TA, et al. The Toll-like receptor pathway establishes commensal gut colonization. *Science*. 20 mai 2011;332(6032):974-7.
55. Geuking MB, Cahenzli J, Lawson MAE, Ng DCK, Slack E, Hapfelmeier S, et al. Intestinal bacterial colonization induces mutualistic regulatory T cell responses. *Immunity*. 27 mai 2011;34(5):794-806.
56. Neu J, Walker WA. Necrotizing Enterocolitis. *N Engl J Med*. 20 janv 2011;364(3):255-64.
57. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*. mars 2014;14(3):141-53.
58. Hevia A, Delgado S, Sánchez B, Margolles A. Molecular Players Involved in the Interaction Between Beneficial Bacteria and the Immune System. *Front Microbiol* [Internet]. 18 nov 2015 [cité 29 mai 2018];6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4649051/>
59. Levy M, Thaiss CA, Elinav E. Metabolites: messengers between the microbiota and the immune system. *Genes Dev*. 15 juill 2016;30(14):1589-97.
60. FindIt@Stanford - Lane Medical Library: Integration of microbiome and epigenome to decipher the pathogenesis of autoimmune diseases. [Internet]. [cité 16 nov 2017]. Disponible sur: <http://sfx.stanford.edu/local?sid=Entrez:PubMed&id=pmid:28342734>
61. Smith PM, Howitt MR, Panikov N, Michaud M, Gallini CA, Bohlooly-Y M, et al. The microbial metabolites, short chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* [Internet]. 2 août 2013 [cité 24 mai 2018];341(6145). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3807819/>

62. Corrêa-Oliveira R, Fachi JL, Vieira A, Sato FT, Vinolo MAR. Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin Transl Immunol.* 22 avr 2016;5(4):e73.
63. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud D-J, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res.* sept 2013;54(9):2325-40.
64. Macfarlane S, Macfarlane GT. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc.* févr 2003;62(1):67-72.
65. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature.* 19 déc 2013;504(7480):446-50.
66. Chang PV, Hao L, Offermanns S, Medzhitov R. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 févr 2014;111(6):2247-52.
67. Zelante T, Iannitti RG, Cunha C, De Luca A, Giovannini G, Pieraccini G, et al. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. *Immunity.* 22 août 2013;39(2):372-85.
68. Blaser MJ. The theory of disappearing microbiota and the epidemics of chronic diseases [Internet]. *Nature Reviews Immunology.* 2017 [cité 16 nov 2017]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/nri.2017.77>
69. Renz H, Brandtzaeg P, Hornef M. The impact of perinatal immune development on mucosal homeostasis and chronic inflammation. *Nat Rev Immunol.* 9 déc 2011;12(1):9-23.
70. West CE, Jenmalm MC, Prescott SL. The gut microbiota and its role in the development of allergic disease: a wider perspective. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* janv 2015;45(1):43-53.
71. Azad MB, Bridgman SL, Becker AB, Kozyrskyj AL. Infant antibiotic exposure and the development of childhood overweight and central adiposity. *Int J Obes* 2005. oct 2014;38(10):1290-8.
72. Kilkinen A, Virtanen SM, Klaukka T, Kenward MG, Salkinoja-Salonen M, Gissler M, et al. Use of antimicrobials and risk of type 1 diabetes in a population-based mother-child cohort. *Diabetologia.* janv 2006;49(1):66-70.
73. Hviid A, Svanström H, Frisch M. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut.* janv 2011;60(1):49-54.
74. Arrieta M-C, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, Yurist-Doutsch S, et al. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci Transl Med.* 30 sept 2015;7(307):307ra152.
75. Metsälä J, Lundqvist A, Virta LJ, Kaila M, Gissler M, Virtanen SM. Mother's and offspring's use of antibiotics and infant allergy to cow's milk. *Epidemiol Camb Mass.* mars 2013;24(2):303-9.
76. Risnes KR, Belanger K, Murk W, Bracken MB. Antibiotic Exposure by 6 Months and Asthma and Allergy at 6 Years: Findings in a Cohort of 1,401 US Children. *Am J Epidemiol.* 1 févr 2011;173(3):310-8.

77. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* déc 2010;105(12):2687-92.
78. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic Exposure and IBD Development Among Children: A Population-Based Cohort Study. *Pediatrics.* oct 2012;130(4):e794-803.
79. Cox LM, Yamanishi S, Sohn J, Alekseyenko AV, Leung JM, Cho I, et al. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell.* 14 août 2014;158(4):705-21.
80. Simon AK, Hollander GA, McMichael A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proc R Soc B Biol Sci [Internet].* 22 déc 2015 [cité 26 mai 2018];282(1821). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4707740/>
81. Arrieta M-C, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The Intestinal Microbiome in Early Life: Health and Disease. *Front Immunol [Internet].* 5 sept 2014 [cité 24 mai 2018];5. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4155789/>
82. Penders J, Stobberingh EE, van den Brandt PA, Thijs C. The role of the intestinal microbiota in the development of atopic disorders. *Allergy.* nov 2007;62(11):1223-36.
83. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskin MA, et al. A Low-Abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease through the Commensal Microbiota and the Complement Pathway. *Cell Host Microbe.* 17 nov 2011;10(5):497-506.
84. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global Burden of Severe Periodontitis in 1990-2010. *J Dent Res.* nov 2014;93(11):1045-53.
85. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol.* déc 2012;27(6):409-19.
86. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N, Silva N, Burlinson JA, Strausbaugh LD, et al. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *ISME J.* mai 2013;7(5):1016-25.
87. Bosshardt DD, Lang NP. The junctional epithelium: from health to disease. *J Dent Res.* janv 2005;84(1):9-20.
88. Mahanonda R, Pichyangkul S. Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontol 2000.* 2007;43:41-55.
89. Ren L, Leung WK, Darveau RP, Jin L. The expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis. *J Periodontol.* nov 2005;76(11):1950-9.
90. Takahashi K, Sugi Y, Nakano K, Tsuda M, Kurihara K, Hosono A, et al. Epigenetic Control of the Host Gene by Commensal Bacteria in Large Intestinal Epithelial Cells. *J Biol Chem.* 14 oct 2011;286(41):35755-62.
91. Dutzan N, Konkel JE, Greenwell-Wild T, Moutsopoulos NM. Characterization of the human immune cell network at the gingival barrier. *Mucosal Immunol.* sept 2016;9(5):1163-72.

92. Hajishengallis E, Hajishengallis G. Neutrophil Homeostasis and Periodontal Health in Children and Adults. *J Dent Res.* mars 2014;93(3):231-7.
93. Kruger P, Saffarzadeh M, Weber ANR, Rieber N, Radsak M, von Bernuth H, et al. Neutrophils: Between Host Defence, Immune Modulation, and Tissue Injury. *PLoS Pathog* [Internet]. 12 mars 2015 [cité 26 mai 2018];11(3). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4357453/>
94. Landzberg M, Doering H, Aboodi GM, Tenenbaum HC, Glogauer M. Quantifying oral inflammatory load: oral neutrophil counts in periodontal health and disease. *J Periodontal Res.* juin 2015;50(3):330-6.
95. Figueredo CMS, Fischer RG, Gustafsson A. Aberrant neutrophil reactions in periodontitis. *J Periodontol.* juin 2005;76(6):951-5.
96. Sima C, Glogauer M. Neutrophil Dysfunction and Host Susceptibility to Periodontal Inflammation: Current State of Knowledge. *Curr Oral Health Rep.* 1 juin 2014;1(2):95-103.
97. Chapple ILC, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000.* 2007;43:160-232.
98. Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch CA. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodontal Res.* janv 1995;30(1):23-33.
99. Hernández M, Gamonal J, Tervahartiala T, Mäntylä P, Rivera O, Dezerega A, et al. Associations between matrix metalloproteinase-8 and -14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study. *J Periodontol.* nov 2010;81(11):1644-52.
100. Séguier S, Gogly B, Bodineau A, Godeau G, Brousse N. Is collagen breakdown during periodontitis linked to inflammatory cells and expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human gingival tissue? *J Periodontol.* oct 2001;72(10):1398-406.
101. Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL. TNF- $\alpha$  induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest.* 15 déc 2000;106(12):1481-8.
102. Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, et al. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res.* août 2003;38(4):380-7.
103. Hung S-L, Lee N-G, Chang L-Y, Chen Y-T, Lai Y-L. Stimulatory effects of glucose and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide on the secretion of inflammatory mediators from human macrophages. *J Periodontol.* janv 2014;85(1):140-9.
104. Hasturk H, Kantarci A, Van Dyke TE. Oral Inflammatory Diseases and Systemic Inflammation: Role of the Macrophage. *Front Immunol* [Internet]. 16 mai 2012 [cité 23 nov 2018];3. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3353263/>
105. Eskan MA, Jotwani R, Abe T, Chmelar J, Lim J-H, Liang S, et al. The leukocyte integrin antagonist Del-1 inhibits IL-17-mediated inflammatory bone loss. *Nat Immunol.* 25 mars 2012;13(5):465-73.

106. Gaffen SL, Jain R, Garg AV, Cua DJ. IL-23-IL-17 immune axis: Discovery, Mechanistic Understanding, and Clinical Testing. *Nat Rev Immunol*. sept 2014;14(9):585-600.
107. Cardoso CR, Garlet GP, Crippa GE, Rosa AL, Júnior WM, Rossi MA, et al. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol*. févr 2009;24(1):1-6.
108. Kikuta J, Wada Y, Kowada T, Wang Z, Sun-Wada G-H, Nishiyama I, et al. Dynamic visualization of RANKL and Th17-mediated osteoclast function. *J Clin Invest*. 1 févr 2013;123(2):866-73.
109. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol*. janv 2015;15(1):30-44.
110. Lamont RJ, Hajishengallis G. Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends Mol Med*. mars 2015;21(3):172-83.
111. Diaz PI, Hoare A, Hong B-Y. Subgingival Microbiome Shifts and Community Dynamics in Periodontal Diseases. *J Calif Dent Assoc*. juill 2016;44(7):421-35.
112. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res*. juill 1994;8(2):263-71.
113. Kumar PS, Leys EJ, Bryk JM, Martinez FJ, Moeschberger ML, Griffen AL. Changes in Periodontal Health Status Are Associated with Bacterial Community Shifts as Assessed by Quantitative 16S Cloning and Sequencing. *J Clin Microbiol*. oct 2006;44(10):3665-73.
114. Mombelli A, Casagni F, Madianos PN. Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2002;29 Suppl 3:10-21; discussion 37-38.
115. Darveau RP, Hajishengallis G, Curtis MA. *Porphyromonas gingivalis* as a Potential Community Activist for Disease. *J Dent Res*. sept 2012;91(9):816-20.
116. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The Keystone Pathogen Hypothesis. *Nat Rev Microbiol*. oct 2012;10(10):717-25.
117. Olsen I, Lambris JD, Hajishengallis G. *Porphyromonas gingivalis* disturbs host–commensal homeostasis by changing complement function. *J Oral Microbiol* [Internet]. 30 juin 2017 [cité 26 mai 2018];9(1). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5508361/>
118. Moutsopoulos NM, Kling HM, Angelov N, Jin W, Palmer RJ, Nares S, et al. *P. gingivalis* promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J Autoimmun*. déc 2012;39(4):294-303.
119. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the « red complex », a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000*. 2005;38:72-122.
120. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) [Internet]. Inserm. [cité 4 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/maladies-inflammatoires-chroniques-intestin-mici>
121. Indriolo A, Greco S, Ravelli P, Fagioli S. What can we learn about biofilm/host interactions from the study of inflammatory bowel disease. *J Clin Periodontol*. mars 2011;38 Suppl 11:36-43.

122. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*. janv 2012;142(1):46-54.e42; quiz e30.
123. Van Dyke TE, Dowell VR, Offenbacher S, Snyder W, Hersh T. Potential role of microorganisms isolated from periodontal lesions in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Infect Immun*. sept 1986;53(3):671-7.
124. Said HS, Suda W, Nakagome S, Chinen H, Oshima K, Kim S, et al. Dysbiosis of Salivary Microbiota in Inflammatory Bowel Disease and Its Association With Oral Immunological Biomarkers. *DNA Res Int J Rapid Publ Rep Genes Genomes*. févr 2014;21(1):15-25.
125. Stein JM, Lammert F, Zimmer V, Granzow M, Reichert S, Schulz S, et al. Clinical periodontal and microbiologic parameters in patients with Crohn's disease with consideration of the CARD15 genotype. *J Periodontol*. avr 2010;81(4):535-45.
126. Rezaie A, Khalaj S, Shabihkhani M, Nikfar S, Zamani MJ, Mohammadirad A, et al. Study on the correlations among disease activity index and salivary transforming growth factor-beta 1 and nitric oxide in ulcerative colitis patients. *Ann N Y Acad Sci*. janv 2007;1095:305-14.
127. Pizarro TT, Cominelli F. Cytokine therapy for Crohn's disease: advances in translational research. *Annu Rev Med*. 2007;58:433-44.
128. Garlet GP, Martins W, Fonseca BAL, Ferreira BR, Silva JS. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *J Clin Periodontol*. août 2004;31(8):671-9.
129. Szczeklik K, Owczarek D, Pytko-Polończyk J, Kęsek B, Mach TH. Proinflammatory cytokines in the saliva of patients with active and non-active Crohn's disease. *Pol Arch Med Wewn*. 2012;122(5):200-8.
130. Ardizzone S, Bollani S, Bettica P, Bevilacqua M, Molteni P, Bianchi Porro G. Altered bone metabolism in inflammatory bowel disease: there is a difference between Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Intern Med*. janv 2000;247(1):63-70.
131. Kojima A, Nakano K, Wada K, Takahashi H, Katayama K, Yoneda M, et al. Infection of specific strains of *Streptococcus mutans*, oral bacteria, confers a risk of ulcerative colitis. *Sci Rep [Internet]*. 26 mars 2012 [cité 29 juin 2018];2. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3312205/>
132. Strauss J, Kaplan GG, Beck PL, Rioux K, Panaccione R, Deviney R, et al. Invasive potential of gut mucosa-derived *Fusobacterium nucleatum* positively correlates with IBD status of the host. *Inflamm Bowel Dis*. sept 2011;17(9):1971-8.
133. Ismail Y, Mahendran V, Octavia S, Day AS, Riordan SM, Grimm MC, et al. Investigation of the Enteric Pathogenic Potential of Oral *Campylobacter concisus* Strains Isolated from Patients with Inflammatory Bowel Disease. *PLOS ONE*. 30 mai 2012;7(5):e38217.
134. Kostic AD, Chun E, Robertson L, Glickman JN, Gallini CA, Michaud M, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe*. 14 août 2013;14(2):207-15.
135. Mima K, Nishihara R, Qian ZR, Cao Y, Sukawa Y, Nowak JA, et al. *Fusobacterium nucleatum* in colorectal carcinoma tissue and patient prognosis. *Gut*. 2016;65(12):1973-80.

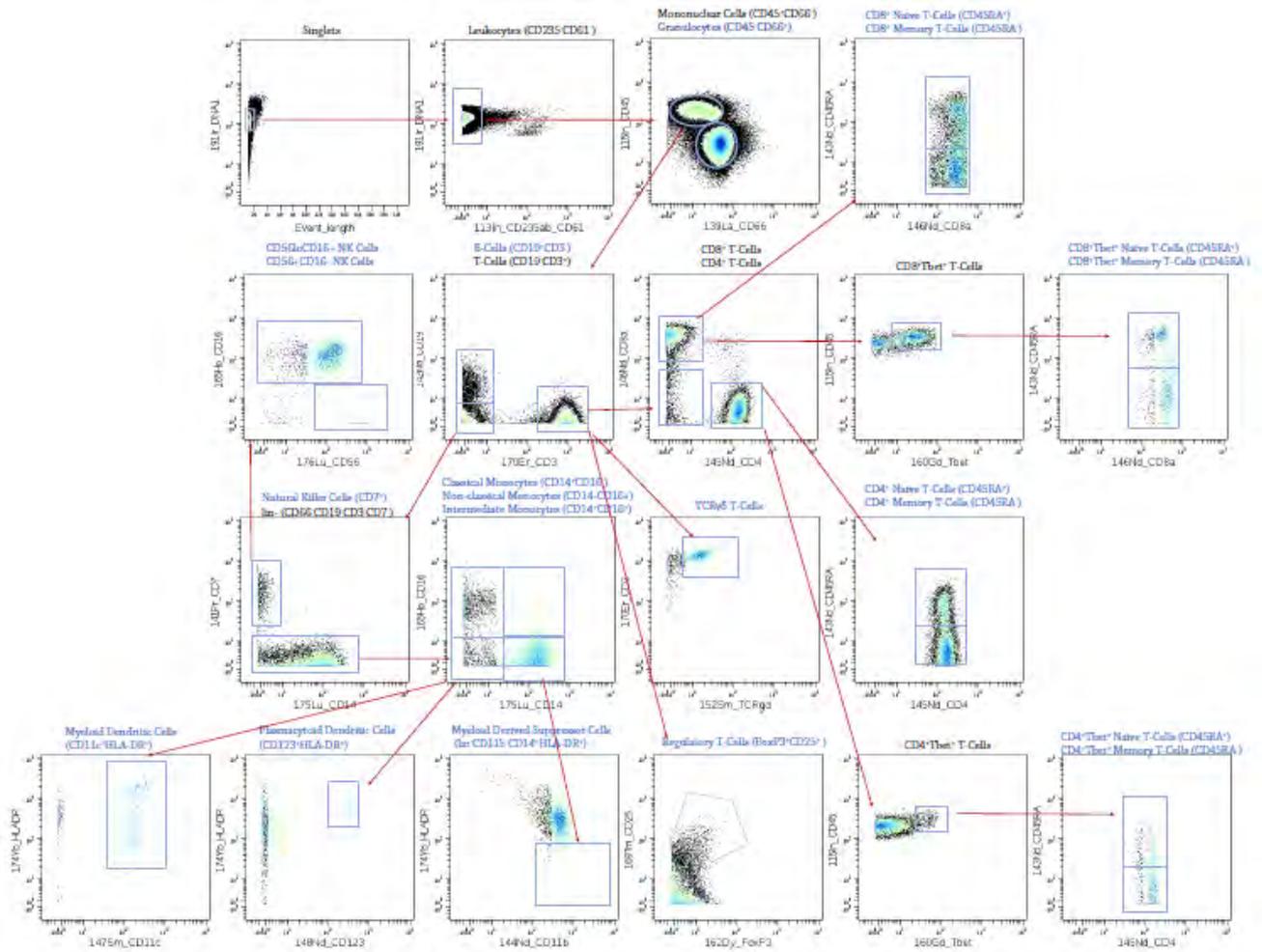
136. Komiya Y, Shimomura Y, Higurashi T, Sugi Y, Arimoto J, Umezawa S, et al. Patients with colorectal cancer have identical strains of *Fusobacterium nucleatum* in their colorectal cancer and oral cavity. *Gut*. 22 juin 2018;
137. Atarashi K, Suda W, Luo C, Kawaguchi T, Motoo I, Narushima S, et al. Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science*. 20 2017;358(6361):359-65.
138. [www.unitheque.com](http://www.unitheque.com). Immunopathologie et réactions inflammatoires [Internet]. [cité 28 août 2018]. Disponible sur: [https://www.unitheque.com/Livre/de\\_boeck\\_superieur/Sciences\\_medicales/Immunopathologie\\_et\\_reactions\\_inflammatoires-2346.html](https://www.unitheque.com/Livre/de_boeck_superieur/Sciences_medicales/Immunopathologie_et_reactions_inflammatoires-2346.html)
139. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res*. mars 2013;69(1):137-43.
140. Bull MJ, Plummer NT. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integr Med Clin J*. déc 2014;13(6):17-22.
141. Forbes JD, Van Domselaar G, Bernstein CN. The Gut Microbiota in Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Front Microbiol* [Internet]. 11 juill 2016 [cité 4 juin 2018];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4939298/>
142. Nakajima M, Arimatsu K, Kato T, Matsuda Y, Minagawa T, Takahashi N, et al. Oral Administration of *P. gingivalis* Induces Dysbiosis of Gut Microbiota and Impaired Barrier Function Leading to Dissemination of Enterobacteria to the Liver. *PLoS ONE* [Internet]. 28 juill 2015 [cité 20 juin 2018];10(7). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4517782/>
143. Arimatsu K, Yamada H, Miyazawa H, Minagawa T, Nakajima M, Ryder MI, et al. Oral pathobiont induces systemic inflammation and metabolic changes associated with alteration of gut microbiota. *Sci Rep* [Internet]. 6 mai 2014 [cité 28 mai 2018];4. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4010932/>
144. Lockhart PB, Brennan MT, Sasser HC, Fox PC, Paster BJ, Bahrani-Mougeot FK. Bacteremia associated with toothbrushing and dental extraction. *Circulation*. 17 juin 2008;117(24):3118-25.
145. Lee MK, Ide M, Coward PY, Wilson RF. Effect of ultrasonic debridement using a chlorhexidine irrigant on circulating levels of lipopolysaccharides and interleukin-6. *J Clin Periodontol*. mai 2008;35(5):415-9.
146. Lucartorto FM, Franker CK, Maza J. Postscaling bacteremia in HIV-associated gingivitis and periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. mai 1992;73(5):550-4.
147. Alexandre-Silva GM, Brito-Souza PA, Oliveira ACS, Cerni FA, Zottich U, Pucca MB. The hygiene hypothesis at a glance: early exposures, immune mechanism and novel therapies. *Acta Trop*. 27 août 2018;
148. Guarner F, Bourdet-Sicard R, Brandtzaeg P, Gill HS, McGuirk P, van Eden W, et al. Mechanisms of disease: the hygiene hypothesis revisited. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. mai 2006;3(5):275-84.
149. Petersen PE. World Health Organization global policy for improvement of oral health--World Health Assembly 2007. *Int Dent J*. juin 2008;58(3):115-21.

150. Zhang C-Z, Cheng X-Q, Li J-Y, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci.* sept 2016;8(3):133-7.
151. Yoshizawa JM, Schafer CA, Schafer JJ, Farrell JJ, Paster BJ, Wong DTW. Salivary Biomarkers: Toward Future Clinical and Diagnostic Utilities. *Clin Microbiol Rev.* oct 2013;26(4):781-91.
152. Fábíán T., Fejérdy P, Csermely P. Salivary Genomics, Transcriptomics and Proteomics: The Emerging Concept of the Oral Ecosystem and their Use in the Early Diagnosis of Cancer and other Diseases. *Curr Genomics.* mars 2008;9(1):11-21.
153. Zhang Y, Sun J, Lin C-C, Abemayor E, Wang MB, Wong DTW. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Periodontol 2000.* févr 2016;70(1):38-52.
154. Belstrøm D, Holmstrup P, Bardow A, Kokaras A, Fiehn N-E, Paster BJ. Temporal Stability of the Salivary Microbiota in Oral Health. *PLoS ONE* [Internet]. 22 janv 2016 [cité 11 juin 2018];11(1). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4723053/>
155. Lazarevic V, Whiteson K, Hernandez D, François P, Schrenzel J. Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota. *BMC Genomics.* 28 sept 2010;11:523.
156. Hall MW, Singh N, Ng KF, Lam DK, Goldberg MB, Tenenbaum HC, et al. Inter-personal diversity and temporal dynamics of dental, tongue, and salivary microbiota in the healthy oral cavity. *NPJ Biofilms Microbiomes* [Internet]. 26 janv 2017 [cité 11 juin 2018];3. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5445578/>
157. Cameron SJS, Huws SA, Hegarty MJ, Smith DPM, Mur LAJ. The human salivary microbiome exhibits temporal stability in bacterial diversity. *FEMS Microbiol Ecol.* sept 2015;91(9):fiv091.
158. Belstrøm D, Fiehn N-E, Nielsen CH, Kirkby N, Twetman S, Klepac-Ceraj V, et al. Differences in bacterial saliva profile between periodontitis patients and a control cohort. *J Clin Periodontol.* févr 2014;41(2):104-12.
159. Belstrøm D, Fiehn N-E, Nielsen CH, Klepac-Ceraj V, Paster BJ, Twetman S, et al. Differentiation of salivary bacterial profiles of subjects with periodontitis and dental caries. *J Oral Microbiol* [Internet]. 7 avr 2015 [cité 11 juin 2018];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4390560/>
160. Mager D, Haffajee A, Devlin P, Norris C, Posner M, Goodson J. The salivary microbiota as a diagnostic indicator of oral cancer: A descriptive, non-randomized study of cancer-free and oral squamous cell carcinoma subjects. *J Transl Med.* 7 juill 2005;3:27.
161. Kodukula K, Faller DV, Harpp DN, Kanara I, Pernokas J, Pernokas M, et al. Gut Microbiota and Salivary Diagnostics: The Mouth Is Salivating to Tell Us Something. *BioResearch Open Access.* 1 oct 2017;6(1):123-32.
162. FindIt@Stanford - Lane Medical Library: The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. [Internet]. [cité 16 nov 2017]. Disponible sur: <http://sfx.stanford.edu/local?sid=Entrez:PubMed&id=pmid:26214836>
163. van Nood E, Dijkgraaf MGW, Keller JJ. Duodenal infusion of feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.* 30 2013;368(22):2145.
164. Lederberg J. Infectious history. *Science.* 14 avr 2000;288(5464):287-93.

165. Résistance aux antibiotiques [Internet]. World Health Organization. [cité 1 sept 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/résistance-aux-antibiotiques>
166. Eckert R, He J, Yarbrough DK, Qi F, Anderson MH, Shi W. Targeted Killing of Streptococcus mutans by a Pheromone-Guided “Smart” Antimicrobial Peptide. *Antimicrob Agents Chemother.* nov 2006;50(11):3651-7.
167. Koskella B, Meaden S. Understanding Bacteriophage Specificity in Natural Microbial Communities. *Viruses.* 11 mars 2013;5(3):806-23.
168. Hughes G, Webber MA. Novel approaches to the treatment of bacterial biofilm infections. *Br J Pharmacol.* juill 2017;174(14):2237-46.
169. Gerber GK. The dynamic microbiome. *FEBS Lett.* 17 nov 2014;588(22):4131-9.
170. Amalaradjou MAR, Bhunia AK. Bioengineered probiotics, a strategic approach to control enteric infections. *Bioengineered.* 1 nov 2013;4(6):379-87.
171. Belda-Ferre P, Alcaraz LD, Cabrera-Rubio R, Romero H, Simón-Soro A, Pignatelli M, et al. The oral metagenome in health and disease. *ISME J.* janv 2012;6(1):46-56.
172. Buffie CG, Pamer EG. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nat Rev Immunol.* nov 2013;13(11):790-801.
173. Kamada N, Chen GY, Inohara N, Núñez G. Control of Pathogens and Pathobionts by the Gut Microbiota. *Nat Immunol.* juill 2013;14(7):685-90.
174. Soukos NS, Stultz J, Abernethy AD, Goodson JM. Phototargeting human periodontal pathogens in vivo. *Lasers Med Sci.* 1 avr 2015;30(3):943-52.
175. Marsh PD. Contemporary perspective on plaque control. *Br Dent J.* 22 juin 2012;212(12):601-6.
176. Soukos NS, Som S, Abernethy AD, Ruggiero K, Dunham J, Lee C, et al. Phototargeting Oral Black-Pigmented Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* avr 2005;49(4):1391-6.
177. Headland SE, Norling LV. The resolution of inflammation: Principles and challenges. *Semin Immunol.* mai 2015;27(3):149-60.
178. Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res.* févr 2003;82(2):82-90.
179. Hasturk H, Kantarci A, Ohira T, Arita M, Ebrahimi N, Chiang N, et al. RvE1 protects from local inflammation and osteoclast-mediated bone destruction in periodontitis. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* févr 2006;20(2):401-3.
180. Hasturk H, Kantarci A, Goguet-Surmenian E, Blackwood A, Andry C, Serhan CN, et al. Resolvin E1 regulates inflammation at the cellular and tissue level and restores tissue homeostasis in vivo. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 nov 2007;179(10):7021-9.
181. Lee C-T, Teles R, Kantarci A, Chen T, McCafferty J, Starr JR, et al. Resolvin E1 Reverses Experimental Periodontitis and Dysbiosis. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 oct 2016;197(7):2796-806.
182. Van Dyke TE, Hasturk H, Kantarci A, Freire MO, Nguyen D, Dalli J, et al. Proresolving Nanomedicines Activate Bone Regeneration in Periodontitis. *J Dent Res.* janv 2015;94(1):148-56.

183. Deore GD, Gurav AN, Patil R, Shete AR, NaikTari RS, Inamdar SP. Omega 3 fatty acids as a host modulator in chronic periodontitis patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *J Periodontal Implant Sci.* févr 2014;44(1):25-32.
184. Gobbetti T, Dalli J, Colas RA, Federici Canova D, Aursnes M, Bonnet D, et al. Protectin D1n-3 DPA and resolvin D5n-3 DPA are effectors of intestinal protection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 2017;114(15):3963-8.
185. Ungaro F, Rubbino F, Danese S, D'Alessio S. Actors and Factors in the Resolution of Intestinal Inflammation: Lipid Mediators As a New Approach to Therapy in Inflammatory Bowel Diseases. *Front Immunol* [Internet]. 23 oct 2017 [cité 18 nov 2018];8. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5660440/>
186. Wiebe CB, Putnins EE. The periodontal disease classification system of the American Academy of Periodontology--an update. *J Can Dent Assoc.* déc 2000;66(11):594-7.
187. Behbehani GK, Thom C, Zunder ER, Finck R, Gaudilliere B, Fragiadakis GK, et al. Transient partial permeabilization with saponin enables cellular barcoding prior to surface marker staining. *Cytom Part J Int Soc Anal Cytol.* déc 2014;85(12):1011-9.
188. Finck R, Simonds EF, Jager A, Krishnaswamy S, Sachs K, Fantl W, et al. Normalization of mass cytometry data with bead standards. *Cytometry A.* mai 2013;83A(5):483-94.
189. Zunder ER, Finck R, Behbehani GK, Amir ED, Krishnaswamy S, Gonzalez VD, et al. Palladium-based mass tag cell barcoding with a doublet-filtering scheme and single-cell deconvolution algorithm. *Nat Protoc.* févr 2015;10(2):316-33.
190. Zhao Y, Feng Y. Learning performance of elastic-net regularization. *Math Comput Model.* 1 mars 2013;57(5):1395-407.
191. Aghaeepour N, Ganio EA, Mcilwain D, Tsai AS, Tingle M, Van Gassen S, et al. An immune clock of human pregnancy. *Sci Immunol.* 1 sept 2017;2(15).
192. Smiley CJ, Tracy SL, Abt E, Michalowicz BS, John MT, Gunsolley J, et al. Systematic review and meta-analysis on the nonsurgical treatment of chronic periodontitis by means of scaling and root planing with or without adjuncts. *J Am Dent Assoc* 1939. juill 2015;146(7):508-524.e5.
193. Zou H, Hastie T. Regularization and variable selection via the elastic net. *J R Stat Soc Ser B Stat Methodol.* 2005;67(2):301–320.
194. Ling MR, Chapple IL, Matthews JB. Peripheral blood neutrophil cytokine hyper-reactivity in chronic periodontitis. *Innate Immun.* 1 oct 2015;21(7):714-25.
195. Wilensky A, Chaushu S, Shapira L. The role of natural killer cells in periodontitis. *Periodontol* 2000. 1 oct 2015;69(1):128-41.
196. Górska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliński K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* déc 2003;30(12):1046-52.
197. Lorini R, Moretta A, Valtorta A, d'Annunzio G, Cortona L, Vitali L, et al. Cytotoxic activity in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* févr 1994;23(1):37-42.

**Figure S1. Stratégie de sélection des populations immunitaires.** Les courbes de cytométrie de masse bidimensionnelles sont représentées pour un échantillon représentatif du patient. La sélection a été réalisée à l'aide de Cytobank ([www.cytobank.org](http://www.cytobank.org)). Les types de cellules inclus dans l'analyse sont indiqués en bleu.



**Tableau S1. Anticorps utilisés**

Antibody	Manufacturer	Symbol	Atomic Mass	Clone	Comment
Barcode 1	Trace Sciences	Pd	102		Barcode
Barcode 2	Trace Sciences	Pd	104		Barcode
Barcode 3	Trace Sciences	Pd	105		Barcode
Barcode 4	Trace Sciences	Pd	106		Barcode
Barcode 5	Trace Sciences	Pd	108		Barcode
Barcode 6	Trace Sciences	Pd	110		Barcode
CD235ab	Biolegend	In	113	HIR2	Phenotype
CD61	BD	In	113	VI-PL2	Phenotype
CD45	Biolegend	In	115	HI30	Phenotype
CD66	BD	La	139	CD66a-B1.1	Phenotype
CD7	BD	Pr	141	M-T701	Phenotype
CD19	Biolegend	Nd	142	HIB19	Phenotype
CD45RA	Biolegend	Nd	143	HI100	Phenotype
CD11b	Fluidigm	Nd	144	ICRF44	Phenotype
CD4	Fluidigm	Nd	145	RPA-T4	Phenotype
CD8a	Fluidigm	Nd	146	RPA-T8	Phenotype
CD11c	Fluidigm	Sm	147	Bu15	Phenotype
CD123	Biolegend	Nd	148	6H6	Phenotype
pCREB	Cell Signaling Technology	Sm	149	87G3	Phenotype
pSTAT5	Fluidigm	Nd	150	47	Function
pp38	BD	Eu	151	36/p38	Function
TCR $\gamma\delta$	Fluidigm	Sm	152	11F2	Phenotype
pSTAT1	Fluidigm	Eu	153	58D6	Function
pSTAT3	Cell Signaling Technology	Sm	154	M9C6	Function
pS6	Cell Signaling Technology	Gd	155	D57.2.2E	Function
CD24	Biolegend	Gd	156	ML5	Phenotype

CD38	Biolegend	Gd	157	HIT2	Phenotype
CD33	Fluidigm	Gd	158	WM53	Phenotype
pMAPKAPK2	Fluidigm	Tb	159	27B7	Function
Tbet	Fluidigm	Gd	160	4B10	Function
cPARP	BD	Dy	161	F21-852	Function
FoxP3	Fluidigm	Dy	162	PCH101	Phenotype
IκB	Fluidigm	Dy	164	L35A5	Function
CD16	Fluidigm	Ho	165	3G8	Phenotype
pNF-κB	Fluidigm	Er	166	K10-895.12.50	Function
pERK1/2	Fluidigm	Er	167	D13.14.4E	Function
pSTAT6	Fluidigm	Er	168	18	Function
CD25	Biolegend	Tm	169	M-A251	Phenotype
CD3	Fluidigm	Er	170	UCHT1	Phenotype
CD27	BD	Yb	171	M-T271	Phenotype
CCR2	Biolegend	Yb	173	K036C2	Phenotype
HLA-DR	Fluidigm	Yb	174	L243	Phenotype
CD56	BD	Yb	176	NCAM16.2	Phenotype
DNA1	Fluidigm	Ir	191		DNA
DNA2	Fluidigm	Ir	192		DNA

**Tableau S2. Matrice de pénalisation**

***Non stimulé***

	CREB	ERK	IκB	MAPK APK2	NF-κB	p38	S6	STAT1	STAT3	S T A T 5	S T A T 6
Neutrophils	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Classical Monocytes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Nonclassical Monocytes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Intermediate Monocytes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Myeloid Derived Suppressor Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Myeloid Dendritic Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Plasmacytoid Dendritic Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Natural Killer Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> Natural Killer Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> Natural Killer Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Memory CD4 <sup>+</sup> T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Naïve CD4 <sup>+</sup> T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
CD45RA <sup>-</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
CD45RA <sup>+</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T-cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Regulatory T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Memory CD8 <sup>+</sup> T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Naïve CD8 <sup>+</sup> T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
B-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

***PgLPS***

	CREB	ERK	IκB	MAPK APK2	NF-κB	p38	S6	STAT1	STAT3	S T A T 5	S T A T 6
Neutrophils	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Classical Monocytes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Nonclassical Monocytes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Intermediate Monocytes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Myeloid Derived Suppressor Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				

Myeloid Dendritic Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Plasmacytoid Dendritic Cells											
Natural Killer Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> Natural Killer Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> Natural Killer Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Memory CD4 <sup>+</sup> T-Cells											
Naïve CD4 <sup>+</sup> T-Cells											
CD45RA <sup>-</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T-Cells											
CD45RA <sup>+</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T-cells											
Regulatory T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Memory CD8 <sup>+</sup> T-Cells											
Naïve CD8 <sup>+</sup> T-Cells											
B-Cells											

**TNF $\alpha$**

	CREB	ERK	I $\kappa$ B	MAPK APK2	NF- $\kappa$ B	p38	S6	STAT1	STAT3	S T A T 5	S T A T 6
Neutrophils	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Classical Monocytes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Nonclassical Monocytes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Intermediate Monocytes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Myeloid Derived Suppressor Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Myeloid Dendritic Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Plasmacytoid Dendritic Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Natural Killer Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> Natural Killer Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> Natural Killer Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Memory CD4 <sup>+</sup> T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Naïve CD4 <sup>+</sup> T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
CD45RA <sup>-</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				

CD45RA <sup>+</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T-cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Regulatory T- Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Memory CD8 <sup>+</sup> T-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Naïve CD8 <sup>+</sup> T- Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
B-Cells	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				

### ***IFN $\alpha$***

	CREB	ERK	I $\kappa$ B	MAPK APK2	NF- $\kappa$ B	p38	S6	STAT1	STAT3	S T A T 5	S T A T 6
Neutrophils								✓	✓	✓	✓
Classical Monocytes								✓	✓	✓	✓
Nonclassical Monocytes								✓	✓	✓	✓
Intermediate Monocytes								✓	✓	✓	✓
Myeloid Derived Suppressor Cells								✓	✓	✓	✓
Myeloid Dendritic Cells								✓	✓	✓	✓
Plasmacytoid Dendritic Cells								✓	✓	✓	✓
Natural Killer Cells								✓	✓	✓	✓
CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> Natural Killer Cells								✓	✓	✓	✓
CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> Natural Killer Cells								✓	✓	✓	✓
Memory CD4 <sup>+</sup> T-Cells								✓	✓	✓	✓
Naïve CD4 <sup>+</sup> T- Cells								✓	✓	✓	✓
CD45RA <sup>-</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T- Cells								✓	✓	✓	✓
CD45RA <sup>+</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T-cells								✓	✓	✓	✓
Regulatory T- Cells								✓	✓	✓	✓
Memory CD8 <sup>+</sup> T-Cells								✓	✓	✓	✓
Naïve CD8 <sup>+</sup> T- Cells								✓	✓	✓	✓
B-Cells								✓	✓	✓	✓

**IL-2/4/6, GM-CSF**

	CREB	ERK	IκB	MAPK APK2	NF-κB	p38	S6	STAT1	STAT3	S T A T 5	S T A T 6
Neutrophils		✓						✓	✓	✓	✓
Classical Monocytes		✓						✓	✓	✓	✓
Nonclassical Monocytes		✓						✓	✓	✓	✓
Intermediate Monocytes		✓						✓	✓	✓	✓
Myeloid Derived Suppressor Cells		✓						✓	✓	✓	✓
Myeloid Dendritic Cells		✓						✓	✓	✓	✓
Plasmacytoid Dendritic Cells		✓						✓	✓	✓	✓
Natural Killer Cells		✓						✓	✓	✓	✓
CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> Natural Killer Cells		✓						✓	✓	✓	✓
CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> Natural Killer Cells		✓						✓	✓	✓	✓
Memory CD4 <sup>+</sup> T-Cells		✓						✓	✓	✓	✓
Naïve CD4 <sup>+</sup> T- Cells		✓						✓	✓	✓	✓
CD45RA <sup>-</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T- Cells		✓						✓	✓	✓	✓
CD45RA <sup>+</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T-cells		✓						✓	✓	✓	✓
Regulatory T- Cells		✓						✓	✓	✓	✓
Memory CD8 <sup>+</sup> T-Cells		✓						✓	✓	✓	✓
Naïve CD8 <sup>+</sup> T- Cells		✓						✓	✓	✓	✓
B-Cells		✓						✓	✓	✓	✓

**Tableau S3. Caractéristiques immunitaires du modèle csEN, classées par p-value**

Stimulation	Cell Type	Signaling Protein	p-value	coefficient
IFN $\alpha$	CD8 <sup>+</sup> T <sub>naive</sub> cells	CREB	0.001729	0.028943
<i>Pg</i> LPS	mDCs	STAT5	0.001729	0.030384
IL-2/4/6, GM-CSF	CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	STAT1	0.002078	-0.02417
IL-2/4/6, GM-CSF	NK Cells	STAT1	0.002486	-0.0144
<i>Pg</i> LPS	ncMCs	STAT5	0.002486	0.029313
IL-2/4/6, GM-CSF	NK Cells	MAPKAPK2	0.004906	-0.02397
TNF $\alpha$	NK Cells	MAPKAPK2	0.005761	-0.01478
<i>Pg</i> LPS	CD8 <sup>+</sup> T <sub>naive</sub> cells	STAT1	0.006743	0.026939
TNF $\alpha$	CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	MAPKAPK2	0.007866	-0.01512
IL-2/4/6, GM-CSF	CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	STAT6	0.009146	0.015572
IL-2/4/6, GM-CSF	CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	MAPKAPK2	0.0106	-0.02112
IL-2/4/6, GM-CSF	CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	STAT3	0.0106	-0.01994
IL-2/4/6, GM-CSF	Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup> Tcells	NF- $\kappa$ B	0.0106	0.024192
IL-2/4/6, GM-CSF	CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	MAPKAPK2	0.014108	-0.00887
IL-2/4/6, GM-CSF	pDCs	MAPKAPK2	0.014108	-0.0179
<i>Pg</i> LPS	cMCs	STAT6	0.016203	0.027337
IL-2/4/6, GM-CSF	CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	STAT1	0.018554	-0.00783
IFN $\alpha$	CD8 <sup>+</sup> T <sub>naive</sub> cells	S6	0.018554	0.017136
<i>Pg</i> LPS	cMCs	STAT5	0.018554	0.009459
<i>Pg</i> LPS	Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T <sub>Naive</sub> cells	I $\kappa$ B	0.021187	0.017232
IL-2/4/6, GM-CSF	B-cells	CREB	0.024124	-0.02798
IL-2/4/6, GM-CSF	CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	ERK	0.024124	-0.01574
IL-2/4/6, GM-CSF	NK Cells	STAT3	0.027396	-0.00357
TNF $\alpha$	CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	CREB	0.027396	0.006399
TNF $\alpha$	Th1 cells	STAT6	0.027396	0.022404
<i>Pg</i> LPS	cMCs	CREB	0.031025	0.01195
<i>Pg</i> LPS	mDCs	CREB	0.031025	0.016026
IFN $\alpha$	intMCs	p38	0.039482	-0.02993
IL-2/4/6, GM-CSF	intMCs	STAT1	0.044369	-0.0104
IL-2/4/6, GM-CSF	pDCs	S6	0.044369	-0.00693
IL-2/4/6, GM-CSF	CD4 <sup>+</sup> T <sub>mem</sub> cells	I $\kappa$ B	0.049736	-0.02753
<i>Pg</i> LPS	cMCs	ERK	0.049736	0.010535
<i>Pg</i> LPS	cMCs	NF- $\kappa$ B	0.049736	0.019028
<i>Pg</i> LPS	N $\phi$ s	NF- $\kappa$ B	0.049736	0.004326
<i>Pg</i> LPS	M-MDSCs	ERK	0.049736	0.00597
TNF $\alpha$	B-cells	CREB	0.049736	-0.00581
TNF $\alpha$	CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	pSTAT6	0.049736	-0.01541

**Tableau S4. Caractéristiques immunitaires d'intérêt.** Principales caractéristiques du modèle csEN distinguant les patients des individus contrôles au départ (p-value univarié <0,05). Treize caractéristiques sont liées à la stimulation par le *Pg*LPS, six à la stimulation par l'IFN $\alpha$  et 15 à la stimulation par l'IL-2/4/6, GM-CSF. Les 17 caractéristiques de la matrice de pénalisation basée sur la signalisation cellulaire sont indiquées en gras, les flèches indiquant si la caractéristique est augmentée ou diminuée chez les patients atteints de ChP par rapport aux individus contrôles.

<b>Stimulation</b>	<b>Cell Type</b>	<b>Activated Protein(s)</b>
<i>Pg</i> LPS	cMCs	STAT6, CREB $\uparrow$ , STAT5, NF- $\kappa$ B $\uparrow$ , ERK $\uparrow$
<i>Pg</i> LPS	Grans	NF- $\kappa$ B $\uparrow$
<i>Pg</i> LPS	mDCs	CREB $\uparrow$ , STAT5
<i>Pg</i> LPS	M-MDSCs	ERK $\uparrow$ , STAT6
<i>Pg</i> LPS	CD8 <sup>+</sup> T <sub>naive</sub> cells	STAT1
<i>Pg</i> LPS	ncMCs	STAT5
<i>Pg</i> LPS	CD45RA <sup>+</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> Tcells	I $\kappa$ B
TNF $\alpha$	NK Cells	MAPKAPK2 $\downarrow$
TNF $\alpha$	CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> NK Cells	CREB $\uparrow$ , STAT6
TNF $\alpha$	CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	MAPKAPK2 $\downarrow$
TNF $\alpha$	B Cells	CREB $\downarrow$
TNF $\alpha$	CD45RA <sup>-</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (Th1) Cells	STAT6
IFN $\alpha$	intMCs	p38
IFN $\alpha$	CD8 <sup>+</sup> T <sub>naive</sub> cells	CREB, S6
IL-2/4/6, GM-CSF	CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> NK Cells	STAT1 $\downarrow$ , MAPKAPK2, ERK $\downarrow$
IL-2/4/6, GM-CSF	B cells	CREB
IL-2/4/6, GM-CSF	CD56 <sup>lo</sup> CD16 <sup>+</sup> NK Cells	STAT1 $\downarrow$ , STAT3 $\downarrow$ , MAPKAPK2
IL-2/4/6, GM-CSF	intMCs	STAT1 $\downarrow$
IL-2/4/6, GM-CSF	CD4 <sup>+</sup> T <sub>mem</sub> cells	I $\kappa$ B
IL-2/4/6, GM-CSF	NK cells	STAT1 $\downarrow$ , STAT3 $\downarrow$ , MAPKAPK2
IL-2/4/6, GM-CSF	pDCs	S6, MAPKAPK2
IL-2/4/6, GM-CSF	CD45RA <sup>+</sup> Tbet <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> Tcells	NF- $\kappa$ B

## **Titre : Parodontite et Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin : entre dysbiose et immuno-inflammation**

### Résumé:

L'établissement et le maintien, dès la naissance, d'une relation symbiotique entre notre microbiote et notre système immunitaire est primordial. Une perturbation de cette relation est observée dans la parodontite et dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Ces pathologies, pour lesquelles il existe une association épidémiologique, présentent aussi des mécanismes physiopathologiques similaires. On observe une destruction tissulaire causée par une réponse inflammatoire chronique à une dysbiose du microbiote. De plus, des éléments démontrent qu'il existe une interaction pathogénique complexe entre ces deux maladies. Les patients atteints de parodontite chronique présentent des réponses immunitaires systémiques aberrantes. Cela souligne la nécessité d'une prise en charge parodontale chez les populations à risque de développer des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Title: Chronic Periodontitis and Inflammatory Bowel Disease: from dysbiosis to immuno-inflammation

### Abstract:

Establishing and maintaining, from birth, a symbiotic relationship between our microbiota and our immune system is crucial. Disruption of this relationship is observed in periodontitis and inflammatory bowel disease. These disorders, for which there is an epidemiological association, also have similar physiopathological mechanisms. We usually observe a tissue destruction caused by an inflammatory response to a dysbiotic microbiota. Moreover, there are evidences of a complex pathogenic interaction between these two chronic conditions. Patients with chronic periodontitis have aberrant systemic immune responses. This highlights the need for periodontal management in populations at risk of developing inflammatory bowel disease.

Discipline: Chirurgie Dentaire

Mots clés: microbiote, dysbiose, système immunitaire, inflammation, parodontite chronique, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, MICI

Intitulé et adresse de l'U.F.R ou du laboratoire:

Faculté de chirurgie dentaire  
3, Chemin des Maraîchers  
31062 Toulouse Cedex

Directeur de thèse: Docteur Vincent BLASCO-BAQUE