



Pathogènes parodontaux, marqueurs inflammatoires et maladies cardiovasculaires

Adrien Boillot

► To cite this version:

Adrien Boillot. Pathogènes parodontaux, marqueurs inflammatoires et maladies cardiovasculaires. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Saclay (COmUE), 2016. Français. NNT : 2016SACLV036 . tel-01384341

HAL Id: tel-01384341

<https://theses.hal.science/tel-01384341>

Submitted on 19 Oct 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

NNT : 2016SACLV036

THESE DE DOCTORAT

DE

L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY

PREPAREE A

L'UNIVERSITE VERSAILLES SAINT-QUENTIN EN YVELINES

ÉCOLE DOCTORALE N°570

Santé Publique

Spécialité de doctorat : Santé publique - épidémiologie

Par

Monsieur Adrien Boillot

Pathogènes parodontaux, marqueurs inflammatoires et maladies cardiovasculaires

Thèse présentée et soutenue à Villejuif, le 14 Mars 2016:

Composition du Jury :

M. J. Bouyer, Professeur, Université Paris-Sud, Président du Jury
M. P. Boutouyrie, Professeur, Université Paris Descartes, Rapporteur
M. D. Bourgeois, Professeur, Université Claude Bernard_ Lyon I, Rapporteur
M. J. C. Llodra Calvo, Maître de Conférences, Campus Universitario de Cartuja, Examineur
M. S. Czernichow, Professeur, UVSQ, Directeur de thèse
M. P. Bouchard, Professeur, Université Paris Diderot, Directeur de thèse

Titre : Pathogènes parodontaux, marqueurs inflammatoires et maladies cardiovasculaires.

Mots clés : Parodontites, Bactéries, Maladies cardiovasculaires, Inflammation

Résumé : La parodontite est une pathologie inflammatoire affectant les tissus de soutien de la dent. Elle est liée à un déséquilibre entre les pathogènes parodontaux et la réponse immunitaire de l'hôte. De nombreuses études ont montré une association entre les pathogènes parodontaux, les signes cliniques de la parodontite ou les taux d'anticorps dirigés contre les pathogènes parodontaux d'une part, et la survenue d'un événement cardiovasculaire ou d'athérosclérose au niveau des principaux vaisseaux d'autre part. Dans une première étude transversale réalisée au sein de la cohorte ARIC auprès de 457 adultes âgés de 52 ans et plus, nous nous sommes intéressés à l'association entre la présence d'une parodontite sévère et les altérations de la microcirculation rétinienne. Des études ont montré qu'une augmentation du diamètre des veinules rétinienne était un marqueur prédictif de la survenue d'un événement cardiovasculaire. Nous avons montré

qu'il existait une augmentation significative et indépendante du diamètre des veinules rétinienne chez les sujets atteints d'une parodontite sévère. Dans une autre étude transversale réalisée au sein de la cohorte INVEST chez 593 adultes âgés de 55 ans et plus, nous nous sommes intéressés à l'association entre la présence de pathogènes parodontaux et l'activité des phospholipases A2, des enzymes associées à la survenue d'un événement cardiovasculaire. Une augmentation significative et indépendante de l'activité de la phospholipase A2 sérique a été observée chez les sujets chez qui la charge relative en pathogènes parodontaux était la plus élevée. D'autres études, longitudinales, sont nécessaires dans le futur pour comprendre le rôle joué par les marqueurs inflammatoires et les premières altérations à l'échelle microcirculatoire dans l'association entre la parodontite et la survenue d'événements cardiovasculaires.

Title : Periodontal pathogens, inflammatory markers and cardiovascular diseases.

Keywords : Periodontitis, Bacteria, Cardiovascular diseases, Inflammation

Abstract : Periodontitis is an inflammatory disease affecting tissues surrounding the teeth, and is caused by a dysregulation between periodontal pathogens and the host response. Numerous studies observed an association between periodontal pathogens, clinical signs of periodontitis, antibodies against periodontal pathogens, and cardiovascular events or atherosclerosis. The first cross-sectional study was conducted among 457 adults aged 52+ from ARIC cohort. We investigated the relationship between severe periodontitis and modifications in the retinal microcirculation. Previous studies found increase in retinal venular diameters predicted future cardiovascular events. We observed a

significant and independent increase in retinal venular diameters with severe periodontitis. In a second cross-sectional study conducted among 593 adults aged 55+ from INVEST cohort, we investigated the relationship between the presence of periodontal pathogens and phospholipases A2 activities, enzymes which are associated with future cardiovascular events. We observed participants with higher relative concentrations of periodontal pathogens had higher secretory phospholipase A2 activity. Future prospective studies are needed to explore the impact of inflammatory markers and first microcirculatory alterations in the association between periodontitis and future cardiovascular events.

REMERCIEMENTS

Je souhaitais remercier le Professeur Marie Zins et l'ensemble du personnel de l'UMS pour l'accueil qu'ils m'ont réservé.

Je tiens également à exprimer ma plus grande reconnaissance aux Professeurs Sébastien Czernichow et Philippe Bouchard d'avoir accepté de diriger ce travail, ainsi que pour le temps qu'ils y ont accordé.

Je remercie les Professeurs Pierre Boutouyrie et Denis Bourgeois d'avoir accepté de consacrer du temps à la lecture et aux commentaires de cette thèse.

Je tiens également à remercier les Professeurs Moïse Desvarieux, Steven Offenbacher, Tabassome Simon, ainsi que les docteurs Hélène Rangé, Ryan Demmer, Kevin Moss, et Salma Kotti. Je leur suis vraiment reconnaissant du temps et de la confiance qu'ils m'ont accordés, ainsi que de l'aide qu'ils m'ont apportée au cours de ce travail.

Je voudrais également remercier le Professeur Jean Bouyer d'avoir accepté de présider ce jury de thèse.

TABLE DES MATIÈRES

Liste des figures.....	5
Liste des tableaux.....	7
Liste des publications et des présentations.....	8
Liste des abréviations.....	10
REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	11
INTRODUCTION.....	12
I/ DIAGNOSTIC ET CLASSIFICATION DES MALADIES PARODONTALES.....	14
I.1) Diagnostic.....	14
I.2) Classifications.....	15
II/ ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA PARODONTITE CHRONIQUE.....	19
II.1) Prévalence.....	19
II.2) Facteurs de risque des parodontites chroniques.....	22
II.2.1) Facteurs de risque vrais.....	22
A) Tabac.....	22
B) Diabète.....	24
II.2.2) Facteurs de risque potentiels.....	26
A) Âge.....	26
B) Sexe.....	27
C) Origine ethnique.....	27
D) Stress et coping.....	27
E) Maladies systémiques.....	29
F) Facteurs génétiques.....	29
II.2.3) Tableau récapitulatif des facteurs de risque des parodontites.....	30
III/ PHYSIOPATHOGÉNIE DE LA PARODONTITE CHRONIQUE.....	31
III.1) Microbiologie.....	32
III.1.1) Les complexes bactériens.....	32
III.1.2) Keystone pathogen et modèle PSD.....	36
III.2) Immunologie.....	38
IV/ PARODONTITE ET MALADIES CARDIOVASCULAIRES.....	42
IV.1) Historique.....	42
IV.2) Hypothèses physiopathologiques.....	43
IV.2.1) L'hypothèse bactérienne.....	43
IV.2.2) L'hypothèse inflammatoire.....	46
IV.3) Parodontite et maladies cardiovasculaires.....	50
IV.3.1) Association entre la parodontite et les maladies cardiovasculaires.....	50
A) Parodontite et événements cardiovasculaires primaires.....	50
B) Parodontite et événements cardiovasculaires secondaires.....	55
C) Conclusion.....	57
IV.3.2) Effet du traitement parodontal sur le risque cardiovasculaire.....	58
A) Traitement parodontal et risque cardiovasculaire.....	58
B) Traitement parodontal et événement cardiovasculaire.....	61
C) Conclusion.....	62
CONCLUSION.....	63
PROBLÉMATIQUES ET OBJECTIFS.....	64
ETUDE 1: PARODONTITE ET MICROCIRCULATION RÉTINIENNE AU SEIN DE LA COHORTE ARIC.....	67
I/ INTRODUCTION.....	68
1.1) Parodontite et athérosclérose.....	68
1.2) Facteurs de risque communs.....	68
1.3) Microcirculation rétinienne et pathologies cardiovasculaires.....	69

II/ OBJECTIF	71
III/ MATÉRIEL ET MÉTHODES	72
III.1) Description de la cohorte et des sujets inclus dans l'étude	72
III.2) Mesure des diamètres des vaisseaux réiniens	72
III.3) Mesure du statut parodontal	74
III.4) Autres variables de confusion	75
III.5) Analyses statistiques,	75
IV/ RÉSULTATS	77
IV.1) Caractéristiques générales	77
IV.2) Relation entre le statut parodontal et le diamètre des artérioles réiniennes (CRAE)	78
IV.3) Relation entre le statut parodontal et le diamètre des veinules réiniennes (CRVE).. ..	79
V/ DISCUSSION	79
V.1) Inflammation, parodontite et diamètre des vaisseaux réiniens	79
V.2) Diabète, parodontite et diamètre des vaisseaux réiniens	81
V.3) Forces et faiblesses de l'étude	82
ETUDE 2: PATHOGÈNES PARODONTAUX ET PHOSPHOLIPASE A2 AU SEIN DE LA COHORTE <i>INVEST (ORAL INFECTIONS AND VASCULAR DISEASE EPIDEMIOLOGY STUDY)</i>	91
I/ INTRODUCTION	92
I.1) Les phospholipases A2	92
I.2) Phospholipases A2 et maladies cardiovasculaires	92
I.3) Parodontite, inflammation et athérosclérose	94
II/ OBJECTIF	96
III/ MATÉRIEL ET MÉTHODES	96
III.1) Description de la cohorte et des sujets inclus dans l'étude	96
III.2) Examen bucco-dentaire	97
III.3) Examen microbiologique	97
III.4) Dosages enzymatiques	98
III.5) Facteurs de confusion	99
III.6) Analyse statistique	99
IV/ RÉSULTATS	101
IV.1) Caractéristiques des sujets	101
IV.2) Pathogènes parodontaux et concentration en sPLA2	101
IV.3) Pathogènes parodontaux et activités de sPLA2 et Lp-PLA2	101
IV.4) Paramètres cliniques et activités de sPLA2 et Lp-PLA2	102
V/ DISCUSSION	102
V.1) Parodontite, phospholipases A2 et maladies cardiovasculaires	103
V.2) Hypothèses physiopathologiques	106
V.3) Pathogènes parodontaux, signes cliniques et activité de sPLA2	108
V.4) Forces et faiblesses de l'étude	108
CONCLUSION GÉNÉRALE	119

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Les quatre composantes du parodonte.....	12
Figure 2: Mesure clinique de la perte d'attache en l'absence (a) ou présence (b) d'une récession gingivale.....	15
Figure 3: Evolution clinique et radiologique de la santé parodontale à la parodontite sévère.	16
Figure 4: Différence de profondeur de poche moyenne (A) et de perte d'attache moyenne (B) entre les sujets atteints d'un diabète de type 2 et les sujets non-diabétiques.	25
Figure 5: Différence de profondeur de poche moyenne (A) et de perte d'attache moyenne (B) sur 5 ans selon le statut diabétique.	25
Figure 6: Mécanismes pathogéniques à l'origine de la parodontite chronique.....	33
Figure 7: les complexes bactériens sous-gingivaux.	34
Figure 8: les complexes bactériens supra-gingivaux.....	35
Figure 9: Le modèle PSD.....	37
Figure 10: Mécanismes immunitaires mis en jeu dans la parodontite.....	40
Figure 11: Relation entre l'évolution de l'épaisseur intima-média au niveau carotidien (en mm), et l'évolution de la proportion relative des pathogènes parodontaux (ED par quartile).	45
Figure 12: Comparaison de la concentration en protéine C réactive (mg.l-1) chez les sujets sains et atteints de parodontite.	48
Figure 13: Epaisseur intima-media au niveau de l'artère carotide classée par tertile d'immunoglobulines (IgG et IgA) dirigées contre <i>Porphyromonas gingivalis</i> et <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	53
Figure 14: Taux de survie cumulatifs sans évènement coronarien.	54
Figure 15: Courbe de survie sans évènement secondaire chez les patients atteints et ceux non atteints d'une parodontite sévère.....	57
Figure 16: Effet du traitement parodontal non-chirurgical sur la concentration en protéine C-réactive chez les sujets avec une pathologie à l'inclusion.	59
Figure 17: Effet du traitement parodontal non-chirurgical sur la dilatation de l'artère brachiale médiée par le flux (en pourcentage).	60
Figure 18: Diamètres moyens des artérioles (A) et des veinules (B) rétiniennees par catégories d'IMC.	70
Figure 19: Mesure des diamètres des vaisseaux rétiniennees par le logiciel IVAN.....	74
Figure 20: Moyennes ajustées (et erreurs standards) du diamètre des artérioles rétiniennees (CRAE) selon le statut parodontal et la présence ou non d'un diabète de type 2.	89
Figure 21: Moyennes ajustées (et erreurs standards) du diamètre des veinules rétiniennees (CRVE) selon le statut parodontal et la présence ou non d'un diabète de type 2.	90

Figure 22: Parodontite, phospholipasesA2 et maladies cardiovasculaires.....	105
Figure 23: Moyennes ajustées (et erreurs standards) pour l'activité de sPLA2 (en nmol.min ⁻¹ par ml de plasma) en fonction de la charge bactérienne étiologique (<i>EB</i>), de la charge des pathogènes potentiellement associés à la parodontite (<i>PB</i>), et de la charge des pathogènes associés à la santé parodontale (<i>HAB</i>), par tertile.....	117
Figure 24: Activités de Lp-PLA2 et sPLA2 selon le score de dominance étiologique (<i>ED</i>), par tertile).....	118
Figure 25: Schéma récapitulatif.....	122

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification des maladies parodontales selon le <i>Center for Disease Control</i> et l' <i>American Association of Periodontology</i>	18
Tableau 2: Prévalence des parodontites chroniques par pays.....	21
Tableau 3: Résumé des facteurs de risque des maladies parodontales.....	30
Tableau 4 : Concentration en CRP en mg.ml^{-1} (moyenne $\pm$ erreur standard) selon le statut parodontal (PD) et cardiovasculaire (CVD).....	48
Tableau 5 : Problématiques, objectifs et études.....	66
Tableau 6 : Caractéristiques des participants selon le statut parodontal.....	84
Tableau 7 : Diamètres artériolaire (CRAE) et veinulaire (CRVE) moyen selon les caractéristiques des sujets.....	86
Tableau 8 : Association entre le diamètre des vaisseaux rétiens et la sévérité des atteintes parodontales (CDC/AAP) en fonction du statut diabétique.....	88
Tableau 9 : Valeurs ajustées (moyenne $\pm$ écart standard) pour la concentration et l'activité de sPLA2, et pour l'activité de Lp-PLA2, en fonction de la charge relative en pathogènes parodontaux (<i>ED</i>) (par tertile).....	110
Tableau 10 : Valeurs ajustées (moyenne $\pm$ écart standard) pour l'activité de Lp-PLA2 en fonction des scores de charge étiologique (<i>EB</i>), des pathogènes potentiellement associés à la parodontite (<i>PB</i>), et des pathogènes associés à la santé parodontale (<i>HAB</i>) (par tertile).....	111
Tableau 11 : Distribution des variables cliniques parodontales (Moyenne $\pm$ Ecart Standard) en fonction des scores de charge bactérienne (<i>EB</i> , <i>PB</i> , <i>HAB</i>), et de la charge relative en pathogènes parodontaux (<i>ED</i>), après ajustement sur l'âge et le sexe.....	112
Tableau 12: Valeurs ajustées (Moyenne $\pm$ Ecart Standard) de l'activité de sPLA2 et Lp-PLA2, en fonction de la profondeur de poche moyenne (par tertile).....	114
Tableau 13: Valeurs ajustées (Moyenne $\pm$ Ecart Standard) de la concentration et de l'activité de sPLA2, et de l'activité de Lp-PLA2, en fonction du pourcentage de sites avec une profondeur de poche de 3mm et plus (par tertile).....	115
Tableau 14: Valeurs ajustées (Moyenne $\pm$ Ecart Standard) de l'activité de sPLA2 et Lp-PLA2, en fonction de la perte d'attache moyenne (par tertile).....	116

LISTE DES PUBLICATIONS ET DES PRÉSENTATIONS

Publications internationales liées à la thèse

(1) Periodontitis and retinal microcirculation in the Atherosclerosis Risk in Communities study. Boillot A, Bouchard P, Moss K, Offenbacher S, Czernichow S. J Clin Periodontol. 2015 Apr;42(4):342-9

(2) Periodontal microbiota and phospholipases: The Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST). Adrien Boillot; Ryan T. Demme; Ziad Mallat; Ralph L. Sacco; David R. Jacobs; Joelle Benessiano; Alain Tedgui; Tatjana Rundek; Panos N. Papapanou; Moïse Desvarieux. Atherosclerosis. 2015. 242(2):418-23

Communication affichée

(1) Periodontopathogens antibodies and recurrence of cardiovascular events following an acute myocardial infarction. Results from the French registry of Acute ST elevation or non-ST-elevation Myocardial Infarction (FAST MI). Boillot A, Rangé H, Danchin N, Kotti S, Cosler G, Czernichow S, Meilhac O, Puymirat E, Zeller M, Tchetché D, Bouchard P, Simon T. Congrès SFD. Bordeaux. Mars 2015.

(2) Periodontitis and retinal microcirculation in the Atherosclerosis Risk in Communities study. Boillot A, Bouchard P, Moss K, Offenbacher S, Czernichow S. J Clin Periodontol. 2015 Apr;42(4):342-9 Congrès EUROPERIO 8. Londres. Juin 2015.

Chapitres d'ouvrage :

Parodontologie – Dentisterie Implantaire. Volume 1 – Médecine Parodontale. Sous la direction de Philippe Bouchard. Lavoisier >Médecine Sciences. Paris, 2014.

Partie 5 : Epidémiologie et recherche Clinique.

Chapitre 18 : Généralités appliquées à l'odontologie.

Chapitre 19 : Indices parodontaux.

Chapitre 20 : Epidémiologie des maladies parodontales.

Chapitre 21 : Impact médico-économique des maladies parodontales.

Partie 7 : Déterminants des maladies parodontales

Chapitre 26 : Facteurs et indicateurs de risque généraux.

Publications internationales non-associées à la thèse :

- (1) Clinical review: Bariatric surgery following treatment for craniopharyngioma: a systematic review and individual-level data meta-analysis. Bretault M, Boillot A, Muzard L, Poitou C, Oppert JM, Barsamian C, Gatta B, Müller H, Weismann D, Rottembourg D, Inge T, Veyrie N, Carette C, Czernichow S. J Clin Endocrinol Metab. 2013 Jun;98(6):2239-46.
- (2) Orosomucoid, a new biomarker in the association between obesity and periodontitis. Rangé H, Poitou C, Boillot A, Ciangura C, Katsahian S, Lacorte JM, Czernichow S, Meilhac O, Bouchard P, Chaussain C. PLoS One. 2013;8(3):e57645.
- (3) Common SNPs of AmelogeninX (AMELX) and dental caries susceptibility. Gasse B, Grabar S, Lafont AG, Quinquis L, Opsahl Vital S, Davit-Béal T, Moulis E, Chabadel O, Hennequin M, Courson F, Droz D, Vaysse F, Laboux O, Tassery H, Al-Hashimi N, Boillot A, Carel JC, Treluyer JM, Jeanpierre M, Beldjord C, Sire JY, Chaussain C. J Dent Res. 2013 May;92(5):418-24.
- (4) Obesity and the microvasculature: a systematic review and meta-analysis. Boillot A, Zoungas S, Mitchell P, Klein R, Klein B, Ikram MK, Klaver C, Wang JJ, Gopinath B, Tai ES, Neubauer AS, Hercberg S, Brazionis L, Saw SM, Wong TY, Czernichow S; META-EYE Study Group. PLoS One. 2013;8(2):e52708.

Publications francophones:

- (1) Maladies parodontales, obésité et syndrome métabolique. Hélène Rangé, Cécile Dagorne, Francis Mora, Adrien Boillot, Sébastien Czernichow, Philippe Bouchard. Journal de Parodontologie et d'Implantologie Orale 2013 ; 32 (3).
- (2) Maladie athéromateuse et parodontites. Bastien Prouvost, Hélène Rangé, Adrien Boillot, Philippe Bouchard. La lettre du Cardiologue 2015 ; 481 : 14-17.
- (3) Impact des parodontites sur la santé générale. Adrien Boillot, Maria Clotilde Carra, Hélène Rangé. Alpha Omega News 2015 (à paraître)
- (4) Maladies cardiovasculaires et parodontales : données épidémiologiques. Adrien Boillot, Sébastien Czernichow. Cercle Dentaire 2012 ; 46.

Liste des abréviations

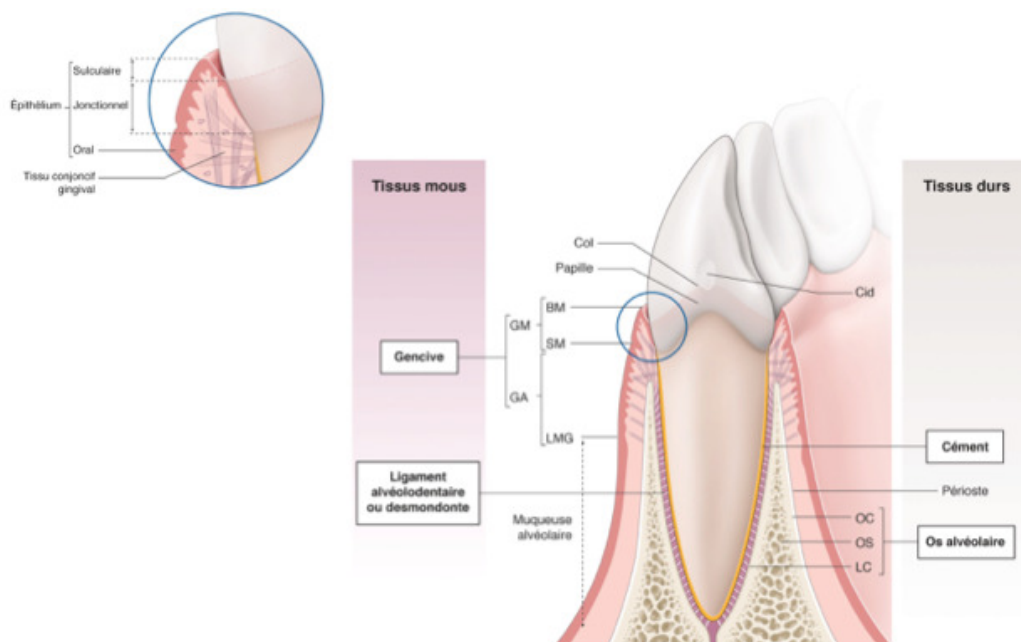
ABL : Hauteur d'os alvéolaire
AF : Anciens Fumeurs
ARIC : Atherosclerosis Risk in Communities Study
CAL : Niveau d'attache clinique
CDCAAP : Centers for Disease Control and Prevention/American Academy of Periodontology
CPITN : Community Periodontal Index of Treatment Needs
CRAE : Diamètre moyen des artérioles rétinienne
CRP : Protéine C-réactive
CRVE : Diamètre moyen des veinules rétinienne
CVD : Maladies cardiovasculaires
DASS : Depression Anxiety Stress Scale
DE : Charge relative des pathogènes parodontaux
ED : Charge absolue en bactéries parodontales pathogéniques
HAB : Charge absolue en bactéries parodontales associées à un état de santé parodontale
HDL : Lipoprotéine de haute densité
HR : Rapport du risque instantané (Hazard Ratio)
HSP : Heat Shock Protein
IC95% : Intervalle de confiance à 95%
IgA : Immunoglobuline A
IgG : Immunoglobuline G
IL- : Interleukine-
IMC : Indice de masse corporelle
L : Étude longitudinale
LDL : Lipoprotéine de faible densité
Lp-PLA2 : Phospholipase A2 associée aux lipoprotéines
LPS : Lipopolysaccharide
MA : Méta-analyse
MMP- : Métalloprotéase matricielle-
NF : Non-fumeurs
NIH : National Institutes of Health
NOMAS : Northern Manhattan Study
OR : Rapport des cotes (Odds-Ratio)
PAF : Facteur d'agrégation plaquettaire
PB : Charge absolue en bactéries parodontales pouvant être associées à une parodontite
PD : Parodontite
PELS : Problems of everyday living scale
PIVUS : Prospective investigation of the vasculature in Uppsala seniors.
PMN : Polynucléaires neutrophiles
POLA : Pathologies oculaires liées à l'âge
PPD : Profondeur de poche parodontale
PSD : Polymicrobial Synergy and Disbiosis model
R : Revue de la littérature
RR : Risque relatif
sPLA2 : Phospholipase A2 sérique
T : Étude transversale
VIH : Syndrome d'immunodéficience acquise

REVUE DE LA LITTÉRATURE

INTRODUCTION

Les maladies parodontales sont des maladies inflammatoires des tissus de soutien de la dent. Ces tissus de soutien comprennent un tissu de recouvrement constitué par la gencive, l'os alvéolaire dans lequel est ancré la dent, le ciment qui recouvre la racine et le ligament alvéolo-dentaire ou desmodonte qui s'insère entre le ciment et l'os alvéolaire. L'ensemble de ces tissus forme le parodonte (Figure 1). Cette inflammation est initiée par la plaque dentaire constituée de bactéries organisée en un biofilm dont la composition varie en fonction de l'état de santé parodontal.

Figure 1: Les quatre composantes du parodonte.



D'après Bouchard et al. Parodontologie Dentisterie Implantaire. Volume 1 : Médecine parodontale. p2. Edition Lavoisier. 2015. BM : bord marginal ; CA : ciment acellulaire ; CC : ciment cellulaire ; Cid : contact interdentaire ; GA : gencive attachée ; GM : gencive marginale ou libre ; LC : lame cribreuse ; LMG : ligne mucogingivale ; OC : os cortical ; OS : os spongieux ; SM : sillon marginal.

Lorsque l'inflammation est limitée à la gencive, elle s'exprime cliniquement par une gingivite. Lorsque la réaction inflammatoire s'étend à l'os alvéolaire, ce dernier subit une résorption pathologique qui constitue le signe majeur des parodontites. Ainsi, les maladies parodontales comprennent deux grands types de maladies : les gingivites et les parodontites. En l'absence

de traitement, la gingivite peut évoluer vers la parodontite, qui elle-même peut entraîner la perte des dents par la destruction complète du parodonte[1].

Plusieurs études ont montré une association entre la parodontite et un certain nombre de pathologies chroniques, en particulier le diabète de type 2 et les pathologies cardiovasculaires. Les bactéries présentes dans la plaque dentaire, ainsi que les molécules issues de la réponse de l'hôte face à ces bactéries, pourraient expliquer les relations entre cette exposition et ces pathologies.

Dans la première partie de cette thèse, nous allons décrire les méthodes diagnostiques et les principales classifications utilisées dans les études épidémiologiques. Puis nous traiterons de la prévalence de la parodontite, mais aussi des facteurs de risque associés. Nous aborderons ensuite la physiopathologie de la parodontite, et nous terminerons cette revue de la littérature par un état actuel des connaissances sur l'association entre la parodontite et les maladies cardiovasculaires d'une part et, d'autre part, sur les effets du traitement parodontal sur le risque cardiovasculaire. Dans la seconde partie du manuscrit, nous présenterons deux études. La première s'intéresse à l'association entre la parodontite et le diamètre des vaisseaux rétinien, un indicateur pronostique de futurs événements cardiovasculaires. La seconde étudie l'association entre la charge en pathogènes parodontaux et la concentration et l'activité de marqueurs inflammatoires associés aux pathologies cardiovasculaires, les phospholipases A2.

I/ DIAGNOSTIC ET CLASSIFICATION DES MALADIES PARODONTALES

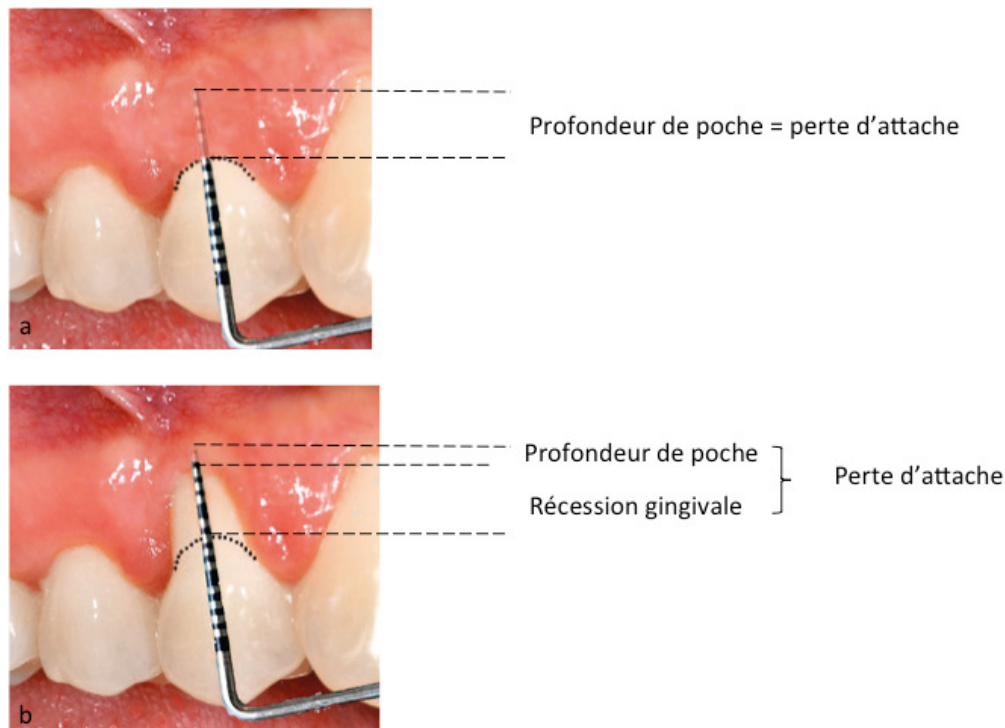
I.1) Diagnostic

Chez un sujet sain, la gencive s'attache sur la dent au niveau de la 'jonction amélo-cémentaire', c'est-à-dire à la jonction entre la racine et la couronne de la dent. On parle d'attache épithélio-conjonctive.

Dans le cas d'une parodontite, cette attache épithélio-conjonctive est détruite et migre en profondeur le long de la racine. Dans cette situation pathologique il y a création d'un espace entre la gencive et le ciment entraînant la formation d'une poche parodontale. La hauteur entre le sommet de la gencive et l'attache épithélio-conjonctive est désignée par le terme 'profondeur de poche' et la hauteur entre la jonction amélo-cémentaire et le sommet de la gencive par le terme 'récession gingivale'. Enfin, la distance entre l'extrémité de la destruction de l'attache épithélio-conjonctive et la jonction amélo-cémentaire est désignée par le terme 'perte d'attache'. Cette perte d'attache histologique est évaluée cliniquement à l'aide d'une sonde millimétrée glissée entre la gencive et la dent (sonde parodontale). Elle est donc constituée de la somme de la profondeur de poche et de la récession (rétraction) éventuelle de la gencive (Figure 2).

Classiquement, le sondage est réalisé sur toutes les dents présentes, au niveau de six sites répartis autour de chaque dent. Cependant, un sondage en bouche complète est très long à réaliser (168 sites chez un sujet entièrement denté, hors dents de sagesse). Les sondages en bouche partielle, au niveau de certaines dents spécifiques ou en demi-bouche (un quadrant maxillaire et un quadrant mandibulaire), permettent de contourner ce problème. Toutefois, un sondage parodontal en bouche partielle sous-estime la prévalence des cas de parodontite par rapport à un sondage parodontal en bouche complète [2]. Pourtant un grand nombre de cohortes épidémiologiques ont eu recours à un sondage parodontal en bouche partielle lors de l'examen bucco-dentaire.

Figure 2: Mesure clinique de la perte d'attache en l'absence (a) ou présence (b) d'une récession gingivale.



D'après Bouchard et al. Parodontologie Dentisterie implantaire. Volume 1 : Médecine parodontale. Chapitre 47 : Examen clinique parodontal. p381. Edition Lavoisier. 2015.

D'autres paramètres cliniques existent parmi lesquels l'indice de plaque (faces dentaires sur lesquelles la présence de la plaque dentaire est objectivée/nombre total de faces dentaires examinées), ou bien la perte osseuse alvéolaire, mesurée à partir de clichés radiographiques.

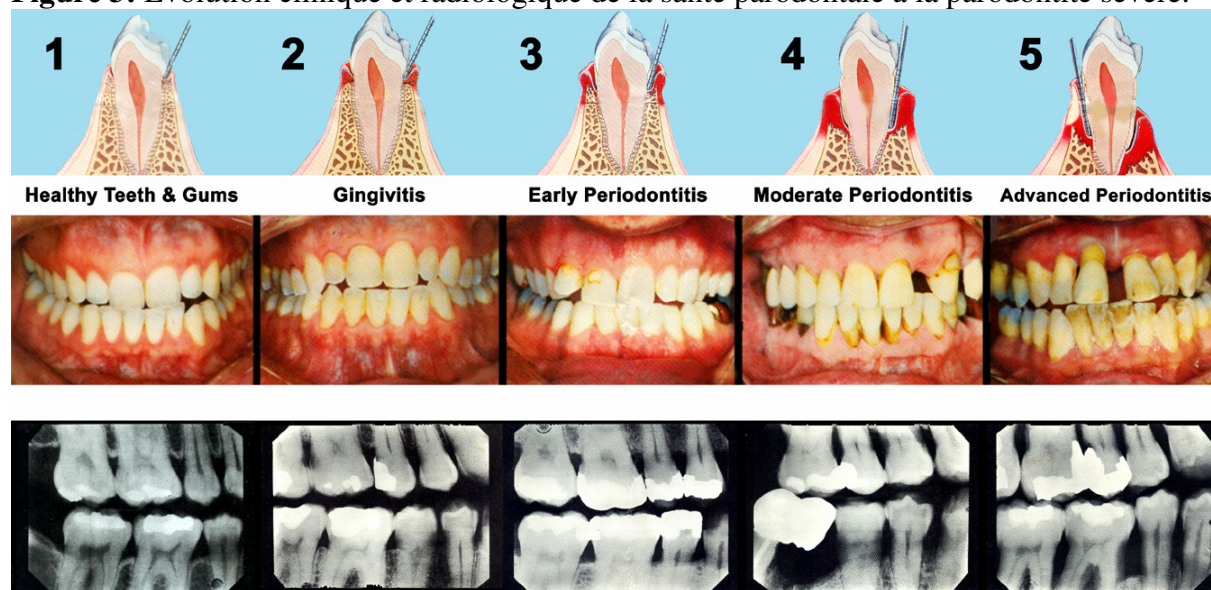
I.2) Classifications

Nous distinguons classiquement les sujets sains, sans inflammation cliniquement décelable, des sujets malades, atteints d'une gingivite ou d'une parodontite.

La gingivite se caractérise par une inflammation gingivale sans perte d'attache. La parodontite, au contraire, est une inflammation gingivale accompagnée d'une migration de l'attache épithéliale ('perte d'attache'), pouvant se compliquer par une destruction du tissu conjonctif et de l'os entourant la dent (Figure 3).

De nombreuses classifications ont été proposées dans la littérature. La multiplicité des classifications employées rend difficile les comparaisons entre les études [2]. De plus, les multiples classifications peuvent conduire à des écarts de prévalence importants. Ainsi, Costa et al. ont comparé la prévalence de la parodontite dans un échantillon de 340 sujets en utilisant six définitions différentes. Selon la définition utilisée, la prévalence de la parodontite variait de 13,8% à 65,3% [3].

Figure 3: Evolution clinique et radiologique de la santé parodontale à la parodontite sévère.



D'après <http://www.wtbyperio.com/periodontal-disease/about-periodontal-disease/>

L'objectif ici n'est pas d'énumérer l'ensemble de ces classifications, mais de présenter celles les plus utilisées.

En 1999, une conférence de consensus a abouti à la classification internationale des maladies parodontales [4]. Cette classification a mis en évidence huit grandes familles parodontales parmi lesquelles nous distinguons deux formes de parodontite : la parodontite agressive et la parodontite chronique.

Les parodontites agressives se caractérisent par un âge de survenue plus précoce et une évolution clinique rapide. En clinique, l'âge n'est pas un critère principal dans le diagnostic différentiel des deux formes de parodontite. Toutefois, la plupart des études épidémiologiques évaluent le statut parodontal de manière transversale. L'évolution de la maladie n'est alors pas appréciable. Par conséquent, l'utilisation d'un seuil d'âge minimal/maximal à l'inclusion dans le but de sélectionner des sujets atteints d'une parodontite chronique/agressive est fréquent.

On observe souvent par ailleurs une agrégation familiale chez les sujets atteints d'une parodontite agressive. D'autre part, à la différence des sujets atteints d'une parodontite chronique, ceux atteints d'une parodontite agressive ont en général peu de tartre en comparaison à la sévérité des lésions. Enfin, les sujets atteints d'une parodontite agressive présentent souvent des lésions osseuses angulaires à l'examen radiographique, principalement localisées au niveau des incisives et des premières molaires. En revanche, chez les sujets atteints d'une parodontite chronique, la destruction osseuse est généralement horizontale et sans localisation préférentielle.

L'étendue et la sévérité de la perte d'attache permettent d'affiner le diagnostic : la parodontite (agressive ou chronique) est dite 'légère' pour une perte d'attache de 1 à 2 mm, 'modérée' lorsque la perte d'attache est de 3 à 4 mm, et 'sévère' lorsqu'elle est supérieure à 4 mm. Par ailleurs, la parodontite est dite 'localisée' lorsque 30% et moins des sites sont atteints, et 'généralisée' lorsque plus de 30% des sites sont atteints.

Pendant longtemps l'indice *CPITN* (*Community Periodontal Index of Treatment Needs*) a également été utilisé dans les études épidémiologiques. Développé par la *Fédération Dentaire Internationale (FDI)* et l'*Organisation Mondiale de la Santé*, l'indice *CPITN* permet, à partir uniquement de mesures réalisées au niveau de six dents à l'aide d'une sonde prévue à cet effet et d'un score allant de 0 à 4, d'évaluer les besoins en traitement parodontal d'une population [5]. Toutefois, ce score a été régulièrement détourné de son objectif principal et utilisé afin de distinguer les sujets sains des sujets atteints d'une gingivite ou d'une parodontite. Une étude a toutefois montré que lorsque l'indice *CPITN* était comparé à un sondage parodontal complet, la sensibilité et la valeur prédictive négative de l'indice *CPITN* étaient mauvaises, et que l'utilisation de l'indice *CPITN* sous-évaluait la prévalence des maladies parodontales [6].

D'autres classifications, plus facilement applicables aux études épidémiologiques, ont été proposées. Le *Center for Disease Control* et l'*American Association of Periodontology (CDC/AAP)* ont proposé une classification reposant sur la sévérité des atteintes parodontales, indépendamment du caractère agressif ou chronique de la maladie [7]. Les sujets atteints d'une parodontite sévère présentent au moins deux sites proximaux (entre deux dents contigües), sur deux dents différentes, avec une perte d'attache de 6mm et plus, et au moins un autre site avec une poche parodontale de 5mm et plus. Les sujets atteints d'une parodontite modérée ont au moins deux sites proximaux sur deux dents différentes avec une perte

d'attache de 4mm et plus, ou au moins deux sites proximaux sur deux dents différentes avec une poche parodontale de 5mm et plus (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification des maladies parodontales selon le *Center for Disease Control* et l'*American Association of Periodontology*.

	Définition clinique	
	Perte d'attache clinique	Profondeur de poche
Parodontite sévère	≥ 2 sites proximaux avec une perte d'attache ≥ 6 mm (sur des dents différentes)	et ≥ 1 site proximal avec une profondeur de poche ≥ 5 mm
Parodontite modérée	≥ 2 sites proximaux avec une perte d'attache ≥ 4 mm (sur des dents différentes)	ou ≥ 2 sites proximaux avec des profondeurs de poche ≥ 5 mm (sur des dents différentes)
Parodontite légère ou sujet sans parodontite	Sujet ne répondant pas aux critères de la parodontite sévère ou modérée	

D'après Page et Eke [7].

Demmer et Papapanou ont modifié la classification proposée par le *CDC/AAP* afin d'y ajouter le caractère agressif ou chronique de la maladie parodontale [8].

Ainsi, chez les sujets âgés de 25 ans et moins, la présence de deux sites proximaux non-adjacents, et sur deux dents différentes, avec une perte d'attache de 4mm et plus et un saignement au sondage, signe une parodontite agressive. Entre 26 et 35 ans, les critères sont identiques à l'exception du seuil de sévérité de la perte d'attache qui est fixé à 6mm et plus. Au-delà de 35 ans, les critères cliniques sont identiques à ceux pris pour un sujet âgé de 26 à 35 ans, mais l'observation d'une évolution rapide des lésions parodontales (définie par la comparaison de l'état clinique actuel avec des documents antérieurs), et la présence d'une agrégation familiale, permettent de différencier les parodontites agressives des parodontites chroniques.

Dans les cohortes épidémiologiques, il est souvent difficile d'interroger les sujets sur l'existence d'antécédents familiaux sans s'exposer à un biais de réponse. Il est également long, et donc coûteux, de comparer les documents cliniques et/ou radiologiques afin de déterminer la vitesse de progression des atteintes parodontales. Aussi, en raison de la faible prévalence

des parodontites agressives (<5%), il est communément admis que des atteintes parodontales survenues chez des sujets âgés de moins de 35 ans à l'inclusion signent une parodontite aggressive, tandis qu'elles sont le signe d'une parodontite chronique lorsque les sujets sont âgés de 35 ans et plus à l'inclusion.

En raison de la faible prévalence de la parodontite aggressive d'une part, et de l'association entre la parodontite chronique et les maladies systémiques d'autre part, nous nous intéresserons dans ce travail de thèse à la parodontite chronique.

II/ ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA PARODONTITE CHRONIQUE

II.1) Prévalence

Nous l'avons vu précédemment, il existe une multiplicité de définitions des maladies parodontales, ce qui rend difficile la comparaison entre les études [2]. L'étude de Costa et al. décrite plus haut a montré que la prévalence des maladies parodontales variait beaucoup selon la définition utilisée [3]. Par ailleurs, nous avons vu que le sondage en bouche partielle, utilisé couramment dans les grandes études épidémiologiques (*NHANES* par exemple, jusqu'à la *NHANES 2009-2010*), sous-estimait la prévalence des maladies parodontales [2]. Même si la classification internationale des maladies parodontales de 1999 fait encore aujourd'hui autorité, un nombre de plus en plus grand d'études de prévalence s'appuient sur la définition proposée par le *CDC/AAP*.

En France, une seule étude nationale de prévalence existe. Réalisée à partir d'un sondage en bouche complète sur un échantillon de 2132 adultes âgés de 35 ans à 65 ans, les auteurs ont montré que près de 47% des sujets avaient au moins un site avec une perte d'attache de 3mm et plus, et près de 20% avaient au moins un site avec une perte d'attache de plus de 5mm [9].

En Allemagne, les résultats issus de la cohorte *SHIP* ont montré que 34% des sujets âgés de 30 à 39 ans avaient au moins un site avec une perte d'attache de 5mm et plus, 78% chez les adultes âgés de 50 à 59 ans, et 88% chez les sujets âgés de plus de 70 ans [10].

Aux Etats-Unis, une étude réalisée à partir des données issues de la *NHANES 2009-2010* a montré qu'après sondage en bouche complète, près de 33% des sujets âgés de 35 à 49 ans

présentaient au moins un site avec une perte d'attache de 5mm et plus (64% pour une perte d'attache de 3mm et plus), contre 67% chez les sujets âgés de 65 ans et plus (plus de 96% pour une perte d'attache de 3mm et plus). En outre, 52% des hommes âgés de plus de 35 ans avaient au moins un site avec une perte d'attache de 5mm et plus, contre 35% chez les femmes [11].

En Chine, près de 60% des sujets âgés de 35 à 44 ans présentaient au moins un site avec une perte d'attache de 4mm et plus, et un peu plus de 55% avec une perte d'attache de 6mm et plus [12].

En Australie, l'enquête nationale *NSAOH* a montré que 49% des adultes âgés de 35 à 54 ans avaient au moins un site de sondage avec une perte d'attache de 4mm et plus, contre près de 81% chez les sujets âgés de 75 ans et plus [13].

Le Tableau 2 s'appuie sur les principales cohortes nationales afin de comparer la prévalence des parodontites chroniques entre les pays.

Une récente revue systématique a montré, à partir de 72 études regroupant plus de 290 000 sujets de plus de 15 ans, que la maladie parodontale était la sixième pathologie en terme de prévalence dans le monde. Les auteurs ont observé que 10,8% (IC95% : 10,1; 11,6) des sujets inclus étaient atteints d'une parodontite. La prévalence variait beaucoup selon les populations, puisqu'aux Iles Fidji, elle était de 3,6% (3,3% ; 3,9%), contre 18,7% (17,3% ; 20,1%) au Chili. La prévalence de la parodontite augmentait par ailleurs avec l'âge, en particulier entre 30 et 40 ans, jusqu'à atteindre un seuil après 40 ans avec une prévalence de plus de 25% [14].

Tableau 2: Prévalence des parodontites chroniques par pays.

Auteur(s), cohorte, année	Pays	Nombre de sujets	Âge (Années)	Examen en bouche complète (Oui/Non)	Définition des cas	Résultats
Eke et al. (NHANES), 2009-2010 [11]	États-Unis	3742	30+	Oui	CDC/AAP [23]	Parodontite légère : 8,7% Parodontite modérée : 30,0% Parodontite sévère : 8,5%
Bourgeois et al. (NPASES I), 2002-2003[15]	France	2144	35-65	Oui	Classification internationale (1999) [4]	Parodontite légère généralisée : 26,8% Parodontite modérée généralisée : 25,1% Parodontite sévère généralisée: 18,7%
Holtfreter et al. (SHIP), 1997- 2001 [10]	Allemagne	3552	20+	Non	CDC/AAP [23]	Parodontite légère : 49,1% Parodontite modérée : 33,3% Parodontite sévère : 17,6%
Peres et al., Brazilian Oral health Survey, 2002-2003[16]	Brésil	11342	35-44	Non	Au moins 1 site avec PPD $\geq$ 4mm et au moins 1 site avec CAL $\geq$ 4mm	9%
Corbet et al., 1997 [12]	Chine	2858	35-44 (n=1572) 65-74 (n=1286)	Non pour les 35- 44 ans et oui pour les 65-74 ans	CPITN	CPITN=3 : 35-44 ans : 32% 65-74 ans : 37% CPITN=4 35-44 ans : 4% 65-74 ans : 6,5%
ARCPOH (NSAOH), 2004- 2006* [17]	Australie	4967	15+	Oui	CDC/AAP (parodontites modérée et sévère) [23]	CDC/AAP : 35-54 ans : 24,5% 55-74 ans : 43,6% 75+ : 60,8%

ARCPOH : Australian Research Centre for Population Oral Health.*: Effectifs par sous-catégories d'âge non disponibles.

ABL : Niveau osseux alvéolaire présent sur 80% à 100% des dents. CAL : Niveau d'attache clinique.

II.2) Facteurs de risque des parodontites chroniques

Les maladies parodontales sont des pathologies inflammatoires d'origine bactérienne dont l'expression clinique dépend de nombreux facteurs de risque. Selon Salvi et al. [18], les quatre critères nécessaires pour définir un facteur de risque sont :

- _ Une association allant dans le même sens et de même amplitude, retrouvée dans plusieurs études réalisées sur des populations différentes.

- _ Une séquence temporelle au cours de laquelle l'exposition au potentiel facteur de risque précède la survenue de la maladie; ce qui exclut les études transversales qui constituent une image instantanée de la relation entre un facteur d'exposition et une maladie.

- _ Une association entre le facteur d'exposition et la survenue de la maladie, qui persiste après ajustement sur les variables de confusion. Cette condition implique l'utilisation de modèles multivariés.

- _ La réalisation d'études d'intervention dans lesquelles le contrôle ou la suppression du potentiel facteur de risque a pour effet de réduire le risque de survenue de la maladie.

Un tableau récapitulatif des facteurs de risque des maladies parodontales est présenté en fin du chapitre.

II.2.1) Facteurs de risque vrais

A) Tabac

La consommation de tabac est un facteur de risque majeur des maladies parodontales.

Une étude longitudinale sur 20 ans, réalisée sur un échantillon de 507 sujets âgés de plus de 18 ans à l'inclusion, a montré que la perte osseuse alvéolaire était significativement plus élevée chez les fumeurs que chez les anciens ou les non-fumeurs, et qu'elle augmentait avec

la consommation de cigarette selon un gradient dose-effet. Chez les sujets ayant fumé tout au long de la période de suivi, la perte osseuse moyenne sur 20 ans était presque 45% plus élevée que chez les non-fumeurs et chez les anciens fumeurs ($p<0,001$). Par ailleurs, il existait une relation dose-effet, puisque lorsque les auteurs se sont intéressés aux sujets n'ayant pas modifié leur consommation tabagique au cours de la période de suivi, les personnes fumant 10 cigarettes par jour et moins avaient une perte osseuse moyenne presque 20% plus élevée que les non-fumeurs, et ceux fumant plus de 20 cigarettes par jour près de 75% plus élevée ($p=0,03$) [19].

Une autre étude, transversale, réalisée au Brésil sur un échantillon de 705 adultes âgés de 35 ans et plus, a montré également que les fumeurs et les anciens fumeurs étaient plus à risque d'être atteints d'une maladie parodontale que les non-fumeurs, après ajustement sur les autres facteurs de risque traditionnels de la parodontite (avec un odds-ratio respectivement de 5,24 (IC 95% : 2,61; 8,97) et de 3,09 (1,98; 4,92)). Lorsque les auteurs ont interrogé les fumeurs et les anciens fumeurs sur l'exposition au tabac, mesurée par le nombre de paquets/année, les fumeurs légers ($n=134$, $\leq 20,0$ paquets/année) avaient un risque augmenté d'être atteint d'une parodontite lorsqu'ils étaient comparés aux non-fumeurs (OR=2,12 (IC95% : 1,29; 3,46), $p<0,01$). Le risque augmentait avec l'intensité de l'exposition tabagique : comparés aux non-fumeurs, l'odds ratio était de 4,05 (2,56 ; 6,72) chez les fumeurs modérés (entre 20,1 et 40,0 paquets/année, $n=112$), et chez les gros fumeurs (plus de 40,0 paquets/année, $n=124$) de 4,23 (2,65; 6,74). En outre, il existait également une relation dose-effet avec la durée du sevrage tabagique puisque, comparés aux fumeurs, le risque d'être atteint d'une parodontite était significativement réduit chez les anciens fumeurs après 11 années de sevrage tabagique (p de tendance $<0,001$) [20].

Une revue systématique de la littérature s'est intéressée aux effets du sevrage tabagique sur la santé parodontale. Les progressions de la perte d'attache et de l'os alvéolaire étaient moins importantes chez les fumeurs qui sont passés en sevrage tabagique après l'inclusion que chez les fumeurs. De plus, les anciens fumeurs répondaient mieux au traitement parodontal non-chirurgical que les fumeurs (les réductions des profondeurs de poche observées étaient plus importantes) [21].

Le tabac augmenterait le risque de survenue d'une parodontite en réduisant la microcirculation gingivale, créant ainsi un écosystème appauvri en oxygène et favorisant ainsi

la croissance des pathogènes parodontaux anaérobies. De plus, le tabac altérerait la fonction phagocytaire des polynucléaires neutrophiles (PMNs) et augmenterait le nombre de lymphocytes T CD4 et CD8, favorisant ainsi les mécanismes de destruction tissulaire.

B) Diabète

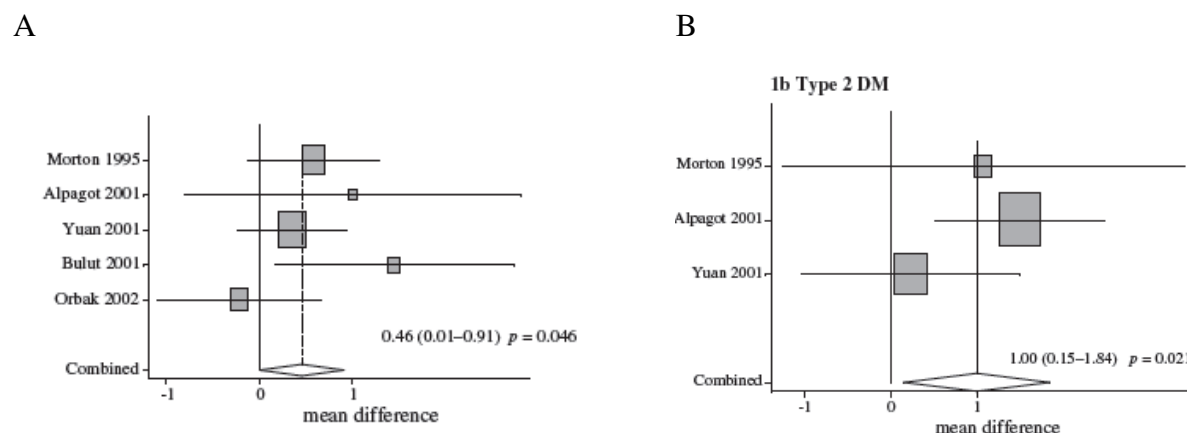
La maladie parodontale est considérée comme la sixième complication du diabète après les rétinopathies diabétiques, les néphropathies diabétiques, les neuropathies diabétiques, la macroangiopathie et le pied diabétique [22].

Une méta-analyse s'est intéressée à comparer les différences de perte d'attache et de profondeur de poche moyennes entre les sujets atteints d'un diabète de type 1 et de type 2, et les sujets non-diabétiques. Concernant la perte d'attache moyenne, il existait une différence significative lorsque les auteurs comparaient les sujets sains avec les sujets atteints d'un diabète de type 2 (3 études, $n=471$, différence moyenne= 1mm (IC95% : 0,15; 1,84), $p=0,02$). En revanche aucune différence significative n'était observée lorsque les auteurs comparaient les sujets sains aux sujets atteints d'un diabète de type 1 (9 études, $n=590$ $p>0,05$). Contrairement aux sujets atteints d'un diabète de type 1 (10 études, $n=709$, $p=0,14$), une différence de profondeur de poche moyenne était également observée entre les sujets atteints d'un diabète de type 2 et les sujets sains (5 études, $n= 582$, différence moyenne=0,46mm (0,01; 0,91), $p<0,05$)) [23] (Figure 4).

Une étude longitudinale sur 5 ans basée sur la cohorte allemande *SHIP* a montré qu'un diabète mal équilibré ($HbA1c>7,0\%$) s'accompagnait, après ajustement, d'une augmentation du risque de perte dentaire au cours de la période de suivi ($RR=1,36$ (IC95% : 1,11; 1,67) chez les sujets diabétiques de type 2 non contrôlés, et 1,93 (1,55; 2,39) chez les sujets diabétiques de type 1 non contrôlés, les sujets sains étant considérés comme le groupe de référence. Ce risque devenait non-significatif chez les diabétiques de type 1 et 2 contrôlés (respectivement 1,08 (0,67; 1,71) et 1,01 (0,79; 1,28)). La présence d'un diabète de type 2 non contrôlé était associée à une augmentation significative de la profondeur de poche (A) et de la perte d'attache (B) moyennes sur 5 ans, tandis que le diabète de type 1 non contrôlé était associé à une augmentation significative sur 5 ans de la perte d'attache moyenne [24] (Figure 5).

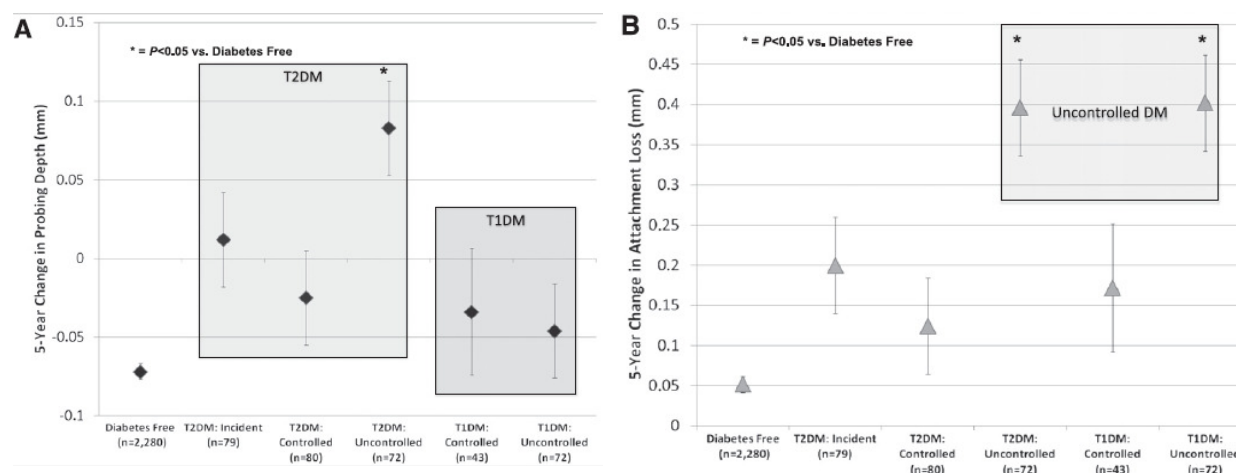
Par ailleurs, il a été observé une relation entre l'intensité du diabète et la sévérité des atteintes parodontales, une augmentation d'un pour cent du taux d'hémoglobine glyquée étant, après ajustement, associée à une augmentation significative de la profondeur de poche ($p<0,01$) et de la perte d'attache moyenne ($p<0,01$) [24].

Figure 4: Différence de profondeur de poche moyenne (A) et de perte d'attache moyenne (B) entre les sujets atteints d'un diabète de type 2 et les sujets non-diabétiques.



D'après Chavarry et al. [23]. p d'hétérogénéité : A, $p=0,27$. B, $p=0,30$.

Figure 5: Différence de profondeur de poche moyenne (A) et de perte d'attache moyenne (B) sur 5 ans selon le statut diabétique.



D'après Demmer et al. [24]. Ajustement sur l'âge, le sexe, la consommation tabagique, le rapport taille-hanche et le niveau d'études.

L'hyperglycémie observée chez les sujets diabétiques non contrôlés serait responsable d'une glycation des protéines, alors transformées en produits de glycation avancée (protéines AGEs).

Ces protéines seraient reconnues par les monocytes et les cellules endothéliales qui présentent à leurs surfaces des récepteurs spécifiques (RAGEs). La fixation des protéines AGEs sur ces récepteurs déclencherait la libération de radicaux libres et de cytokines pro-inflammatoires comme IL-1b, IL-6 et TNF-a, impliquées dans les mécanismes de destruction tissulaire [25].

II.2.2) Facteurs de risque potentiels

A) Âge

La prévalence de la parodontite chronique augmente avec l'âge, comme l'ont montré les récentes données issues de la *NHANES 2009-2010*. Dans cette étude, 3743 sujets non-institutionnalisés, âgés de plus de 30 ans et répartis sur l'ensemble du territoire des Etats-Unis, ont eu un sondage parodontal en bouche complète. Les auteurs ont montré que la prévalence de la parodontite était de 24,4% chez les sujets âgés de 30-34 ans, 36,6% chez les 35-44 ans, 57,2% chez les 50-64 ans, et 70,1% chez les plus de 65 ans. Ce gradient était retrouvé dans les formes les plus sévères de parodontite avec des prévalences respectivement de 1,9%, 6,7%, 11,7% et 11,2% [11].

En France, l'étude transversale NPASES I, réalisée chez 2132 adultes âgés de 35 à 64 ans consultant dans les centres d'examens de santé, s'est intéressée à la prévalence des parodontites et aux facteurs de risque associés. Les auteurs ont montré une association significative entre l'âge et la présence d'au moins un site avec une perte d'attache sévère supérieure à 5mm (22% des adultes âgés de 35 et 44 ans présentaient une telle perte d'attache, 32% des adultes âgés de 45 à 54 ans, et 46% des adultes âgés de 55 à 64 ans, $p<0,001$). Par ailleurs, une augmentation de l'âge de 10 années était associée à un risque plus élevé d'observer une perte d'attache sévère (OR= 1,8 (IC95% : 1,6 ; 2,0)). Après ajustement sur le sexe, la consommation d'alcool, l'indice de masse corporelle (IMC) et la numération leucocytaire, l'association entre l'âge et la présence d'une perte d'attache sévère persistait (OR= 1,8 (IC95% : 1,6 ; 2,1)) [9].

L'explication pourrait résider, en plus du vieillissement physiologique du parodonte, en une accumulation de tartre avec l'âge. Albandar et al. ont ainsi montré que près de 50% des adultes de 30 à 39 ans présentaient des dépôts de tartre sous-gingival, contre près de 60% chez les 50-59 ans et plus de 70% chez les 80-90 ans [26].

B) Sexe

Selon la même étude, la prévalence de la parodontite serait plus élevée chez les hommes (56,4%) que chez les femmes (38,4%). Cette différence a été également observée pour les formes les plus sévères de parodontite (12,6% chez les hommes, 4,5% chez les femmes) [11]. En France, l'étude NPASESI a montré que 58% des adultes possédant au moins un site avec une perte d'attache sévère de plus de 5mm étaient des hommes ($p<0,001$). Le fait d'être un homme augmentait significativement le risque d'avoir au moins un site avec une perte d'attache sévère (OR= 1,6 (IC95% : 1,3 ; 1,9)). Cette association persistait après ajustement sur l'âge, la consommation d'alcool, l'IMC et la numération leucocytaire [9].

Différentes hypothèses ont été proposées. Il a été démontré que les hommes avaient une moins bonne hygiène bucco-dentaire que les femmes. Albandar et al. ont ainsi observé que 53,5% des hommes âgés de 30 à 39 ans avaient des dépôts de tartre sous-gingivaux, contre 44,6% chez les femmes ($p=0,003$), 64,1% chez les hommes âgés de 50-59 ans contre 53,7% chez les femmes du même âge ($p=0,02$), et 70,2% chez les hommes âgés de 70 à 79 ans contre 62,9% chez les femmes du même âge ($p=0,02$) [26]. L'utilisation chez les femmes ménopausées de suppléments en œstrogène aurait un effet protecteur pour le parodonte. Dans une étude transversale réalisée chez 228 femmes âgées de 50 à 64 ans, les femmes ayant un traitement à base d'œstrogène avaient un indice de saignement gingival moins élevé [27].

C) Origine ethnique

La prévalence de la parodontite serait plus importante chez les sujets afro-américains (58,6%) et hispano-américains (66,7%), que chez les caucasiens (42,6%). Chez les sujets atteints d'une parodontite sévère, la prévalence était de 13,2% chez les afro-américains et 17,3% chez les hispano-américains, contre 6,3% chez les caucasiens [11]. Les inégalités socio-économiques, ainsi que l'inégale exposition aux facteurs de risque entre les différentes communautés, interviendraient dans ces inégalités de distribution.

D) Stress et coping

Le stress, par les modifications hormonales qui y sont associées, est un facteur de risque de la parodontite. Une étude transversale, réalisée sur un échantillon de 1000 adultes chinois âgés de 25 à 64 ans, s'est intéressée à l'association entre la présence d'une atteinte parodontale

(présence d'un site avec une perte d'attache de 3mm et plus, n=152), et les facteurs psychosociaux mesurés à l'aide de plusieurs échelles psychométriques adaptées et validées en population chinoise. Les auteurs ont montré, après ajustement sur les facteurs de risque classiques, que l'anxiété et la dépression, mesurées à l'aide de l'échelle *DASS (Depression Anxiety Stress Scales)* [28], ainsi que la pression au travail et la pression financière, mesurées par l'échelle *PELS (Problems of Everyday Living Scale)* de Pearling et Schooler [29], étaient associées à une atteinte parodontale [30] .

Une revue de la littérature sur le sujet a identifié 14 études traitant du sujet (7 études cas-témoins, 6 études transversales et un essai clinique). Parmi ces études, seules deux études n'ont pas montré d'association significative entre la parodontite et le stress [31].

Par ailleurs les auteurs se sont également intéressés au *coping*, c'est-à-dire à la capacité des individus à s'adapter à une situation stressante. Classiquement, deux formes de *coping* sont décrites dans la littérature : le *coping* centré sur les émotions, dont l'objectif est de réguler la charge émotionnelle associée à une situation stressante par différentes techniques comme le blâme ou l'évitement, et le *coping* centré sur les problèmes qui consiste à réduire ou éliminer l'élément stressant après l'avoir identifié. Le *coping* centré sur les émotions, à la différence du *coping* centré sur les problèmes, est souvent associé à des stratégies inadaptées et inefficaces, sans effet biologique protecteur sur le système hormonal et immunitaire. Dans une étude transversale réalisée chez 1426 adultes âgés de 25 à 74 ans (741 femmes) et issus de l'étude *Erie County Risk Factor Study*, les auteurs se sont intéressés à l'association entre la perte d'attache clinique et le stress, mesuré à l'aide de l'échelle *Life Event Scale* [32], ainsi qu'à l'association entre la perte d'attache clinique et le style de *coping*, mesuré à l'aide de l'échelle *Coping Styles and Strategies* [33]. La pression financière était associée à une augmentation de la perte d'attache clinique (OR= 1,37 (IC95% : 1,04 ; 1,81)). Après ajustement sur l'âge, le sexe et le tabac, cette association restait significative chez les sujets ayant un niveau de *coping* insuffisant (respectivement OR= 2,24 (IC95% : 1,15 ; 4,38) pour le *coping* centré sur les émotions et OR= 2,21 (IC95% : 1,11 ; 4,38) pour le *coping* centré sur les problèmes). En revanche, l'association disparaissait chez les sujets ayant une meilleure capacité de *coping* (respectivement OR= 1,91 (IC95% : 0,97 ; 3,76). et OR= 1,49 (IC95% : 0,76 ; 2,92)) [34].

L'association entre la parodontite et le stress s'expliquerait par une élévation de la concentration en cortisol sérique et salivaire, par une surexpression des cytokines pro-

inflammatoires en réponse aux pathogènes parodontaux, et par une plus grande exposition aux comportements à risque comme la consommation de tabac et/ou une moins bonne hygiène bucco-dentaire [35].

E) Maladies systémiques

Nous avons vu que le risque de parodontite était augmenté en présence d'un diabète de type 2. Il existe un certain nombre de pathologies associées à une altération du système immunitaire, et par conséquent à une moins bonne protection contre les pathogènes parodontaux et à un risque augmenté de parodontite. Parmi ces pathologies, nous pouvons citer le syndrome d'immunodéficience acquise (VIH), la neutropénie cyclique congénitale, le syndrome de Papillon-Lefèvre, le syndrome de Chédiak-Higashi, le syndrome de déficit d'adhésion leucocytaire ou la granulomatose chronique [36] [37].

Un certain nombre de pathologies associées à des altérations structurelles du parodonte sont également associées à un risque augmenté de survenue d'une parodontite, comme l'ostéoporose et l'ostéopénie, affectant le métabolisme osseux, ou le syndrome d'Elher-Danlos, caractérisé par une altération du collagène de type I présent dans le tissu conjonctif [37] [38].

Enfin, les sujets obèses ont un risque augmenté de parodontite. Une récente revue de la littérature avec méta-analyse a montré un risque de survenue plus élevé de parodontite chronique chez les sujets obèses ou en surpoids (OR= 2,13 (IC95% : 1,40 ; 3,26). $I^2= 73\%$. 6 études, 14687 adultes âgés de 20 ans et plus). Le risque d'être atteint d'une parodontite semble plus élevé chez les sujets obèses (OR= 1,81 (IC95% : 1,42 ; 2,30). $I^2= 73\%$. 13 études. 24617 sujets), que chez les sujets en surpoids (OR= 1,27 (IC95% : 1,06 ; 1,51). $I^2= 79\%$. 12 études. 24476 sujets) [39]. Le tissu adipeux produit un certain nombre de cytokines, dont TNF α et IL-6 qui seraient fréquemment retrouvées chez les sujets atteints d'une parodontite. Par ailleurs, les pathologies associées à l'obésité, comme le diabète de type 2 et l'hypertension artérielle, pourraient également expliquer l'association entre l'obésité et la parodontite [40].

F) Facteurs génétiques

Une récente méta-analyse, regroupant 23 études cas-témoins pour un total de 2122 sujets atteints de parodontite chronique et 1794 sujets sains, s'est intéressée à l'association entre la présence d'une parodontite chronique et les mutations du gène codant pour IL-1 α . Il existe deux versions de ce gène rencontrées couramment en population générale et se différenciant par une seule base nucléique pouvant être ou bien une cytosine (allèle IL-1 α (C)), ou bien une thymine (allèle IL-1 α (T)). Cela conduit à trois combinaisons possibles : CC, CT et TT. Lorsque les auteurs ont comparé les sujets présentant la version TT du gène avec ceux présentant la version CC, ils ont observé un risque accru de parodontite chronique chez les sujets présentant la première version (OR= 1,59 (IC95% : 1,22 ; 2,07). I²= 13%). Ce risque était légèrement diminué lorsque les adultes présentant la version CT étaient comparés avec ceux ayant la version CC (OR= 1,30 (IC95% : 1,12 ; 1,51). I²= 42%). Enfin, lorsque les sujets présentant la version TT étaient comparés à tous les autres sujets (versions CC et CT du gène), le risque était également augmenté (OR= 1,47 (IC95% : 1,16 ; 1,87). I²= 14%). La permutation d'une cytosine en thymine au niveau du gène codant pour IL-1 α semblerait donc augmenter le risque d'être atteint d'une parodontite chronique [41].

II.2.3) Tableau récapitulatif des facteurs de risque des parodontites

Tableau 3: Résumé des facteurs de risque des parodontites.

Facteurs de risque	Nature des associations	Études
Tabac	Risque : F>AF>NF	Jansson et al. 2002. (L). [19]
	Relation dose-effet	Costa et al. 2013. (T). [20]
	Risque ↓ avec durée du sevrage tabagique	Fiorini et al. 2014. (R). [21]
	Moins bonne réponse au traitement parodontal	
Diabète	Risque ↑ chez les diabétiques de type 2	Chavarry et al. 2009. (MA). [23]
	Pas de risque augmenté si le diabète est bien contrôlé	Demmer et al. 2012. (L). [24]
	Risque ↑ avec taux d'hémoglobine glyquée	
Age	Risque ↑ avec l'âge	Bouchard et al. 2006. (T). [9]
		Eke et al. 2012. (T). [11]

262 **Tableau 3:** Résumé des facteurs de risque des parodontites (*Suite*).
 263

Facteurs de risque	Nature des associations	Études
Sexe	Risque ↑ chez les hommes	Bouchard et al. 2006. (T). [9] Eke et al. 2012. (T). [11]
Origine ethnique	Risque ↑ chez les hispano-américains et les afro-américains	Eke et al. 2012. (T). [11]
Stress et <i>coping</i>	Risque ↑ avec le stress Risque ↓ avec le <i>coping</i>	Ng et al. 2006. (T). [30] Peruzzo et al. 2007. (MA). [31] Genco et al. 1999. (T). [34]
Maladies systémiques	Risque ↑ avec les pathologies du système immunitaire Risque ↑ avec ostéoporose et ostéopénie Risque ↑ chez les sujets en surpoids et obèses	Deas et al. 2003. (R). [36] Van Dyke et al. 2005. (R). [37] Genco et al. 2013. (R). [38] Suvan et al. 2011. (R). [39]
Facteurs génétiques	Risque ↑ en cas de mutation sur le gène codant pour IL-1α	Mao et al. 2013. (MA). [41]

264 *F : Fumeurs ; AF : Anciens fumeurs ; NF : Non-fumeurs. MA : Méta-analyse, R : Revue de la*
 265 *littérature. L : Étude longitudinale. T : Étude transversale.*
 266

267 **III/ PHYSIOPATHOGÉNIE DE LA PARODONTITE CHRONIQUE**
 268

269 La parodontite chronique a pour origine une modification dans la composition de la plaque
 270 dentaire qui provoque une activation des mécanismes de défense de l’hôte qui, lorsqu’ils sont
 271 dépassés, génèrent ensuite une libération accrue de cytokines pro-inflammatoires se traduisant
 272 cliniquement par une destruction des tissus parodontaux [42] (Figure 6).
 273

La plaque dentaire est un biofilm bactérien composé de plusieurs bactéries organisées de manière structurelle et fonctionnelle et colonisant les surfaces dentaires et prothétiques [43]. L'avantage tiré de cette organisation en biofilm est une amélioration du métabolisme bactérien par partenariat, une augmentation de la virulence bactérienne, et une meilleure résistance aux antibiotiques et aux mécanismes de défense de l'hôte.

Les bactéries constituant la plaque dentaire libèrent en continu une certaine quantité de molécules comme l'acide propionique, l'acide butyrique, les lipopolysaccharides (LPS). En réponse, les mécanismes de défense innée (polynucléaires neutrophiles, macrophages, production de cytokines pro-inflammatoires), puis de défense acquise de l'hôte (lymphocytes B et T, production d'immunoglobulines) se mettent en place. Tous ces mécanismes de défense permettent ainsi de contrôler le développement de la plaque dentaire et de maintenir une homéostasie tissulaire [44].

En présence d'une augmentation de la charge bactérienne et de modifications au sein de la plaque dentaire, les mécanismes de défense de l'hôte sont débordés et on assiste à une rupture de l'équilibre hôte-bactéries. On observe alors une libération accrue de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , INF γ , PGE₂...), et d'un certain nombre de métalloprotéinases. Cela se traduit par les signes cliniques de la parodontite, la formation d'une poche parodontale et la destruction de l'os alvéolaire entourant les dents [44, 45].

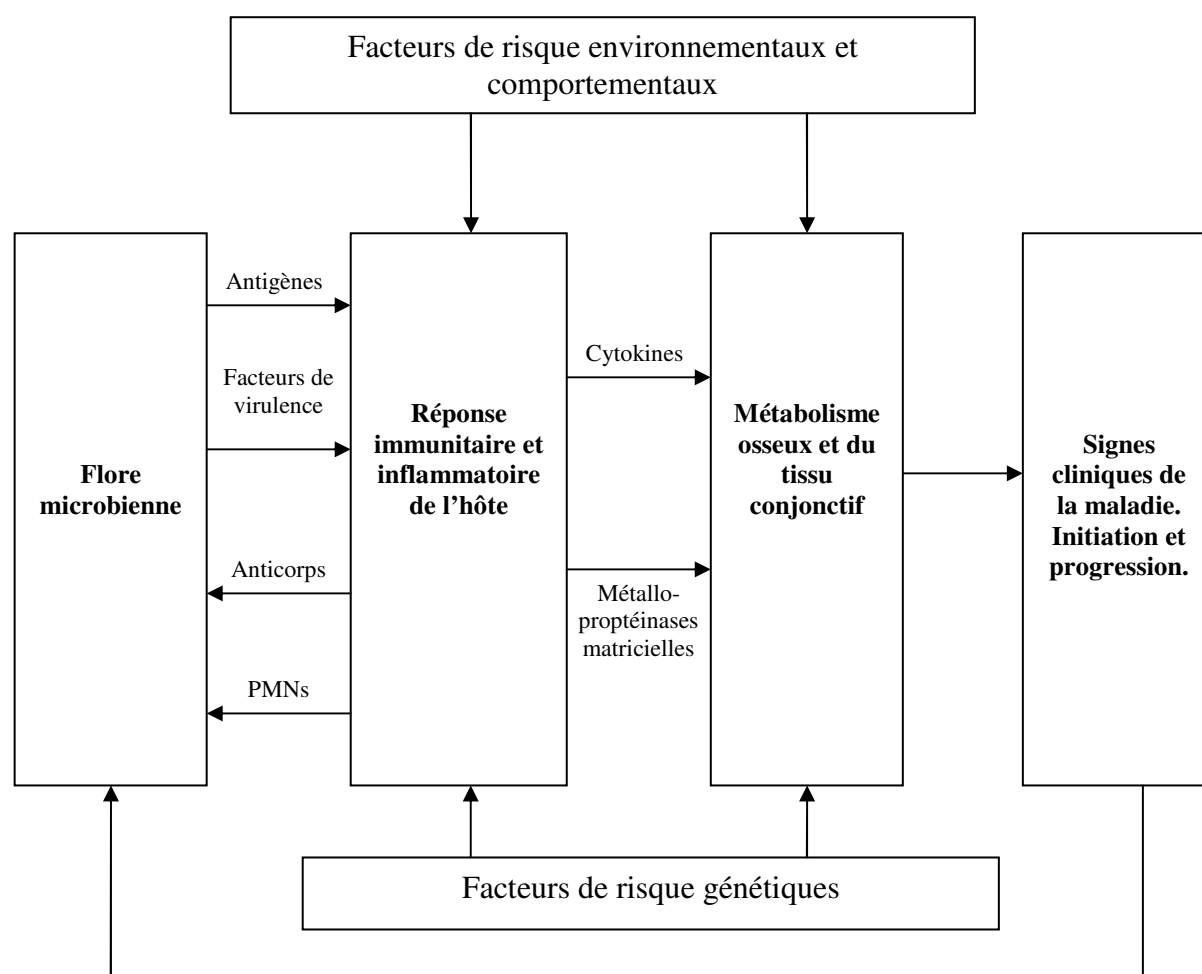
Les facteurs de risque comme le tabac, le diabète ou l'obésité modifient le seuil d'équilibre entre les pathogènes de la plaque dentaire et les mécanismes de défense de l'hôte.

III.1) Microbiologie

III.1.1) Les complexes bactériens

Socransky et Haffajee ont, à la fin des années 1990, étudié quelles bactéries de la plaque sous-gingivale étaient associées à une atteinte des tissus parodontaux, et si ces bactéries se retrouvaient fréquemment associées à d'autres bactéries. A partir de 13261 échantillons de plaque prélevés chez 185 adultes (160 sujets avec des atteintes parodontales et 25 sujets sains), les auteurs ont identifié 40 bactéries par des techniques d'hybridation ADN-ADN, et ont ensuite cherché à identifier des complexes bactériens en utilisant des analyses en cluster.

Figure 6: Mécanismes pathogéniques à l'origine de la parodontite chronique.

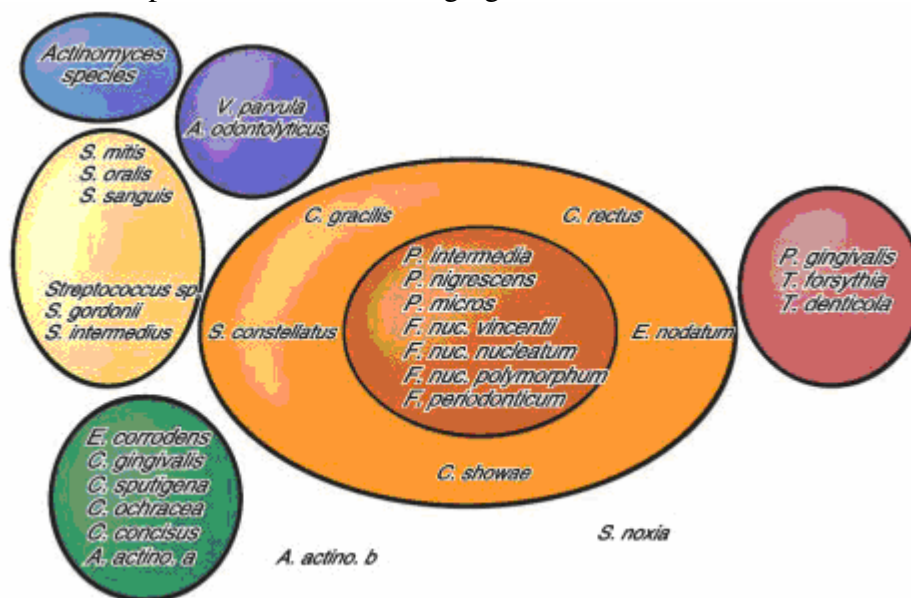


D'après Page et Kornman [42].

Les auteurs ont ainsi identifié deux complexes bactériens, les complexes rouge et orange, dont les bactéries entrant dans leurs compositions étaient fréquemment retrouvées au niveau des sites avec des profondeurs de poche importantes et un saignement au sondage. Le complexe rouge était constitué de trois bactéries : *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* et *Bacteroides forsythus*. D'autres bactéries étaient, dans des proportions moindres, associées à un statut parodontal altéré (saignement au sondage et poches parodontales profondes). Ces bactéries constituaient le complexe orange. Le complexe orange était formé des bactéries suivantes : *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter rectus*, *Streptococcus constellatus*, *Campylobacter showae*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum vincentii*, *Fusobacterium nucleatum nucleatum*, *Fusobacterium nucleatum polymorphum*, *Fusobacterium periodonticum* et *Eubacterium*

notatum. Plus la profondeur de poche augmentait, plus le nombre et la proportion des bactéries du complexe rouge augmentaient. Par ailleurs les sites au sein desquels aucune bactérie du complexe rouge n'a été identifiée présentaient les profondeurs de poche les plus faibles, alors que ceux où *Porphyromonas gingivalis* seul ou associé aux deux autres espèces du complexe rouge était identifié étaient les sites qui présentaient les poches parodontales les plus profondes. Les auteurs ont mis en évidence d'autres complexes (complexes jaune, vert, bleu, violet) dont les bactéries entrant dans leurs compositions étaient peu ou pas associées à des atteintes parodontales [46] (Figure 7).

Figure 7: les complexes bactériens sous-gingivaux.

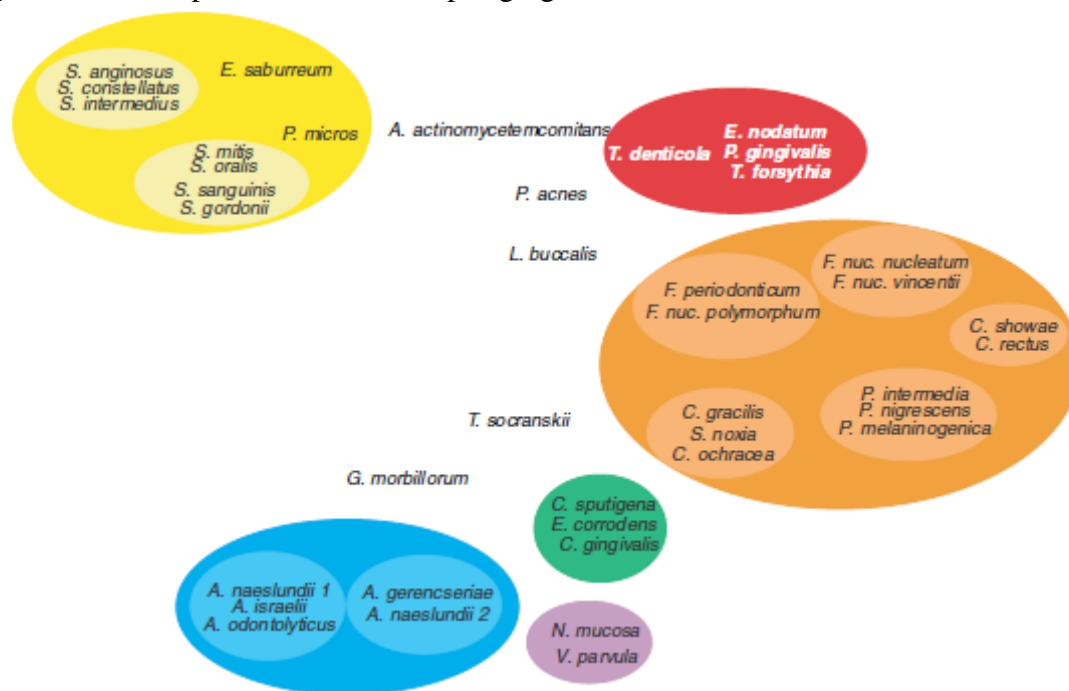


D'après Socransky et Haffajee [46].

Une décennie plus tard, la même équipe s'est intéressée aux bactéries de la plaque supra-gingivale à partir de 4745 échantillons de plaque supra-gingivale prélevés chez 187 sujets. Les auteurs ont à nouveau identifié un complexe rouge et un complexe orange constitués de bactéries qu'ils retrouvaient sur des sites avec des profondeurs de poche et des pertes d'attaches importantes et un saignement au sondage. Le complexe rouge était formé par quatre bactéries: *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* et *Eubacterium nodatum*. *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium vincentii*, *Campylobacter showae*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella melaninogenica*, *Caecilia gracilis*, *Selenomonas noxia*, *Capnocytophaga ochracea*, *Fusobacterium periodonticum* et *Fusobacterium polymorphum* constituaient le complexe

orange. De la même manière que pour les bactéries retrouvées dans la plaque sous-gingivale, les bactéries entrant dans la composition des complexes supra-gingivaux jaune, vert, bleu et violet étaient également peu ou pas associées à des atteintes parodontales [47] (Figure 8).

Figure 8: les complexes bactériens supra-gingivaux.



D'après Haffajee et Socransky [47].

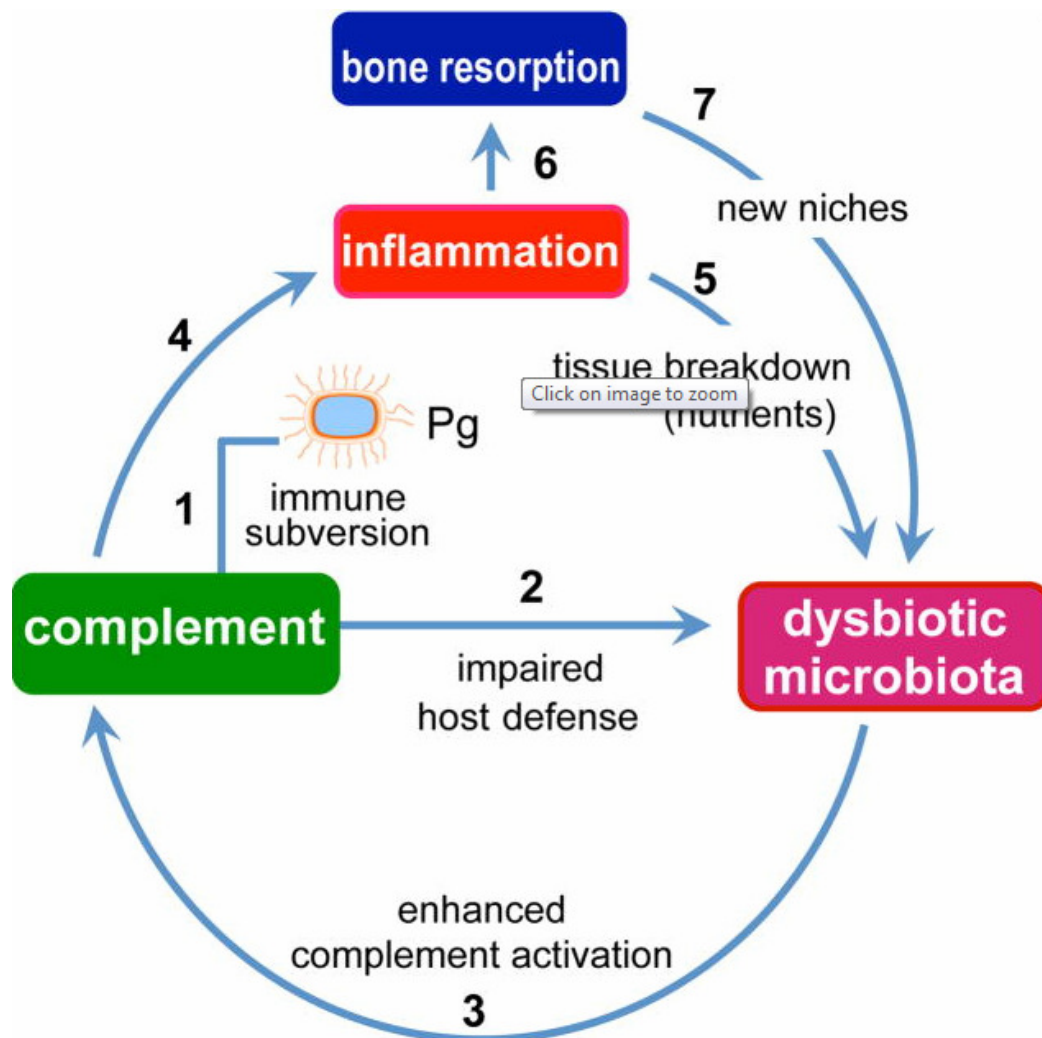
Ces deux études tendent à montrer que les ensembles bactériens retrouvés au niveau de la plaque supra-gingivale sont très proches de ceux observés en sous-gingival. Cependant, il a été observé que chez les sujets atteints d'une parodontite, la proportion des *Actinomyces* diminuait en allant de la plaque supra- vers la plaque sous-gingivale, tandis que les proportions des bactéries des complexes rouge et orange augmentaient [48]. Ximénez-Fyvie et al. ont prélevé 1804 échantillons de plaque supra- et sous-gingivale chez 18 patients atteints d'une parodontite traitée et en phase de maintenance. Les détartrages réguliers (élimination de la plaque supra-gingivale) après traitement parodontal initial réduisaient significativement la proportion des principaux pathogènes, aussi bien au niveau supra- que sous-gingival, ce qui était en accord avec les études de Haffajee et Socransky qui montraient un certain continuum entre les complexes présents dans la plaque supra-gingivale et la plaque sous-gingivale [49].

III.1.2) Keystone pathogen et modèle PSD

La présence de bactéries issues du complexe rouge a été cependant constatée chez des sujets sains [50]. Si les travaux de Socransky et al. sur les complexes bactériens, basés sur des méthodes de culture bactérienne et d'analyses moléculaires, ont permis de montrer que les bactéries étaient organisées au sein de la plaque dentaire sous la forme d'associations bactériennes complexes, et que certains pathogènes étaient plus ou moins associés à une détérioration des paramètres cliniques, cette étude ne permet pas à elle seule de comprendre l'étiopathogénie de la parodontite. Ainsi, si les travaux de Socransky semblent suggérer que le passage de l'état de santé parodontale à une parodontite s'expliquerait par l'apparition de pathogènes parodontaux spécifiques au sein de la plaque dentaire, les données plus récentes de la littérature observant la présence de pathogènes parodontaux chez les sujets sains montrent les limites de cette théorie. Une autre hypothèse serait donc qu'il y aurait, lors du passage de la santé parodontale à la parodontite, des changements dans les proportions relatives des différentes bactéries retrouvées au sein de la plaque dentaire, ce qui provoquerait en retour une réponse inflammatoire de l'hôte à l'origine des signes cliniques de la parodontite [51].

Les nouvelles méthodes d'analyses microbiologiques ont permis de mieux comprendre les relations entre les pathogènes parodontaux au sein de la plaque dentaire et l'hôte. Il existerait des pathogènes ('keystone pathogens') qui, même présents en faible quantité, auraient la capacité de transformer une flore bactérienne associée à un état de santé en une flore bactérienne dysbiotique, provoquant ainsi une réaction inflammatoire exacerbée à l'origine d'un état pathologique. Les travaux récents de Hajishengallis ont ainsi montré que *Porphyromonas gingivalis*, désigné par l'auteur sous le terme de 'keystone pathogen', lorsqu'il était présent à de faibles concentrations, était capable de transformer une flore bactérienne symbiotique en une flore bactérienne dysbiotique, dans des conditions où les défenses de l'hôte ne sont initialement pas altérées. Cette bactérie joue donc un rôle essentiel pour tout le reste de la communauté bactérienne organisée au sein de la plaque dentaire. Le changement dans la composition de la plaque dentaire, avec une augmentation relative de certaines bactéries de la plaque dentaire en comparaison avec leurs proportions retrouvées chez les sujets sains, provoquerait l'activation de mécanismes inflammatoires destructeurs, à l'origine des signes cliniques de la parodontite (modèle PSD ou '*Polymicrobial Synergy and Dysbiosis model*') [52] [51] (Figure 9).

Figure 9: Le modèle PSD.



D'après Hajishengallis et al. [51].

Cette théorie est née d'une étude réalisée chez la souris. Dans cette étude, les auteurs ont montré que *Porphyromonas gingivalis*, lorsqu'il était présent à de très faibles concentrations (<0,01% de la charge totale), était capable juste après d'induire des modifications dans la composition de la plaque dentaire, et que ces modifications précédaient la perte de l'os alvéolaire. Par ailleurs, aucun signe clinique de parodontite n'avait été observé chez les souris sans pathogène chez lesquelles *Porphyromonas gingivalis* avait été administré, ce qui montre l'importance également de la flore commensale [53]. Ces observations ont été retrouvées chez le lapin chez qui *Porphyromonas gingivalis* avait pour effet d'augmenter la charge bactérienne au sein de la plaque dentaire, avec plus particulièrement une augmentation relative de la charge en pathogènes anaérobies [54]. Par ailleurs, chez l'homme,

Porphyromonas gingivalis, même lorsqu'il était présent à des très faibles proportions, était associé à une perte osseuse alvéolaire. Une étude réalisée chez 39 adultes âgés de 30 à 70 ans et chez qui une parodontite chronique avait été diagnostiquée et traitée au cours des deux dernières années, et présentant encore des poches parodontales de plus de 5mm, s'était intéressée à l'association entre la persistance de *Porphyromonas gingivalis* après retraitement parodontal et la perte/le gain osseuse(-x) alvéolaire six mois après la fin du retraitement parodontal. Les sujets ne présentaient à l'inclusion pas d'autre pathologie. Les sites au niveau desquels *Porphyromonas gingivalis* avait été retrouvé après retraitement parodontal avaient présenté au cours des six mois une perte osseuse alvéolaire moyenne de 0,2mm, tandis que les sites au niveau desquels *Porphyromonas gingivalis* avait disparu présentaient un léger gain osseux ($p < 0,01$) [55].

Porphyromonas gingivalis libère des enzymes, les gingipains, qui sont des protéinases capables de cliver les molécules C5 du complément et de libérer des fragments C5a. Ces fragments viennent alors se fixer au récepteur à C5a exprimé à la surface des polynucléaires neutrophiles. La reconnaissance de C5a par son récepteur génère une cascade de réaction à l'origine d'une augmentation de la réponse inflammatoire et d'une diminution des fonctions cytotoxiques des polynucléaires neutrophiles. *Porphyromonas gingivalis* est également capable de sécréter une sérine phosphatase qui empêche la synthèse d'IL-8 par les cellules épithéliales. Par ailleurs *Porphyromonas gingivalis* est capable d'inhiber la production d'IFN γ par les lymphocytes T. Ces changements induits par *Porphyromonas gingivalis* créent un environnement favorable à la croissance des bactéries retrouvées au sein de la plaque dentaire, ce qui provoque une réponse inflammatoire accrue, cette dernière étant à l'origine des destructions tissulaires retrouvées cliniquement chez les sujets atteints d'une parodontite. Les produits issus de la dégradation tissulaire servent par ailleurs en retour de substrat nutritionnel pour les bactéries de la plaque dentaire [51].

III.2) Immunologie

Il existe physiologiquement une triple barrière de défense contre les pathogènes parodontaux : d'une part moléculaire, constituée par les peptides antimicrobiens (protéases, lysozymes...) et les IgA présents dans la salive, ainsi que les molécules du complément et les anticorps présents dans le fluide gingival; d'autre part cellulaire constituée par un grand nombre de

polynucléaires neutrophiles présents au fond du sulcus qui ont la capacité de phagocyter les bactéries ou de les détruire dans le milieu extracellulaire par le biais d'enzymes lysosomales ou de peptides antimicrobiens; et enfin mécanique par le biais de la barrière épithéliale qui tapisse les parois et le fond du sulcus.

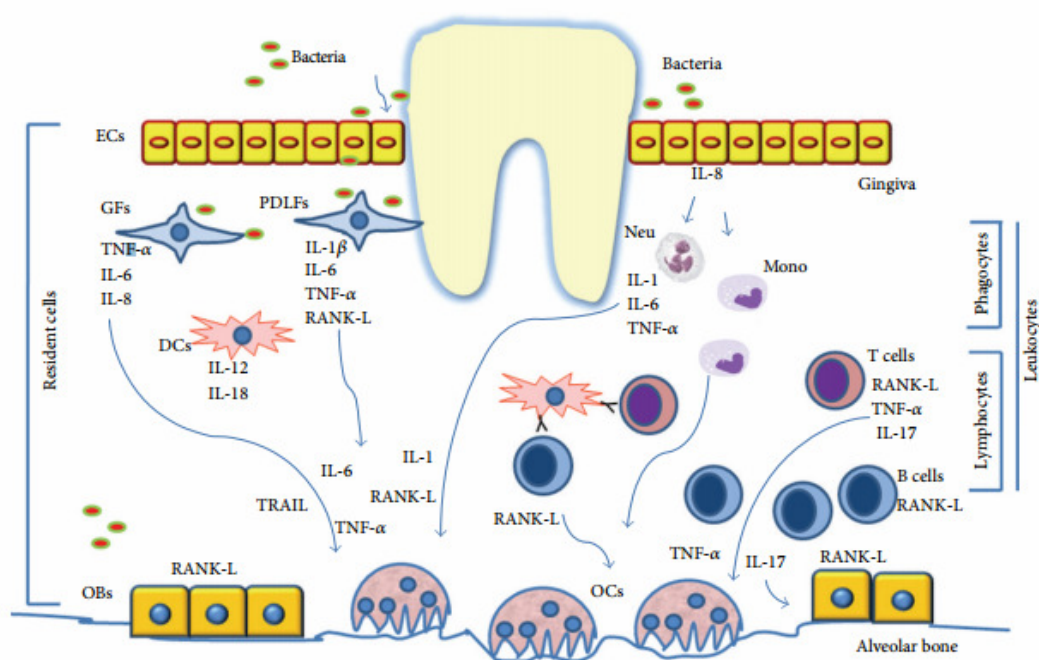
Lorsque les bactéries s'accumulent dans l'espace sulculaire, ces barrières de défense sont débordées et une réponse immunitaire innée, puis adaptative se met en place. Les bactéries sécrètent des molécules (lipopolysaccharides, peptidoglycanes...) qui sont reconnues par des récepteurs exprimés à la surface des cellules immunitaires et désignés sous le terme 'Toll-like receptors' ou TLRs. La reconnaissance de ces motifs bactériens par les TLRs déclenche une cascade de réactions intracellulaires provoquant en retour la libération de cytokines et de chémokines par les cellules immunitaires, à l'origine du recrutement d'autres cellules immunitaires au niveau des sites atteints. C'est la réponse immunitaire innée, première ligne de défense immunitaire contre les pathogènes parodontaux. Les cellules épithéliales synthétisent ainsi l'interleukine-8 (IL-8), à l'origine du recrutement des polynucléaires neutrophiles de la circulation générale vers les sites atteints. Ces polynucléaires neutrophiles synthétisent alors de l'interleukine-1 (IL-1), de l'interleukine-6 (IL-6), et du TNF- α , responsables de la destruction des tissus parodontaux. Ils synthétisent également des métalloprotéases matricielles (MMP-2, MMP-8, MMP-9...) qui sont des enzymes intervenant également dans les mécanismes de destruction tissulaire. Enfin, ils peuvent sécréter une molécule, RANK-L, qui intervient dans l'activation et la différenciation des ostéoclastes, et donc dans la résorption de l'os alvéolaire. Cependant RANK-L libéré par les polynucléaires neutrophiles est non soluble, et seules les cellules proches de la surface osseuse sont donc capables d'induire une destruction de l'os alvéolaire. Les fibroblastes synthétisent également, après reconnaissance des peptides bactériens, du TNF- α , IL-6, IL-8, RANK-L et MIP-1 α , qui sont des cytokines qui interviennent également dans l'initiation des phénomènes inflammatoires et dans la destruction des tissus parodontaux. Les fibroblastes synthétisent également des métalloprotéases matricielles (MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9). La reconnaissance des produits bactériens par les TLRs exprimés à la surface des monocytes est responsable de l'activation de ces cellules en ostéoclastes.

Lorsque l'exposition aux peptides bactériens perdure, les cellules dendritiques, outre leurs capacités de produire également un certain nombre de cytokines comme IL-12 et IL-18, ont la capacité de phagocyter les peptides bactériens et de les présenter aux lymphocytes B et T qui

vont alors s'activer et se différencier pour initier une réponse immunitaire adaptative. Les lymphocytes B vont produire des anticorps dirigés spécifiquement contre les antigènes bactériens, formant ainsi des complexes immuns qui seront détruits par les cellules phagocytaires. Les lymphocytes T activés vont, ou bien produire un certain nombre de cytokines pro-inflammatoires qui vont exacerber les mécanismes de destruction tissulaire (lymphocytes T-CD4), ou bien se fixer à une cellule infectée en reconnaissant un motif antigénique par son récepteur TCR, et libérer alors des enzymes lysosomales qui vont détruire alors la cellule infectée. Par ailleurs les lymphocytes B ont la capacité de synthétiser du RANK-L, tandis que les lymphocytes T peuvent synthétiser du RANK-L, de l'IL-17 et du TNF- α . RANK-L peut être bloqué par son ligand soluble, l'ostéoprotégérine ou OPG, synthétisé par les fibroblastes parodontaux. Dans le cas d'une parodontite, la synthèse d'OPG diminue, ce qui provoque une dérégulation du ratio RANK-L/OPG. RANK-L devient alors actif et se fixe à la surface des pré-ostéoclastes au niveau de ses récepteurs spécifiques, entraînant la différenciation de ces cellules en ostéoclastes, ce qui augmente alors la résorption osseuse. TNF- α inhibe la différenciation ostéoblastique et active la différenciation des ostéoclastes, à l'origine des phénomènes de destruction osseuse observés chez les patients atteints d'une parodontite. Par ailleurs, TNF- α active la libération de métalloprotéases matricielles, responsables de la dégradation du ligament parodontal. IL-17 favorise la libération de RANK-L, et donc la destruction de l'os alvéolaire, mais également le recrutement et l'activation des cellules immunitaires au niveau des sites contaminés par les pathogènes parodontaux, provoquant ainsi une libération accrue de cytokines inflammatoires qui sont responsables des destructions tissulaires [56] (Figure 10).

Nous avons vu que *Porphyromonas gingivalis* était considéré comme un 'keystone pathogène' capable, dans des faibles proportions, d'activer le système immunitaire et de favoriser le passage d'une flore bactérienne symbiotique en une flore dysbiotique. *Porphyromonas gingivalis* est capable de se lier à la surface des cellules épithéliales par la reconnaissance de ses fimbriae par l'intégrine $\beta 1$ exprimée à la surface des cellules épithéliales. Cela déclenche des réactions en chaîne qui bloquent les mécanismes d'apoptose, ainsi que la libération d'IL-8 par les cellules épithéliales (cytokine activant le recrutement des polynucléaires neutrophiles vers les sites infectés). Les conditions idéales pour la prolifération de *Porphyromonas gingivalis* sont alors créées. Par ailleurs, les lipopolysaccharides synthétisés par *Porphyromonas gingivalis* n'activent pas TLR4, ce qui favorise également la prolifération de ce pathogène.

Figure 10: Mécanismes immunitaires mis en jeu dans la parodontite.



D'après Di Benedetto et al. [56].

Enfin, *Porphyromonas gingivalis* libère des protéases, les gingipains, qui sont capables de cliver les molécules du complément pour les rendre inactives. Cela permet ainsi à d'autres pathogènes de se multiplier tandis que le système du complément se retrouve paralysé par *Porphyromonas gingivalis*. En outre, un des produits de clivage des molécules du complément, C5a, a la capacité de se fixer à son récepteur C5aR présent à la surface des leucocytes, ce qui se traduit par une diminution de la production d'enzymes de dégradation par les phagocytes. D'autre part la présence de *Porphyromonas gingivalis* active la libération de défensines dans le fluide gingival. Or, *Porphyromonas gingivalis*, ainsi que de nombreux autres pathogènes, ont une certaine résistance face à ces défensines, contrairement aux bactéries de la flore commensale. Cela favorise, là encore, le passage d'une flore bactérienne symbiotique en une flore bactérienne dysbiotique. Cette flore bactérienne dysbiotique qui s'installe, grâce à la paralysie des mécanismes de défense par *Porphyromonas gingivalis*, active le système du complément et la production de cytokines inflammatoires, à l'origine de la destruction des tissus parodontaux [51].

IV/ PARODONTITE ET MALADIES CARDIOVASCULAIRES

IV.1) Historique

A l'époque babylonienne, l'extraction de certaines dents était supposée engendrer des problèmes ophtalmologiques. Les hébreux de la même époque ont comparé le corps humain à une maison dont la bouche était la porte d'entrée, et qui devait être maintenue propre pour préserver le corps humain des maladies. En Grèce, Hippocrate raconte l'histoire d'une patiente qui a été guérie d'arthrite par la simple extraction d'une dent.

Beaucoup plus tard, en 1548, Walter Hermann Ryff décrit une relation étroite entre la cavité orale et les yeux, les uns ne pouvant pas être sains si les autres ne l'étaient pas également. En 1818, Benjamin Rush rapporte le cas d'une femme souffrant depuis longtemps de rhumatismes, et dont les douleurs avaient disparu après l'extraction d'une dent. Miller, en 1891, qui travaillait alors dans le laboratoire de Koch, décrit l'existence de micro-organismes provenant de la cavité buccale, qui auraient la capacité de se déplacer dans le corps humain pour causer des infections à distance. Quelques années après, le docteur William Hunter explique que l'administration d'antiseptiques oraux et l'extraction des dents malades auraient un effet thérapeutique sur les endocardites, les infections gastriques, et les infections rénales. En 1910, il écrit un papier au Lancet en critiquant la dentisterie conservatrice qui serait responsable selon lui de nombreuses infections systémiques [57]. En 1911, le professeur Frank Billings présente son concept des foyers infectieux qui repose sur l'existence d'une lésion infectieuse, d'origine bactérienne, dont les pathogènes seraient capables de se disséminer afin de provoquer des infections à distance. Selon lui, ces foyers infectieux résideraient préférentiellement dans la cavité buccale.

Les premières études animales voient le jour à partir du moment où les biologistes réalisent des prélèvements au niveau de ces foyers infectieux, cultivent les bactéries extraites, et les administrent à des animaux. Ils observent alors des symptômes similaires à ceux initialement constatés chez les patients. Par ailleurs, ils remarquent que ces bactéries se retrouvent préférentiellement au niveau des articulations, des valves cardiaques, et des yeux.

Au début des années 1940, les premières études cas-témoins sur le sujet apparaissent, et les auteurs observent que l'extraction des dents n'apporte pas d'amélioration significative chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Une série de publications a suivi, mais ce n'est qu'au début des années 1990 que le nombre de publications sur le sujet a réellement augmenté [58].

Le terme de « médecine parodontale » a été introduit par Steve Offenbacher pour désigner le domaine de la recherche s'intéressant aux relations entre la parodontite et les maladies systémiques [59].

Depuis quelques années, le nombre grandissant de publications traitant de l'association entre la parodontite et la mortalité toutes causes confondues, ou un certain nombre de conditions systémiques comme le diabète, l'obésité, le syndrome métabolique, les maladies respiratoires, rénales, et cardiovasculaires, les cancers, ou les accouchements prématurés, a conduit à de nombreuses conférences de consensus sur le sujet. Nous nous pencherons dans ce travail introductif sur l'association entre la parodontite et les maladies cardiovasculaires.

IV.2) Hypothèses physiopathologiques

IV.2.1) L'hypothèse bactérienne

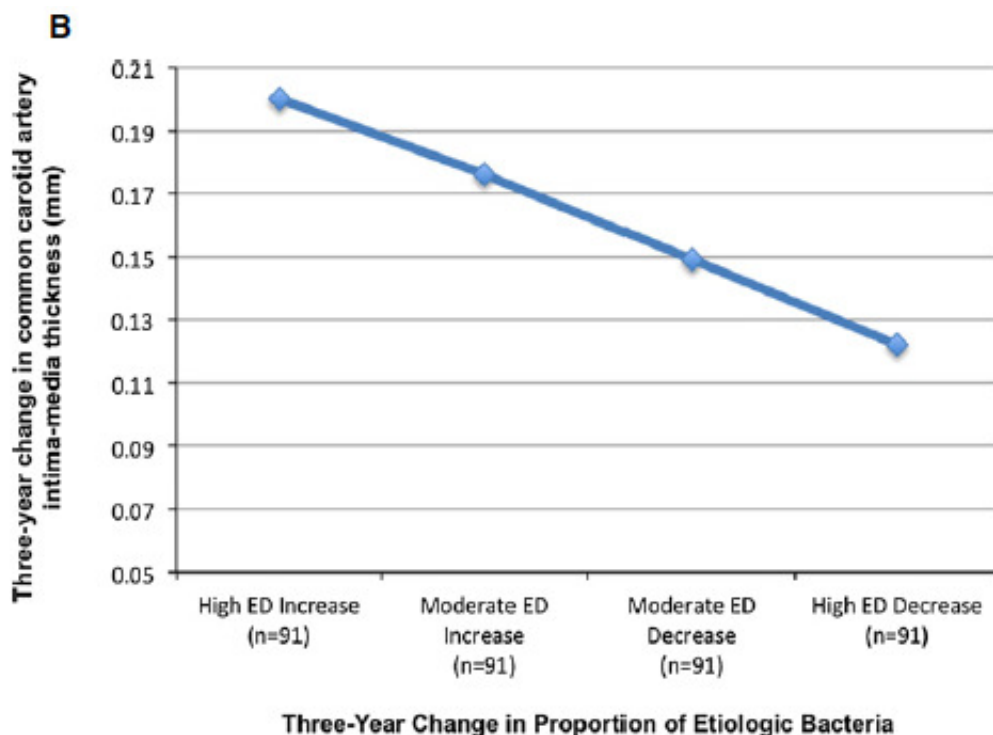
Un certain nombre d'études épidémiologiques ont montré que l'incidence de l'athérosclérose ne pouvait s'expliquer uniquement par les facteurs de risque classiques et ont mis en évidence l'hypothèse d'une cause bactérienne. Plusieurs études se sont alors penchées sur l'association entre les pathogènes parodontaux et l'athérosclérose [60] [61].

Une étude transversale a été réalisée, chez 4585 adultes âgés de 54 à 73 ans et issus de la cohorte *ARIC* (*Atherosclerosis Risk in Communities Study*), afin d'étudier la relation entre les anticorps (plus précisément les immunoglobulines G ou IgG) dirigés contre 17 pathogènes parodontaux, et la présence d'une épaisseur intima-média de 1mm et plus au niveau de l'artère carotide. Cette valeur a été choisie comme seuil, des études précédentes ayant montré qu'une telle épaisseur était associée à un risque significativement plus élevé de maladie coronarienne et d'accident vasculaire cérébral. Après ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine

ethnique, le diabète, l'hypertension, l'obésité abdominale mesurée par le rapport taille-hanche, le niveau d'études, et la concentration plasmatique en triglycérides et cholestérols HDL et LDL, les auteurs ont observé que les IgG dirigées contre 12 bactéries sur 17 étaient associées à une épaisseur intima-média de 1mm et plus chez les non-fumeurs et les sujets fumeur ou ayant fumé, parmi lesquelles les IgG dirigées contre *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. En revanche, les IgG dirigées contre *Porphyromonas gingivalis* étaient associées à une épaisseur intima média de 1mm et plus uniquement chez les fumeurs ou chez les anciens fumeurs (OR= 1,5 (IC95% : 1,2; 2,1). $p=0,002$). A l'inverse, l'association n'était observée que chez les non-fumeurs pour *Prevotella intermedia* (OR= 1,8 (1,2; 2,5). $p=0,002$). Enfin, aucune association n'était observée dans les deux groupes pour *Tannerella forsythia* [60].

Plus récemment, une étude longitudinale sur 3 ans a été réalisée, chez 420 adultes âgés de 55 ans et plus (âge moyen : 68 ± 8 ans; 37% d'hommes), et issus de la cohorte INVEST. Les auteurs se sont intéressés aux relations entre l'augmentation de l'épaisseur intima-média mesurée au niveau des artères carotides au cours des trois années de suivi, et les changements au niveau de la concentration (1) en pathogènes parodontaux (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) et (2) en pathogènes parodontaux rapportés à l'ensemble des bactéries recherchées (charge bactérienne relative). Après ajustement sur les facteurs de confusion (âge, sexe, origine ethnique, niveau d'études, diabète, tabac, indice de masse corporelle (IMC), hypertension, pression artérielle systolique, et cholestérols HDL et LDL), les sujets ayant eu une plus grande diminution de la concentration en pathogènes parodontaux (quartile inférieur), lorsqu'ils étaient comparés aux sujets ayant eu la plus grande augmentation de la charge bactérienne (quartile supérieur), avaient en moyenne une épaisseur moyenne intima-média plus faible de 0,1mm ($p=0,01$). De plus, l'épaisseur intima-média augmentait avec la charge bactérienne en suivant un gradient significatif (p de tendance= $0,004$). Après ajustement sur les mêmes facteurs de confusion, les auteurs observaient également une augmentation de l'épaisseur intima-média au cours de la période de suivi avec l'augmentation de la proportion relative des pathogènes parodontaux ($p<0,0001$, p de tendance= 0,01) [61] (Figure 11).

Figure 11: Relation entre l'évolution de l'épaisseur intima-média au niveau carotidien (en mm), et l'évolution de la proportion relative des pathogènes parodontaux (ED par quartile).



D'après Desvarieux et al [61]. Ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le diabète, le tabac, le niveau d'études, l'IMC, la pression artérielle systolique, l'hypertension, les cholestérols HDL et LDL.

Il est cependant difficile de prouver que les pathogènes parodontaux puissent être à l'origine d'un certain nombre de cas de pathologies cardiovasculaires, d'une part car les premières atteintes de la paroi endothéliale sont le plus souvent asymptomatiques, et d'autre part car l'athérosclérose est une atteinte inflammatoire faisant intervenir plusieurs facteurs de risque.

Toutefois, il a été montré que les bactéries présentes au sein de la poche parodontale étaient capables de traverser la barrière épithéliale afin de rejoindre les capillaires gingivaux, puis la circulation générale [62]. Par ailleurs, des traces d'ADN et d'ARN provenant de *Porphyromonas gingivalis* et *Actinomyces actinomycetemcomitans* ont été retrouvées au sein des plaques d'athérome. Toutefois, la présence d'ARN ou d'ADN bactérien ne renseigne pas sur la vitalité de ces bactéries [63, 64]. La présence d'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [65], et *Porphyromonas gingivalis* [66], au sein des plaques d'athérome a également été observée. Enfin, les études animales ont par ailleurs montré que

l'inoculation de *Porphyromonas gingivalis* favorisait le développement de la plaque d'athérome au niveau aortique [67] [68].

A travers le modèle de la maladie athéromateuse, nous comprenons donc qu'il n'existe pas de preuve scientifique prouvant que l'invasion des cellules endothéliales par les pathogènes parodontaux puisse être à l'origine de l'athérosclérose. Toutefois, nous venons de le voir, des études ont observé (1) les capacités de ces pathogènes à traverser la barrière épithéliale pour rejoindre la circulation systémique, mais aussi (2) la présence non seulement d'ADN et d'ARN bactériens, mais aussi de pathogènes vivants au sein des plaques d'athérome, et enfin (3) la croissance des plaques d'athérome après l'inoculation de *Porphyromonas gingivalis* au cours d'études animales. Cela supporte l'idée que les pathogènes impliqués dans la parodontite ont la capacité de pénétrer au niveau de la microcirculation gingivale pour se retrouver ensuite dans la circulation extra-orale, et envahir des sites à distance pour générer d'autres pathologies (artères carotides, brachiales et coronaires dans les études humaines actuellement disponibles dans la littérature) [69].

IV.2.2) L'hypothèse inflammatoire

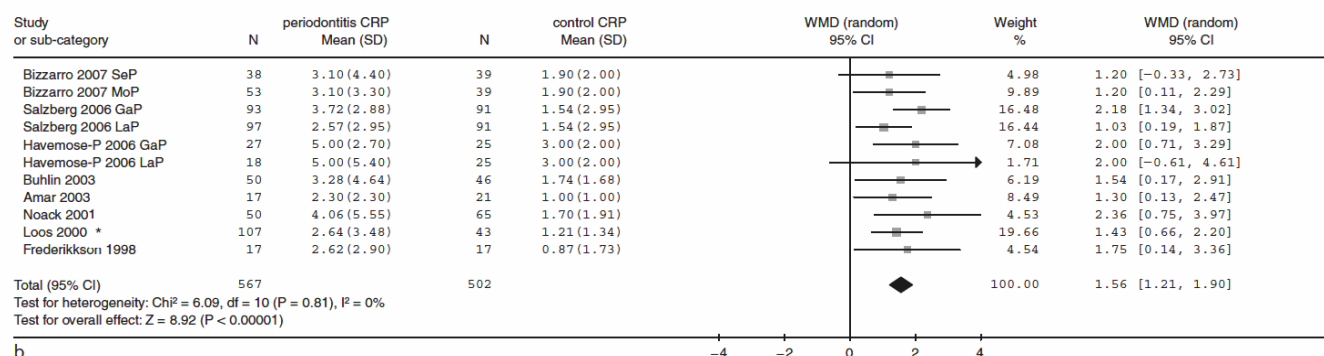
L'athérosclérose étant une maladie inflammatoire chronique, d'autres auteurs ont mis en évidence la possibilité d'une cause inflammatoire, locale ou systémique, pour expliquer l'association entre la parodontite et les maladies cardiovasculaires.

Un certain nombre d'études ont montré que les taux sériques des cytokines inflammatoires étaient significativement plus élevés chez les sujets atteints d'une parodontite que chez les sujets sains. Parmi ces cytokines inflammatoires, plusieurs étaient également retrouvées chez les sujets atteints d'athérosclérose, ce qui laissait suggérer la possibilité de mécanismes inflammatoires communs entre les deux pathologies. En effet, la formation de la plaque d'athérome commence par une élévation locale de la concentration en cytokines, à l'origine de la modification des propriétés de la paroi endothéliale et de la surexpression des molécules d'adhésions par les cellules endothéliales et pour les monocytes circulants. Ces derniers vont alors s'attacher à la paroi endothéliale du vaisseau et pénétrer dans l'intima. La protéine C-réactive a particulièrement été étudiée.

Dans la cohorte *ARIC*, il a été observé après ajustement sur un certain nombre de facteurs de confusion, que les taux sériques de protéine C-réactive étaient significativement plus élevés chez les sujets atteints d'une parodontite. Dans une étude transversale effectuée chez 5603 adultes âgés de 45 à 64 ans et issus de cette cohorte, les auteurs ont constaté une association significative entre le pourcentage de sites avec des poches parodontales de 5mm et plus de profondeur et le taux sérique de protéine C-réactive, après ajustement sur les facteurs de confusion (âge, sexe, origine ethnique, revenus, niveau d'études, diabète, IMC, tabac, concentration en triglycérides, nombre de dents restantes, nombre de sites avec un saignement au sondage et une perte d'attache de 3mm et plus) ($p < 0,0001$) [70]. Plus récemment une méta-analyse a été effectuée sur le sujet. Dix huit études ont été incluses. Dix études sur 13 ont montré des taux sériques en protéine C-réactive plus élevés chez les sujets atteints d'une parodontite que chez les sujets sains. La différence moyenne entre le taux sérique en protéine C-réactive chez les sujets atteints d'une parodontite et celui chez les sujets sains était de $1,65 \text{ mg.l}^{-1}$ (IC95% : 1,05; 2,24. $p < 0,0001$). Toutefois l'hétérogénéité entre les études était élevée ($I^2 = 77\%$), principalement en raison de deux études. La première avait été réalisée chez des sujets socio-économiquement défavorisés, et la seconde avait été réalisée sur un échantillon d'hommes uniquement, et avec un haut niveau socioéconomique. Dans une analyse de sensibilité, après suppression de ces deux études, l'association restait significative [71] (Figure 12).

Par ailleurs, des études ont comparé les taux sériques de protéine C-réactive chez des patients atteints d'une parodontite, d'une maladie cardiovasculaire, et des deux pathologies combinées. L'une d'entre elles, réalisée chez 80 patients issus de la cohorte *Erie County Periodontal Epidemiological Study*, a montré que les taux sériques de protéine C-réactive chez les sujets atteints d'une parodontite ou d'une maladie cardiovasculaire (infarctus du myocarde, angine de poitrine, accident vasculaire cérébral) étaient deux fois plus élevés que chez les sujets sains, mais trois fois inférieurs à ceux observés chez les sujets atteints à la fois d'une parodontite et d'une maladie cardiovasculaire, après ajustement sur le tabac ($p < 0,03$ pour la comparaison des sujets atteints d'une parodontite et d'une maladie cardiovasculaire avec les sujets sains, ceux atteints d'une parodontite seule et ceux atteints d'une maladie cardiovasculaire seule) [72] (Tableau 4).

Figure 12: Comparaison de la concentration en protéine C réactive (mg.l-1) chez les sujets sains et atteints de parodontite.



D'après Paraskevas et al. [71]. Différence moyenne pondérée après l'élimination des deux études responsables de la forte hétérogénéité dans la première analyse.

Tableau 4 : Concentration en protéine C-réactive (CRP) en mg.ml⁻¹ (moyenne $\pm$ erreur standard) selon le statut parodontal (PD) et cardiovasculaire (CVD).

Groupe N°	Sujets	Nombre de sujets	Concentration en CRP	p
1	PD-CVD-	26	1,68 $\pm$ 1,42	-
2	PD+CVD-	20	2,40 $\pm$ 1,89	0,02
3	PD-CVD+	18	3,35 $\pm$ 1,56	0,03
4	PD+CVD+	16	8,58 $\pm$ 1,74	0,003

D'après Glurich et al. [72]. Ajustement sur le tabac (méthode d'évaluation du statut tabagique non précisée).

Toutefois, le rôle de la protéine C-réactive dans la formation de la plaque d'athérome est aujourd'hui encore très discuté. Des revues de la littérature sur le sujet ont montré que si le dosage de la protéine C-réactive est un marqueur intéressant pour la prévention des événements cardiovasculaires secondaires, son rôle dans la prévention des événements primaires chez les sujets sains reste controversé [73] [74]. D'autres cytokines pro-inflammatoires retrouvées chez les patients atteints à la fois d'une parodontite et d'une maladie cardiovasculaire ont également fait l'objet d'études parmi lesquelles le fibrinogène et l'IL-6 [75], le TNF- α [76], la prostaglandine E2 [76], les métalloprotéases matricielles [77], ou le facteur d'agrégation plaquettaire [78].

Enfin, un essai clinique randomisé réalisé chez 40 sujets atteints d'une parodontite sévère s'est intéressé aux effets du traitement parodontal non-chirurgical, avec ou sans antibiothérapie locale, sur un certain nombre de marqueurs biologiques associés au risque cardiovasculaire. Si les auteurs ont montré un effet significatif du traitement non-chirurgical seul sur la diminution de la concentration en protéine C-réactive et du nombre de leucocytes à 6 mois, l'administration locale d'antibiotiques avait également un effet significatif sur la diminution de la concentration en IL-6 et en cholestérol LDL, dès 2 mois après la fin du traitement [79].

Il a été suggéré qu'une concentration élevée en cytokines inflammatoires au sein de la poche parodontale pouvait se traduire par le passage d'un certain nombre de ces molécules au sein de la circulation. Ce passage de cytokines inflammatoires dans la circulation générale allait ensuite initier à distance de la cavité orale des réactions inflammatoires, notamment au niveau de la paroi endothéliale de certains vaisseaux, à l'origine de la formation de la plaque d'athérome. Enfin, comme nous l'avons vu précédemment, des produits issus du métabolisme bactérien, notamment des LPS, pénètrent parfois au sein de la microcirculation gingivale pour regagner la circulation générale, et là encore initier des réactions inflammatoires à distance de la cavité orale [80].

Par ailleurs, les sujets atteints d'une parodontite ont des taux sériques en cholestérol LDL et en triglycérides supérieurs à ceux observés chez les sujets sains. Une étude cas-témoins a été réalisée sur un échantillon de 302 adultes âgés de 39 à 42 ans et atteints d'une parodontite (45,7% d'hommes), et chez 183 patients sains âgés de 38 à 48 ans (45,4% d'hommes), se rendant tous à l'hôpital. Après ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique et le tabac, les sujets atteints d'une parodontite avaient des concentrations plus élevées en cholestérol LDL ($p=0,002$) et plus faibles en cholestérol HDL ($p<0,0001$). Le cholestérol LDL a la capacité de pénétrer à travers la paroi endothéliale au niveau de la plaque d'athérome, de subir des modifications oxydatives, et d'être ensuite endocyté par les macrophages qui deviennent alors des cellules spumeuses. Ces cellules spumeuses, en retour, sécrètent une protéine chimiotactique (MCP-1) qui favorise l'adhésion et la pénétration à travers la paroi endothéliale de nouveaux monocytes, à l'origine de la croissance de la plaque d'athérome [81].

Enfin, il existe des protéines appelées *Heat-Shock Proteins (HSPs)* qui sont exprimées au sein des tissus inflammatoires comme la plaque d'athérome, et qui ont un rôle protecteur. Un certain nombre de pathogènes parodontaux dont *Fusobacterium nucleatum* ou *Porphyromonas gingivalis* expriment également des HSPs, ainsi que d'autres antigènes assez similaires. Cela a pour effet de déclencher la réponse immunitaire innée, puis acquise de l'hôte, la dernière se traduisant par la libération d'anticorps anti-HSPs. Ces anticorps réagissent ensuite avec les HSPs de l'hôte en formant des complexes immuns et en bloquant l'activité des HSPs de l'hôte, ce qui aurait pour effet de favoriser le développement de la plaque d'athérome [82].

A travers le modèle de la plaque d'athérome, nous venons de voir que les sujets atteints d'une parodontite ont des réponses immunitaires innée (cytokines inflammatoires) et acquise (anticorps anti-HSPs) augmentées, et que ces molécules issues de la réponse de l'hôte ont également la capacité de pénétrer au niveau de la microcirculation gingivale pour se retrouver ensuite dans la circulation extra-orale. Ces molécules envahissent ensuite des sites à distance pour générer d'autres pathologies [82].

IV.3) Parodontite et maladies cardiovasculaires

IV.3.1) Association entre la parodontite et les maladies cardiovasculaires

A) Parodontite et évènements cardiovasculaires primaires

En 1989, Mattila et al. ont les premiers publié un travail s'intéressant à l'association entre la santé bucco-dentaire et le risque de survenue d'un infarctus du myocarde. Dans cette étude cas-témoins, les auteurs ont comparé le statut parodontal de 40 finlandais âgés de 50 ans ou moins, et admis à l'hôpital pour un infarctus du myocarde datant de moins de 36 heures, avec 41 témoins du même âge et de la même zone géographique. Une deuxième série incluait 60 individus âgés de 60 ans ou moins pour les hommes, et 65 ans et moins pour les femmes, et ayant été admis à l'hôpital pour un infarctus du myocarde datant de moins de 36 heures, avec 61 témoins appariés sur l'âge et le sexe. Au total, 100 patients atteints d'un infarctus du myocarde depuis moins de 36 heures étaient donc comparés à 102 témoins, appariés sur l'âge et le sexe. Une prise de sang était réalisée pour chaque sujet, au moment de l'inclusion et

quatre semaines après. Un score bucco-dentaire était donné à chaque participant après examen bucco-dentaire en fonction de la présence ou non de lésions carieuses, de lésions parodontales, ou de foyer infectieux visibles par radiographie. Les auteurs ont observé une association significative entre la présence d'un infarctus du myocarde et un mauvais état de santé bucco-dentaire, après ajustement sur l'âge, la concentration totale en cholestérol et en cholestérol HDL, en triglycérides, en protéine C-réactive, sur le statut diabétique et l'hypertension, sur le tabac et sur le statut socio-économique ($p=0,004$). Les auteurs expliquaient cette association, par des différences de régime alimentaire entre les individus avec une bonne, et ceux avec une mauvaise, santé bucco-dentaire, ainsi que par l'existence d'endotoxines bactériennes qui pourraient avoir un effet sur le développement des plaques d'athérome [83]. Les comportements d'hygiène bucco-dentaire pourraient également être impliqués. En effet, une mauvaise hygiène bucco-dentaire est associée à la présence de plaque dentaire et à un risque augmenté de survenue de lésions carieuses et/ou d'une parodontite. Or, une étude prospective sur une durée moyenne de 8 ans, et réalisée chez près de 12000 adultes âgés de 35 ans et plus et issus de la *Scottish Health Survey*, a montré que les participants qui brossaient leurs dents de manière non-quotidienne avaient un risque plus élevé de survenue d'un événement cardiovasculaire au cours de la période de suivi, lorsqu'ils étaient comparés aux sujets brossant leurs dents deux fois par jour et plus ($HR= 1,7$ ($IC95\% : 1,3 ; 2,3$). $p=0,001$ après ajustement sur l'âge, le sexe, le statut socioéconomique, le tabac, l'activité physique et la fréquence des visites chez un dentiste) [84].

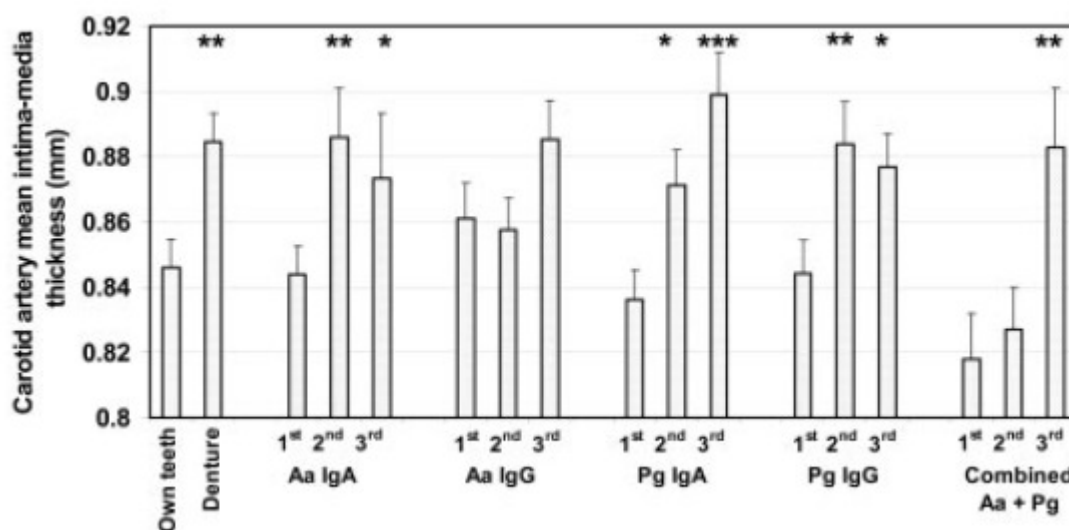
Une étude longitudinale a été réalisée sur un échantillon de 1137 hommes caucasiens âgés de 27 à 84 ans et issus de la cohorte *Veterans Affairs Normative Aging Study* afin d'étudier le risque de survenue d'une pathologie vasculaire cérébrale (accident vasculaire cérébrale ou ischémie cérébrale transitoire) chez des sujets présentant des signes cliniques de parodontite. Les sujets ont été suivis tous les 3 ans (médiane de la période de suivi : 24 ans). Les participants édentés ayant eu un antécédent de pathologie vasculaire cérébrale ont été exclus. Quatre-vingt événements ont été observés au cours de la période de suivi, dont 19 accidents ischémiques transitoires et 17 événements fatals. Après ajustement les auteurs ont observé une association significative entre la perte osseuse moyenne autour des dents et le risque de survenue d'un événement vasculaire cérébral ($HR= 1,85$ ($IC95\% : 1,33 ; 2,58$). $p=0,001$). Le risque était plus élevé chez les sujets âgés de moins de 65 ans ($2,35$ ($1,38 ; 4,00$). $p=0,01$), que chez les sujets âgés de 65 ans et plus ($1,67$ ($1,12 ; 2,49$). $p=0,03$). La principale limite de cette étude était la faible taille de l'échantillon et par conséquent le peu d'événements secondaires

observés. Par ailleurs, la validité externe des résultats était limitée aux hommes caucasiens [85].

Dans une étude longitudinale, Pussinen et al. se sont intéressés non pas à l'association entre le risque de survenue d'un événement coronarien avec les signes cliniques de la parodontite, mais avec l'exposition aux pathogènes parodontaux déterminée par les taux d'anticorps (IgG et IgA) dirigés contre *Porphyromonas gingivalis* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Les IgG marquent l'exposition actuelle ou passée à un pathogène, tandis que les IgA sont le signe d'une pathologie active. L'intérêt de combiner ces deux types d'immunoglobulines est donc à la fois de tenir compte de l'histoire parodontale du sujet avec les IgG, mais également de l'exposition actuelle du sujet aux pathogènes parodontaux avec les IgA, avant que les signes cliniques n'apparaissent. 1023 hommes âgés de 46 à 64 ans ont été inclus dans l'étude. 113 sujets avaient déjà des antécédents coronariens et parmi les 910 individus sans antécédent, 109 ont présenté un événement au cours des 10 années de suivi. Les taux d'IgG et d'IgA ont été mesurés à l'inclusion. Par ailleurs, les auteurs ont défini des seuils de séropositivité pour les IgG et les IgA (respectivement $\geq 5,0$ unités ELISA pour les IgA et $\geq 2,0$ unités ELISA pour les IgG) à partir des résultats qu'ils avaient obtenu dans une précédente étude où ils avaient comparé la concentration en IgG et IgA contre les deux mêmes pathogènes chez des sujets sains et d'autres atteints d'une parodontite. Les auteurs ont observé chez les sujets dentés (n=459), une corrélation positive entre l'épaisseur intima-média et les taux d'IgG dirigées contre *Porphyromonas gingivalis* ($r=0,146$; $p=0,002$) et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ($r=0,097$ $p=0,038$), les IgA dirigées contre les mêmes bactéries (respectivement $r=0,116$ ($p=0,013$) et $r=0,166$ ($p<0,001$)), et la combinaison des IgG dirigées contre les deux pathogènes ($p=0,005$). De même, lorsque tous les sujets étaient considérés (dentés et édentés), les mêmes résultats étaient observés. Enfin, les sujets édentés avaient une épaisseur intima-média au niveau carotidien supérieure à celle mesurée chez les sujets dentés (Figure 13). Par ailleurs, les auteurs ont constaté que les individus avec un antécédent d'événement coronarien étaient moins fréquemment dentés que les sujets sans antécédent coronarien (34,8% contre 46,6%, $p=0,019$), et étaient plus souvent séropositifs pour *Porphyromonas gingivalis* (pour les IgA : 38,9% contre 28,5%, $p=0,021$; pour les IgG : 60,2% contre 46,7%, $p=0,007$). Sur les 910 sujets sans antécédent coronarien à l'inclusion, 109 ont présenté un événement au cours du suivi. Les sujets présentant un événement coronarien au cours du suivi étaient plus souvent séropositifs pour *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* que les sujets indemnes d'événement (pour les IgA, 15,5% contre

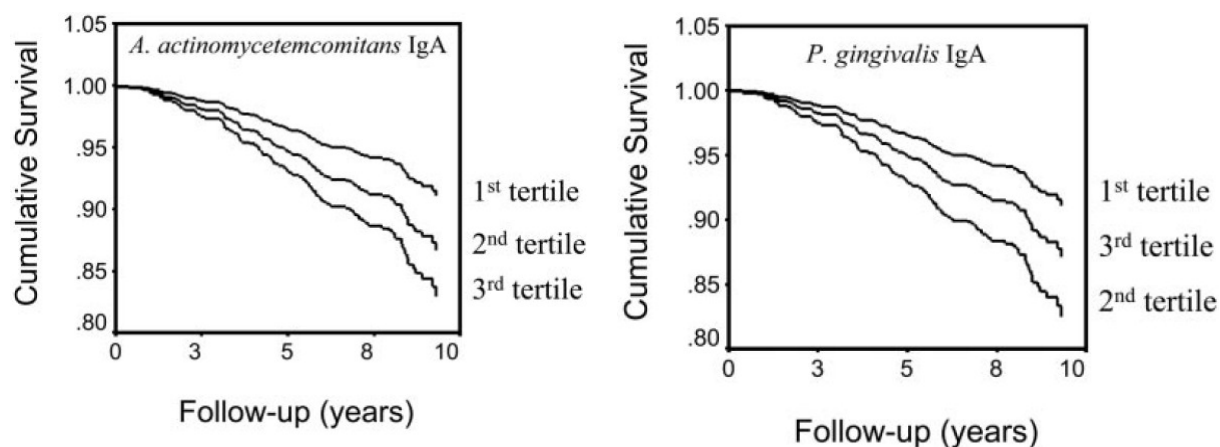
10,2%, $p=0,019$). Les sujets avec des concentrations élevées en IgA dirigées contre *Porphyromonas gingivalis* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (tertile supérieur) ont présenté plus d'événements coronariens au cours du suivi que les participants avec des concentrations faibles (tertile inférieur, pris comme référence) avec respectivement 5,1% contre 2,5% d'événements ($p=0,004$) et 5,3% contre 2,6% ($p=0,002$) (Figure 14). Enfin, les modèles de régression de Cox, après ajustement sur l'âge, le tabac, la concentration plasmatique en fibrinogène, le statut diabétique, l'hypertension, le statut socio-économique, et la concentration en cholestérols HDL et LDL, ont montré que le risque de survenue d'un événement coronarien augmentait avec la concentration en IgA dirigées contre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Tertile médian, tertile inférieur pris comme référence (RR= 1,5 (IC95% : 0,91 ; 2,58). Tertile supérieur : 2,0 (1,21 ; 3,33). p de tendance : 0,025) [86].

Figure 13: Epaisseur intima-media au niveau de l'artère carotide classée par tertile d'immunoglobulines (IgG et IgA) dirigées contre *Porphyromonas gingivalis* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.



D'après Pussinen et al. [86]. Epaisseur intima-media carotidienne chez les sujets sans antécédent coronarien à l'inclusion ($n=907$) classée par tertile d'IgA et IgG dirigées contre *Porphyromonas gingivalis* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. La dernière partie de l'histogramme correspond à la combinaison des IgG dirigées contre les deux pathogènes. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$. Le premier tertile est considéré comme référence.

Figure 14: Taux de survie cumulatifs sans évènement coronarien.



D'après Pussinen et al.[86]. Les sujets sans évènement coronarien à l'inclusion sont classés par tertile d'IgA dirigées contre *Porphyromonas gingivalis* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Ajustement sur l'âge, le tabac, le fibrinogène plasmatique, le statut diabétique, l'hypertension, le statut socio-économique et la concentration des cholestérols HDL et LDL.

Une récente revue systématique de la littérature s'est penchée sur l'association entre la parodontite, diagnostiquée cliniquement, et les maladies associées à l'athérosclérose (maladies coronariennes, accidents vasculaires cérébraux, thrombophlébites des membres inférieurs), elles aussi diagnostiquées cliniquement. Seules les études de cohorte et les études cas-témoins ont été incluses. Sur 1395 articles identifiés au cours des recherches sur les bases de données électroniques et les références, 12 études ont été incluses dans la revue systématique. Trois études de cohorte et 3 études cas-témoins concernaient exclusivement les maladies coronariennes, 1 étude de cohorte et 2 études cas-témoins exclusivement les maladies vasculaires cérébrales, et 1 étude de cohorte les thrombophlébites des membres inférieurs. Une étude s'est par ailleurs intéressée aux évènements secondaires après un premier infarctus du myocarde. Toutes les études à l'exception d'une seule ont montré une association entre les pathologies liées à l'athérosclérose et la parodontite. Les analyses en sous-groupes ont montré que cette association était plus forte chez les sujets jeunes. La seule étude s'intéressant aux évènements secondaires après un premier infarctus du myocarde et le statut parodontal ne montrait une association significative que chez les non-fumeurs [87].

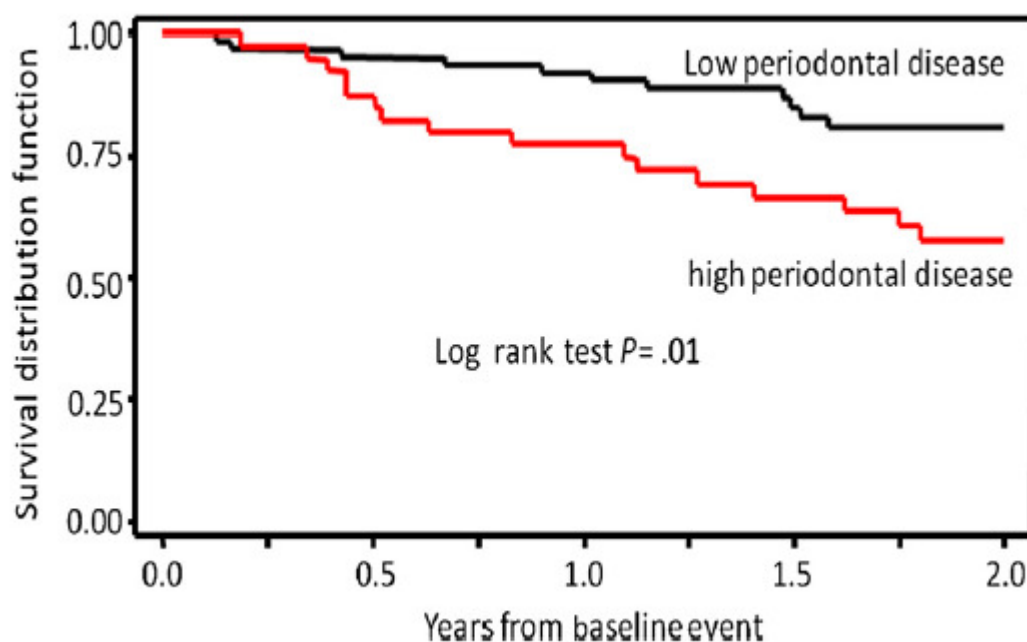
B) Parodontite et évènements cardiovasculaires secondaires

Une étude longitudinale a été réalisée afin d'évaluer le risque de survenue d'un évènement cardiovasculaire, fatal ou non, après un premier infarctus du myocarde en fonction du statut parodontal. Tous les nouveaux cas d'infarctus du myocarde au sein de deux régions des Etats-Unis survenus entre 1996 et 2004 chez des sujets âgés de 35 à 69 ans étaient éligibles, mais les auteurs avaient éliminé les sujets avec des antécédents cardiovasculaires antérieurs à l'évènement. Les sujets ayant moins de six dents restantes ont également été éliminés. 884 participants ont été inclus dans l'étude sur 1496 individus éligibles. Trois mois après l'infarctus du myocarde, un examen bucco-dentaire a été réalisé. Au cours des 7 années de suivi, 168 évènements secondaires ont été observés, dont 17 fatals. Le tabac étant un facteur de risque commun aux deux pathologies, les auteurs ont réalisé des analyses en sous-groupes chez les non-fumeurs, les fumeurs occasionnels (moins de 100 cigarettes fumées au cours de la vie), et chez les fumeurs (anciens et actuels). Chez les non-fumeurs et les fumeurs occasionnels, la perte d'attache moyenne était associée à un risque augmenté de survenue d'un évènement secondaire. Après ajustement, une augmentation d'1mm de la perte d'attache moyenne augmentait le risque de survenue d'un évènement secondaire en moyenne de 39% (HR= 1,39 (IC95% : 1,09 ; 1,77)). Après un ajustement supplémentaire sur le cholestérol total, l'hypertension, l'IMC, l'activité physique, et la consommation en fibres, le risque était augmenté en moyenne de 43% (HR= 1,43 (IC95% : 1,06 ; 1,91)). L'association devenait en revanche non-significative lorsqu'un ajustement supplémentaire sur la fraction d'éjection ventriculaire et la fraction MB de la créatine kinase était réalisé. Chez les fumeurs en revanche, aucune association significative n'avait été observée entre la perte d'attache moyenne et le risque de survenue d'un évènement secondaire, même lorsqu'aucun ajustement n'avait été effectué. De la même manière, lorsque les anciens fumeurs et les fumeurs actuels étaient différenciés, l'association restait non-significative. Toutefois, si cette étude est la première à examiner de manière longitudinale la survenue d'un évènement cardiovasculaire secondaire chez des sujets ayant survécu à un infarctus du myocarde et issus de la population générale, le nombre d'évènements secondaires est limité et ne permet pas de différencier les évènements secondaires fatals et non-fatals [88].

Une seconde étude a été réalisée plus récemment sur le risque de survenue d'un évènement secondaire chez 116 sujets âgés de 18 ans et plus et admis à l'hôpital pour un accident vasculaire cérébral (n= 78) ou une ischémie cérébrale transitoire (n=28). Les sujets ayant

moins de cinq dents restantes ont été exclus. Les auteurs ont distingué les sujets atteints d'une parodontite sévère (tertile supérieur pour le pourcentage de sites atteints d'une perte d'attache de 5mm et plus) des autres sujets (deux tertiles inférieurs). Un suivi téléphonique a été réalisé tous les 6 mois (durée médiane de suivi, 24 mois) afin de collecter des données sur la survenue d'un nouvel accident vasculaire cérébral, d'un infarctus du myocarde, ou d'un décès. En cas de survenue d'un évènement non-fatal, les sujets ont alors été convoqués pour un examen médical. A l'inclusion, le stade de sévérité des ischémies cérébrales transitoires était plus élevé chez les patients atteints d'une parodontite sévère que chez les autres patients ($p=0,03$) mais il n'existait pas de différence significative pour la sévérité des accidents vasculaires cérébraux ($p=0,07$). Au cours de la période de suivi, 16 participants avaient eu un évènement vasculaire cérébral (9 accidents vasculaires cérébraux et 7 ischémies cérébrales transitoires), trois avaient eu un infarctus du myocarde et 8 étaient décédés suite à une pathologie vasculaire. 40% des patients avec une parodontite sévère (16 individus) avaient eu un évènement secondaire. Il existait une différence significative entre les deux groupes de parodontite concernant la durée de survie sans survenue d'un évènement secondaire (durée survie moyenne en années chez les sujets atteints d'une parodontite sévère : 2,1 années (1,6 ; 2,5) contre 2,7 années (2,4 ; 2,9). $p=0,01$) (Figure 15). Les modèles de Cox multivariés ont montré qu'après ajustement sur l'âge et le type de pathologie vasculaire cérébrale, le risque de survenue d'un évènement secondaire était augmenté de 150% en cas de parodontite sévère ($HR= 2,5$ (IC95% : 1,1; 5,5)). En cas d'ajustement complémentaire sur le sexe, le niveau d'études, les revenus, la consommation d'alcool, la consommation de tabac, l'hypertension, le statut diabétique, l'hypercholestérolémie, l'IMC, les antécédents de pathologie coronarienne, le risque était augmenté de 180% ($HR= 2,8$ (IC95% : 1,2 ; 6,5)). Cette étude est la première à s'intéresser au risque de survenue d'un évènement secondaire en fonction du statut parodontal chez des patients avec un premier évènement vasculaire cérébral. Toutefois, la faible taille de l'échantillon et par conséquent le peu d'évènements secondaires observés est une limite de l'étude. Par ailleurs, l'extension de ces résultats à d'autres populations est limitée car seuls les sujets avec un premier évènement et ayant accepté l'examen parodontal étaient inclus. Enfin, l'observance au traitement prescrit lors du premier évènement n'a pas été évaluée, alors qu'il s'agit d'un facteur de risque important dans la survenue d'un évènement secondaire [89].

Figure 15: Courbe de survie sans évènement secondaire chez les patients atteints et ceux non atteints d'une parodontite sévère.



D'après Sen et al. [89].

C) Conclusion

La plupart des études transversales montrent donc une association significative et indépendante entre la parodontite et la présence d'une pathologie cardiovasculaire. L'importance de l'association dépend de la population étudiée, de la définition de la maladie parodontale utilisée, mais aussi des caractéristiques sociodémographiques et comportementales. Les associations les plus fortes entre les deux pathologies sont observées chez les hommes, les sujets jeunes, et les non-fumeurs. Les études longitudinales confirment ces observations et la temporalité de l'association, la présence d'une maladie parodontale augmentant le risque de survenue d'un évènement cardiovasculaire.

En revanche, concernant la survenue d'un évènement secondaire chez des patients déjà atteints d'une pathologie cardiovasculaire, il existe peu de données dans la littérature. Les études disponibles semblent indiquer un risque augmenté de survenue d'un évènement secondaire chez les sujets atteints d'une parodontite, à l'exception des fumeurs dans le cas

d'un premier infarctus du myocarde. Cependant, la faible taille des échantillons et le peu d'évènements secondaires ne permettent pas de conclure.

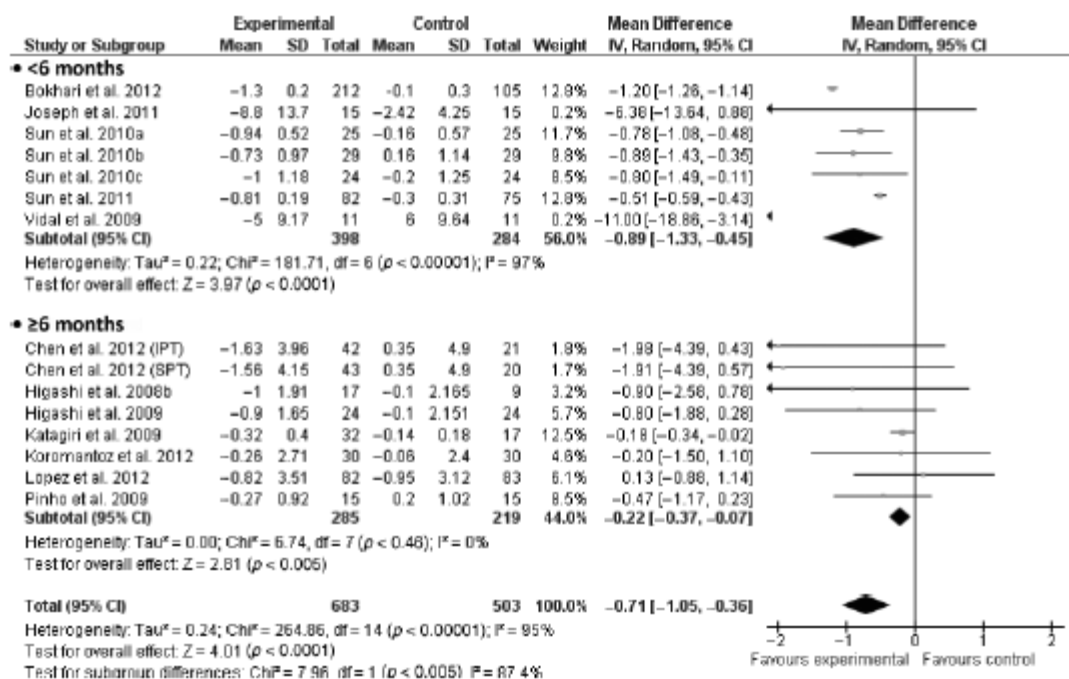
IV.3.2) Effet du traitement parodontal sur le risque cardiovasculaire

A) Traitement parodontal et risque cardiovasculaire

Une récente méta-analyse s'est intéressée aux effets du traitement parodontal non-chirurgical sur le profil de risque cardiovasculaire. Vingt-cinq essais cliniques randomisés (traitement parodontal non-chirurgical contre aucun traitement) ont été identifiés. Ces essais cliniques se sont intéressés aux effets du traitement parodontal sur la concentration en cytokines inflammatoires et en marqueurs thrombotiques (24 études), sur le profil lipidique (13 études), et sur la fonction endothéliale (6 études). Les auteurs ont observé une diminution significative des taux de protéine C-réactive dans le groupe ayant reçu un traitement parodontal comparé au groupe sans traitement parodontal ($-0,50\text{mg.l}^{-1}$ (IC95% : $-0,78$; $-0,22$)). Chez les patients atteints d'une pathologie à l'inclusion (pathologie coronarienne, diabète, syndrome métabolique, hypercholestérolémie, pathologie rénale, hypertension), les résultats étaient similaires lorsque les auteurs distinguaient les effets à moins et à plus de 6 mois après la fin du traitement (respectivement $-0,89\text{mg.l}^{-1}$ (IC95% : $-1,33$; $-0,45$) et $-0,22\text{mg.l}^{-1}$ (IC95% : $-0,37$; $-0,07$)). Toutefois, 7 des 8 études s'intéressant aux effets à plus de 6 mois montraient une association non-significative (Figure 16). Toutefois, lorsque les auteurs s'intéressaient spécifiquement aux sujets sans pathologie à l'inclusion, aucune différence significative n'était observée entre les deux groupes. De la même manière, le traitement parodontal non-chirurgical réduisait significativement la concentration en IL-6 ($-0,48\text{ng.l}^{-1}$ ($-0,90$; $-0,06$)), TNF- α ($-0,75\text{pg.ml}^{-1}$ ($-1,34$; $-0,17$)), fibrinogène ($-0,47\text{g.l}^{-1}$ ($-0,76$; $-0,17$)), et cholestérol total ($-0,11\text{mmol.l}^{-1}$ ($-0,21$; $-0,01$)) [90].

Une récente méta-analyse s'est intéressée aux effets du traitement parodontal sur la fonction endothéliale évaluée par échographie-doppler. Les auteurs ont identifié trois essais cliniques randomisés. La première étude regroupait, après 3 mois de suivi, 23 participants (13 individus atteints d'une parodontite sévère et ayant reçu un détartrage-surfaçage radiculaire associé à une antibiothérapie systémique), et 10 patients sains appariés sur l'âge.

Figure 16: Effet du traitement parodontal non-chirurgical sur la concentration en protéine C-réactive chez les sujets avec une pathologie à l'inclusion.

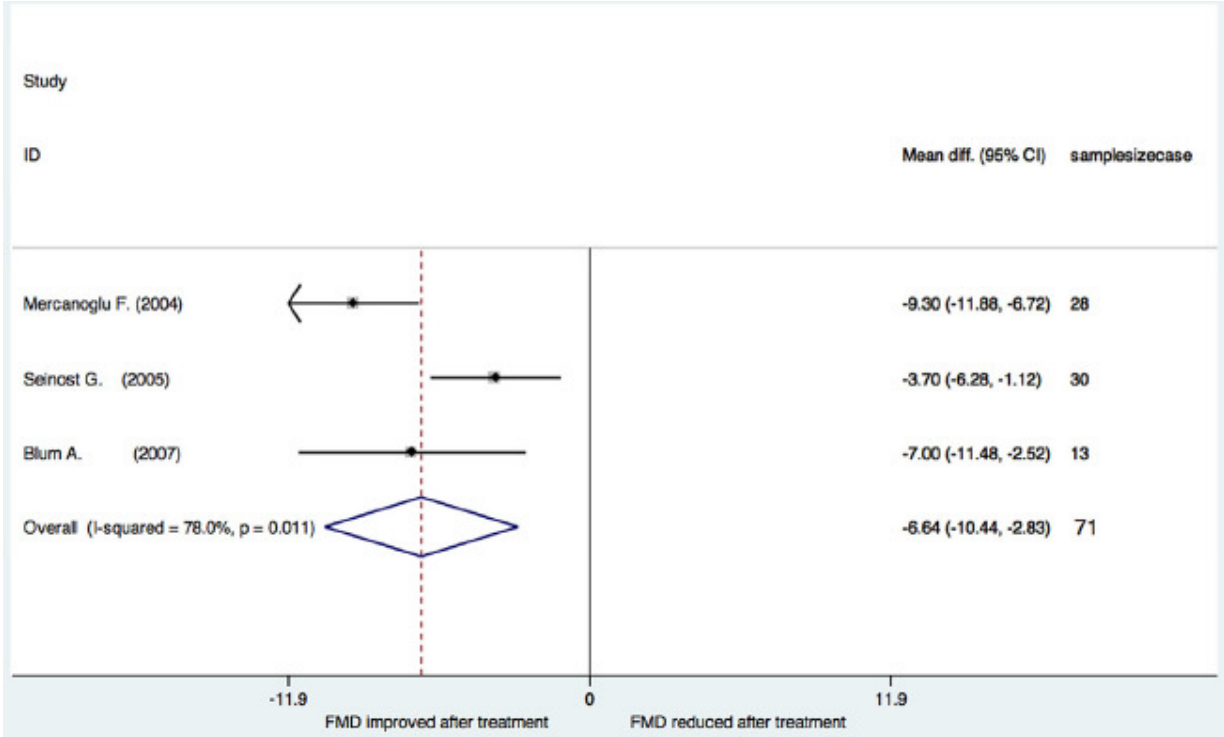


D'après Teeuw et al. [90]. Groupe 'control' (absence de traitement parodontal) contre groupe 'expérimental' (traitement parodontal non-chirurgical). IPT : traitement parodontal intensif comprenant un traitement non-chirurgical associé à un second curetage sous-gingival à 3 mois. SPT : traitement parodontal standard comprenant un traitement non-chirurgical associé à un détartrage après 3 mois. Valeurs en mg.l⁻¹.

A l'inclusion, il existait une différence significative entre les patients atteints d'une parodontite sévère (22 participants, dilatation moyenne $\pm$ écart-type : $4,12 \pm 3,96\%$) et les patients sains (10 participants, $16,60 \pm 7,86\%$) ($p < 0,0001$). Trois mois après la fin du traitement parodontal (9 perdus de vue), le traitement parodontal avait amélioré la fonction endothéliale, la dilatation de l'artère brachiale augmentant de $4,12 \pm 3,96\%$ à l'inclusion à $11,12 \pm 7,22\%$ à la réévaluation ($p = 0,007$) [91]. La seconde étude était réalisée chez 30 participants âgés de 25 à 50 ans et atteints d'une parodontite sévère, et chez 31 individus appariés sur l'âge et le sexe. Les individus atteints d'une parodontite sévère avaient reçu un traitement parodontal non-chirurgical associé à une antibiothérapie systémique, et étaient réévalués 3 mois après la fin du traitement. Les auteurs avaient observé une différence significative pour la dilatation de l'artère brachiale entre les sujets sains ($8,5 \pm 3,4\%$) et les

sujets atteints d'une parodontite sévère ($6,1 \pm 4,4\%$) ($p < 0,01$). Trois mois après la fin du traitement, il existait une amélioration de la fonction endothéliale, puisque la dilatation de l'artère brachiale passait de $6,1 \pm 4,4\%$ à $9,8 \pm 5,7\%$ ($p < 0,01$), c'est-à-dire à une valeur très proche de celle observée chez les sujets sains [92]. Enfin, le dernier essai clinique randomisé s'était intéressé à 28 individus atteints d'une parodontite et recevant un traitement parodontal non-chirurgical seul, et à 26 sujets sains (aucune différence sociodémographique entre les deux groupes). A l'inclusion, les sujets atteints d'une parodontite présentaient une dilatation de l'artère brachiale moins élevée que celle observée chez les sujets sains ($8,4 \pm 4,0\%$ contre $19,4 \pm 8,1\%$; $p < 0,0001$). Six semaines après la fin du traitement parodontal, la dilatation de l'artère brachiale avait augmenté significativement dans le groupe des patients atteints d'une parodontite et recevant le traitement parodontal ($17,7 \pm 5,7\%$; $p < 0,0001$ par rapport aux valeurs à l'inclusion au sein du même groupe) [93]. Les auteurs de la méta-analyse ont conclu que le traitement parodontal améliorait la fonction endothéliale en augmentant la dilatation moyenne de l'artère brachiale de $6,64\%$ (IC95% : $2,83$; $10,44$. $p < 0,0001$). Toutefois, le faible nombre d'études et de sujets, ainsi que la forte hétérogénéité entre les études ($I^2 = 78\%$), nous amène à considérer ces résultats avec précaution [94] (Figure 17).

Figure 17: Effet du traitement parodontal non-chirurgical sur la dilatation de l'artère brachiale médiée par le flux (en pourcentage).



D'après Orlandi et al. [94]. Différence avant et après traitement.

1095

1096 Les deux études que nous venons de décrire montrent que le traitement parodontal peut
1097 réduire les concentrations des marqueurs inflammatoires, souvent élevées avec les maladies
1098 cardiovasculaires, et améliorer la fonction endothéliale. Cependant, nous pouvons supposer
1099 que la parodontite et les maladies cardiovasculaires partagent des facteurs de risque
1100 modifiables, mais aussi non-modifiables, et il convient de s'interroger sur l'efficacité du
1101 traitement parodontal non pas sur les marqueurs inflammatoires seulement, mais plus
1102 indirectement sur le risque de survenue d'un évènement cardiovasculaire.

1103

1104

B) Traitement parodontal et évènement cardiovasculaire

1105

1106 Dans une récente méta-analyse publiée dans la *Cochrane Library*, les auteurs ont recherché
1107 les essais cliniques randomisés avec une période de suivi de un an et plus, et s'intéressant aux
1108 effets du traitement parodontal sur la survenue d'un évènement primaire chez les sujets sans
1109 antécédent cardiovasculaire, ou d'un évènement secondaire chez ceux avec des antécédents
1110 cardiovasculaires. Les participants par ailleurs ne devaient pas avoir reçu de traitement
1111 parodontal moins de 6 mois avant l'inclusion, et ne devaient pas être atteints d'une
1112 parodontite agressive. Les sujets du groupe traitement recevaient un traitement parodontal
1113 non-chirurgical associé ou non avec une antibiothérapie locale ou systémique. Les autres
1114 participants ne recevaient pas de traitement parodontal, ou alors un simple détartrage associé à
1115 des bains de bouche antiseptiques. Les auteurs se sont intéressés à la mortalité toutes causes
1116 confondues ou suite à une pathologie cardiovasculaire, ou à la survenue d'une pathologie
1117 cardiovasculaire, après un an. Les auteurs ont identifié 928 articles, mais un seul répondait
1118 aux critères d'inclusion et d'exclusion. Cet essai clinique contrôlé multicentrique s'est
1119 intéressé à la survenue d'un évènement secondaire chez 303 sujets âgés de 75 ans et plus et
1120 atteints d'une parodontite, définie par la présence d'au moins six dents restantes, au moins
1121 trois dents avec une profondeur de poche de 4mm et plus, et au moins deux dents avec une
1122 perte d'attache de 2mm et plus, et finalement 10% ou plus des sites avec un saignement au
1123 sondage. Par ailleurs, les participants avaient à l'inclusion un rétrécissement d'au moins une
1124 artère coronaire de 50% et plus, ou une pathologie coronarienne de moins de trois ans mais de
1125 plus de trois mois. Les sujets étaient répartis dans deux groupes, le premier recevant un
1126 détartrage-surfaçage radiculaire en bouche complète (n=151), le second recevant des conseils
1127 d'hygiène bucco-dentaire (n=152, 20% recevant toutefois chez un dentiste un détartrage-

surfaçage radiculaire au cours de la période de suivi). Douze évènements cardiovasculaires ont été observés au cours des 25 mois de suivi (8 dans le groupe contrôle, et 5 dans le groupe traitement), et aucune différence significative n'a été observée entre les groupes (RR= 0,72 (IC95% : 0,23 ; 2,22). $p=0,57$). Aucun décès n'a été observé. Les résultats de cette étude doivent être interprétés avec précaution car certains individus du groupe contrôle avaient reçu au cours de la période de suivi un traitement parodontal non-chirurgical. Enfin, selon les participants, la période de suivi allait de 0 à 25 mois, et donc les résultats publiés couvraient à la fois des événements à court, moyen et long termes [95].

C) Conclusion

Les données de la littérature ont donc tendance à montrer un effet significatif du traitement parodontal non-chirurgical sur les molécules de l'inflammation associées à la fois à la parodontite et aux pathologies cardiovasculaires, ainsi que sur les propriétés de dilatation de l'artère brachiale, qui est un marqueur de la fonction endothéliale. Toutefois, il n'existe pas d'étude s'intéressant directement aux effets du traitement parodontal sur le risque de survenue d'un évènement cardiovasculaire primaire, et nous manquons de données pour conclure sur les effets du traitement parodontal sur le risque de survenue d'un évènement cardiovasculaire secondaire.

CONCLUSION

La parodontite se traduit cliniquement par la formation d'une poche parodontale, associée ou non à une perte de l'os alvéolaire entourant les dents. Il existe un grand nombre de classifications différentes des parodontites, ce qui rend difficile la comparaison entre les études.

La parodontite est la sixième maladie chronique la plus prévalente au monde. Elle touche environ 10% des adultes et sa prévalence augmente avec l'âge. La proportion des cas observés de parodontite varie selon les régions. Les facteurs de risque des parodontites sont le tabac et le diabète, mais il existe également un grand nombre de marqueurs de risque comme l'âge, le sexe, le niveau socioéconomique, le stress...

La flore pathogène responsable de la parodontite est organisée en un biofilm, la 'plaque dentaire'. En réponse à cette flore bactérienne, une réponse immunitaire se met en place, d'abord innée, médiée par l'inflammation, puis acquise, faisant intervenir une réponse anticorps. Dans les conditions physiologiques, il existe un équilibre entre la charge bactérienne et la réponse immunitaire de l'hôte, mais dans certaines circonstances, ce déséquilibre est rompu, ce qui se traduit cliniquement par une inflammation et un saignement gingival, puis par la destruction des tissus parodontaux.

Les études transversales et longitudinales montrent pour la plupart une association entre la parodontite et la survenue d'un événement cardiovasculaire. La force de cette association dépend toutefois des régions au sein desquelles les études ont été menées, et de la définition utilisée pour identifier les cas de parodontite. Deux hypothèses ont été proposées. D'une part les bactéries et les produits issus du métabolisme bactérien seraient capables de traverser la barrière gingivale et de pénétrer au sein des vaisseaux gingivaux pour regagner la circulation générale. A distance de la cavité orale, ils pourraient alors déclencher une réponse inflammatoire et initier une pathologie. D'autre part, de nombreuses cytokines sont produites par les cellules immunitaires présentes dans la gencive et ces molécules inflammatoires seraient elles aussi capable de rejoindre la circulation générale et de provoquer à distance de la cavité orale des phénomènes inflammatoires.

1180

1181

1182

1183

1184

1185

1186

PROBLÉMATIQUES ET OBJECTIFS

1187

1188 (1) Si de nombreuses études se sont penchées sur les pathologies de la macro-
1189 circulation associées à la parodontite, aucune étude à ce jour ne s'est intéressée aux
1190 répercussions de la parodontite sur les plus petits vaisseaux.

1191

1192 (2) Par ailleurs, un grand nombre d'études se sont penchées sur certaines molécules
1193 inflammatoires associées à la fois à la parodontite et aux pathologies cardiovasculaires,
1194 comme la protéine C-réactive, et ont montré d'une part que les concentrations de ces
1195 marqueurs inflammatoires étaient augmentées en présence d'une parodontite, mais aussi que
1196 le traitement parodontal, à l'inverse, était capable de réduire les concentrations de ces mêmes
1197 marqueurs. Toutefois, de nouveaux marqueurs des maladies cardiovasculaires ont été
1198 découverts, et à ce jour aucune étude ne s'est penchée sur l'association de ces marqueurs avec
1199 la parodontite.

1200

1201 Suite à ce double constat, les deux objectifs de ce travail sont donc :

1202

1203 (1) D'explorer l'impact de la parodontite sur la microcirculation, et plus
1204 particulièrement sur la microcirculation rétinienne.

1205

1206 (2) De rechercher une éventuelle association entre la parodontite et les phospholipases
1207 A2, un certain nombre de publications récentes ayant montré une association entre ces
1208 molécules inflammatoires et les pathologies cardiovasculaires.

1209

1210

1211 **Tableau 5 : Problématiques, objectifs et études**

Problématiques	Objectifs	Études
L'association entre la parodontite et l'augmentation du diamètre des principaux vaisseaux se retrouve t'elle au niveau des plus petits vaisseaux ?	Étudier l'association entre la parodontite et les altérations de la microcirculation.	Étude 1 : Étude transversale sur l'association entre la présence d'une parodontite et les diamètres des artérioles et des veinules rétiniennes au sein de la cohorte ARIC.
L'augmentation de la concentration en protéine C-réactive observée chez les sujets atteints d'une parodontite est elle également observée avec d'autres marqueurs biologiques associés au risque cardiovasculaire ?	Explorer l'association entre la parodontite et d'autres marqueurs biologiques associés à un risque augmenté de survenue d'une maladie cardiovasculaire.	Étude 2 : Étude transversale sur l'association entre la charge en pathogènes parodontaux et les signes cliniques de la parodontite d'une part, et la concentration et l'activité des phospholipases A2 d'autre part, au sein de la cohorte INVEST.

1212

1213

1214

1215

1216

1217

ÉTUDE 1

1218

1219

1220

1221

1222

1223

1224

PARODONTITE ET MICROCIRCULATION RÉTINIENNE AU SEIN DE LA COHORTE ARIC

1225

1226

1227

1228

1229

1230

1231

1232

1233

1234

1235

1236

1237

1238

1239

1240

1241

1242

1243

1244

1245

1246

1247

1248

1249

1250 Adrien Boillot, Philippe Bouchard, Kevin Moss, Steven Offenbacher,
1251 Sébastien Czernichow, *Periodontitis and retinal microcirculation in*
1252 *the Atherosclerosis Risk in Communities study*. Journal of Clinical
1253 Periodontology, 2015. 42 (4) : p 342-349.

I/ INTRODUCTION

1.1) Parodontite et athérosclérose

Il existe une association significative entre la parodontite et l'athérosclérose, les sujets atteints d'une parodontite ayant une épaisseur intima-média plus élevée au niveau des artères carotides que les sujets sans atteinte parodontale [96] [61]. La libération accrue de cytokines pro-inflammatoires chez les sujets atteints d'une parodontite pourrait expliquer l'association entre ces deux pathologies [82].

1.2) Facteurs de risque communs

Les altérations de la microcirculation rétinienne partagent avec la parodontite un certain nombre de facteurs de risque communs. Ainsi, une étude transversale réalisée chez 5674 adultes âgés de 55 ans et plus et issus de la cohorte *Rotterdam Study*, s'est intéressée à l'association entre les diamètres des artérioles et des veinules rétiniennes et les principaux marqueurs du risque cardiovasculaire. Après ajustement sur l'âge et le sexe, les auteurs ont observé une différence significative de $5,0\mu\text{m}$ (IC95% : 3,9 ; 6,0. $p<0,05$) entre les diamètres des artérioles rétiniennes des fumeurs ($n=1324$) et celles des non-fumeurs ($n=1877$), et de $1,3\mu\text{m}$ (0,4 ; 2,3. $p<0,05$) entre les diamètres observés chez les anciens fumeurs ($n=2408$) lorsqu'ils étaient comparés aux non-fumeurs. De la même manière, il existait des différences significatives concernant les diamètres des veinules rétiniennes (respectivement $10\mu\text{m}$ (8,3 ; 11,4) et $2,5\mu\text{m}$ (1,2 ; 3,9)) [97].

Une étude transversale réalisée chez 3404 sujets âgés de 24 ans et plus s'est intéressée à l'association entre le diamètre des vaisseaux rétiniens et le diabète. Les sujets diabétiques (11,4% des participants) avaient des diamètres des artérioles rétiniennes plus élevés que les sujets sains, après ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, la pression artérielle systolique, l'IMC, le cholestérol total, les triglycérides, la consommation de tabac et le diamètre des veinules rétiniennes. L'association entre le statut diabétique et le diamètre des veinules rétiniennes en revanche devenait non-significative après ajustement sur le diamètre des artérioles rétiniennes. Réciproquement, le diabète était significativement associé au

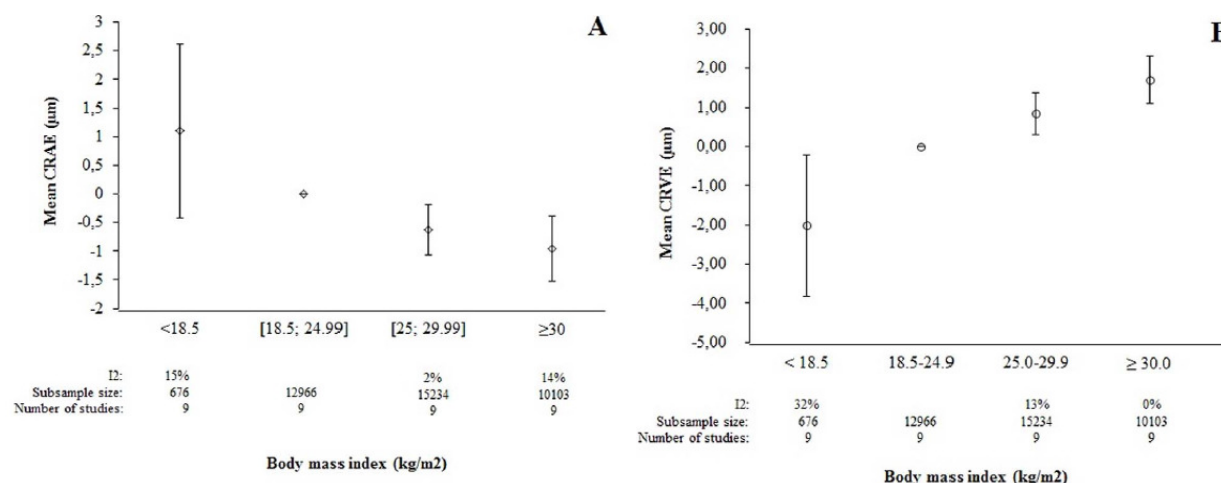
diamètre des artérioles rétinienne (OR= 1,18 (IC95% : 1,06 ; 1,32)), pour une augmentation d'un écart-type du diamètre des artérioles). Une association significative était également observée avec le diamètre des veinules rétinienne (1,15 (1,03 ; 1,28), pour une augmentation d'un écart-type du diamètre des veinules), après ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, l'IMC, la pression artérielle systolique, le cholestérol total, les triglycérides et la consommation de tabac [98].

Enfin, nous avons réalisé une méta-analyse explorant les relations existantes entre l'IMC et le diamètre des vaisseaux rétiniens [99]. Après une recherche électronique dans les principales bases de données (EMBASE et MEDLINE), et une recherche manuelle dans les références des articles sélectionnés, 12 articles ont été inclus dans la méta-analyse, comptabilisant un total de 38979 adultes et 5204 enfants. Nous avons retrouvé une association significative entre l'IMC et le diamètre des artérioles et des veinules rétinienne. Les sujets adultes en surpoids et obèses avaient des diamètres des artérioles rétinienne plus faibles que les sujets normaux ($p<0,01$). En revanche les sujets en surpoids et obèses avaient des diamètres des veinules rétinienne plus élevés ($p<0,01$). Chez les enfants, aucune association significative n'avait été montrée pour le diamètre des artérioles rétinienne, mais les veinules rétinienne avaient également des diamètres plus importants chez les sujets en surpoids et obèses que chez les sujets normaux ($p<0,01$). Ces associations restaient significatives après ajustement (niveau maximum d'ajustement pour chaque étude) (Figure 18). Chez l'adulte, après ajustement (niveau maximum d'ajustement pour chaque étude), une augmentation de l'IMC d' 1kg.m^{-2} s'accompagnait d'une réduction du diamètre des artérioles rétinienne de $0,07\mu\text{m}$ (IC95% : 0,06 ; 0,08), et une augmentation du diamètre des veinules rétinienne de $0,22\mu\text{m}$ (0,21 ; 0,23). Chez les enfants, l'association restait significative (respectivement une réduction de $0,20\mu\text{m}$ (0,18 ; 0,23) et une augmentation de $0,28\mu\text{m}$ (0,25 ; 0,30) [99].

1.3) Microcirculation rétinienne et pathologies cardiovasculaires

En outre, les altérations de la microcirculation rétinienne sont des facteurs prédictifs d'un certain nombre de pathologies cardiovasculaires. Une méta-analyse sur données individuelles a été réalisée afin d'explorer l'association entre le diamètre des artérioles et des veinules rétinienne d'une part, et le risque de survenue d'un accident vasculaire cérébral d'autre part. Les participants étaient issus d'études longitudinales réalisées en population générale.

Figure 18: Diamètres moyens des artérioles (A) et des veinules (B) rétinienne par catégories d'IMC.



D'après Boillot et al. [99]. Niveau maximum d'ajustement pour chaque étude.

Les sujets diabétiques avaient été exclus. Six études ont été incluses dans la méta-analyse, représentant 20798 participants non-diabétiques suivis pendant 5 à 12 ans (945 événements au cours des périodes de suivi).

Aucune des six études n'a montré d'association significative entre le diamètre des artérioles rétiniennes et le risque de survenue d'un accident vasculaire cérébral, après ajustement sur l'âge, l'hypertension, le cholestérol HDL, le cholestérol total, le tabac, les antécédents de maladie coronarienne, et le diamètre des veinules rétiniennes. Deux études sur 6 ont montré un risque accru de survenue d'un accident vasculaire cérébral lorsque les diamètres des veinules rétiniennes augmentaient (après ajustement sur les mêmes variables de confusion, à l'exception des diamètres des veinules rétiniennes qui étaient remplacés par les diamètres des artérioles rétiniennes). Ces deux études avaient été réalisées chez 1285 participants suivis pendant 5,8 années (médiane de la durée de suivie), et 4539 individus suivis pendant 12 années (médiane de la durée de suivie). Les données des six études combinées avaient montré un risque augmenté de survenue d'un accident vasculaire cérébral de 15% en moyenne (HR= 1,15 (IC95%: 1,05; 1,25)) pour une augmentation d'un écart-type (20μm) du diamètre des veinules rétiniennes [100].

Une étude longitudinale regroupant les sujets issus de deux cohortes, la *Beaver Dam Study* incluant 4929 sujets âgés de 43 à 86 ans, et la *Blue Mountain Study* avec 3654 sujets de 49 ans et plus, a exploré l'association entre les diamètres des vaisseaux rétinien et le risque de survenue d'un décès suite à une pathologie coronarienne ou à un accident vasculaire cérébral, au cours d'une période de suivi allant de 10 à 12 ans (période de suivi moyenne de 10,9 ans). Finalement, 7494 sujets ont été inclus après l'élimination des photographies rétinien non exploitables et des décès pour causes inconnues. Au cours de la période de suivi, 653 sujets étaient décédés suite à une pathologie coronarienne, et 299 suite à un accident vasculaire cérébral. Les sujets ayant les plus faibles diamètres des artérioles rétinien (quintile inférieur) avaient un risque de décès d'origine coronarien augmenté de 34% (HR= 1,34 (IC95% : 1,11 ; 1,62)). En outre, les participants avec les diamètres d'artérioles rétinien les plus élevés avaient un risque augmenté de 24% de décès suite à une pathologie coronarienne (1,02 ; 1,52), après ajustement sur l'âge, le sexe, l'IMC, l'hypertension, le cholestérol total, le cholestérol HDL, la consommation de tabac, la numération leucocytaire, le site d'examen, les antécédents d'angine de poitrine et d'infarctus du myocarde. Il n'existait pas en revanche d'association significative avec les accidents vasculaires cérébraux fatals. Chez les sujets âgés de moins de 70 ans, après ajustement sur les mêmes facteurs de risque, les sujets avec les diamètres des artérioles les plus faibles et les diamètres des veinules les plus élevés avaient un risque significativement augmenté de décès suite à une pathologie coronarienne, alors que le risque de survenue d'un décès suite à un accident vasculaire cérébral n'était pas associé au diamètre des veinules rétinien. En revanche, chez les sujets de 70 ans et plus, ni le diamètre des artérioles rétinien, ni celui des veinules rétinien, n'étaient associés au risque de survenue d'un décès suite à un accident vasculaire cérébral ou à une pathologie coronarienne [101].

II/ OBJECTIF

L'objectif de cette étude transversale est d'étudier la relation entre le statut parodontal et la microcirculation rétinienne

III/ MATÉRIEL ET MÉTHODES

III.1) Description de la cohorte et des sujets inclus dans l'étude

ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities study) est une cohorte longitudinale, destinée à étudier l'étiologie de l'athérosclérose, et financée par la *National Heart, Lung, and Blood Institute*. Les sujets ont été sélectionnés entre 1987 et 1989 au sein de 4 communautés : Forsyth County en Caroline du Nord, Jackson dans le Mississippi, Minneapolis dans le Minnesota, et Washington County. 15972 hommes et femmes (n=7082 hommes), âgés de 45 à 65 ans, ont participé aux premiers examens (4000 par centre). Les examens de suivi ont ensuite lieu tous les trois ans (1990-1992 (visite 2): 90,9% de participation; 1993-1995 (visite 3): 81,6% de participation; 1996-1998 (visite 4): 73,8% de participation). Tous les 6 mois, un suivi téléphonique a également été effectué afin de maintenir le contact et de remettre à jour les données de santé. Les examens de santé réalisés à chaque visite étaient des dosages biologiques, un électro-encéphalogramme, des mesures anthropométriques, mesure de la pression artérielle, et une échographie des artères carotides afin de déterminer l'épaisseur intima-média et la présence de plaque(s) d'athérome(s).

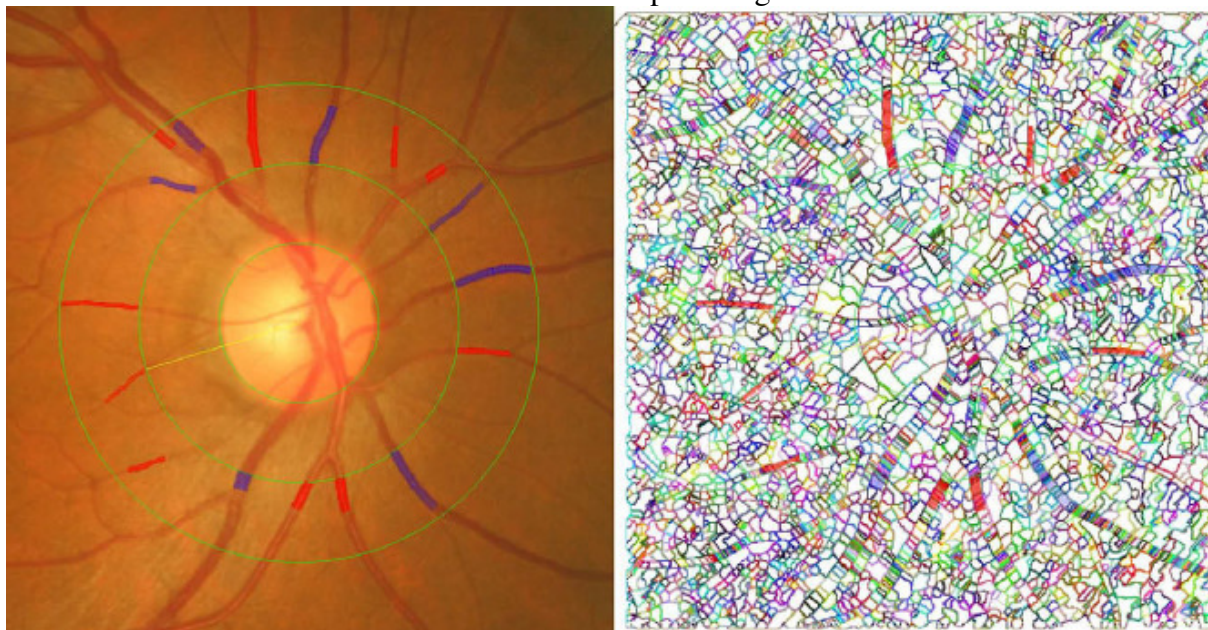
Dental ARIC est une cohorte nichée dans la cohorte principale, et financée par le *National Institute of Dental and Craniofacial Research*. Au cours de la quatrième visite (1996-1998), des sujets de la cohorte principale ont été sélectionnés de manière randomisée afin de recevoir un examen bucco-dentaire. L'objectif de *Dental ARIC* était d'évaluer la prévalence, l'étendue, et la sévérité des atteintes parodontales au sein de la cohorte principale, mais aussi d'explorer l'association entre la parodontite et les maladies coronariennes, l'épaisseur intima-média au niveau des artères carotides, et la présence de plaque(s) d'athérome(s).

III.2) Mesure des diamètres des vaisseaux rétiniens

La mesure du diamètre des vaisseaux rétiniens a été réalisée lors des troisième et quatrième visites. Des techniciens ont pris des photographies en couleur de la rétine de chaque participant sans dilatation préalable de la rétine, à l'aide d'une caméra rétinienne utilisée pour les examens de fond de l'œil. L'image était centrée entre le disque optique et la macula. La prise de vue a été réalisée dans une pièce sombre pour permettre la dilatation de la pupille

d'au moins 4mm. La photographie a été effectuée au niveau d'un seul œil, choisi de manière aléatoire par un programme informatique. Si la photographie n'était pas réalisable pour cet œil, le technicien avait la possibilité de changer d'œil. De manière périodique, un contrôle qualité était effectué auprès des techniciens afin d'assurer la reproductibilité de la technique. L'examen a pris une quinzaine de minutes par patient, puis les photographies ont été envoyées pour lecture centralisée au *Retinal Reading Center, département d'ophtalmologie, Université du Wisconsin*. Les photographies ont été imprimées sur un papier transparent, puis scannées. Une grille a été appositionnée, composée de trois cercles : le premier cercle était centré sur le disque optique. Le second cercle entourait le premier disque, et son rayon était le double du premier (Zone A: zone comprise entre ces deux cercles. Les vaisseaux sont souvent des artères ou des veines dans cette zone), tandis que le troisième cercle englobait les deux premiers et son rayon était trois fois supérieur à celui du premier (Zone B: zone comprise entre le second et le troisième cercles. Les vaisseaux sont souvent des artérioles ou des veinules). L'examineur ne connaissait pas l'état de santé du sujet examiné. Seule la zone B était intéressante pour la mesure du diamètre des artérioles et des veinules rétinienne. Les vaisseaux de moins de 25 μ m ont été ignorés car difficilement mesurables, et car ils influencent peu les valeurs. Le contraste a alors été ajusté afin de rendre les limites des vaisseaux d'intérêt plus visibles, et la zone B a été agrandie. L'examineur a marqué des points de part et d'autre du vaisseau, et l'ordinateur a calculé automatiquement le diamètre du vaisseau d'intérêt. Régulièrement un contrôle qualité était également effectué à ce stade en sélectionnant de manière aléatoire, et sans que l'examineur le sache, des photographies déjà analysées afin de mesurer la reproductibilité des mesures. Pour les vaisseaux de 80 μ m de diamètre et plus, les mesures ont été faites au niveau du vaisseau et de toutes les premières branches du vaisseau, même si celles-ci sortaient de la zone B [102] [103] (Figure 19). Le logiciel a calculé alors automatiquement deux variables qui vont nous intéresser dans cette étude : le diamètre moyen des artérioles rétinienne (Central Retinal Arteriolar Equivalent ou CRAE), et le diamètre moyen des veinules rétinienne (Central Retinal Venular equivalent ou CRVE), calculés à partir des diamètres des artérioles et des veinules et de la formule de Parr et Spears [104] [105]. Les concordances inter-examineur et intra-examineur étaient respectivement de 0,74 et 0,69 pour la mesure de CRAE, et de 0,77 et 0,89 pour la mesure de CRVE [106].

Figure 19: Mesure des diamètres des vaisseaux rétiens par le logiciel IVAN.



D'après Sun et al..[103]. Artérioles en rouge et veinules en bleu.

Les examens ophtalmologiques ont principalement eu lieu au cours de la troisième visite (1993-1995). Au cours de ces examens, les diamètres des artérioles (CRAE) et des veinules rétiniennes (CRVE) ont été mesurés. Certains de ces participants ont également eu un nouvel examen au cours de la visite 4 (1996-1998). Le statut parodontal étant évalué également à la visite 4, nous avons restreint notre analyse à ces sujets.

III.3) Mesure du statut parodontal

Au cours des examens pratiqués à la visite 4 (1996-1998) chez les participants de la *Dental ARIC Study*, la perte d'attache, la profondeur de poche et la récession gingivale ont été mesurées sur toutes les dents au niveau de six sites par dent. Tous les sujets nécessitant une antibiothérapie prophylactique avant examen parodontal ont été éliminés. Tous les examinateurs ont au préalable été calibrés avec un examinateur référent. Le pourcentage d'accord inter-examineur pour la mesure de la perte d'attache, avec une marge d'erreur de 1mm, variait de 83,2% à 90,2%. La concordance inter-examineur variait de 0,76 à 0,86, et intra-examineur de 0,76 à 0,90. La classification des parodontites selon le *Center for Disease Control* et l'*American Association of Periodontology (CDC/AAP)*, décrite précédemment, a été utilisée afin de distinguer les sujets sains et ceux atteints d'une gingivite, des sujets atteints d'une parodontite modérée ou d'une parodontite sévère [7] (Tableau 1).

Cette classification utilise la perte d'attache clinique et la profondeur de poche, ce qui permet d'estimer la destruction tissulaire passée (perte d'attache clinique) et l'activité de la maladie (profondeur de poche parodontale).

III.4) Autres variables de confusion

L'âge à la visite 4 (en années) et l'origine ethnique (caucasien ou afro-américain) ont été relevés. L'origine ethnique a ensuite été combinée au centre d'examen afin de définir une seule et même variable constituée de cinq catégories : afro-américains examinés à Jackson, afro-américains examinés en Caroline du Nord, caucasiens examinés en Caroline du Nord, caucasiens examinés dans le Minnesota, et caucasiens examinés dans la région de Washington. Le niveau d'études et les revenus ont été classés en trois catégories : basique (<12 années d'études, <12000\$ de revenus annuels), intermédiaire (entre 12 et 16 années d'études et entre 12000\$ et 50000\$ de revenus annuels), et avancé.

La présence d'un diabète a été définie par une glycémie à jeun supérieure ou égale à 126,0mg.dl⁻¹ (ou 7,0mmol.l⁻¹), et/ou une glycémie postprandiale supérieure ou égale à 200,0mg.dl⁻¹ (ou 11,1mmol.l⁻¹), et/ou un diagnostic de diabète, et/ou la prise de médicaments contre le diabète. Les rétinopathies diabétiques ont été identifiées par la réponse à la question 'Votre médecin vous a-t-il dit que vous aviez des problèmes ophtalmologiques liés au diabète ?' ('Has your doctor ever told you that you have eye problems as a result of diabetes'). L'hypertension artérielle a été définie par la présence d'une pression artérielle systolique supérieure ou égale à 140mmHg, et/ou une pression artérielle diastolique supérieure ou égale à 90mmHg, et/ou la prise d'antihypertenseurs au cours des deux dernières semaines. L'IMC a été également calculé pour chaque participant.

La consommation d'alcool a été relevée et exprimée en grammes par semaine. Les non-fumeurs ont été différenciés des fumeurs (anciens ou actuels).

III.5) Analyses statistiques,

La distribution des variables a été décrite selon le statut parodontal (pourcentages pour les variables catégorielles et moyennes et écart-types pour les variables continues). Les tests du χ^2

et de Student ont été utilisés respectivement pour comparer la distribution des variables catégorielles et continues à travers les groupes de statut parodontal (le groupe santé parodontale/gingivite a été pris comme référence).

En raison du grand nombre de variables de confusion par rapport à la taille de l'échantillon, et afin d'éviter un surajustement, nous avons utilisé un score de propension dans les modèles multivariés. Le score de propension a initialement été conçu pour évaluer les effets des traitements dans les essais cliniques non-randomisés en prenant en compte les caractéristiques des participants à l'inclusion. Le score de propension est une variable quantitative prenant une valeur comprise entre 0 et 1. Chaque sujet du groupe recevant le traitement est ensuite apparié avec le sujet du groupe contrôle dont la valeur du score de propension est la plus proche. Par la suite, l'utilisation du score de propension a été étendue aux études non-interventionnelles afin de réduire le risque de surajustement dans les modèles multivariés. Le score de propension a été calculé en réalisant une régression logistique multivariée dans laquelle le statut parodontal était la variable dépendante et toutes les autres variables étaient les variables indépendantes (âge, sexe, centre/origine ethnique, statut diabétique, rétinopathie diabétique, hypertension, IMC, concentrations en triglycérides et en cholestérols HDL et LDL, consommations de tabac et d'alcool, niveau d'études, revenus et nombre de dents restantes). A partir de ces modèles, le score de propension a été calculé pour chaque participant. Il correspond à la probabilité pour le participant d'être exposé à la parodontite en prenant en considération toutes les autres variables de confusion qui définissent son profil de risque.

Des modèles de régression linéaire ont été utilisés pour déterminer l'association entre les diamètres des artérioles et des veinules rétiniennes (variable dépendante) en fonction du statut parodontal après un ajustement sur le score de propension. A partir de ces modèles, des moyennes ajustées ont été extraites pour chaque catégorie de statut parodontal. Le diabète étant un facteur de risque connu de la parodontite et des rétinopathies, des analyses en sous-groupes ont également été réalisées en fonction du statut diabétique.

Enfin, comme de nombreuses études ont montré une réduction des diamètres des artérioles rétiniennes et une dilatation des veinules rétiniennes avec l'inflammation, nous avons classé les diamètres des vaisseaux rétiniens par quartile. Nous avons ensuite comparé, en utilisant des modèles logistiques multivariés, le risque de se retrouver dans le quartile inférieur (supérieur) pour le diamètre des artérioles (veinules) rétiniennes, comparé aux trois autres

quartiles pris comme référence, en fonction du statut parodontal, et après ajustement sur les autres variables. Les odds-ratios et leurs intervalles de confiance à 95% ont été extraits des modèles logistiques.

Le seuil de significativité a été fixé à 5%. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (version 2.14.0, The R development Core Team. 2013)

IV/ RÉSULTATS

IV.1) Caractéristiques générales

6793 adultes ont participé à l'examen parodontal, et 1098 à l'examen ophtalmologique au cours de la visite 4. 541 sujets ont à la fois eu un examen parodontal et ophtalmologique. 84 sujets ont été exclus à cause de données manquantes ou d'un nombre insuffisant de dents restantes (moins de quatre). 457 sujets ont finalement été inclus dans l'étude. 194 étaient atteints d'une parodontite modérée et 93 d'une parodontite sévère.

L'âge moyen était de $62,5 \pm 5,6$ ans et 46,2% (n=211) participants étaient des hommes. Presque 70% des participants étaient caucasiens. L'IMC moyen était de $28,8 \pm 5,2 \text{ kg.m}^{-2}$. 14,4% des sujets étaient diabétiques et 1,5% des participants étaient atteints d'une rétinopathie diabétique. 49,9% étaient non fumeurs ; La perte d'attache moyenne était de $1,9 \pm 1,0 \text{ mm}$, et le nombre moyen de dents restantes était de $21,5 \pm 6,7$ dents.

Nous avons observé par ailleurs qu'il existait une association significative entre les paramètres cliniques parodontaux et le statut parodontal, ce qui confirmait à-posteriori la validité de la classification utilisée. Plus la sévérité du statut parodontal augmentait, plus la perte d'attache clinique moyenne, la profondeur de poche moyenne et le pourcentage de sites avec un saignement au sondage augmentaient ($p < 0,01$ pour les trois paramètres cliniques) (Tableau 6).

Le diamètre moyen des artérioles rétinienues était de $157,1 \pm 14,6 \mu\text{m}$, et le diamètre moyen des veinules rétinienues de $188,6 \pm 16,1 \mu\text{m}$. L'âge, le sexe, les consommations de tabac et d'alcool, le niveau d'études, les revenus et la concentration en cholestérol HDL étaient associés à la

parodontite. Il n'existait pas de différence statistiquement significative entre les différents groupes de statut parodontal pour le diamètre des artérioles rétinienne. En revanche les diamètres des veinules rétinienne étaient significativement plus élevés chez les sujets atteints d'une parodontite sévère que chez les sujets sains ou ceux atteints d'une gingivite ($191,8 \pm 18,2 \mu\text{m}$ contre $186,8 \pm 14,4 \mu\text{m}$. $p=0,02$) (Tableau 7).

Les analyses univariées ont montré que le diamètre des artérioles rétinienne était significativement associé à l'âge, au centre d'examen/origine ethnique, à la consommation d'alcool et au niveau d'études. Le diamètre des veinules rétinienne était associé à l'âge, au centre d'examen/origine ethnique, au statut diabétique, à l'IMC, aux concentrations en cholestérol HDL et en triglycérides, au tabac et au statut parodontal. Le diamètre moyen des veinules rétinienne était de $186,8 \pm 16,0 \mu\text{m}$ chez les sujets sains ou atteints d'une gingivite, $188,6 \pm 16,0 \mu\text{m}$ chez les sujets atteints d'une parodontite modérée, et $191,8 \pm 16,0 \mu\text{m}$ chez les sujets atteints d'une parodontite sévère ($p=0,02$).

IV.2) Relation entre le statut parodontal et le diamètre des artérioles rétinienne (CRAE)

Après ajustement sur les facteurs de confusion, il n'existait pas d'association entre le statut parodontal et les diamètres des artérioles rétinienne chez les participants.

De la même manière, être atteint d'une parodontite sévère n'était pas associé à un risque significativement plus important d'appartenir au groupe des sujets qui avaient les diamètres des artérioles rétinienne les plus faibles (quartile inférieur. $p=0,15$ pour l'analyse univariée, et $p=0,13$ après ajustement sur tous les facteurs de confusion).

Il n'existait pas d'association significative avec le statut parodontal, ni chez les sujets non-diabétiques ($n=391$), ni chez les sujets diabétiques ($n=66$), après ajustement sur tous les facteurs de confusion (Figure 20) (Tableau 8).

IV.3) Relation entre le statut parodontal et le diamètre des veinules rétinienne (CRVE)

Il existait une association significative entre le diamètre des veinules rétinienne et le fait d'être atteint d'une parodontite sévère, après ajustement sur tous les facteurs de confusion, et lorsqu'ils étaient comparés aux sujets sains ou atteints d'une gingivite ($p=0,04$). Il n'existait pas d'association significative chez les sujets atteints d'une parodontite modérée, mais le diamètre des veinules rétinienne augmentait avec la sévérité des atteintes parodontales. Le diamètre des veinules rétinienne était de $187,0 \pm 17,2 \mu\text{m}$ chez les sujets sains ou atteints d'une gingivite, $188,5 \pm 16,3 \mu\text{m}$ chez les sujets atteints d'une parodontite modérée, et $191,6 \pm 16,8 \mu\text{m}$ chez les sujets atteints d'une parodontite sévère (p de tendance $< 0,05$).

Les sujets qui avaient les diamètres des veinules rétinienne les plus importants (quartile supérieur) étaient plus souvent atteints d'une parodontite sévère après ajustement sur les facteurs de confusion ($\text{OR} = 2,18$ ($\text{IC}_{95\%} : 1,15 ; 4,13$)).

L'analyse en sous-groupe n'a montré aucune association entre le statut parodontal et le diamètre des veinules rétinienne chez les sujets non-diabétiques ($n=391$). Chez les sujets diabétiques, il existait une association significative chez les sujets atteints d'une parodontite sévère ($\text{OR} = 2,70$ ($1,15 ; 6,32$), $p=0,01$). Par ailleurs, le diamètre des veinules rétinienne augmentait avec la sévérité des atteintes parodontales (p de tendance $< 0,01$) (Figure 21) (Tableau 8).

V/ DISCUSSION

Nous avons observé dans cette étude transversale une association significative entre la présence d'une parodontite sévère et le diamètre des veinules rétinienne. En revanche aucune association significative n'a été observée avec le diamètre des artérioles rétinienne.

V.1) Inflammation, parodontite et diamètre des vaisseaux rétinienne

Dans une étude transversale réalisée à partir d'un échantillon de 5279 adultes âgés de 55 ans et plus et issus de la cohorte *Rotterdam Study*, de Jong et al. se sont intéressés à l'association

entre les diamètres des artérioles et des veinules rétinienne et trois marqueurs inflammatoires d'autre part : la protéine C réactive, le fibrinogène, et la phospholipase A2 associée aux lipoprotéines (Lp-PLA2). Les auteurs ont observé, après ajustement sur l'âge, le sexe, les pressions artérielles systolique et diastolique, le statut diabétique, le tabac, l'IMC, la concentration en cholestérol HDL, et la présence de plaque(s) d'athérome(s) carotidienne(s), qu'il existait une association statistiquement significative entre le diamètre des veinules rétinienne et la concentration en protéine C-réactive et l'activité de la Lp-PLA2. Ainsi, des augmentations d'un écart-type de la concentration en protéine C-réactive ($1,04\text{mg.l}^{-1}$) et de l'activité de la Lp-PLA2 ($11,5\text{mmol.min}^{-1}$ par ml de plasma) étaient associées respectivement à une augmentation du diamètre des veinules rétinienne de $1,61\mu\text{m}$ (IC95% : 1,00 ; 2,22) et de $2,33\mu\text{m}$ (1,06 ; 3,61). Aucune association n'avait été observée avec le diamètre des artérioles rétinienne [107].

Dans une autre étude transversale réalisée auprès de 5979 adultes âgés de 45 à 84 ans et issus de la cohorte américaine *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)*, Wong et al. se sont intéressés également à l'association entre les diamètres des artérioles et des veinules rétinienne, et les concentrations en fibrinogène plasmatique, en protéine C-réactive et en IL-6. Après ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, la pression artérielle systolique, la glycémie à jeun, la consommation de tabac et d'alcool, l'IMC, les concentrations en cholestérols HDL et LDL, les auteurs ont observé une association significative entre le diamètre des veinules rétinienne et la concentration en protéine C-réactive ($p=0,002$). Une association significative a également été observée avec le fibrinogène plasmatique ($p<0,001$) et IL-6 ($p<0,001$). Aucune association n'était en revanche observée entre ces trois marqueurs inflammatoires et le diamètre des artérioles rétinienne [108].

Une autre étude transversale, réalisée cette fois en France chez 1224 adultes âgés de 60 ans et plus issus de la cohorte *Pathologies Oculaires Liées à l'Age (POLA)*, s'est également intéressée à l'association entre les diamètres des artérioles et des veinules rétinienne et à certains marqueurs inflammatoires (protéine C-réactive et orosomucoïde). Après ajustement sur l'âge, le sexe, l'hypertension, le statut diabétique, le tabac, l'IMC, le cholestérol HDL et le taux de filtration glomérulaire, les auteurs ont observé une association significative entre le diamètre des veinules rétinienne et les concentrations en protéine C-réactive ($p<0,0001$) et en orosomucoïde ($p<0,01$). Aucune association n'a en revanche été observée avec le diamètre des artérioles rétinienne [109].

1665
1666 Une augmentation de la concentration en marqueurs inflammatoires a également été observée
1667 chez les sujets atteints d'une parodontite [110, 111] [70].

1668
1669 Dans une étude transversale réalisée chez 5603 adultes âgés de 54 à 73 ans, Beck et
1670 Offenbacher se sont intéressés à l'association entre l'étendue des atteintes parodontales
1671 (pourcentage de sites avec une perte d'attache de 3mm et plus, et de sites avec une profondeur
1672 de poche de 5mm et plus) et les concentrations sériques en protéine C-réactive et en sICAM.
1673 Après un ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, les revenus, le tabac, le statut
1674 diabétique, l'IMC, la concentration en triglycérides, et le nombre de dents restantes, les
1675 auteurs ont observé une association significative entre les concentrations en protéine C-
1676 réactive et sICAM et le pourcentage de sites avec une perte d'attache de 3mm et plus
1677 (respectivement $p<0,0001$ et $p<0,0004$), le pourcentage de sites avec un saignement au
1678 sondage (respectivement $p=0,0006$ et $p<0,0001$), et le pourcentage de poches parodontales de
1679 5mm et plus de profondeur ($p<0,0001$) [70].

1680

1681 **V.2) Diabète, parodontite et diamètre des vaisseaux réiniens**

1682
1683 Kshirsagar et al., dans une étude transversale réalisée parmi 5537 adultes âgés de 54 à 73 ans
1684 et issus de la cohorte *ARIC*, ont étudié l'association entre la parodontite et l'insuffisance
1685 rénale. Après ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le centre d'examen, le niveau
1686 d'études, le tabac, le taux sérique en protéine C-réactive, l'hypertension, l'IMC et le statut
1687 diabétique, les auteurs ont observé une association significative entre l'insuffisance rénale
1688 (taux de filtration glomérulaire inférieur à 60ml/min/1,73m^2) et le statut parodontal. En
1689 comparaison avec les sujets sains et ceux atteints d'une gingivite, les sujets atteints d'une
1690 parodontite modérée ou sévère avaient plus de chance d'être également atteints d'une
1691 insuffisance rénale (respectivement $\text{OR}= 2,00$ ($\text{IC95\%} : 2,23 ; 3,24$) et $2,14$ ($1,19 ; 3,85$))
1692 [112].

1693
1694 Une étude longitudinale s'est également intéressée à l'association entre le statut parodontal et
1695 la néphropathie diabétique, définie par une macro-albuminurie (rapport de la concentration
1696 urinaire d'albumine/créatine $\geq 300\text{mg.g}^{-1}$). Les auteurs ont suivi 529 adultes âgés de 25 ans et
1697 plus et atteints de diabète de type 2 pendant plus de 22 ans. A l'inclusion, 200 sujets étaient

atteints d'une parodontite modérée, 117 d'une parodontite sévère, et 105 étaient édentés. Le risque de survenue d'une macro-albuminurie au cours de la période de suivi était doublé en moyenne chez les sujets atteints d'une parodontite modérée, sévère ou édentés (respectivement HR= 2,0 (IC95% : 1,2 ; 3,5); 2,1 (1,2 ; 3,8) ; et 2,6 (1,4 ; 4,6)), après ajustement sur l'âge, le sexe, l'IMC, la durée depuis laquelle le sujet est diabétique, et le tabac [113].

La néphropathie rétinienne est, avec la rétinopathie diabétique et la parodontite, une des principales complications du diabète. La relation entre la parodontite et le diabète étant bidirectionnelle, nous avons décidé de réaliser des analyses en sous-groupes en fonction du statut diabétique pour étudier l'association entre la parodontite et la microcirculation rétinienne. De la même manière que nous n'avons trouvé aucune association entre le diamètre des artérioles rétiniennes et le statut parodontal pour l'ensemble de l'échantillon, aucune association n'a également été trouvée chez les sujets diabétiques et non-diabétiques. En revanche, l'association observée entre le diamètre des veinules rétiniennes et le statut parodontal pour l'ensemble des sujets de l'échantillon a également été retrouvée chez les sujets diabétiques, mais pas chez les sujets non-diabétiques. Dans l'analyse principale réalisée pour l'ensemble des sujets de l'échantillon, nous avons ajusté sur l'ensemble des facteurs de confusion, dont le statut diabétique et les rétinopathies diabétiques, ce qui indique que l'association entre le diamètre des veinules rétiniennes et le statut parodontal est indépendante du diabète. Pourtant, les analyses en sous-groupes semblent montrer que le diabète influence l'association entre la parodontite sévère et la microcirculation rétinienne. Le lien entre les trois pathologies semble complexe et des études longitudinales sont nécessaires pour préciser les relations entre la parodontite, le diabète et la microcirculation rétinienne.

V.3) Forces et faiblesses de l'étude

Nous avons vu précédemment, au cours de la revue de la littérature, qu'il existait un grand nombre d'études s'intéressant à l'association entre la parodontite et la macrocirculation artérielle (artères carotides et coronaires) ou la survenue d'une pathologie cardiovasculaire. Cette étude est en revanche la première à s'intéresser à l'association entre la parodontite et les altérations de la microcirculation extra-orale. *ARIC* est par ailleurs, à notre connaissance, la seule cohorte au sein de laquelle un examen parodontal et un examen de la microcirculation

1731 rétinienne ont été réalisés simultanément. D'autre part, la parodontite étant associée à un
1732 risque accru de survenue d'une pathologie cardiovasculaire, l'examen du diamètre des
1733 vaisseaux rétiens étant reproductible et non-invasif, et les modifications des diamètres des
1734 vaisseaux rétiens étant des marqueurs prédictifs d'une pathologie cardiovasculaire, le choix
1735 de la rétine pour étudier l'association entre la parodontite et la microcirculation est très
1736 intéressante. Enfin, nous avons utilisé un niveau d'ajustement élevé, et afin d'éviter le risque
1737 de surajustement, nous avons utilisé un score de propension dans les modèles multivariés.
1738 Ceci est particulièrement important pour les analyses en sous-groupes, puisque seulement 66
1739 participants étaient diabétiques. D'autres études sur des échantillons plus larges sont toutefois
1740 nécessaires pour confirmer l'importance du diabète dans cette association.

1741
1742 Notre étude présente néanmoins certaines limites. Nous avons décidé d'éliminer les sujets
1743 avec moins de quatre dents restantes, ainsi que ceux nécessitant une antibioprophylaxie
1744 préalable. L'exclusion de ces sujets pourrait avoir pour effet d'éliminer de cette étude des
1745 sujets diabétiques, des fumeurs, et des sujets avec un antécédent cardiovasculaire, ce qui peut
1746 modifier la force de l'association entre la parodontite et les diamètres des vaisseaux rétiens.
1747 Par ailleurs, nous avons évoqué la possibilité de mécanismes inflammatoires qui pourraient
1748 expliquer l'association entre la parodontite et la microcirculation rétinienne. Toutefois nous
1749 n'avons aucune donnée biologique pour les sujets inclus dans notre étude qui nous permettrait
1750 de tester cette hypothèse. Enfin, il est également possible que des antécédents d'évènements
1751 cardiovasculaires puissent modifier cette association. Des études longitudinales chez des
1752 sujets avec et sans antécédent cardiovasculaire sont nécessaires afin d'explorer cette
1753 possibilité.

1759 **Tableau 6 :** Caractéristiques des participants selon le statut parodontal.

	Santé/Gingivite (Réf) n=171	Parodontite modérée n=194	Parodontite sévère n=92
Age	61,4±5,7	63,1±5,3 [†]	63,1±5,9*
Sexe			
<i>Femmes (référence)</i>	69,6	53,1	26,1
<i>Hommes</i>	30,4	46,9 [†]	73,9 [†]
Origine ethnique / Centre d'examen (Référence: Jackson, afro-américains)			
<i>Jackson, afro-américains</i>	29,2	25,8	33,7
<i>Caroline du Nord, caucasiens</i>	30,4	19,1	9,8 [†]
<i>Caroline du Nord, afro-américains</i>	1,2	1,0	3,3
<i>Minnesota, caucasiens</i>	17,0	26,3	22,8
<i>Etat de Washington, MD, caucasiens</i>	22,2	27,8	30,4
Diabète	11,7	16,0	16,3
Rétinopathie diabétique	0,6	2,6	1,1
Hypertension	40,9	29,9*	38,0
IMC (kg.m ⁻²)	29,3±6,1	28,4±4,9	28,4±4,2
Cholestérol HDL	51,8±16,4	51,0±16,9	43,9±13,6 [†]
Cholestérol LDL	120,4±35,2	123,4±33,5	126,0±36,5
Triglycérides	145,5±86,7	133,7±77,9	142,8±77,9
Consommation d'alcool (g par semaine)	19,8±47,1	30,0±77,7	41,8±81,5 [†]
Tabac			
<i>N'a jamais fumé (Référence)</i>	63,2	49	27,2
<i>Fumeur (actuel ou ancien)</i>	36,8	51,0 [†]	72,8 [†]

1760 *CRAE/CRVE: Diamètre des artérioles et des veinules rétinienne.*

1761 *Test du χ^2 et test de Student. *: $p < 0,05$. [†]: $p < 0,01$.*

1762 **Tableau 6 :** Caractéristiques des participants selon le statut parodontal (*Suite*).

	Santé/Gingivite (Réf) n=171	Parodontite modérée n=194	Parodontite sévère n=92
Niveau d'études			
<12 ans (<i>Référence</i>)	8,2	21,1	20,6
12-16 ans	47,4	36,1 [†]	45,7*
≥17 ans	44,4	42,8 [†]	33,7 [†]
Niveau de revenus			
<\$12,000	30,4	36,6	34,8
\$12,000-\$50,000	52,6	48,4	57,6*
>\$50,000 (<i>Référence</i>)	17,0	15,0	7,6
CRAE (µm)	156,1±15,4	156,8±13,7	159,7±14,8
CRVE (µm)	186,8±14,4	188,6±16,4	191,8±18,2*
Nombre de dents restantes	21,7±6,9	21,7±6,6	20,5±6,7
Pourcentage de sites saignant au sondage	20,0±18,5	25,4±19,9 [†]	40,2±26,9 [†]
Perte d'attache moyenne	1,3±0,4	1,8±0,6 [†]	3,2±1,2 [†]
Profondeur de poche moyenne	1,6±0,2	1,8±0,3 [†]	2,7±0,7 [†]
Score de propension	0,5±0,2	0,7±0,2 [†]	0,7±0,2 [†]

1763 *CRAE/CRVE: Diamètre des artérioles et veinules rétinienne.*

1764 *Test du χ^2 et test de Student. *: $p<0,05$. [†]: $p<0,01$.*

1765 **Tableau 7 :** Diamètres artériolaire (CRAE) et veinulaire (CRVE) moyens selon les
1766 caractéristiques des sujets.

	CRAE (moyenne±s.d, µm)	CRVE (moyenne±s.d, µm)
Age		
<médiane (Référence)	159,0±14,3	190,7±15,7
≥médiane	155,0±14,8 [†]	186,2±16,3 [†]
Sexe		
Femme (Référence)	158,1±15,4	187,6±16,4
Homme	155,9±13,7	189,7±15,7
Origine ethnique / Centre d'examen		
Jackson, afro-américains	160,1±14,3	192,3±16,7
Caroline du Nord, caucasiens	154,4±14,8 [†]	186,2±16,6 [†]
Caroline du Nord, afro-américains	163,5±7,7	196,5±15,2
Minnesota, caucasiens	156,3±14,7*	187,9±15,1*
Etat de Washington, MD, caucasiens	156,3±14,7*	186,5±15,3 [†]
Diabète	158,1±14,1	192,8±15,8*
Rétinopathie diabétique	153,8±14,7	195,2±16,1
Hypertension	155,8±15,0	189,8±16,9
IMC (kg.m ⁻²)		
IMC≤25 (Référence) ⁽¹⁾	157,0±13,3	182,4±15,7
IMC>25	157,1±15,1	190,6±15,8 [†]
Cholestérol HDL		
<médiane (Référence)	157,9±14,6	191,1±15,9
≥médiane	156,3±14,6	186,0±15,9*
Cholestérol LDL		
<médiane (Référence)	157,2±14,7	187,4±16,1
≥médiane	157,0±14,7	189,8±16,1
Triglycerides		
<médiane (Référence)	156,1±14,6	187,0±16,1
≥médiane	158,1±14,6	190,2±16,1*

1767 n=457. ⁽¹⁾: n= 114. ⁽²⁾: n= 319. Modèles de régressions linéaires généralisés. IMC: Indice
1768 de Masse corporelle. *: p<0,05. [†]: p<0,01. s.d: écart type.

1769 **Tableau 7** : Diamètres artériolaire (CRAE) et veinulaire (CRVE) moyens selon les
 1770 caractéristiques des sujets (*Suite*).
 1771

	CRAE (mean±s.d, µm)	CRVE (mean±s.d, µm)
Score de propension ⁽¹⁾		
<médiane (Référence)	156,6±14,6	187,7±16,1
≥médiane	157,6±14,7	189,4±16,1
Tabac		
<i>N'a jamais fumé (Référence)</i>	156,1±14,1	186,6±15,4
<i>Fumeur (actuel ou ancien)</i>	158,1±15,1	190,5±16,7 [†]
Consommation hebdomadaire d'alcool		
0 g par semaine	158,5±14,5	189,1±16,1
> 0 g par semaine	153,8±14,5 [†]	187,4±16,1
Niveau d'études		
<12 ans (Référence)	159,9±15,3	190,5±17,4
12-16 ans	155,9±14,4*	187,7±15,1
≥17 ans	157,2±14,6	188,7±16,6
Statut parodontal		
<i>Sain/Gingivite (Référence)</i>	156,1±14,6	186,8±16,0
<i>Parodontite modérée</i>	156,8±14,6	188,6±16,0
<i>Parodontite sévère</i>	159,7±14,6	191,8±16,0*

1772 *n=457. Modèles de régressions linéaires généralisées. *: p<0,05. †: p<0,01. s.d: écart type.⁽¹⁾*

1773 *valeur médiane du score de propension=0,66.*

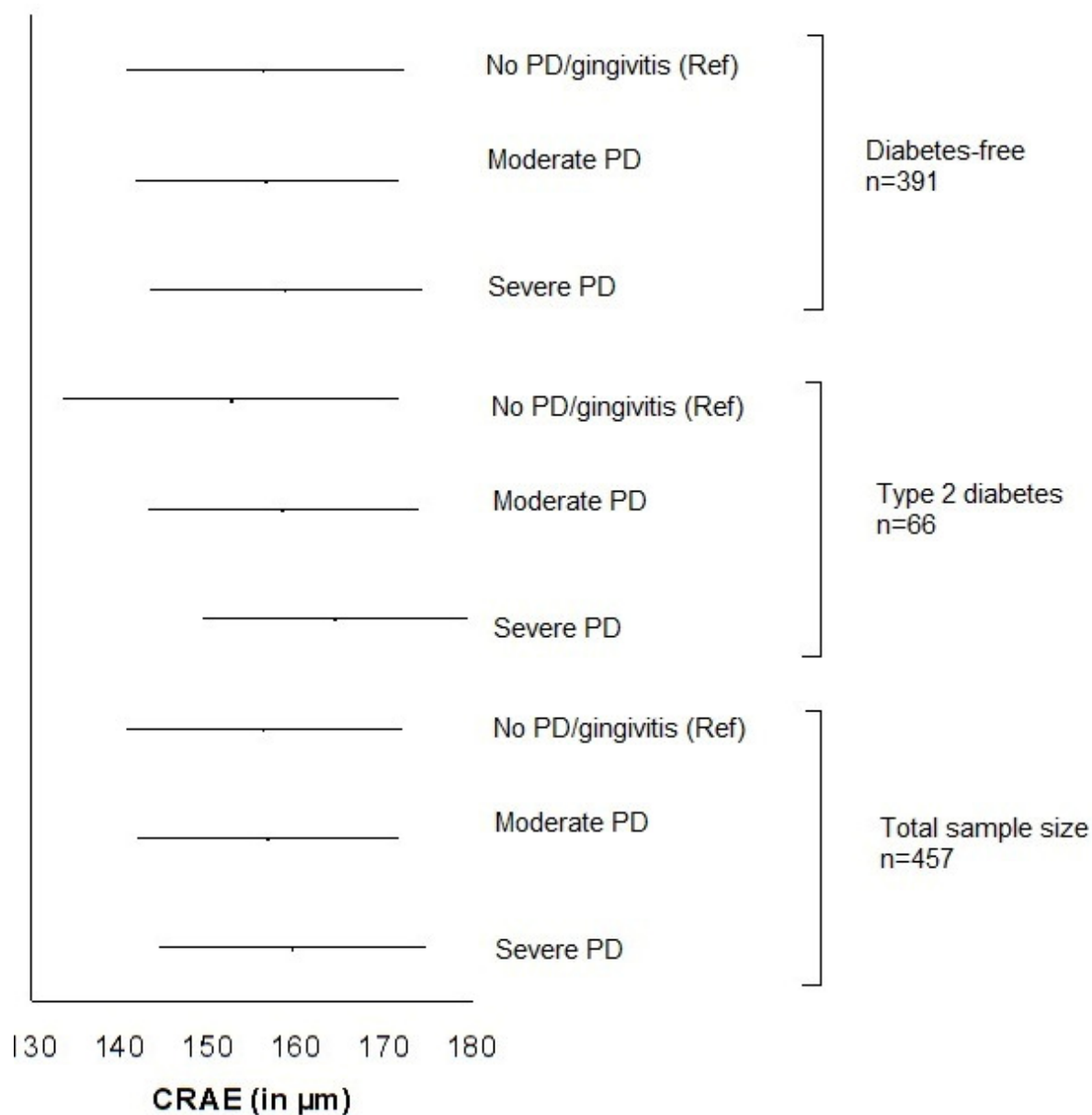
Tableau 8 : Association entre les diamètres des vaisseaux rétiniens et la sévérité des atteintes parodontales (CDC/AAP) en fonction du statut diabétique.

	Non-diabétiques n=391	Diabétiques n=66	Total n=457
Modèle 1			
CRAE			
<i>Parodontite modérée</i>	1,09 (0,87; 1,37)	1,18 (0,65; 2,15)	1,10 (0,89; 1,37)
<i>Parodontite sévère</i>	1,36 (1,01; 1,82)*	1,75 (0,84; 3,64)	1,41 (1,08; 1,85)*
CRVE			
<i>Parodontite modérée</i>	1,10 (0,88; 1,39)	1,39 (0,79; 2,45)	1,14 (0,92; 1,41)
<i>Parodontite sévère</i>	1,26 (0,94; 1,69)	2,75 (1,37; 5,52) [†]	1,42 (1,08; 1,87)*
Modèle 2			
CRAE			
<i>Parodontite modérée</i>	1,04 (0,82; 1,32)	1,33 (0,67; 2,62)	1,06 (0,85; 1,32)
<i>Parodontite sévère</i>	1,24 (0,91; 1,68)	2,04 (0,89; 4,64)	1,30 (0,98; 1,72)*
CRVE			
<i>Parodontite modérée</i>	1,10 (0,87; 1,99)	1,33 (0,70; 2,54)	1,12 (0,90; 1,39)
<i>Parodontite sévère</i>	1,24 (0,92; 1,68)	2,63 (1,21; 5,74)*	1,37 (1,04; 1,81)*
Modèle 3			
CRAE			
<i>Parodontite modérée</i>	1,01 (0,80; 1,28)	1,51 (0,68; 3,32)	1,04 (0,83; 1,29)
<i>Parodontite sévère</i>	1,18 (0,87; 1,60)	2,31 (0,95; 5,67)	1,26 (0,95; 1,66)
CRVE			
<i>Parodontite modérée</i>	1,08 (0,85; 1,37)	1,35 (0,64; 2,86)	1,11 (0,88; 1,37)
<i>Parodontite sévère</i>	1,21 (0,89; 1,64)	2,70 (1,15; 6,32)*	1,33(1,01; 1,76)*

*Modèles de régressions linéaires généralisées. Exponentielle du coefficient de régression avec son intervalle de confiance à 95%, pour une augmentation des diamètres des vaisseaux rétiniens d'un écart-type. *: $p < 0,05$. [†]: $p < 0,01$.*

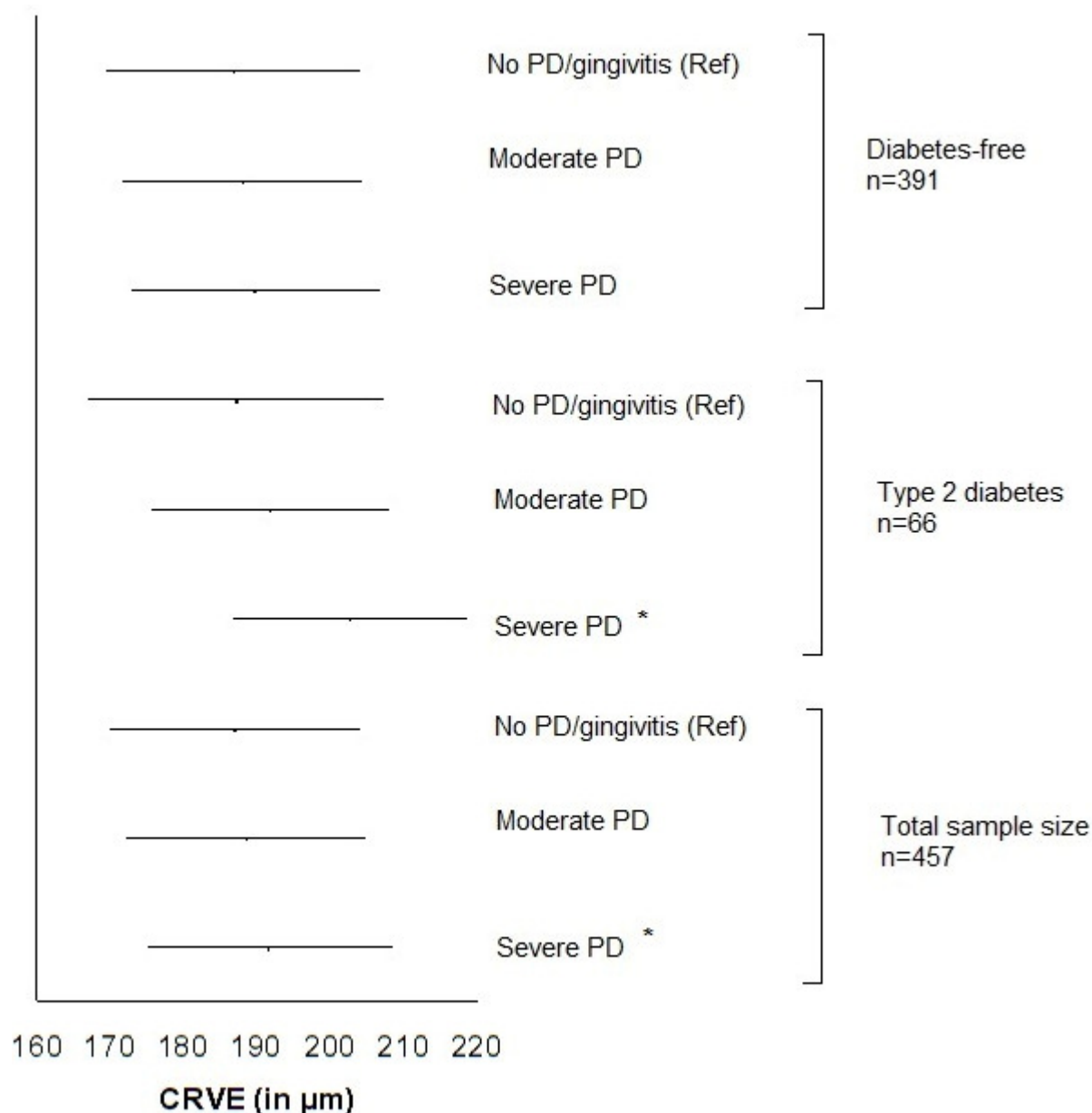
Modèle 1: ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique/le centre d'examen. Modèle 2: Modèle 1 avec un ajustement supplémentaire sur le statut socio-économique (niveaux d'études et de revenu), l'IMC, la consommation de tabac et d'alcool. Modèle 3 : modèle 2 avec un ajustement supplémentaire sur le statut diabétique, les antécédents de rétinopathie diabétique, l'hypertension, le nombre de dents restantes, les triglycérides, et les cholestérols HDL et LDL.

Figure 10: Moyennes ajustées (et erreurs standards) du diamètre des artérioles rétinienne (CRAE) selon le statut parodontal et la présence ou non d'un diabète de type 2.



PD : Parodontite, Modèles de régressions linéaires généralisés. Ajustement sur le score de propension, niveau d'ajustement maximal. * $p < 0,05$. Sujets non diabétiques, $n=391$; sujets sains ou ceux avec une gingivite, $n=151$; parodontite modérée, $n=163$; parodontite sévère, $n=77$; p de tendance=0,32. Sujets diabétiques, $n=66$; sujets sains ou ceux avec une gingivite, $n=20$; parodontite modérée, $n=31$; parodontite sévère, $n=15$; p de tendance= 0,03. Tous les sujets, $n=457$; sujets sains ou ceux avec une gingivite, $n=171$; parodontite modérée, $n=194$; parodontite sévère, $n=92$; p de tendance=0,13.

Figure 11: Moyennes ajustées (et erreurs standards) du diamètre des veinules rétinienes (CRVE) selon le statut parodontal et la présence ou non d'un diabète de type 2.



PD : Parodontite, Modèles de régressions linéaires généralisés. Ajustement sur le score de propension, niveau d'ajustement maximal. * $p < 0,05$. Sujets non diabétiques, $n=391$; sujets sains ou ceux avec une gingivite, $n=151$; parodontite modérée, $n=163$; parodontite sévère, $n=77$; p de tendance=0,22. Sujets diabétiques, $n=66$; sujets sains ou ceux avec une gingivite, $n=20$; parodontite modérée, $n=31$; parodontite sévère, $n=15$; p de tendance<0,01. Tous les sujets, $n=457$; sujets sains ou ceux avec une gingivite, $n=171$; parodontite modérée, $n=194$; parodontite sévère, $n=92$; p de tendance<0,05.

ÉTUDE 2

PATHOGÈNES PARODONTAUX ET PHOSPHOLIPASE A2 AU SEIN DE LA COHORTE *INVEST* (*ORAL INFECTIONS AND VASCULAR DISEASE EPIDEMIOLOGY STUDY*)

Adrien Boillot, Ryan T. Demmer, Ziad Mallat, Ralph L. Sacco, David R. Jacobs, Joelle Benessiano, Alain Tedgui, Tatjana Rundek, Panos N. Papapanou, Moïse Desvarieux, *Periodontal microbiota and phospholipases: The Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST)*. *Atherosclerosis*, 2015. 242 (2): p 418-423.

I/ INTRODUCTION

I.1) Les phospholipases A2

Les phospholipases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des glycérophospholipides en lysophospholipides et en acides arachidoniques. Ces produits peuvent ensuite subir d'autres transformations pour donner des prostaglandines, des leucotriènes, ou des facteurs d'agrégation plaquettaire (PAF). La Lp-PLA2 et la sPLA2 sont des enzymes extra-cellulaires. La première est associée à une lipoprotéine.

La Lp-PLA2 est une enzyme calcium-dépendante sécrétée par les macrophages, les mastocytes, et les lymphocytes T. Cette enzyme est liée au cholestérol LDL. Elle a pour principale fonction de catalyser l'hydrolyse du facteur d'agrégation plaquettaire (PAF). Cette enzyme a également la capacité de catalyser l'hydrolyse des phospholipides oxydés. L'hydrolyse de ces phospholipides libère de la lysophosphatidylcholine et des acides gras libres oxydés qui jouent un rôle majeur dans l'athérosclérose.

Les sPLA2 sont une famille d'enzymes calcium-dépendantes. Chaque enzyme de cette famille présente une structure et une fonction propre, et aucune ne partage d'homologie avec la Lp-PLA2, ce qui leur confère des fonctions différentes. Ces enzymes sont surexprimées dans des conditions inflammatoires. La sPLA2 de type IIa va nous intéresser dans cette étude car c'est la forme la plus abondante dans le sérum et dans les parois vasculaires. Cette enzyme a la capacité d'hydrolyser le cholestérol LDL en petites particules qui, lorsqu'elles s'accumulent dans la paroi endothéliale, peuvent initier la formation d'une plaque d'athérome. Elle jouerait également un rôle dans la formation des cellules spumeuses [114].

I.2) Phospholipases A2 et maladies cardiovasculaires

Des études récentes se sont penchées sur l'association entre les phospholipases A2 et les maladies cardiovasculaires.

Une étude cas-témoins nichée dans la cohorte *EPIC-Norfolk* (991 cas présentant un évènement coronarien au cours des 6 années de suivi, 1806 témoins appariés sur l'âge et le sexe) s'est intéressée à l'association entre sPLA2 et la présence d'un évènement coronarien. Après ajustement sur le statut diabétique, le tabac, l'IMC, la pression artérielle systolique, les taux de cholestérols HDL et LDL, et la concentration plasmatique en protéine C-réactive, il existait une association significative entre une augmentation de l'activité de sPLA2 (d'1 nmol.min⁻¹ par ml de plasma) et la survenue d'un évènement coronarien (OR= 1,10 (IC95% : 1,02 ; 1,18)). De la même manière, une association significative et indépendante a été observée entre une augmentation de la concentration en sPLA2 (1ng.ml⁻¹) et la survenue d'un évènement coronarien (OR= 1,02 (1,01 ; 1,03)). Cette association était similaire à celle observée pour une augmentation d'1mg.l⁻¹ du taux plasmatique de protéine C-réactive. Lorsque l'activité de la sPLA2 était classée par quartile, les auteurs ont constaté, après les mêmes ajustements, que plus l'activité de sPLA2 augmentait, plus le risque de survenue d'un évènement coronarien augmentait également (respectivement, du second au quatrième quartile, ORs =1,41 (1,09 ; 1,82), 1,33 (1,03 ; 1,72) et 1,56 (1,21 ; 2,02)). Un gradient similaire a été observé avec la concentration en sPLA2 [115].

Une étude longitudinale multicentrique a été réalisée chez 446 adultes (76,6% d'hommes et âge moyen de 61,1±13 ans), atteints d'une pathologie coronarienne aiguë (durée médiane de survie de 6,5 mois), afin d'étudier si le risque de survenue d'un évènement secondaire était associé ou non à la concentration et à l'activité de sPLA2. Les adultes âgés de 18 ans et plus ont été inclus, tandis que les individus avec un antécédent récent d'infarctus du myocarde (30 jours et moins) ont été exclus. Au cours de la période de suivi, 35 évènements ont été observés, dont 20 fatals. Après ajustement sur l'âge, l'hypertension, les antécédents d'infarctus du myocarde, d'arrêt cardiaque, ou de chirurgie coronarienne, la concentration sérique en créatinine, et le score de Killip (supérieur à 1 : oui/non), les auteurs ont observé que les individus avec une activité de sPLA2 la plus élevée (tertile supérieur) avaient un risque significativement augmenté de survenue d'un évènement secondaire (HR=3,08 (IC95% : 1,37 ; 6,91)). Aucune association n'avait, en revanche, été observée avec la concentration en sPLA2 [116].

Dans une méta-analyse sur données individuelles réalisée à partir de 32 études longitudinales (durée médiane de survie de 6 ans) et 79036 participants, les auteurs se sont intéressés à l'association entre la concentration (21 études, 57931 participants) et l'activité (19 études,

58224 participants) de la Lp-PLA2 et au risque de survenue d'une atteinte coronarienne, d'un accident vasculaire cérébrale, ou d'un décès suite à un évènement cardiovasculaire. Trois groupes ont été constitués : les participants sans antécédent cardiovasculaire, les participants avec un évènement cardiovasculaire stable (évènement survenu plus de 30 jours avant l'inclusion), et les participants avec un évènement cardiovasculaire aigu (évènement survenu 30 jours et moins avant l'inclusion). 7639 évènements coronariens, 2547 accidents ischémiques, 1389 accidents vasculaires cérébraux, et 1490 décès pour des raisons cardiovasculaires autres, ont été observés. Chez les sujets sans antécédent cardiovasculaire ou avec un évènement cardiovasculaire stable, une augmentation d'un écart-type de l'activité de Lp-PLA2 était associée à un risque significativement augmenté de survenue d'un évènement coronarien (RR= 1,10 (IC95% : 1,05 ; 1,16) après ajustement sur l'IMC, le tabac, la concentration en triglycérides, en cholestérols HDL et LDL, la prise d'hypolipémiants, et la pression artérielle systolique (RR= 1,12 (1,04 ; 1,21) lorsque l'analyse était limitée aux 1697 évènements coronariens fatals). De la même manière, il existait une association significative et indépendante avec la survenue d'un décès suite à un évènement cardiovasculaire (RR= 1,16 (1,09 ; 1,24), après un ajustement sur les mêmes facteurs de risque, chez les participants sans antécédent cardiovasculaire ou avec un évènement stable). Après ajustement sur les mêmes facteurs de risque et chez les adultes sans antécédent cardiovasculaire ou avec un évènement stable, une augmentation de la concentration en Lp-PLA2 d'un écart-type était associée à un risque augmenté de survenue d'une maladie coronarienne (RR= 1,11 (1,07 ; 1,16)), d'un accident vasculaire cérébral (RR= 1,14 (1,02 ; 1,27)) et d'un décès suite à un évènement cardiovasculaire (RR= 1,13 (1,05 ; 1,22)). Aucune association significative n'a en revanche été observée chez les adultes avec des évènements aigus [117].

I.3) Parodontite, inflammation et athérosclérose

Nous avons montré dans la première étude qu'il existait une association entre la parodontite et les atteintes de la microcirculation rétinienne [99]. Des études ont par ailleurs déjà montré qu'il existait une association entre les pathogènes rencontrés dans la parodontite et l'athérosclérose.

Dans une étude transversale décrite précédemment, réalisée chez 4585 participants âgés de 54 à 73 ans, Beck et al. ont observé une association entre les immunoglobulines G dirigées

contre *Treponema denticola* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* et une épaisseur intima-média de 1mm et plus au niveau des artères carotides, après ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le statut diabétique, l'hypertension, le rapport taille-hanche, les concentrations en triglycérides et en cholestérols HDL et LDL, le niveau d'études, et le tabac. L'association avec les immunoglobulines dirigées contre *Porphyromonas gingivalis* n'était observée que chez les anciens fumeurs et les fumeurs [60].

Plus récemment, dans une étude longitudinale conduite chez 420 adultes âgés de 55 ans et plus et issus de la cohorte *INVEST*, Desvarieux et al. se sont intéressés à la progression de l'épaisseur intima-média au niveau des artères carotides en fonction de la flore pathogène parodontale (durée de suivi de 3 ans). Au cours de la période de suivi, l'augmentation annuelle de l'épaisseur intima-média au niveau des artères carotides était de $0,044 \pm 0,054$ mm par an. Après plusieurs ajustements, les participants dans le quartile avec la plus forte augmentation de la charge bactérienne pathogène (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* et *Treponema denticola*) présentaient une augmentation de l'épaisseur intima-média au niveau des artères carotides significativement plus élevée que les sujets issus du quartile avec la plus faible augmentation ($0,182 \pm 0,021$ mm contre $0,095 \pm 0,021$ mm. $p=0,01$). Par ailleurs, après les mêmes ajustements, lorsque les auteurs s'intéressaient à l'évolution du poids relatif de la charge bactérienne pathologique sur la charge bactérienne totale (classée par quartile), plus cette valeur augmentait, plus l'épaisseur intima-média augmentait ($p<0,01$) [61].

Nous avons vu précédemment dans la première partie qu'une des hypothèses émises afin d'expliquer l'association entre la parodontite (les pathogènes parodontaux) d'une part, et les maladies cardiovasculaires d'autre part, faisait intervenir l'inflammation. Il existe une augmentation de la concentration en marqueurs inflammatoires chez les sujets atteints d'une parodontite. Certains de ceux-ci, dont la protéine C-réactive, sont fréquemment associés aux maladies cardiovasculaires. Nous avons décrit cette étude transversale montrant que les taux sériques de protéine C-réactive chez les sujets atteints d'une parodontite ou d'une maladie cardiovasculaire (infarctus du myocarde, angine de poitrine, accident vasculaire cérébral) étaient deux fois plus élevés que chez les sujets sains, mais trois fois inférieurs à ceux observés chez les sujets atteints d'une parodontite et d'une maladie cardiovasculaire, après ajustement sur le tabac ($p<0,03$ pour la comparaison des sujets atteints d'une parodontite et d'une maladie cardiovasculaire avec chacun des trois autres groupes) [72].

II/ OBJECTIF

Les données de la littérature montrant une association entre les phospholipases A2 et les maladies cardiovasculaires d'une part, et entre les pathogènes parodontaux et l'athérosclérose d'autre part, nous avons supposé qu'il pourrait exister une association entre la charge en pathogènes parodontaux d'une part, et la concentration en sPLA2 et les activités de sPLA2 et Lp-PLA2 d'autre part.

L'objectif de cette étude transversale était donc d'étudier s'il existe une association entre la charge des bactéries associées aux maladies parodontales et la concentration en sPLA2 et les activités de sPLA2 et Lp-PLA2 .

III/ MATÉRIEL ET MÉTHODES

III.1) Description de la cohorte et des sujets inclus dans l'étude

INVEST est une cohorte longitudinale (plus de 10 années de suivi), dont l'objectif est d'étudier le rôle des infections bucco-dentaires sur la progression de l'athérosclérose et des maladies cardiovasculaires. La cohorte *INVEST* est financée par les *National Institutes of Health (NIH)*. Un échantillonnage aléatoire de 1056 adultes vivant dans le nord de Manhattan a été effectué, dans une zone comprise entre la 145^{ème} et la 218^{ème}, bordée à l'Ouest par la rivière Hudson, et séparée à l'Est du Bronx par la rivière Harlem. Cette zone a été spécifiquement choisie car elle est multiethnique et il n'existe pas d'inégalité d'accès aux soins. Les participants sélectionnés faisaient également partis de la cohorte *NOMAS (Northern Manhattan Study)*. Les critères d'inclusion étaient tous les adultes âgés de 55 ans et plus à l'inclusion, résidant depuis plus de 3 mois dans le nord de Manhattan (codes postaux : 10031, 10032, 10033, 10034 et 10040), et disposant d'un téléphone fixe, le premier contact se faisant par une sélection aléatoire dans les annuaires téléphoniques. Les sujets ne pouvant pas se déplacer pour les examens cliniques, ainsi que les sujets avec des antécédents d'accidents vasculaires cérébraux, d'infarctus du myocarde, et de pathologies inflammatoires comme le lupus érythémateux, la maladie de Lyme, et l'arthrite gonococcique ont été exclus. Parmi ces

1056 participants, 841 étaient dentés, 60% étaient hispano-américains, et 60% étaient des femmes.[118].

III.2) Examen bucco-dentaire

L'examen bucco-dentaire a été réalisé par des examinateurs entraînés dont la reproductibilité a été testée. Le nombre de dents présentes et leurs localisations ont été notés. Pour toutes les dents présentes, un sondage a été réalisé au niveau des six sites, et la présence d'un saignement au sondage, la profondeur de poche, et la perte d'attache clinique ont été relevées. Les participants ont par ailleurs été interrogés sur la fréquence des brossages et l'utilisation de brossettes interdentaires ou d'un fil dentaire (nombre de fois par semaine) [118].

III.3) Examen microbiologique

Sur chaque quadrant, au niveau des deux dents les plus postérieures, des échantillons de plaque dentaire ont été prélevés au niveau des sites mésio-palatins pour les dents maxillaires, et mésio-lingaux pour les dents mandibulaires. Ces dents et ces sites de prélèvement ont été choisis à priori afin d'éviter de collecter les échantillons de plaque dentaire au niveau des sites les plus atteints. Une curette de Gracey a été insérée jusqu'au fond du sulcus ou de la poche parodontale, puis relevée afin de collecter la plaque dentaire sous-gingivale. 5369 échantillons de plaque dentaire ont ainsi été collectés pour l'ensemble des sujets dentés [119].

Les échantillons de plaque ont ensuite été transférés au laboratoire d'analyse à l'aide de tubes stériles de type Eppendorf remplis d'une solution tampon stérile (200µl de solution Tris-EDTA à un pH=7,6). Ensuite la solution et la plaque dentaire ont de nouveau été mises en suspension au moyen d'un vortex, à laquelle il a été ajouté une autre solution tampon d'hydroxyde de sodium (200µl concentrée à 0,5mmol.l⁻¹). L'ensemble a été conservé à 4°C. Les échantillons ont finalement été immobilisés sur des membranes de nylon.

Ensuite, (1) les bactéries liées à la parodontite ou fréquemment rencontrées dans des sites avec des atteintes parodontales (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* et *Treponema denticola*) [120] [46], (2) les bactéries supposées être associées à la parodontite (*Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*) [120], et (3) les bactéries

associées à la santé parodontale (*Veillonella parvula*, *Actinomyces naeslundii*) [46], ont été identifiées à l'aide de sondes marquées à la digoxigénine.

L'identification et la quantification des bactéries ont été réalisées à l'aide d'une hybridation ADN-ADN. L'avantage de cette technique est qu'elle permet d'analyser des bactéries sans mise en culture préalable. De meilleures propriétés diagnostiques ont été observées avec cette technique comparée à la culture bactérienne, particulièrement pour les bactéries présentes en grande quantité. Les échantillons de plaque ont été immobilisés par un rayonnement UV avant d'être chauffés à 120°C. L'hybridation avec les sondes d'ADN a été réalisée durant toute la nuit à 42°C. Après des rinçages successifs afin d'éliminer les brins non hybridés, le marquage des doubles brins hybridés a été fait en utilisant un anticorps anti-digoxigénine associé à une phosphatase alcaline. Le tout a été incubé en présence d'un substrat chimioluminescent. Le signal a été détecté et quantifié à l'aide d'une machine prévue à cet effet et couplée à une caméra (Lumilmager, Roche/Boehringer), et d'un logiciel d'analyse du signal (LuminAnalyst). Le seuil de détection avec une telle technique était de 10^3 à 10^4 bactéries.

III.4) Dosages enzymatiques

Les échantillons de sang ont été collectés dans des tubes remplis d'héparine et centrifugés à 3000 tours par minute à 4°C pendant 10 minutes. Le surnageant de plasma a été ensuite aliquoté et congelé à -70°C.

Lp-PLA2 est une enzyme intervenant dans l'hydrolyse du facteur d'agrégation plaquettaire (PAF). Après dilution d'1 µl de plasma dans 90 µl de solution tampon HEPES-EDTA à un pH de 7,4, l'activité de Lp-PLA2 a été mesurée en incubant la solution obtenue en présence d'une solution contenant du PAF. Après 10 minutes d'incubation à 37°C, la réaction enzymatique a été arrêtée en utilisant de l'acide trichloroacétique. La concentration en PAF restante a été mesurée. L'activité a été exprimée en nmol.min⁻¹ par ml de plasma. La variabilité inter-examineur était inférieure à 10% [121].

Une technique double-anticorps a été utilisée pour mesurer la concentration et l'activité de sPLA2. Des anticorps dirigés contre sPLA2 ont dans un premier temps été utilisés afin de détecter cette enzyme. Couplés à ces anticorps, des anticorps anti-anticorps dirigés contre

sPLA2 ont été ajoutés, auxquels étaient liés des marqueurs fluorescents. Avec cette méthode, le seuil de détection de sPLA2 était de 16,6 pg.ml⁻¹. Les coefficients de variation inter- et intra-examineurs étaient de moins de 10%. L'activité de sPLA2, mesurée en nmol.min⁻¹ par ml de plasma, a été mesurée à l'aide d'un substrat fluorescent. La disparition du signal fluorescent a permis de déterminer l'activité de sPLA2. Le seuil minimal de détection était de 0,10 nmol.min⁻¹ par ml de plasma, et les coefficients de variation inter- et intra-examineurs étaient de moins de 10% [116].

III.5) Facteurs de confusion

Les informations sur les caractéristiques sociodémographiques, les antécédents médicaux, et les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires ont été collectées par des questionnaires en anglais et en espagnol, et adaptés des questionnaires des *Centers for Disease Control*. L'origine ethnique a été auto-rapportée. Les participants ont été classés comme non-fumeurs, anciens fumeurs, et fumeurs. Les pressions artérielles systolique et diastolique ont été mesurées à deux reprises par des médecins expérimentés et entraînés, et la moyenne des deux mesures a été prise en considération. La glycémie à jeun et les concentrations en cholestérols HDL et LDL ont été mesurées à partir de prélèvements sanguins réalisés à l'inclusion. Le diabète a été défini par un diagnostic de diabète chez un médecin, et/ou la prise d'insuline ou de médicaments hypoglycémisants, et/ou une glycémie supérieure ou égale à 126mg.dl⁻¹ (ou 7,7mmol.l⁻¹).

III.6) Analyse statistique

Le score de charge étiologique (*EB* ou *Etiologic Burden*) correspond, pour chaque individu, à la charge en *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* et en *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. De la même manière, un score de charge des pathogènes potentiellement associés à la parodontite (*PB* ou *Putative Burden*) a été calculé pour chaque individu en fonction de la charge en *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Campylobacter rectus*, et en *Eikenella corrodens*. Enfin, un score de charge des pathogènes associés à la santé parodontale (*HAB* ou *Health-Associated burden*), constitué de la somme des charges obtenues pour *Veillonella parvula* et *Actinomyces naeslundii*, a également été généré. Le score de dominance étiologique (*ED* pour *Etiologic*

Dominance) se calcule comme le rapport du score de charge étiologique (*EB*) sur la somme des scores obtenus pour les 11 bactéries (*EB+PB+HAB*). Le score de dominance étiologique représente le poids relatif des quatre bactéries étiologiques sur l'ensemble des bactéries dosées [119].

Le statut parodontal clinique a été déterminé en fonction de la perte d'attache et de la profondeur de poche moyennes.

Des modèles de régressions linéaires univariées ont dans un premier temps été utilisés. Toutes les variables avec une valeur de *p* inférieure ou égale à 0.20 ont été incluses dans les modèles de régressions multivariées afin d'étudier l'association entre la concentration en sPLA2 et les activités enzymatiques de sPLA2 et Lp-PLA2, et les tertiles des scores de charge bactérienne (*EB*, *PB*, *HAB*) et de dominance étiologique (*ED*). L'ajustement a ainsi été réalisé sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique (caucasiens, afro-américains, et hispano-américains), le niveau d'études (inférieur au baccalauréat, équivalent du baccalauréat français ou plus), le tabac, le statut diabétique, l'IMC, les taux des cholestérols HDL et LDL, et la pression artérielle systolique. Les modèles de régression s'intéressant à l'activité de sPLA2 ont par ailleurs été ajustés sur la concentration en sPLA2, afin de vérifier si d'éventuels changements dans l'activité de cette enzyme pouvaient se faire indépendamment ou non des changements dans la concentration de cette enzyme.

Enfin, nous sommes partis de l'hypothèse que les bactéries étaient les facteurs étiologiques, et que si une association existait entre la sévérité des atteintes cliniques parodontales et des modifications dans l'activité de ces deux enzymes, cette association serait le fait des pathogènes parodontaux. Afin de tester cette hypothèse, les mêmes modèles de régression ont été utilisés avec les variables cliniques parodontales, avec et sans ajustement sur les scores de charge bactérienne.

Le seuil de significativité a été fixé à 5%. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel R (version 2.14.0, The R development Core Team. 2013).

IV/ RÉSULTATS

IV.1) Caractéristiques des sujets

Presque 60% des participants inclus étaient des femmes, et 57% étaient des hispano-américains (23% sont des afro-américains et 18% des caucasiens). La concentration et l'activité de sPLA2 étaient plus élevées chez les femmes ($p<0,001$), tandis que l'activité de Lp-PLA2 était plus élevée chez les hommes ($p<0,001$). Aucune différence significative n'existait entre les hommes et les femmes, pour les scores de charge bactérienne, à l'exception de la charge des pathogènes parodontaux associés à la santé parodontale (*HAB*) qui était plus élevée chez les femmes ($p=0,03$). Après ajustement sur l'âge et le sexe, une élévation de *EB* et *PB* était associée à une détérioration des paramètres cliniques parodontaux, tandis qu'une élévation de *HAB* était associée à un meilleur statut parodontal. Plus la charge relative des pathogènes parodontaux (*ED*) augmentait, plus la profondeur de poche moyenne, la perte d'attache moyenne, et les proportions de sites avec un saignement au sondage, avec des poches parodontales de 3mm et plus, ou des pertes d'attache de 5mm et plus, augmentaient ($p<0,001$ pour chacun des paramètres cliniques) (Tableau 11).

IV.2) Pathogènes parodontaux et concentration en sPLA2

Aucune association n'a été observée entre les scores de charge bactérienne (*EB*, *PB*, et *HAB*) et la concentration en sPLA2. De la même manière, *ED* n'était pas associé à la concentration en sPLA2, aussi bien dans le modèle univarié ($p=0,73$), que dans le modèle multivarié ($p=0,91$) (Tableau 9).

IV.3) Pathogènes parodontaux et activités de sPLA2 et Lp-PLA2

Après ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le niveau d'études, le statut diabétique, le tabac, l'IMC, la pression artérielle systolique, les concentrations en cholestérols HDL et LDL, nous n'avons pas observé d'association significative entre les activités de sPLA2 et Lp-PLA2 d'une part, et *EB*, *PB* et *HAB* d'autre part (Figure 23 et Tableau 10).

Par ailleurs, la charge relative des pathogènes parodontaux (*ED*) n'était pas associée à l'activité de Lp-PLA2, aussi bien dans le modèle univarié, qu'après ajustement sur les mêmes facteurs de confusion (Tableau 9 et Figure 24A).

En revanche, l'activité de sPLA2 était significativement associée à la charge relative des pathogènes parodontaux (*ED*). L'activité de cette enzyme augmentait avec la valeur de *ED* (du tertile inférieur au tertile supérieur : $0,66 \pm 0,04$; $0,73 \pm 0,04$; $0,88 \pm 0,04$. $p < 0,001$ et p de tendance $< 0,001$). Après ajustement sur les facteurs de confusion, l'association restait significative ($p < 0,001$) (Tableau 9 et Figure 24B). Après un ajustement supplémentaire sur le tabac (en paquets/année), et la prise d'antihypertenseur(s) et d'hypolipémiant(s), l'association restait significative ($0,66 \pm 0,04$; $0,71 \pm 0,04$; $0,89 \pm 0,04$. $p < 0,001$).

IV.4) Paramètres cliniques et activités de sPLA2 et Lp-PLA2

Les modèles univariés ont montré une association significative entre la perte d'attache et la profondeur de poche moyennes, et la proportion de sites avec des poches parodontales de 3mm et plus de profondeur d'une part, et l'activité de sPLA2 d'autre part ($p < 0,005$). Plus les conditions parodontales se détérioraient, plus l'activité de sPLA2 augmentait. Aucune association n'a été en revanche observée avec l'activité de Lp-PLA2, à l'exception de la proportion de sites avec une profondeur de poche de 3mm et plus ($p < 0,05$).

Après ajustement sur l'âge, le sexe, le niveau d'études, le statut diabétique, le tabac, l'IMC, la pression artérielle systolique, et les concentrations en cholestérols HDL et LDL, nous avons retrouvé les mêmes associations que celles observées dans les modèles univariés (Tableaux 12-14, Modèles A).

En revanche, ces associations disparaissaient lorsque nous avons ajouté aux modèles multivariés le score de charge étiologique (EB) (Tableaux 12-14, Modèles B).

V/ DISCUSSION

Nous avons observé dans cette étude transversale une association significative et indépendante entre l'activité de sPLA2 d'une part, et la charge relative des pathogènes

parodontaux impliqués dans la parodontite (*ED*) d'autre part. Il existait également une association significative entre l'activité de sPLA2 et la sévérité et l'étendue des atteintes parodontales. Aucune association n'a en revanche été observée pour la concentration de sPLA2 et l'activité de Lp-PLA2.

V.1) Parodontite, phospholipases A2 et maladies cardiovasculaires

Nous avons vu, dans la revue de la littérature que nous avons faite en première partie, que plusieurs études, la plupart transversales, avaient montré une association entre la parodontite et les maladies cardiovasculaires. Les études traitant de l'association entre la parodontite et les marqueurs inflammatoires associés aux maladies cardiovasculaires comme la protéine C-réactive, ou ici les phospholipases A2, servent à comprendre les mécanismes unissant ces pathologies.

Dans une étude transversale réalisée chez 1059 participants âgés en moyenne de 69 ± 9 ans et issus de la cohorte *INVEST*, Desvarieux et al. se sont intéressés aux rapports entre l'épaisseur intima-média au niveau des artères carotides et la charge en pathogènes parodontaux. Les auteurs avaient observé, après un ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le niveau d'études, l'IMC, le tabac, le statut diabétique, la pression artérielle systolique, les concentrations en protéine C-réactive et en cholestérols HDL et LDL une augmentation significative de l'épaisseur intima-média au niveau des artères carotides avec l'augmentation de la charge relative en pathogènes impliqués dans la parodontite (*ED*) ($p=0,002$) [119]. Nous avons vu également, à partir de données issues de la même cohorte, que plus la charge en pathogènes parodontaux impliqués dans la parodontite (*EB*) augmentait, plus l'épaisseur intima-média au niveau des artères carotides augmentait [61]. Une autre étude a été réalisée chez 492 finlandais, âgés en moyenne de 63 ± 9 ans (65% d'hommes), afin d'étudier l'association entre la présence d'une maladie coronarienne et (1) la concentration salivaire de 4 pathogènes (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* et *Tannerella forsythia*) (2) la concentration sérique en immunoglobulines (IgG et IgA) dirigées contre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Les cas de parodontite étaient identifiés à partir de clichés panoramiques, en évaluant la perte osseuse (au minimum 1/3 de la longueur radiculaire, 351 sujets atteints d'une parodontite). 179 participants avaient une pathologie coronarienne stable, 166 une pathologie coronarienne

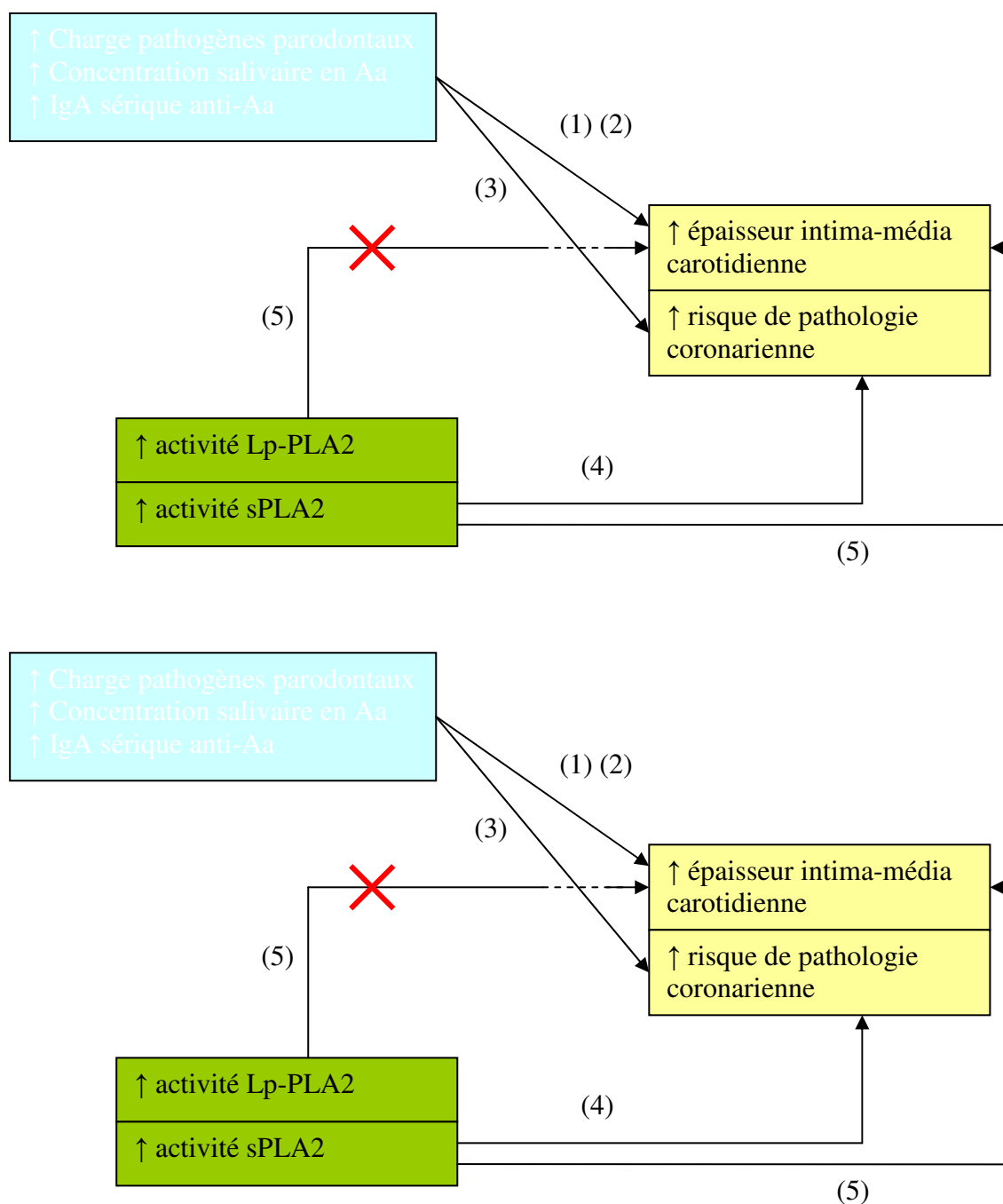
aigüe. Après ajustement sur l'âge, le sexe, l'IMC, l'hypertension, le statut diabétique, et le tabac, les auteurs ont observé une association significative entre la concentration salivaire en *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* et la présence d'une pathologie coronarienne stable ($p=0,01$), ou aigüe ($p=0,04$). Aucune association significative n'était en revanche observée pour les trois autres pathogènes. Par ailleurs, la concentration sérique en IgA dirigées contre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* était également associée, après ajustement, à la présence d'une pathologie coronarienne stable ($p<0,01$) (Figure 22) [122].

Contrairement à la concentration en sPLA2, des études épidémiologiques ont montré que l'activité de sPLA2 était associée aux maladies coronariennes et à l'athérosclérose [114].

Dans une étude cas-témoins nichée dans la cohorte *EPIC-Norfolk*, Mallat et al. se sont intéressés à l'association entre la concentration et l'activité de sPLA2 et la survenue d'un événement cardiovasculaire. Les sujets âgés de 45 à 79 ans à l'inclusion, ont été suivis sur une durée moyenne de 6 ans. Les cas étaient les participants qui avaient eu un événement cardiovasculaire, fatal ou non, au cours de la période de suivi. Après ajustement sur l'âge, le sexe, le statut diabétique, le tabac, l'IMC, la pression artérielle systolique, les concentrations en cholestérols HDL et LDL, la concentration plasmatique en protéine C-réactive, et la concentration sérique en sPLA2, les participants ayant la plus forte activité de sPLA2 (quartile supérieur, quartile inférieur pris comme référence) avaient un risque significativement plus élevé de survenue d'une pathologie coronarienne au cours du suivi ($OR= 1,56$ ($IC_{95\%} : 1,21 ; 2,02$)). Ce risque était d'autant plus augmenté si les participants avaient également des taux élevés de protéine C-réactive (quartiles supérieurs pour la concentration en protéine C-réactive et l'activité de sPLA2, en comparaison avec les participants appartenant aux quartiles inférieurs pour les deux variables : $OR= 2,89$ ($IC_{95\%} : 1,74 ; 4,68$)). Après ajustement sur les mêmes facteurs de confusion, les auteurs observaient qu'une augmentation de l'activité de sPLA2 (1 mmol.min^{-1} par ml de plasma) était associée à un risque accru de survenue d'une pathologie coronarienne ($OR= 1,10$ ($IC_{95\%} : 1,02 ; 1,18$)).

De la même manière, une association significative était observée avec la concentration en sPLA2 (pour une augmentation de la concentration en sPLA2 de 1 ng.ml^{-1} : $OR= 1,02$ ($IC_{95\%} : 1,01 ; 1,03$)) [115].

Figure 22: Parodontite, phospholipasesA2 et maladies cardiovasculaires



(1). Desvarieux et al. 2013 [61] ; (2) Desvarieux et al. 2005 [119] ; (3) Hyvarinen et al. 2012 [122] ; (4) Mallat et al. 2007 [115] ; (5) Lind et al. 2012 [121].

Dans une autre étude transversale, réalisée sur un échantillon de 1016 adultes âgés de 70 ans et issus de la cohorte *Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS)*, les auteurs s'étaient intéressés à l'association entre les activités de sPLA2 et Lp-PLA2 et la présence de plaque(s) d'athérome(s) carotidienne(s) évaluée par échographie, ainsi

que l'existence d'une sténose artérielle évaluée par angiographie au niveau des artères carotides, aortiques, rénales, iliaques, fémorales, tibiales et poplitées. Aucune association significative n'avait été observée entre l'activité de Lp-PLA2 et la présence de plaque(s) d'athérome(s) au niveau des artères carotides ($p=0,26$ pour une augmentation d'1 écart-type de l'activité de Lp-PLA2), ou d'une sténose de plus de 50% en moyenne sur les artères examinées au cours de l'angiographie ($p=0,72$). En revanche, une association était observée entre l'activité de sPLA2 et la présence de plaque(s) d'athérome(s) carotidienne(s) (pour une augmentation d'1 écart-type de l'activité de sPLA2 : OR= 1,16 (IC95% : 1,02 ; 1,31), $p=0,02$), ou d'une sténose moyenne de plus de 50% ($p<0,01$). Après ajustement sur le sexe, le niveau d'études, le rapport taille-hanche-hanche, l'IMC, la glycémie à jeun, la pression artérielle systolique, les consommations de tabac et d'alcool, le taux de filtration glomérulaire, la prise de statines et d'antihypertenseurs, et les concentrations en protéine C-réactive, triglycérides et cholestérols HDL et LDL, l'association restait significative pour sPLA2 ($p<0,01$ pour la présence de plaque(s) d'athéromes(s) et d'une sténose de plus de 50%) (Figure 22) [121].

V.2) Hypothèses physiopathologiques

Nous avons vu dans la première partie que la présence d'une parodontite était associée à une élévation de certains marqueurs inflammatoires, et que le traitement parodontal avait pour effet de réduire la concentration de ces marqueurs [70] [90] [71]. Une étude biologique réalisée à partir d'échantillons de sérum humain avait montré que les cholestérols HDL et LDL oxydés potentialisaient l'activité de l'enzyme sPLA2 [123]. Une étude chez la souris avait également montré que l'inoculation d'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* était associée à une augmentation de la concentration en cholestérol LDL oxydé et à la formation de plaque(s) d'athérome(s) [124]. Dans une étude réalisée en population hospitalière, chez 124 patients atteints d'une pathologie coronarienne et 43 patients sans atteinte coronarienne, les auteurs ont montré que les pertes d'attaches moyennes, les profondeurs de poche moyennes, et le nombre de dents absentes, étaient statistiquement plus élevés chez les sujets atteints d'une pathologie coronarienne que chez les témoins ($p<0,05$). D'autre part, chez les patients atteints d'une pathologie coronarienne, la concentration en cholestérol LDL oxydé était plus élevée chez les sujets atteints d'une parodontite ($618,8\pm187,9 \mu\text{g.l}^{-1}$) que chez les sujets sans parodontite ($337,8\pm76,0 \mu\text{g.l}^{-1}$) ($p<0,05$) [125]. Tamaki et al. s'étaient également intéressés aux effets du traitement parodontal sur la concentration en cholestérol LDL oxydé chez 22

adultes atteints d'une parodontite, non-fumeurs, et sans pathologie systémique, et qui étaient comparés à 22 témoins appariés sur l'âge et le sexe. A l'inclusion les sujets atteints d'une parodontite avaient une concentration en cholestérol LDL oxydé bien supérieure à celle observée chez les témoins ($p<0,0001$). Deux mois après la fin du traitement chez les participants atteints d'une parodontite, la concentration en cholestérol LDL oxydé avait diminué significativement par rapport aux valeurs à l'inclusion ($p<0,0001$), pour atteindre des valeurs proches de celles observées chez les témoins à l'inclusion [126]. Dans les analyses multivariées, nous avons ajusté sur les concentrations en cholestérols HDL et LDL, mais nous supposons que d'autres activateurs de sPLA2 existent, dont les concentrations pourraient également augmenter en présence d'une parodontite.

Nous n'avons trouvé aucune association significative entre les scores de charge bactérienne et l'activité de la Lp-PLA2. Une étude cas-témoins nichée dans la cohorte *Northern Manhattan Study (NOMAS)* s'était intéressée à l'activité de Lp-PLA2 et à la concentration en protéine C-réactive avant et après un événement cardiovasculaire. Cinquante-deux participants âgés de 40 ans et plus et issus de la cohorte, sans pathologie cardiovasculaire, ont été comparés à 37 adultes ayant développé au cours du suivi un accident vasculaire cérébral ($n=17$) ou un infarctus du myocarde ($n=20$). Chez les 52 adultes sans événement, après ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, l'hypertension, le statut diabétique, le tabac, le nombre de leucocytes, et la concentration en cholestérol LDL, il n'existait pas de changement significatif de la concentration en protéine C-réactive et de l'activité de la Lp-PLA2 au cours de la période de suivi. Chez les 37 participants déclarant un événement au cours du suivi, les auteurs ont observé une hausse de la protéine C-réactive après un accident vasculaire cérébral ($p=0,007$) et après un infarctus du myocarde ($p<0,0001$). En revanche, aussi bien après un accident vasculaire cérébral qu'un infarctus du myocarde, les auteurs ont constaté une diminution de l'activité de Lp-PLA2 (respectivement $p=0,03$ et $p<0,0001$). La Lp-PLA2 est liée au cholestérol LDL quand elle circule, et cette liaison peut être altérée en présence de fibrinogène. Les auteurs ont émis l'hypothèse que l'augmentation de la concentration en fibrinogène associée à la survenue d'un événement cardiovasculaire pouvait être liée à cette diminution de l'activité enzymatique de Lp-PLA2 [127]. Dans une étude longitudinale sur 18 années de suivi, réalisée chez 10849 adultes âgés de 30 ans et plus et issus de l'étude *NHANES III*, les auteurs se sont intéressés au risque de survenue d'un décès associé à une pathologie cardiovasculaire (et toutes causes confondues), en fonction du statut parodontal. Parmi les participants inclus dans l'étude, 3105 étaient atteints d'une parodontite modérée, et

561 d'une parodontite sévère, selon la classification *CDC/AAP* [7]. Après ajustement sur l'âge, l'origine ethnique, le niveau d'études, les revenus, les consommations d'alcool et de tabac, l'hypertension, le rapport cholestérol total/cholestérol HDL, l'IMC, le statut diabétique et les antécédents cardiovasculaires, les auteurs ont observé une concentration de fibrinogène plasmatique plus élevée chez les sujets atteints d'une parodontite sévère par rapport aux sujets sains, aussi bien chez les hommes ($p=0,02$) que chez les femmes ($p=0,001$) [128]. L'absence d'association entre les scores de charge bactérienne d'une part, et l'activité de la Lp-PLA2 d'autre part, pourrait donc s'expliquer par une libération accrue de fibrinogène avec l'augmentation de la charge en pathogènes parodontaux, ce qui aurait pour effet d'altérer la liaison de la Lp-PLA2 avec le cholestérol LDL, diminuant ainsi l'activité enzymatique.

V.3) Pathogènes parodontaux, signes cliniques et activité de sPLA2

Nous avons observé que plus la valeur d'ED augmentait, plus l'activité de sPLA2 augmentait également, et que cela se retrouvait également avec la détérioration clinique des tissus parodontaux (perte d'attache moyenne et pourcentage de sites avec des poches parodontales de 3mm et plus). Toutefois, l'association entre l'activité de sPLA2 et les signes cliniques parodontaux disparaissait après ajustement sur les scores de charge bactérienne (*ED*, *PB* et *HAB*). Cela laisse supposer que les pathogènes parodontaux sont en quelque sorte un dénominateur commun responsable à la fois de la détérioration des tissus parodontaux, mais aussi de l'élévation de l'activité de sPLA2.

V.4) Forces et faiblesses de l'étude

Cette étude est une étude transversale et donc sa principale limite est qu'elle ne permet de conclure qu'à une association, sans mettre en évidence de lien de causalité. Une approche longitudinale est donc nécessaire afin de préciser le lien entre les pathogènes parodontaux impliqués dans la parodontite et l'activité de sPLA2. Par ailleurs, bien que nous ayons observé une augmentation de la concentration de sPLA2 entre les deux premiers tertiles du score de dominance étiologique (*ED*), aucune association significative n'a été observée entre les scores de charge bactérienne et la concentration de cette enzyme. Précédemment, Desvarieux et al. ont observé, à partir de données issues de la cohorte *INVEST*, qu'il n'y avait pas d'association significative entre la concentration en protéine C-réactive et *EB* [119]. Slade

et al. ont observé que l'IMC pouvait modifier l'association entre la parodontite et la concentration en protéine C-réactive, l'association diminuant lorsque l'IMC augmentait pour devenir non-significative au-delà de 35 kg.m^{-2} [129]. L'IMC moyen des participants inclus dans la cohorte *INVEST* est de 28 kg.m^{-2} . Si l'IMC influence l'association entre le statut parodontal et la concentration en sPLA2 de la même manière que pour la protéine C-réactive, cela pourrait expliquer qu'aucune association significative n'ait été observée entre les bactéries parodontales et la concentration en sPLA2.

Toutefois, comme mentionné plus haut, les participants inclus dans cette étude venaient de cinq quartiers différents du nord de Manhattan, dans lesquels les caucasiens, les afro-américains et les hispano-américains ont un accès similaire aux soins. Nous n'avons cependant aucune information sur le niveau d'études pour évaluer le niveau socioéconomique des participants et permettre un ajustement dans les modèles multivariés. De plus, afin d'éviter de surévaluer l'effet de la flore pathogène parodontale sur la concentration et l'activité des phospholipases A2, les échantillons de plaque n'ont pas été prélevés au niveau des sites les plus sévèrement atteints cliniquement, mais de manière systématique au niveau de sites spécifiques au maxillaire et à la mandibule, et toujours au niveau des deux dents les plus postérieures de chaque quadrant. Les scores de charge bactérienne étaient par ailleurs calculés pour chaque participant en prenant en considération l'ensemble des sites sur lesquels les prélèvements avaient été effectués. Enfin, à notre connaissance, cette étude est la première à montrer une association entre les bactéries impliquées dans la parodontite et l'activité de sPLA2. Etant donné que des études ont précédemment montré une association entre l'activité de sPLA2 et l'athérosclérose [115, 117], et entre la parodontite et les atteintes vasculaires [118, 130] [119], nous pouvons émettre l'hypothèse que l'activité de sPLA2 pourrait jouer un rôle dans l'association entre la parodontite et l'athérosclérose. D'autres études, longitudinales, sont nécessaires pour préciser le rôle de cette enzyme dans l'association entre la parodontite et les atteintes vasculaires.

Tableau 9 : Valeurs ajustées (moyenne $\pm$ écart standard) pour la concentration et l'activité de sPLA2, et pour l'activité de Lp-PLA2, en fonction de la charge relative en pathogènes parodontaux (ED) (par tertile).

	Tertile I (n=197)	Tertile II (n=198)	Tertile III (n=198)	p de tendance	p
Concentration en sPLA2 (ng.ml ⁻¹)	3,76 $\pm$ 0,47	4,04 $\pm$ 0,46	3,96 $\pm$ 0,47	0,76	0,91
Activité de sPLA2 (nmol.ml ⁻¹ .min ⁻¹)	0,66 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,04	0,89 $\pm$ 0,04	<0,001	<0,001
Activité de Lp-PLA2 (nmol.ml ⁻¹ .min ⁻¹)	29,88 $\pm$ 0,74	29,35 $\pm$ 0,73	31,71 $\pm$ 0,75	0,10	0,07

sPLA2: phospholipase A2 sécrétoire; Lp-PLA2: phospholipase A2 associée à la lipoprotéine. Ajustement sur le sexe, l'âge, l'origine ethnique, le niveau d'études, le statut diabétique, le statut tabagique, l'IMC la pression artérielle systolique, et les taux de cholestérols HDL et LDL.

Tableau 10 : Valeurs ajustées (moyenne $\pm$ écart standard) pour l'activité de Lp-PLA2 en fonction des scores de charge étiologique (*EB*), des pathogènes potentiellement associés à la parodontite (*PB*), et des pathogènes associés à la santé parodontale (*HAB*) (par tertile).

	Tertile I (n=197)	Tertile II (n=198)	Tertile III (n=198)	<i>p</i> de tendance	<i>p</i>
<i>EB</i>	30,66 $\pm$ 0,91	29,23 $\pm$ 0,74	31,06 $\pm$ 0,95	0,84	0,21
<i>PB</i>	29,04 $\pm$ 0,91	30,23 $\pm$ 0,74	31,68 $\pm$ 0,93	0,04	0,22
<i>HAB</i>	30,96 $\pm$ 0,78	28,97 $\pm$ 0,74	31,03 $\pm$ 0,76	0,97	0,09

Lp-PLA2: Phospholipase A2 associée à la lipoprotéine. Ajustement sur le sexe, l'âge, l'origine ethnique, le niveau d'études, le statut diabétique, le statut tabagique, l'IMC la pression artérielle systolique, et les taux de cholestérols HDL et LDL.

Tableau 11 : Distribution des variables cliniques parodontales (moyenne $\pm$ écart Standard) en fonction des scores de charge bactérienne (*EB*, *PB*, *HAB*), et de la charge relative en pathogènes parodontaux (*ED*), après ajustement sur l'âge et le sexe.

Variable	Tertile I (n=195)	Tertile II (n=194)	Tertile III (n=194)	<i>p</i>
Charge étiologique (<i>EB</i>)				
<i>Profondeur de poche moyenne, mm[†]</i>	2,23 $\pm$ 0,06	2,39 $\pm$ 0,05	2,97 $\pm$ 0,06	<0,001
<i>Perte d'attache moyenne, mm[†]</i>	2,47 $\pm$ 0,13	2,82 $\pm$ 0,10	3,77 $\pm$ 0,13	<0,001
<i>Sites avec PPD$\geq$3mm, %[†]</i>	31,62 $\pm$ 1,93	38,18 $\pm$ 1,56	62,33 $\pm$ 1,99	<0,001
<i>Sites avec CAL$\geq$5mm, %[†]</i>	16,44 $\pm$ 2,12	19,46 $\pm$ 1,73	30,88 $\pm$ 2,18	<0,001
<i>Saignement au sondage, %[†]</i>	10,96 $\pm$ 2,40	21,45 $\pm$ 1,95	52,24 $\pm$ 2,47	<0,001
Charge des pathogènes potentiellement associés à la parodontite (<i>PB</i>)				
<i>Profondeur de poche moyenne, mm[†]</i>	2,36 $\pm$ 0,06	2,61 $\pm$ 0,05	2,62 $\pm$ 0,06	0,001
<i>Perte d'attache moyenne, mm[†]</i>	2,69 $\pm$ 0,13	3,22 $\pm$ 0,10	3,15 $\pm$ 0,13	0,005
<i>Sites avec PPD$\geq$3mm, %[†]</i>	36,57 $\pm$ 1,92	47,39 $\pm$ 1,58	48,18 $\pm$ 1,97	<0,001
<i>Sites avec CAL$\geq$5mm, %[†]</i>	17,51 $\pm$ 2,10	25,42 $\pm$ 1,74	23,85 $\pm$ 2,15	0,01
<i>Saignement au sondage, %[†]</i>	22,18 $\pm$ 2,38	31,90 $\pm$ 1,96	30,57 $\pm$ 2,44	0,006
Charge des pathogènes associés à la santé parodontale (<i>HAB</i>)				
<i>Profondeur de poche moyenne, mm[†]</i>	2,69 $\pm$ 0,05	2,49 $\pm$ 0,05	2,40 $\pm$ 0,05	<0,001
<i>Perte d'attache moyenne, mm[†]</i>	3,19 $\pm$ 0,11	2,99 $\pm$ 0,10	2,89 $\pm$ 0,11	0,15
<i>Sites avec PPD$\geq$3mm, %[†]</i>	48,57 $\pm$ 1,64	44,29 $\pm$ 1,58	39,28 $\pm$ 1,63	<0,001
<i>Sites avec CAL$\geq$5mm, %[†]</i>	25,06 $\pm$ 1,79	21,04 $\pm$ 1,73	20,68 $\pm$ 1,78	0,18
<i>Saignement au sondage, %[†]</i>	32,25 $\pm$ 2,03	28,29 $\pm$ 1,96	24,11 $\pm$ 1,02	0,02

PPD: Profondeur de poche parodontale; CAL: Perte d'attache clinique. n=583.

Tableau 11 : Distribution des variables cliniques parodontales (moyenne $\pm$ écart standard) en fonction des scores de charge bactérienne (*EB*, *PB*, *HAB*), et de la charge relative en pathogènes parodontaux (*ED*), après ajustement sur l'âge et le sexe (*Suite*).

Variable	Tertile I (n=195)	Tertile II (n=194)	Tertile III (n=194)	<i>p</i>
Charge relative des pathogènes parodontaux (<i>ED</i>)				
<i>Profondeur de poche moyenne, mm[†]</i>	2,18 $\pm$ 0,04	2,37 $\pm$ 0,04	3,03 $\pm$ 0,05	<0,001
<i>Perte d'attache moyenne, mm[†]</i>	2,40 $\pm$ 0,10	2,77 $\pm$ 0,10	3,88 $\pm$ 0,10	<0,001
<i>Sites avec PPD$\geq$3mm, %[†]</i>	28,41 $\pm$ 1,57	37,86 $\pm$ 1,56	65,47 $\pm$ 1,58	<0,001
<i>Sites avec CAL$\geq$5mm, %[†]</i>	15,61 $\pm$ 1,71	18,57 $\pm$ 1,71	32,40 $\pm$ 1,72	<0,001
<i>Saignement au sondage, %[†]</i>	9,10 $\pm$ 1,84	18,10 $\pm$ 1,84	56,92 $\pm$ 1,85	<0,001

PPD: Profondeur de poche parodontale; CAL: Perte d'attache clinique. n=583.

Le modèle avec le score de dominance étiologique n'est pas ajusté sur les scores de charge bactérienne. n=583.

Tableau 12: Valeurs ajustées (moyenne $\pm$ écart Standard) de l'activité de sPLA2 et Lp-PLA2 (en nmol.min⁻¹ /ml de plasma), en fonction de la profondeur de poche moyenne (par tertile).

	Tertile I	Tertile II	Tertile III	<i>p</i>
	(n=198)	(n=197)	(n=198)	
Modèle A				
Activité de sPLA2	0,65 $\pm$ 0,04	0,76 $\pm$ 0,04	0,88 $\pm$ 0,04	<0,001
Activité de Lp-PLA2	29,12 $\pm$ 0,75	30,72 $\pm$ 0,74	31,11 $\pm$ 0,74	0,15
Modèle B				
Activité de sPLA2	0,67 $\pm$ 0,04	0,76 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,04	0,03
Activité de Lp-PLA2	29,51 $\pm$ 0,79	30,90 $\pm$ 0,74	30,54 $\pm$ 0,81	0,42

sPLA2: Phospholipase A2 sécrétoire; Lp-PLA2: Phospholipase A2 associée à la lipoprotéine. Ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le niveau d'études, le statut diabétique, l'IMC, le tabac, la pression artérielle systolique moyenne, les taux de cholestérols HDL et LDL (Modèle A) et les scores de charge bactérienne (Modèle B). n=583.

p de tendance, activité de sPLA2: Modèle univarié, $p < 0,001$; Modèle multivarié A, $p < 0,001$; Modèle multivarié B, $p = 0,01$. p de tendance, activité de Lp-PLA2: Modèle univarié, $p = 0,11$; Modèle multivarié A, $p = 0,17$; Modèle multivarié B, $p = 0,47$.

Tableau 13: Valeurs ajustées (moyenne $\pm$ écart standard) de l'activité de sPLA2 et de Lp-PLA2 (en nmol.min⁻¹ /ml de plasma), en fonction du pourcentage de sites avec une profondeur de poche de 3mm et plus (par tertile).

	Tertile I (n=198)	Tertile II (n=197)	Tertile III (n=198)	<i>p</i>
Modèle A				
Activité de sPLA2	0.66 $\pm$ 0.04	0.74 $\pm$ 0.04	0.88 $\pm$ 0.04	<0.001
Activité de Lp-PLA2	28.83 $\pm$ 0.74	30.83 $\pm$ 0.73	31.30 $\pm$ 0.74	<0.05
Modèle B				
Activité de sPLA2	0.69 $\pm$ 0.04	0.75 $\pm$ 0.04	0.84 $\pm$ 0.04	0.06
Activité de Lp-PLA2	29.16 $\pm$ 0.86	31.09 $\pm$ 0.74	30.70 $\pm$ 0.83	0.19

sPLA2: Phospholipase A2 sécrétoire; Lp-PLA2: Phospholipase A2 associée à la lipoprotéine. Ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le niveau d'études, le statut diabétique, l'IMC, le tabac, la pression artérielle systolique moyenne, les taux de cholestérols HDL et LDL (Modèle A) et les scores de charge bactérienne (Modèle B). n=583.

p de tendance, activité de sPLA2: Modèle univarié, $p < 0,001$; Modèle multivarié A, $p < 0,001$; Modèle multivarié B, $p = 0,08$. p de tendance, activité de Lp-PLA2: Modèle univarié, $p = 0,02$; Modèle multivarié A, $p = 0,03$; Modèle multivarié B, $p = 0,11$.

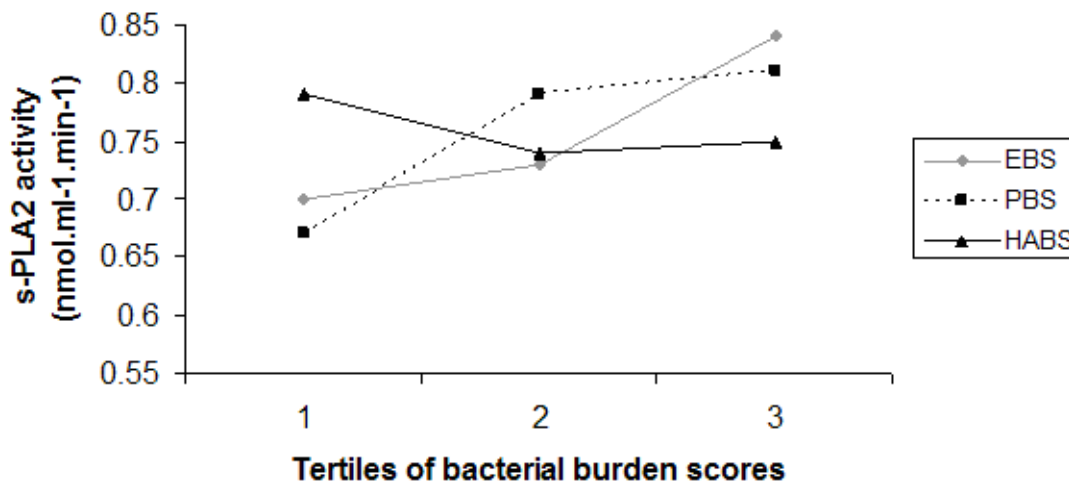
Tableau 14: Valeurs ajustées (moyenne $\pm$ écart standard) de l'activité de sPLA2 et Lp-PLA2 (en nmol.min⁻¹ /ml de plasma), en fonction de la perte d'attache moyenne (par tertile).

	Tertile I	Tertile II	Tertile III	<i>p</i>
	(n=198)	(n=197)	(n=198)	
Modèle A				
Activité de sPLA2	0.69 $\pm$ 0.04	0.75 $\pm$ 0.04	0.85 $\pm$ 0.04	0.02
Activité de Lp-PLA2	30.34 $\pm$ 0.76	29.63 $\pm$ 0.74	30.88 $\pm$ 0.75	0.49
Modèle B				
Activité de sPLA2	0.72 $\pm$ 0.04	0.74 $\pm$ 0.04	0.82 $\pm$ 0.04	0.25
Activité de Lp-PLA2	30.84 $\pm$ 0.79	29.61 $\pm$ 0.74	30.40 $\pm$ 0.77	0.50

sPLA2: Phospholipase A2 sécrétoire; Lp-PLA2: Phospholipase A2 associée à la lipoprotéine. Ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le niveau d'études, le statut diabétique, l'IMC, le tabac, la pression artérielle systolique moyenne, les taux de cholestérols HDL et LDL (Modèle A) et les scores de charge bactérienne (Modèle B). n=583.

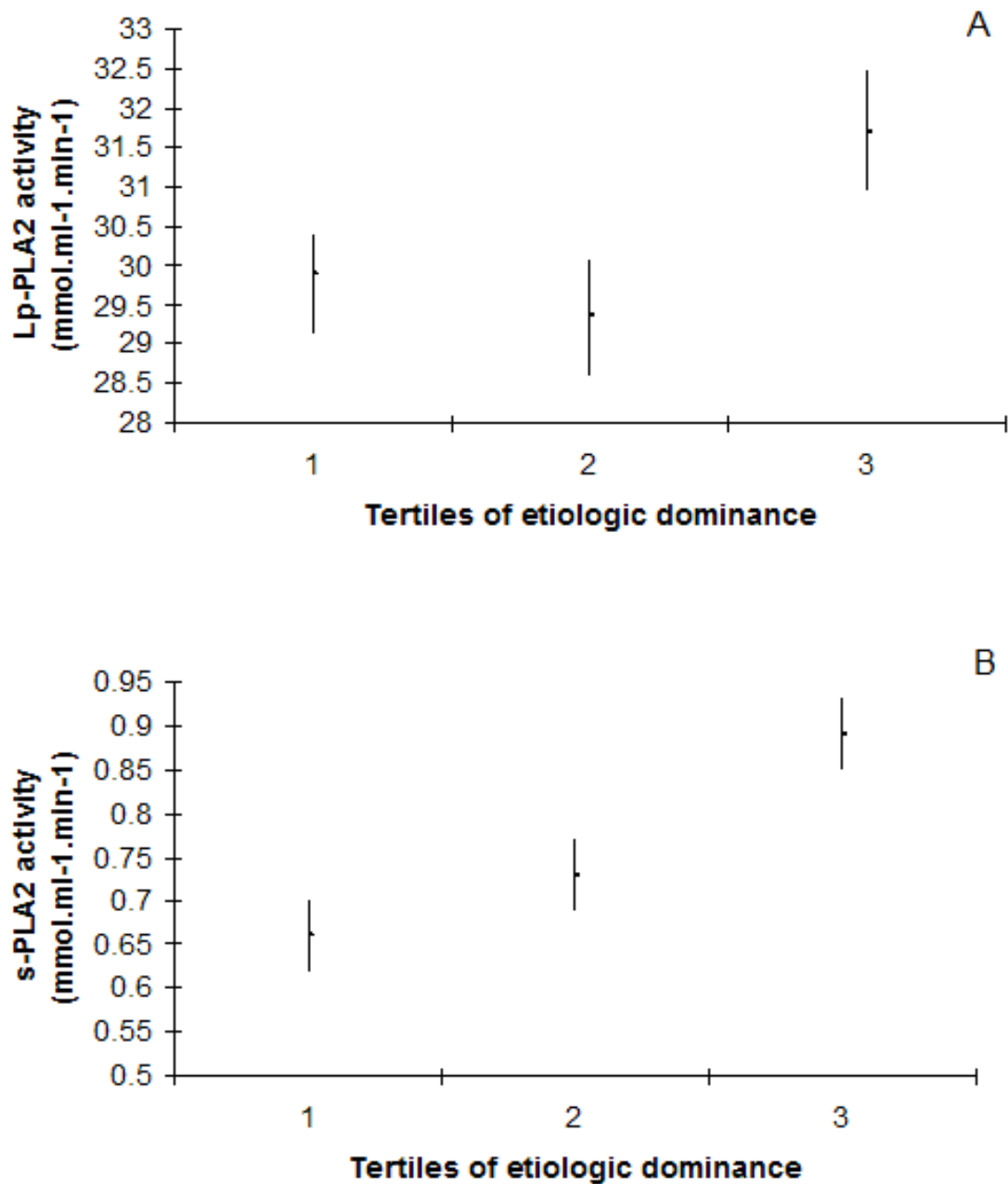
p de tendance, activité de sPLA2: Modèle univarié, $p < 0,001$; Modèle multivarié A, $p = 0,002$; Modèle multivarié B, $p = 0,16$. p de tendance, activité de Lp-PLA2: Modèle univarié, $p = 0,29$; Modèle multivarié A, $p = 0,35$; Modèle multivarié B, $p = 0,80$.

Figure 23: Moyennes ajustées (et erreurs standards) pour l'activité de sPLA2 (en nmol.min⁻¹ par ml de plasma) en fonction de la charge bactérienne étiologique (*EB*), de la charge des pathogènes potentiellement associés à la parodontite (*PB*), et de la charge des pathogènes associés à la santé parodontale (*HAB*), par tertile.



Ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le niveau d'études, le statut diabétique, le tabac, l'IMC, la pression artérielle systolique, les concentrations en cholestérols HDL et LDL. *EB*, *PB* et *HAB* sont inclus ensemble dans les modèles. Tertile 1 : $n=197$; Tertile 2 : $n=198$; Tertile 3 : $n=198$. *EB*: $p=0,22$; *PB*: $p=0,14$; *HAB*: $p=0,60$. p de tendance: *EB*=0,14; *PB*=0,07; *HAB*=0,43.

Figure 24: Activités de Lp-PLA2 et sPLA2 selon le score de dominance étiologique (*ED*), par tertile).



Ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le niveau d'études, le statut diabétique, le tabac, l'IMC, la pression artérielle systolique, les concentrations en cholestérols HDL et LDL. Tertile 1 : n=197. Tertile 2 : n=198. Tertile 3: n=198. Lp-PLA2: $p=0,07$; sPLA2: $p<0,001$. p de tendance: Lp-PLA2: 0,10; sPLA2: $<0,001$.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Nous avons vu que la parodontite était une maladie commune en terme de prévalence, puisqu'elle touche en moyenne 25% des adultes de plus de 40 ans. Cette pathologie des tissus durs et mous entourant les dents est liée à un déséquilibre entre des pathogènes parodontaux et les mécanismes de défense de l'hôte. Nous avons également, tout au long de ce travail, décrit de nombreuses études issues de larges cohortes différentes et ayant montré une association entre la parodontite et les pathologies cardiovasculaires. Des mécanismes directs, faisant intervenir les bactéries et les produits issus du métabolisme bactérien, et indirects, faisant intervenir des cytokines inflammatoires issues de la réponse de l'hôte à ces pathogènes, ont été proposés pour expliquer l'association entre ces pathologies. Toutefois, nous avons discuté les données actuelles et nous avons montré :

- _ d'une part qu'il n'existait pas d'étude sur les éventuelles atteintes de la microcirculation associées à la parodontite.

- _ et d'autre part qu'il n'existait pas non plus, à notre connaissance, d'étude s'étant intéressée à l'association entre la parodontite et les phospholipases A2, qui sont des enzymes fréquemment retrouvées associées aux pathologies cardiovasculaires.

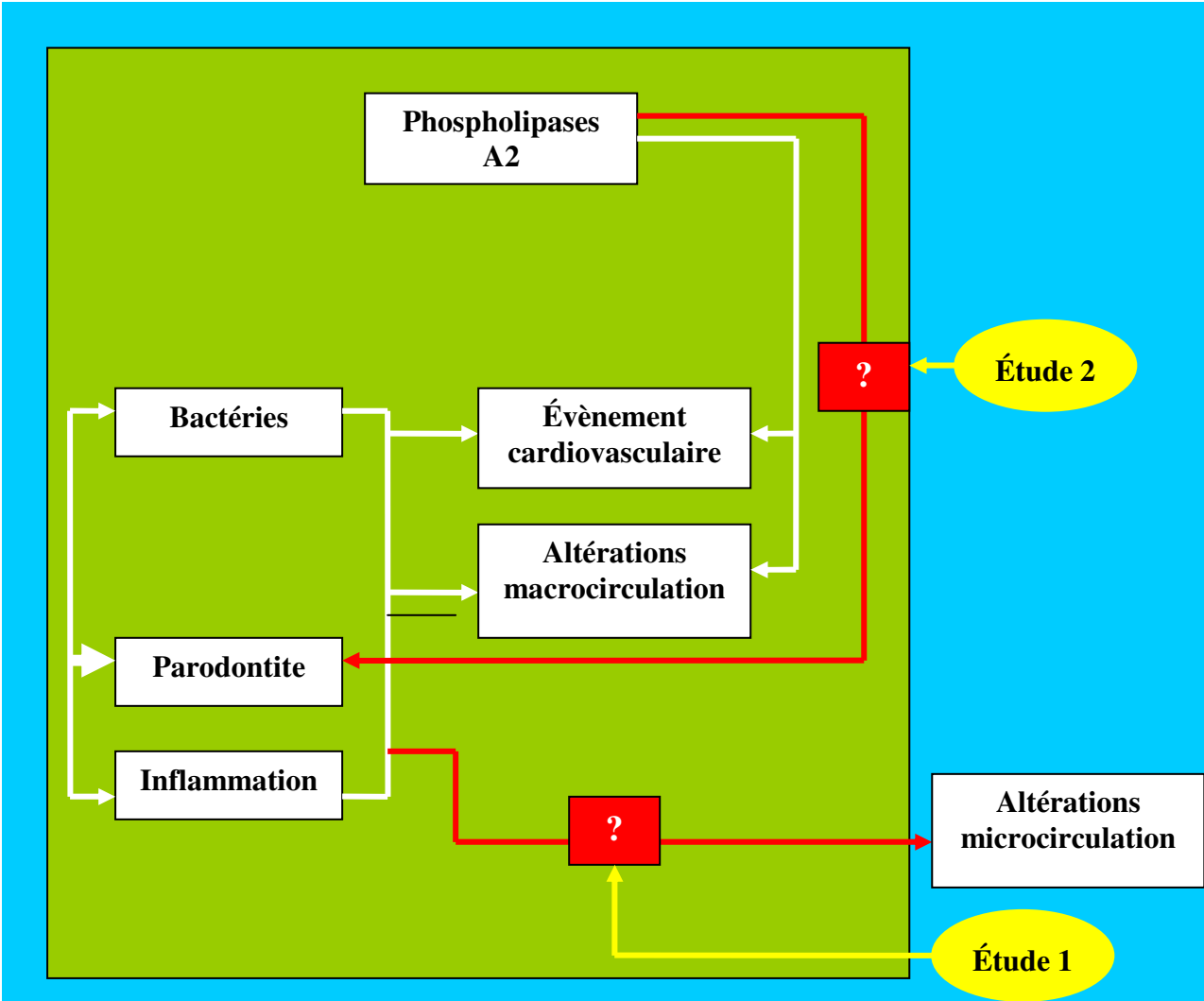
Nous avons tout d'abord montré à travers une étude transversale, réalisée chez 457 adultes issus de la cohorte *ARIC*, qu'après un ajustement sur les facteurs de risque connus, il existait une association significative entre la présence d'une parodontite sévère définie selon la classification *CDC/AAP* et l'existence de veinules rétinienne de plus gros diamètres. Cette association persistait en limitant l'analyse aux sujets diabétiques. En revanche, aucune association n'avait été observée avec le diamètre des artérioles rétinienne. Toutefois, nous ne disposons d'aucune donnée sur les concentrations des principaux marqueurs inflammatoires afin de pouvoir valider l'hypothèse de mécanismes inflammatoires qui expliqueraient les répercussions des atteintes parodontales sur la microcirculation. Par ailleurs, une étude prospective permettrait de définir le rôle du diabète dans cette association d'une part, et de préciser si ces altérations de la microcirculation précèdent ou non les événements cardiovasculaires observés chez les sujets atteints d'une parodontite.

Dans un second temps, nous avons également observé, à partir des résultats d'une étude transversale réalisée chez 593 adultes âgés de 55 ans et plus et issus de la cohorte *INVEST*, qu'il existait une association significative et indépendante entre la charge en pathogènes parodontaux d'une part, et l'activité de la sPLA2 d'autre part. Cette association se retrouvait également avec les paramètres cliniques parodontaux, mais disparaissait après ajustement sur la charge bactérienne. Aucune association n'avait été en revanche observée, ni pour la concentration en sPLA2, ni pour l'activité

de la Lp-PLA2. De nombreuses études ayant montré ces dernières années que sPLA2 était une enzyme associée à l'athérosclérose et au risque de survenue d'un événement cardiovasculaire, cette étude nous laisse envisager la possibilité d'une intervention de sPLA2 dans les associations observées entre la parodontite et les pathologies cardiovasculaires. Des études prospectives sont là aussi nécessaires pour tester cette hypothèse.

Nous avons donc montré au cours de ce travail que l'association entre la parodontite et les pathologies des gros vaisseaux artériels se retrouvait également au niveau de la microcirculation rétinienne. Par ailleurs il existe une association entre la charge en pathogènes parodontaux et l'activité de sPLA2, une enzyme dont l'élévation de l'activité augmente le risque de survenue d'un événement cardiovasculaire. Cette association pourrait en partie expliquer les relations entre la parodontite et les pathologies de la macro- et de la microcirculation. Toutefois, si ce travail a permis d'ouvrir de nouvelles pistes dans la compréhension des liens unissant la parodontite aux pathologies cardiovasculaires, des études prospectives sur de larges cohortes sont nécessaires afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu, la chronologie des événements, et le rôle du diabète dans ces associations.

Figure 25: Schéma récapitulatif.



REFERENCES

1. Pihlstrom, B.L., B.S. Michalowicz, and N.W. Johnson, *Periodontal diseases*. Lancet, 2005. **366**(9499): p. 1809-20.
2. Savage, A., et al., *A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease*. Journal of clinical periodontology, 2009. **36**(6): p. 458-67.
3. Costa, F.O., et al., *Impact of different periodontitis case definitions on periodontal research*. Journal of oral science, 2009. **51**(2): p. 199-206.
4. Armitage, G.C., *Development of a classification system for periodontal diseases and conditions*. Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology, 1999. **4**(1): p. 1-6.
5. Ainamo, J., et al., *Development of the World Health Organization (WHO) community periodontal index of treatment needs (CPITN)*. International dental journal, 1982. **32**(3): p. 281-91.
6. Bassani, D.G., C.M. da Silva, and R.V. Oppermann, *Validity of the "Community Periodontal Index of Treatment Needs" (CPITN) for population periodontitis screening*. Cadernos de saude publica, 2006. **22**(2): p. 277-83.
7. Page, R.C. and P.I. Eke, *Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis*. Journal of periodontology, 2007. **78**(7 Suppl): p. 1387-99.
8. Demmer, R.T. and P.N. Papapanou, *Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis*. Periodontology 2000, 2010. **53**: p. 28-44.
9. Bouchard, P., et al., *Risk assessment for severe clinical attachment loss in an adult population*. Journal of periodontology, 2006. **77**(3): p. 479-89.
10. Holtfreter, B., et al., *Epidemiology of periodontal diseases in the Study of Health in Pomerania*. Journal of clinical periodontology, 2009. **36**(2): p. 114-23.
11. Eke, P.I., et al., *Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010*. Journal of dental research, 2012. **91**(10): p. 914-20.
12. Corbet, E.F., M.C. Wong, and H.C. Lin, *Periodontal conditions in adult Southern Chinese*. Journal of dental research, 2001. **80**(5): p. 1480-5.
13. Health, A.R.C.f.P.O., *Periodontal diseases in the Australian adult population*. Australian dental journal, 2009. **54**(4): p. 390-3.
14. Kassebaum, N.J., et al., *Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression*. Journal of dental research, 2014. **93**(11): p. 1045-53.
15. Bourgeois, D., P. Bouchard, and C. Mattout, *Epidemiology of periodontal status in dentate adults in France, 2002-2003*. Journal of periodontal research, 2007. **42**(3): p. 219-27.

16. Peres, M.A., et al., *Skin colour is associated with periodontal disease in Brazilian adults: a population-based oral health survey*. Journal of clinical periodontology, 2007. **34**(3): p. 196-201.
17. SA, A.R.C.f.P.O.H.T.u.o.A., *Periodontal diseases in the Australian adult population*. Australian dental journal, 2009. **54**(4): p. 390-3.
18. Salvi, G.E., et al., *Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis*. Periodontology 2000, 1997. **14**: p. 173-201.
19. Jansson, L. and S. Lavstedt, *Influence of smoking on marginal bone loss and tooth loss--a prospective study over 20 years*. Journal of clinical periodontology, 2002. **29**(8): p. 750-6.
20. Costa, F.O., et al., *Associations of duration of smoking cessation and cumulative smoking exposure with periodontitis*. Journal of oral science, 2013. **55**(3): p. 245-53.
21. Fiorini, T., et al., *Is there a positive effect of smoking cessation on periodontal health? A systematic review*. Journal of periodontology, 2014. **85**(1): p. 83-91.
22. Loe, H., *Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus*. Diabetes care, 1993. **16**(1): p. 329-34.
23. Chavarry, N.G., et al., *The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis*. Oral health & preventive dentistry, 2009. **7**(2): p. 107-27.
24. Demmer, R.T., et al., *The influence of type 1 and type 2 diabetes on periodontal disease progression: prospective results from the Study of Health in Pomerania (SHIP)*. Diabetes care, 2012. **35**(10): p. 2036-42.
25. Lalla, E., et al., *Receptor for advanced glycation end products, inflammation, and accelerated periodontal disease in diabetes: mechanisms and insights into therapeutic modalities*. Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology, 2001. **6**(1): p. 113-8.
26. Albandar, J.M. and A. Kingman, *Gingival recession, gingival bleeding, and dental calculus in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994*. Journal of periodontology, 1999. **70**(1): p. 30-43.
27. Norderyd, O.M., et al., *Periodontal status of women taking postmenopausal estrogen supplementation*. Journal of periodontology, 1993. **64**(10): p. 957-62.
28. Lovibond, P.F. and S.H. Lovibond, *The structure of negative emotional states: comparison of the Depression Anxiety Stress Scales (DASS) with the Beck Depression and Anxiety Inventories*. Behaviour research and therapy, 1995. **33**(3): p. 335-43.

29. Pearlin, L.I. and C. Schooler, *The structure of coping*. Journal of health and social behavior, 1978. **19**(1): p. 2-21.
30. Ng, S.K. and W. Keung Leung, *A community study on the relationship between stress, coping, affective dispositions and periodontal attachment loss*. Community dentistry and oral epidemiology, 2006. **34**(4): p. 252-66.
31. Peruzzo, D.C., et al., *A systematic review of stress and psychological factors as possible risk factors for periodontal disease*. Journal of periodontology, 2007. **78**(8): p. 1491-504.
32. Dohrenwend, B.S., et al., *Exemplification of a method for scaling life events: the Peri Life Events Scale*. Journal of health and social behavior, 1978. **19**(2): p. 205-29.
33. Carver, C.S., M.F. Scheier, and J.K. Weintraub, *Assessing coping strategies: a theoretically based approach*. Journal of personality and social psychology, 1989. **56**(2): p. 267-83.
34. Genco, R.J., et al., *Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease*. Journal of periodontology, 1999. **70**(7): p. 711-23.
35. Warren, K.R., et al., *Role of chronic stress and depression in periodontal diseases*. Periodontology 2000, 2014. **64**(1): p. 127-38.
36. Deas, D.E., S.A. Mackey, and H.T. McDonnell, *Systemic disease and periodontitis: manifestations of neutrophil dysfunction*. Periodontology 2000, 2003. **32**: p. 82-104.
37. Van Dyke, T.E. and D. Sheilesh, *Risk factors for periodontitis*. Journal of the International Academy of Periodontology, 2005. **7**(1): p. 3-7.
38. Genco, R.J. and W.S. Borgnakke, *Risk factors for periodontal disease*. Periodontology 2000, 2013. **62**(1): p. 59-94.
39. Suvan, J., et al., *Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review*. Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity, 2011. **12**(5): p. e381-404.
40. Suresh, S. and J. Mahendra, *Multifactorial relationship of obesity and periodontal disease*. Journal of clinical and diagnostic research : JCDR, 2014. **8**(4): p. ZE01-3.
41. Mao, M., et al., *Interleukin-1alpha -899 (+4845) C-->T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis: evidence from a meta-analysis of 23 case-control studies*. Gene, 2013. **532**(1): p. 114-9.
42. Page, R.C. and K.S. Kornman, *The pathogenesis of human periodontitis: an introduction*. Periodontology 2000, 1997. **14**: p. 9-11.
43. Flemmig, T.F. and T. Beikler, *Control of oral biofilms*. Periodontology 2000, 2011. **55**(1): p. 9-15.

44. Kornman, K.S., R.C. Page, and M.S. Tonetti, *The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players*. Periodontology 2000, 1997. **14**: p. 33-53.
45. Darveau, R.P., *Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis*. Nature reviews. Microbiology, 2010. **8**(7): p. 481-90.
46. Socransky, S.S., et al., *Microbial complexes in subgingival plaque*. Journal of clinical periodontology, 1998. **25**(2): p. 134-44.
47. Haffajee, A.D., et al., *Microbial complexes in supragingival plaque*. Oral microbiology and immunology, 2008. **23**(3): p. 196-205.
48. Socransky, S.S. and A.D. Haffajee, *Dental biofilms: difficult therapeutic targets*. Periodontology 2000, 2002. **28**: p. 12-55.
49. Ximenez-Fyvie, L.A., et al., *The effect of repeated professional supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota*. Journal of clinical periodontology, 2000. **27**(9): p. 637-47.
50. Riep, B., et al., *Are putative periodontal pathogens reliable diagnostic markers?* Journal of clinical microbiology, 2009. **47**(6): p. 1705-11.
51. Hajishengallis, G., R.P. Darveau, and M.A. Curtis, *The keystone-pathogen hypothesis*. Nature reviews. Microbiology, 2012. **10**(10): p. 717-25.
52. Hajishengallis, G., *Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response*. Trends in immunology, 2014. **35**(1): p. 3-11.
53. Hajishengallis, G., et al., *Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement*. Cell host & microbe, 2011. **10**(5): p. 497-506.
54. Hasturk, H., et al., *Resolvin E1 regulates inflammation at the cellular and tissue level and restores tissue homeostasis in vivo*. Journal of immunology, 2007. **179**(10): p. 7021-9.
55. Chaves, E.S., et al., *Persistent bacterial colonization of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy*. Journal of clinical periodontology, 2000. **27**(12): p. 897-903.
56. Di Benedetto, A., et al., *Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss*. Clinical & developmental immunology, 2013. **2013**: p. 503754.
57. Hunter, W., *The role of sepsis and of antiseptics in medicine*. Lancet, 1910. **1**: p. 79-86.
58. O'Reilly, P.G. and N.M. Claffey, *A history of oral sepsis as a cause of disease*. Periodontology 2000, 2000. **23**: p. 13-8.

59. Offenbacher, S., *Periodontal diseases: pathogenesis*. Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology, 1996. **1**(1): p. 821-78.
60. Beck, J.D., et al., *Associations between IgG antibody to oral organisms and carotid intima-medial thickness in community-dwelling adults*. Atherosclerosis, 2005. **183**(2): p. 342-8.
61. Desvarieux, M., et al., *Changes in clinical and microbiological periodontal profiles relate to progression of carotid intima-media thickness: the Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology study*. Journal of the American Heart Association, 2013. **2**(6): p. e000254.
62. Takeuchi, H., et al., *Exit of intracellular Porphyromonas gingivalis from gingival epithelial cells is mediated by endocytic recycling pathway*. Cellular microbiology, 2011. **13**(5): p. 677-91.
63. Haraszthy, V.I., et al., *Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques*. Journal of periodontology, 2000. **71**(10): p. 1554-60.
64. Figuero, E., et al., *Detection of periodontal bacteria in atheromatous plaque by nested polymerase chain reaction*. Journal of periodontology, 2011. **82**(10): p. 1469-77.
65. Kozarov, E.V., et al., *Human atherosclerotic plaque contains viable invasive Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2005. **25**(3): p. e17-8.
66. Rafferty, B., et al., *Impact of monocytic cells on recovery of uncultivable bacteria from atherosclerotic lesions*. Journal of internal medicine, 2011. **270**(3): p. 273-80.
67. Amar, S., S.C. Wu, and M. Madan, *Is Porphyromonas gingivalis cell invasion required for atherogenesis? Pharmacotherapeutic implications*. Journal of immunology, 2009. **182**(3): p. 1584-92.
68. Lalla, E., et al., *Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2003. **23**(8): p. 1405-11.
69. Reyes, L., et al., *Periodontal bacterial invasion and infection: contribution to atherosclerotic pathology*. Journal of periodontology, 2013. **84**(4 Suppl): p. S30-50.
70. Beck, J.D. and S. Offenbacher, *Relationships among clinical measures of periodontal disease and their associations with systemic markers*. Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology, 2002. **7**(1): p. 79-89.
71. Paraskevas, S., J.D. Huizinga, and B.G. Loos, *A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis*. Journal of clinical periodontology, 2008. **35**(4): p. 277-90.

72. Glurich, I., et al., *Systemic inflammation in cardiovascular and periodontal disease: comparative study*. Clinical and diagnostic laboratory immunology, 2002. **9**(2): p. 425-32.
73. Ridker, P.M., *C-reactive protein: eighty years from discovery to emergence as a major risk marker for cardiovascular disease*. Clinical chemistry, 2009. **55**(2): p. 209-15.
74. Anand, S.S. and S. Yusuf, *C-reactive protein is a bystander of cardiovascular disease*. European heart journal, 2010. **31**(17): p. 2092-6.
75. Vidal, F., et al., *Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension*. Journal of periodontology, 2009. **80**(5): p. 786-91.
76. Kosaka, T., et al., *Salivary inflammatory cytokines may be novel markers of carotid atherosclerosis in a Japanese general population: the Suita study*. Atherosclerosis, 2014. **237**(1): p. 123-8.
77. Soder, P.O., et al., *Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in blood as markers for early atherosclerosis in subjects with chronic periodontitis*. Journal of periodontal research, 2009. **44**(4): p. 452-8.
78. Chen, H., et al., *Platelet-activating factor levels of serum and gingival crevicular fluid in nonsmoking patients with periodontitis and/or coronary heart disease*. Clinical oral investigations, 2010. **14**(6): p. 629-36.
79. D'Aiuto, F., et al., *Periodontal infections cause changes in traditional and novel cardiovascular risk factors: results from a randomized controlled clinical trial*. American heart journal, 2006. **151**(5): p. 977-84.
80. Teles, R. and C.Y. Wang, *Mechanisms involved in the association between periodontal diseases and cardiovascular disease*. Oral diseases, 2011. **17**(5): p. 450-61.
81. Nibali, L., et al., *Severe periodontitis is associated with systemic inflammation and a dysmetabolic status: a case-control study*. Journal of clinical periodontology, 2007. **34**(11): p. 931-7.
82. Schenkein, H.A. and B.G. Loos, *Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases*. Journal of periodontology, 2013. **84**(4 Suppl): p. S51-69.
83. Mattila, K.J., et al., *Association between dental health and acute myocardial infarction*. BMJ, 1989. **298**(6676): p. 779-81.
84. de Oliveira, C., R. Watt, and M. Hamer, *Toothbrushing, inflammation, and risk of cardiovascular disease: results from Scottish Health Survey*. BMJ, 2010. **340**: p. c2451.
85. Jimenez, M., et al., *Periodontitis and incidence of cerebrovascular disease in men*. Annals of neurology, 2009. **66**(4): p. 505-12.

86. Pussinen, P.J., et al., *Serum antibody levels to Actinobacillus actinomycetemcomitans predict the risk for coronary heart disease*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2005. **25**(4): p. 833-8.
87. Dietrich, T., et al., *The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease*. Journal of periodontology, 2013. **84**(4 Suppl): p. S70-84.
88. Dorn, J.M., et al., *Periodontal disease and recurrent cardiovascular events in survivors of myocardial infarction (MI): the Western New York Acute MI Study*. Journal of periodontology, 2010. **81**(4): p. 502-11.
89. Sen, S., et al., *Periodontal disease and recurrent vascular events in stroke/transient ischemic attack patients*. Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association, 2013. **22**(8): p. 1420-7.
90. Teeuw, W.J., et al., *Treatment of periodontitis improves the atherosclerotic profile: a systematic review and meta-analysis*. Journal of clinical periodontology, 2014. **41**(1): p. 70-9.
91. Blum, A., et al., *Periodontal care may improve endothelial function*. European journal of internal medicine, 2007. **18**(4): p. 295-8.
92. Seinost, G., et al., *Periodontal treatment improves endothelial dysfunction in patients with severe periodontitis*. American heart journal, 2005. **149**(6): p. 1050-4.
93. Mercanoglu, F., et al., *Endothelial dysfunction in patients with chronic periodontitis and its improvement after initial periodontal therapy*. Journal of periodontology, 2004. **75**(12): p. 1694-700.
94. Orlandi, M., et al., *Association between periodontal disease and its treatment, flow-mediated dilatation and carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis*. Atherosclerosis, 2014. **236**(1): p. 39-46.
95. Li, C., et al., *Periodontal therapy for the management of cardiovascular disease in patients with chronic periodontitis*. The Cochrane database of systematic reviews, 2014. **8**: p. CD009197.
96. Lockhart, P.B., et al., *Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association*. Circulation, 2012. **125**(20): p. 2520-44.
97. Ikram, M.K., et al., *Are retinal arteriolar or venular diameters associated with markers for cardiovascular disorders? The Rotterdam Study*. Investigative ophthalmology & visual science, 2004. **45**(7): p. 2129-34.

98. Jeganathan, V.S., et al., *Retinal vascular caliber and diabetes in a multiethnic Asian population*. Microcirculation, 2009. **16**(6): p. 534-43.
99. Boillot, A., et al., *Obesity and the microvasculature: a systematic review and meta-analysis*. PloS one, 2013. **8**(2): p. e52708.
100. McGeechan, K., et al., *Prediction of incident stroke events based on retinal vessel caliber: a systematic review and individual-participant meta-analysis*. American journal of epidemiology, 2009. **170**(11): p. 1323-32.
101. Wang, J.J., et al., *Retinal vessel diameter and cardiovascular mortality: pooled data analysis from two older populations*. European heart journal, 2007. **28**(16): p. 1984-92.
102. Couper, D.J., et al., *Reliability of retinal photography in the assessment of retinal microvascular characteristics: the Atherosclerosis Risk in Communities Study*. American journal of ophthalmology, 2002. **133**(1): p. 78-88.
103. Sun, C., et al., *Retinal vascular caliber: systemic, environmental, and genetic associations*. Survey of ophthalmology, 2009. **54**(1): p. 74-95.
104. Parr, J.C. and G.F. Spears, *Mathematic relationships between the width of a retinal artery and the widths of its branches*. American journal of ophthalmology, 1974. **77**(4): p. 478-83.
105. Parr, J.C. and G.F. Spears, *General caliber of the retinal arteries expressed as the equivalent width of the central retinal artery*. American journal of ophthalmology, 1974. **77**(4): p. 472-7.
106. Hubbard, L.D., et al., *Methods for evaluation of retinal microvascular abnormalities associated with hypertension/sclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities Study*. Ophthalmology, 1999. **106**(12): p. 2269-80.
107. de Jong, F.J., et al., *Retinal vessel diameters and the role of inflammation in cerebrovascular disease*. Annals of neurology, 2007. **61**(5): p. 491-5.
108. Wong, T.Y., et al., *Retinal vascular caliber, cardiovascular risk factors, and inflammation: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA)*. Investigative ophthalmology & visual science, 2006. **47**(6): p. 2341-50.
109. Daien, V., et al., *Retinal vascular caliber is associated with cardiovascular biomarkers of oxidative stress and inflammation: the POLA study*. PloS one, 2013. **8**(7): p. e71089.
110. Keles, Z.P., et al., *Analysis of YKL-40 acute-phase protein and interleukin-6 levels in periodontal disease*. Journal of periodontology, 2014. **85**(9): p. 1240-6.
111. Skaleric, E., et al., *Periodontal inflammatory burden correlates with C-reactive protein serum level*. Acta odontologica Scandinavica, 2012. **70**(6): p. 520-8.

112. Kshirsagar, A.V., et al., *Periodontal disease is associated with renal insufficiency in the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study*. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation, 2005. **45**(4): p. 650-7.
113. Shultis, W.A., et al., *Effect of periodontitis on overt nephropathy and end-stage renal disease in type 2 diabetes*. Diabetes care, 2007. **30**(2): p. 306-11.
114. Mallat, Z., G. Lambeau, and A. Tedgui, *Lipoprotein-associated and secreted phospholipases A(2) in cardiovascular disease: roles as biological effectors and biomarkers*. Circulation, 2010. **122**(21): p. 2183-200.
115. Mallat, Z., et al., *Circulating secretory phospholipase A2 activity and risk of incident coronary events in healthy men and women: the EPIC-Norfolk study*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2007. **27**(5): p. 1177-83.
116. Mallat, Z., et al., *Circulating secretory phospholipase A2 activity predicts recurrent events in patients with severe acute coronary syndromes*. Journal of the American College of Cardiology, 2005. **46**(7): p. 1249-57.
117. Thompson, A., et al., *Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies*. Lancet, 2010. **375**(9725): p. 1536-44.
118. Desvarieux, M., et al., *Relationship between periodontal disease, tooth loss, and carotid artery plaque: the Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST)*. Stroke; a journal of cerebral circulation, 2003. **34**(9): p. 2120-5.
119. Desvarieux, M., et al., *Periodontal microbiota and carotid intima-media thickness: the Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST)*. Circulation, 2005. **111**(5): p. 576-82.
120. *Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors*. Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology, 1996. **1**(1): p. 926-32.
121. Lind, L., et al., *Circulating levels of secretory- and lipoprotein-associated phospholipase A2 activities: relation to atherosclerotic plaques and future all-cause mortality*. European heart journal, 2012. **33**(23): p. 2946-54.
122. Hyvarinen, K., et al., *A common periodontal pathogen has an adverse association with both acute and stable coronary artery disease*. Atherosclerosis, 2012. **223**(2): p. 478-84.
123. Korotaeva, A.A., et al., *Opposite effects of native and oxidized lipoproteins on the activity of secretory phospholipase A(2) group IIA*. Prostaglandins & other lipid mediators, 2009. **90**(1-2): p. 37-41.

124. Jia, R., et al., *Periodontal pathogen accelerates lipid peroxidation and atherosclerosis*. Journal of dental research, 2013. **92**(3): p. 247-52.
125. Tang, K., et al., *Alterations of serum lipid and inflammatory cytokine profiles in patients with coronary heart disease and chronic periodontitis: a pilot study*. The Journal of international medical research, 2011. **39**(1): p. 238-48.
126. Tamaki, N., et al., *Periodontal treatment decreases plasma oxidized LDL level and oxidative stress*. Clinical oral investigations, 2011. **15**(6): p. 953-8.
127. Elkind, M.S., et al., *High-sensitivity C-reactive protein and lipoprotein-associated phospholipase A2 stability before and after stroke and myocardial infarction*. Stroke; a journal of cerebral circulation, 2009. **40**(10): p. 3233-7.
128. Xu, F. and B. Lu, *Prospective association of periodontal disease with cardiovascular and all-cause mortality: NHANES III follow-up study*. Atherosclerosis, 2011. **218**(2): p. 536-42.
129. Slade, G.D., et al., *Relationship between periodontal disease and C-reactive protein among adults in the Atherosclerosis Risk in Communities study*. Archives of internal medicine, 2003. **163**(10): p. 1172-9.
130. Boillot, A., et al., *Periodontitis and retinal microcirculation in the Atherosclerosis Risk in Communities study*. Journal of clinical periodontology, 2015. **42**(4): p. 342-9.