



HAL
open science

Développement d'un bioréacteur pour l'étude ex vivo de biomatériaux appliqués à l'odontologie : élaboration d'un cahier des charges à partir d'une revue systématique de la littérature

Mathieu Louis Elie Maisani

► To cite this version:

Mathieu Louis Elie Maisani. Développement d'un bioréacteur pour l'étude ex vivo de biomatériaux appliqués à l'odontologie : élaboration d'un cahier des charges à partir d'une revue systématique de la littérature. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-03586187

HAL Id: dumas-03586187

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03586187v1>

Submitted on 23 Feb 2022

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

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

U.F.R. D'ODONTOLOGIE

Année 2022

Thèse n° 10

THESE POUR L'OBTENTION DU
**DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN CHIRURGIE
DENTAIRE**

Présentée et soutenue publiquement

Par MAISANI, Mathieu Louis Elie

Né le 11 mai 1989 à Marseille

Le 02 février 2022

**Développement d'un bioréacteur pour l'étude *ex vivo* de
biomatériaux appliqués à l'Odontologie :
Élaboration d'un cahier des charges à partir d'une revue
systématique de la littérature**

Sous la direction de : Dr Olivia KEROUREDAN

Membres du jury :

M. FRICAIN Jean-Christophe
Mme. KEROUREDAN Olivia
M. DEVILLARD Raphaël
M. CATROS Sylvain

Professeur des universités
Maitre de conférences des universités
Professeur des universités
Professeur des universités

Président
Directeur
Rapporteur
Assesseur

UNIVERSITE DE BORDEAUX

MAJ
01/12/21

Président M. TUNON DE LARA Manuel
Directeur de Collège des Sciences de la Santé M. PELLEGRIN Jean-Luc

COLLEGE DES SCIENCES DE LA SANTE UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE DES SCIENCES ODONTOLOGIQUES

Directrice Mme BERTRAND Caroline 58-01
Directeur Adjoint à la Pédagogie Mr DELBOS Yves 56-01
Directeur Adjoint – Chargé de la Recherche M. CATROS Sylvain 57-01
Directeur Adjoint – Chargé des Relations Internationales M.SEDARAT Cyril 57-01

ENSEIGNANTS DE L'UFR

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

| | | | | |
|-----|-----------------|-------------|---|-------|
| Mme | Caroline | BERTRAND | Prothèse dentaire | 58-01 |
| Mme | Marie-José | BOILEAU | Orthopédie dento-faciale | 56-01 |
| M | Sylvain | CATROS | Chirurgie orale | 57-01 |
| M | Raphaël | DEVILLARD | Dentisterie restauratrice et endodontie | 58-01 |
| Mme | Véronique | DUPUIS | Prothèse dentaire | 58-01 |
| M. | Bruno | ELLA NGUEMA | Sciences anatomiques et physiologiques - Biomatériaux | 58-01 |
| M. | Jean-Christophe | FRICAIN | Chirurgie buccale – Pathologie et thérapeutique | 57-01 |

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

| | | | | |
|-----|-----------------|--------------|--|-------|
| Mme | Elise | ARRIVÉ | Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale | 56-02 |
| Mme | Audrey | AUSSEL | Sciences anatomiques et physiologiques | 58-01 |
| Mme | Cécile | BADET | Biologie Orale | 57-01 |
| M. | Etienne | BARDINET | Orthopédie dento-faciale | 56-01 |
| M. | Michel | BARTALA | Prothèse dentaire | 58-01 |
| M. | Cédric | BAZERT | Orthopédie dento-faciale | 56-01 |
| M. | Christophe | BOU | Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale | 56-02 |
| Mme | Sylvie | BRUNET | Chirurgie buccale – Pathologie et thérapeutique | 57-01 |
| M. | Jacques | COLAT PARROS | Sciences anatomiques et physiologiques | 58-01 |
| M, | Jean-Christophe | COUTANT | Sciences anatomiques et physiologiques | 58-01 |
| M. | François | DARQUE | Orthopédie dento-faciale | 56-01 |
| M. | François | DE BRONDEAU | Orthopédie dento-faciale | 56-01 |
| M. | Yves | DELBOS | Odontologie pédiatrique | 56-01 |
| M, | Emmanuel | D'INCAU | Prothèse dentaire | 58-01 |
| Mme | Mathilde | FENELON | Chirurgie Orale | 57-01 |
| Mme | Elsa | GAROT | Odontologie pédiatrique | 56-01 |
| M. | Dominique | GILLET | Dentisterie restauratrice et endodontie | 58-01 |
| Mme | Olivia | KEROUREDAN | Dentisterie restauratrice et endodontie | 58-01 |
| M. | Jean-François | LASSERRE | Prothèse dentaire | 58-01 |
| M. | Yves | LAUVERJAT | Parodontologie | 57-01 |
| Mme | Javotte | NANCY | Odontologie pédiatrique | 56-01 |

| | | | | |
|-----|----------|---------|--|-------|
| M. | Adrien | NAVEAU | Prothèse dentaire | 58-01 |
| M. | Philippe | POISSON | Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale | 56-02 |
| M. | Patrick | ROUAS | Odontologie pédiatrique | 56-01 |
| M. | Johan | SAMOT | Biologie Orale | 57-01 |
| Mme | Maud | SAMPEUR | Orthopédie dento-faciale | 56-01 |
| M. | Cyril | SEDARAT | Parodontologie | 57-01 |
| Mme | Noélie | THEBAUD | Biologie Orale | 57-01 |
| M. | Eric | VACHEY | Dentisterie restauratrice et endodontie | 58-01 |

AUTRES ENSEIGNANTS

| | | | | |
|----|----------------|---------------|-------------------|-------|
| M. | François | ROUZÉ L'ALZIT | Prothèse dentaire | 58-01 |
| M | Pierre-Hadrien | DECAUP | Prothèse dentaire | 58-01 |

ASSISTANTS

| | | | | |
|-----|---------------|-----------------------|--|-------|
| M. | William | AUMAILLEY | Prothèse dentaire | 58-01 |
| M. | Bastien | BERCAULT | Chirurgie Orale | 57-01 |
| M. | Baptiste | BERGES | Prothèse dentaire | 58-01 |
| Mme | Virginie | CHUY | Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale | 56-02 |
| Mme | Diane | DELADRIERE | Dentisterie restauratrice et endodontie | 58-01 |
| M | Quentin | DESPERIEZ | Prothèse dentaire | 58-01 |
| Mme | Laura | DONNET | Biologie Orale | 57-01 |
| Mme | Julia | ESTIVALS | Odontologie pédiatrique | 56-01 |
| Mme | Laurie | FUCHS | Odontologie pédiatrique | 56-01 |
| M. | Paul | GIRARDEAU | Sciences anatomiques et physiologiques | 58-01 |
| Mr | Pierre-André | GUILLAUD | Parodontologie | 57-01 |
| Mme | Jane | GOURGUES | Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale | 56-02 |
| Mr | Louis | HUAULT | Sciences anatomiques et physiologiques | 58-01 |
| Mme | Mathilde | JACQUEMONT | Parodontologie | 57-01 |
| Mr | Aymeric | JOUBERT DU CELLIER | Dentisterie restauratrice et endodontie | 58-01 |
| Mr | Jean-Baptiste | IRIBARREN | Dentisterie restauratrice et endodontie | 58-01 |
| Mme | Claudine | KHOURY | Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale | 56-02 |
| Mme | Camille | LACAULE | Orthopédie dento-faciale | 56-01 |
| M. | Antoine | LAFITTE | Orthopédie dento-faciale | 56-01 |
| M, | Xavier | LAGARDE | Chirurgie Orale | 57-01 |
| Mme | Mathilde | LEVRIER | Prothèse dentaire | 58-01 |
| Mme | Léa | MASSE | Prothèse dentaire | 58-01 |
| Mme | Chiara | PASCALI | Prothèse dentaire | 58-01 |
| Mme | Rawen | SMIRANI | Parodontologie | 57-01 |
| Mme | Florianne | VILLAT | Dentisterie restauratrice et endodontie | 58-01 |
| M. | Clément | VACHEY | Odontologie conservatrice – Endodontie | 58-01 |

REMERCIEMENTS

A notre Président de thèse

Monsieur le Professeur Jean-Christophe FRICAIN

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Sous-section Chirurgie-buccale pathologie thérapeutiques 57-01

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre thèse.

Nous vous remercions d'avoir vu en nous la graine de chirurgien-dentiste lors de nos travaux de thèse d'université en sciences au laboratoire Biotis.

Nous trouvons ici l'occasion de vous remercier pour votre confiance et votre bienveillance tout au long de notre parcours universitaire.

Nous vous exprimons aujourd'hui toute notre gratitude et notre profond respect.

A notre Directeur de thèse

Madame le Docteur Olivia KEROUREDAN

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier

Sous-section Dentisterie restauratrice et endodontie – 58-01

Nous vous remercions infiniment d'avoir accepté de diriger cette thèse et de nous avoir accompagné tout au long de sa rédaction.

Nous vous sommes reconnaissants pour votre rigueur et votre implication dans nos travaux.

Nous vous remercions également pour la qualité et la précision de vos enseignements durant nos études.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de notre gratitude et de nos sentiments les plus sincères.

A notre Rapporteur de thèse

Monsieur le Professeur Raphaël DEVILLARD

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Sous-section Dentisterie restauratrice et endodontie – 58-01

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail et d'en être le rapporteur.

Nous vous sommes reconnaissants pour votre disponibilité, votre bienveillance et l'attention que vous avez porté à ce travail.

Nous trouvons ici l'occasion pour vous remercier pour votre accompagnement, votre temps et votre énergie mis en œuvre lors de nos stages clinique au sein du service de médecine bucco-dentaire que vous dirigez.

Nous vous exprimons aujourd'hui notre sincère reconnaissance et notre profond respect.

A notre Assesseur

Monsieur le Professeur Sylvain CATROS

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Sous-section Chirurgie orale 57-01

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de participer à ce jury de thèse.

Nous vous remercions pour vos qualités humaines et de nous faire partager votre riche expérience de la chirurgie orale.

Nous vous remercions également pour les matinées où nous avons pu vous assister lors de vos vacations de chirurgies et apprécier vos grandes qualités techniques et humaines à l'égard de vos patients.

Nous vous exprimons aujourd'hui toute notre gratitude et notre profond respect.

À ma famille, ma belle-famille, Mathilde et Jules : mes mots ne seraient jamais à la hauteur de l'amour et l'affection que vous m'avez témoignée tout au long de mes études. Je vous remercie pour votre soutien infailible et votre amour inconditionnel.

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----|
| LISTE DES ABRÉVIATIONS | 10 |
| TABLE DES ILLUSTRATIONS | 11 |
| 1. INTRODUCTION | 12 |
| 1.1. Physiopathologie du complexe pulpo-dentinaire | 12 |
| 1.1.1. Complexe pulpo-dentinaire | 12 |
| 1.1.2. La dentine | 12 |
| 1.1.3. La pulpe dentaire | 14 |
| 1.1.4. Réaction de défense du complexe pulpo-dentinaire | 16 |
| 1.2. Mécanismes biologiques et critères de cicatrisation lors de l'utilisation de biomatériaux pour la réparation du complexe pulpo-dentinaire | 18 |
| 1.3. Biomatériaux utilisés dans le cadre des stratégies de réparation et de régénération du complexe pulpo-dentinaire | 19 |
| 1.3.1. Hydroxyde de calcium | 19 |
| 1.3.2. Mineral Trioxide Agregate (MTA®) | 20 |
| 1.3.3. Biodentine™ | 21 |
| 1.4. Approches basées sur l'ingénierie tissulaire pour la régénération du complexe pulpo-dentinaire | 23 |
| 1.5. Modèles d'étude utilisés dans le cadre des stratégies de réparation et de régénération du complexe pulpo-dentinaire | 25 |
| 1.5.1. Modèles <i>in vitro</i> | 25 |
| 1.5.2. Modèles <i>in vivo</i> | 26 |
| 1.5.3. Modèles <i>ex vivo</i> | 27 |
| 1.6. Objectif du travail de thèse | 27 |
| 2. MATERIEL & METHODES | 28 |
| 2.1. Stratégie de recherche et sources des données | 28 |
| 2.2. Critère d'éligibilité | 28 |
| 2.3. Sélection des articles | 28 |

| | | |
|------|---|----|
| 2.4. | Extraction des données et synthèse | 29 |
| 3. | RESULTATS | 30 |
| 1. | Déroulement de la recherche bibliographique | 30 |
| 2. | Synthèse des résultats | 32 |
| a. | Types de modèles utilisés..... | 32 |
| b. | Méthodes de préparation du modèle | 32 |
| c. | Méthodes de culture du modèle..... | 33 |
| d. | Objectifs et moyens d'évaluation..... | 33 |
| 4. | DISCUSSION | 43 |
| 5. | CONCLUSION | 52 |
| 6. | REFERENCES | 53 |
| | ANNEXES | 59 |

LISTE DES ABRÉVIATIONS

| | |
|----------------|---|
| DKK1 | Dickkopf-related protein 1 (Protéine Dickkopf, variante 1) |
| DMEM | Dulbecco's Modified Eagle's Minimal Essential Medium (Milieu essentiel minimum de Eagle modifié par Dulbecco) |
| ELISA | Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (Technique d'immunoabsorption par enzyme liée) |
| FBS | Fetal Bovine Serum (Sérum de veau fœtal) |
| MEM | Minimal Essential Medium (Milieu essentiel minimum) |
| MTA | Mineral Trioxide Aggregate (Agrégat de trioxyde minéral) |
| MTT | 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (Bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium) |
| RT-qPCR | Reverse Transcription- quantitative Polymerase Chain Reaction (Transcriptase inverse – réaction en chaîne par polymérase quantitative) |
| SEM | Scanning Electron Microscopy (Microscopie électronique à balayage) |
| SOST | Sclerostin (Sclérostine) |
| μCT | micro Computed Tomography (Tomographie aux rayons X assistée par ordinateur) |
| VEGF | Vascular Endothelial Growth Factor (Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire) |

TABLE DES ILLUSTRATIONS

| | |
|--|----|
| FIGURE 1 LA DENTINE PRIMAIRE, FORMEE LORS DU DEVELOPPEMENT DE LA DENT. LA DENTINE SECONDAIRE SECRETEE DE FAÇON PHYSIOLOGIQUE APRES QUE LA DENT AIT FAIT SON ERUPTION SUR L'ARCADE DENTAIRE. D'APRES(2) | 13 |
| FIGURE 2 REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE L'ORGANISATION DES TISSUS DENTAIRES ET DU COMPLEXE PULPO-DENTINAIRE, D'APRES (7) | 15 |
| FIGURE 3 LES DEUX TYPES DE DENTINOGENESE TERTIAIRE : REACTIONNELLE ET REPARATRICE, D'APRES (9) | 17 |
| FIGURE 4 OBSERVATION DU CIMENT BIODENTINE™ AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE (MEB). A : CRISTAUX DE CARBONATE DE CALCIUM ; B : HYDROXYDE DE CALCIUM ; C : GEL CSH.(20) | 22 |
| FIGURE 5 PROPRIETES MECANQUES DE LA BIODENTINE™ COMPAREES A CELLES DE LA DENTINE ET DU MTA, ADAPTE D'APRES(20) | 22 |
| FIGURE 6 DEUX STRATEGIES DE REGENERATION DE LA PULPE DENTAIRE : PAR APPORT DE FACTEURS DE CROISSANCE RECRUTANT LES CELLULES DE L'HOTE OU PAR APPORT DE CELLULES ASSOCIEES A DES FACTEURS DE CROISSANCE, D'APRES (44). | 24 |
| FIGURE 7 DIAGRAMME DE FLUX PRISMA | 31 |
| FIGURE 8 REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN BIOREACTEUR A PERFUSION INDIRECTE, LA POMPE PERISTALTIQUE CREE UN FLUX LAMINAIRE DE MILIEU REPRESENTÉ PAR LES FLECHES BLEUES. | 49 |
| FIGURE 9 REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN SYSTEME DE BIOREACTEUR OPTIMISANT LA CONSERVATION D'UNE DENT EN CULTURE. A) PHASE ASCENDANTE DU MILIEU DE CULTURE AMELIORANT LA DIFFUSION DES NUTRIMENTS ET DE L'OXYGENE AU SEIN DU COMPLEXE PULPO-DENTINAIRE ; B) PHASE DESCENDANTE OPTIMISANT L'EVACUATION DES DECHETS LIES AU METABOLISME. | 50 |
| FIGURE 10 PROTOTYPE DU BIOREACTEUR | 59 |
| FIGURE 11 MISE EN SITUATION DU BIOREACTEUR CONTENANT DU MILIEU DE CULTURE CELLULAIRE LORS DE LA PHASE ASCENDANTE (A) PUIS DESCENDANTE (B) DU PISTON. UN FILTRE 0,22µM EST PLACE SUR L'EVENT DE LA SERINGUE SUPERIEURE AFIN DE LIMITER L'ENTREE DE CONTAMINANTS. | 60 |
| <hr/> | |
| TABLEAU 1 TYPE DE MODELE ET CHOIX DE L'EXPLANT | 36 |
| TABLEAU 2 METHODES DE TRANSPORT ET DE PREPARATION DE L'EXPLANT | 38 |
| TABLEAU 3 METHODES DE CULTURE DU MODELE | 40 |
| TABLEAU 4 OBJECTIFS DE L'ETUDE ET MOYENS D'EVALUATION | 42 |

1. INTRODUCTION

1.1. Physiopathologie du complexe pulpo-dentinaire

1.1.1. Complexe pulpo-dentinaire

Le complexe pulpo-dentinaire est considéré comme une véritable unité anatomique et fonctionnelle au sein de l'organe dentaire. Cette entité est recouverte par l'émail au niveau coronaire et par le cément au niveau radiculaire. Elle comprend : i) la dentine, tissu minéralisé synthétisé par les odontoblastes présents à la périphérie pulpaire ; ii) la pulpe dentaire, tissu conjonctif lâche possédant une composition et une structure semblables à celles des autres tissus conjonctifs de l'organisme (1). Le complexe pulpo-dentinaire possède d'importantes capacités d'adaptation et de réponse aux différents stimuli externes, permises par les interactions permanentes existant entre la dentine et la pulpe.

1.1.2. La dentine

La dentine est un tissu conjonctif minéralisé qui constitue la majeure partie de l'organe dentaire (Figure 1). Elle résulte majoritairement de l'activité de synthèse, de sécrétion et de dégradation des odontoblastes. Seuls certains composants mineurs de la matrice dentinaire sont d'origine sérique et ne sont pas régulés par l'activité odontoblastique (1). Ce tissu constitue une barrière protectrice face aux agressions de l'environnement extérieur. Cette barrière physique est formée de manière physiologique de dentine primaire et secondaire et de manière physiologique de dentine tertiaire, décrite dans la *partie 1.1.4 Réaction de défense du complexe pulpo-dentinaire*.

Sa composition lui confère des propriétés mécaniques d'élasticité et des propriétés biologiques jouant un rôle dans les mécanismes de cicatrisation pulpaire.

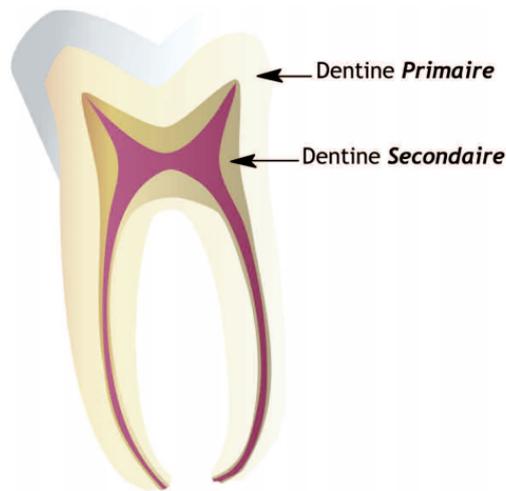


Figure 1 La dentine primaire, formée lors du développement de la dent. La dentine secondaire sécrétée de façon physiologique après que la dent ait fait son éruption sur l'arcade dentaire. D'après(2)

1.1.2.1. Composition de la dentine

La dentine saine est composée (1) :

- D'une partie minérale (70%) : phosphates de calcium (hydroxyapatite carbonatée et magnésinée) ;
- D'une partie organique (20%) : composée à 90 % de collagène de type I (majoritaire), III, V. On retrouve également une matrice non collagénique (10 %) composée de protéines spécifiques de la dentine (phosphoprotéine dentinaire (DPP) ou sialoprotéine dentinaire (DSP)), et des protéines non spécifiques de la dentine (ostéopontine, ostéocalcine, ostéonectine, albumine, protéoglycanes, facteurs de croissance, protéines amélaire, protéases et phospholipides) ;
- D'eau (10%).

1.1.2.2. Structure canaliculaire de la dentine

Les *tubuli dentinaires* confèrent à la dentine une structure poreuse. Ils sont au nombre de 30.000/mm² en moyenne (leur densité augmente en s'approchant de la pulpe) et leur diamètre varie entre 1 et 3 µm. Cette architecture canaliculaire fait de la dentine une véritable membrane perméable permettant la communication entre la pulpe et le milieu extérieur (1) (Figure 2).

1.1.3. La pulpe dentaire

La pulpe est un tissu conjonctif lâche et spécialisé, situé au cœur de la dent. Au cours du développement dentaire, la pulpe va se trouver progressivement entourée, au niveau coronaire puis radiculaire, par du tissu dentinaire. La pulpe mature est donc confinée dans un espace quasiment clos, inextensible, divisé en une portion large située à l'intérieur de la couronne : la chambre pulpaire. On retrouve ensuite une portion plus étroite située à l'intérieur de la racine : le canal radiculaire. Au niveau apical subsiste un orifice appelé « foramen apical » où arrivent les éléments qui assurent la vascularisation et l'innervation du tissu (3) (Figure 2).

1.1.3.1. Rôles de la pulpe dentaire

Les principales fonctions de la pulpe sont la formation des dentines primaire, secondaire et réactionnelle par les odontoblastes primaires, la formation de dentine réparatrice par les odontoblastes secondaires (ou odontoblastes de remplacement).

La pulpe dentaire est un tissu richement vascularisé. Les vaisseaux sanguins pénètrent dans la pulpe par les foramens apicaux et secondaires (4). Ils se ramifient progressivement pour former un réseau de capillaires sous-odontoblastique : ces capillaires sont fenestrés à proximité des odontoblastes ce qui permet une meilleure diffusion des nutriments nécessaires à l'activité des odontoblastes.

La pulpe a également des fonctions neurosensorielles qui se manifestent par la transmission de stimuli douloureux au cerveau. Ces fonctions s'exercent notamment lors d'agressions d'origine pathologique (caries, abrasion) ou iatrogène (évicton de tissu carieux, préparations prothétiques) (5).

1.1.3.2. Organisation de la pulpe dentaire

La pulpe dentaire est organisée en plusieurs couches successives qui sont, de sa périphérie (au contact de la dentine) vers son centre (6) :

- La couche odontoblastique, qui forme une palissade où les odontoblastes sont unis *via* des jonctions cellulaires étanches permettant protection et communication intercellulaire. Les odontoblastes présentent un prolongement qui occupe le tubulus dentinaire et qui est impliqué dans la sécrétion de dentine intratubulaire ;

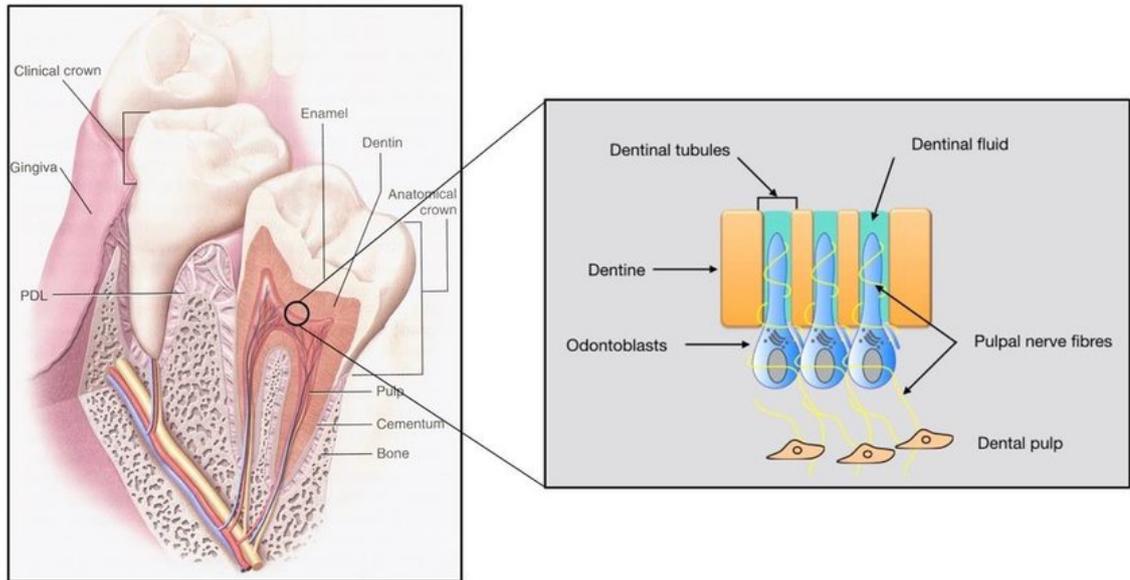


Figure 2 Représentation schématique de l'organisation des tissus dentaires et du complexe pulpo-dentinaire, d'après (7)

- La couche acellulaire de Weil, d'une épaisseur de 40 μm , innervée et vascularisée. Elle assure un apport en éléments nécessaires aux odontoblastes pour leur activité de synthèse et de minéralisation ;
- La couche de Höhl, qui présente une forte densité cellulaire où l'on retrouve des cellules n'ayant pas réalisé leur dernière mitose nécessaire pour parvenir au phénotype cellulaire terminal d'odontoblastes. Ces cellules sont recrutées lors d'une atteinte des odontoblastes d'origine traumatique, infectieuse ou iatrogène.
- La zone pulpaire centrale, qui contient des fibres nerveuses et les vaisseaux sanguins, contenant également plusieurs types cellulaires :
 - Les fibroblastes pulpaire : cellules responsables du renouvellement de la matrice extracellulaire qui, par ses propriétés viscoélastiques, permet à la pulpe de s'adapter aux variations de pression lors des processus physiopathologiques.
 - Les cellules de défense qui assurent une protection immunitaire du tissu pulpaire en cas d'agression bactérienne : cellules dendritiques, mastocytes, macrophages et lymphocytes T.
 - Les cellules progénitrices ou cellules mésenchymateuses indifférenciées qui pourront, en fonction des stimuli, se différencier en différents types cellulaires.

1.1.4. Réaction de défense du complexe pulpo-dentinaire

En réponse à une agression physique, chimique ou bactérienne, le complexe pulpo-dentinaire va mettre en jeu des mécanismes de défense visant à préserver son intégrité. La réponse de la pulpe suite à l'agression de l'intégrité du complexe pulpo-dentinaire va dépendre de différents facteurs dont l'intensité et la durée de cette agression mais également de l'état pulpaire au moment de l'agression (1).

1.1.4.1. *La sclérose dentinaire*

Une carie à progression lente peut aboutir à la formation d'une zone de sclérose dentinaire. Celle-ci est caractérisée par une réduction progressive du diamètre de la lumière tubulaire pouvant même aboutir à l'obturation complète du tubule par des sels phosphocalciques. Une barrière physique est ainsi formée afin de protéger la pulpe de la diffusion d'irritants bactériens (8).

1.1.4.2. *La dentine réactionnelle*

Elle est rencontrée généralement dans le cas d'une agression légère à modérée, d'évolution lente. La dentine réactionnelle est alors produite par les odontoblastes primaires jusqu'à ce qu'une thérapeutique adaptée endigue l'agression. C'est suite à l'agression des tissus que les odontoblastes vont augmenter leur fonction sécrétoire créant ainsi une matrice extracellulaire où des minéraux cristalliseront. Ce processus mène à la formation d'une dentine tertiaire qui répare alors partiellement le tissu lésé. Ce mécanisme est entièrement dépendant de la survie des odontoblastes à l'agression (5) (Figure 3).

1.1.4.3. *La dentine réparatrice*

Lors d'une effraction pulpaire d'origine traumatique ou iatrogène, ou lorsque la progression carieuse s'accélère et passe d'un stade de lésion chronique à un stade de lésion active, la dentine réactionnelle est détruite. En effet, une nécrose des odontoblastes se produit en regard de la lésion. Suite à la nécrose des odontoblastes, des cellules issues de la région sous-odontoblastique vont se diviser, puis migrer au contact de la zone de nécrose et se différencier en odontoblastes de remplacement (ou odontoblastes secondaires/de deuxième génération).

Ces odontoblastes vont alors synthétiser une nouvelle matrice qui va se minéraliser et former l'orthodentine, celle-ci présente des tubuli et une organisation (cellules alignées en périphérie) comparable à la dentine saine (1) (Figure 3).

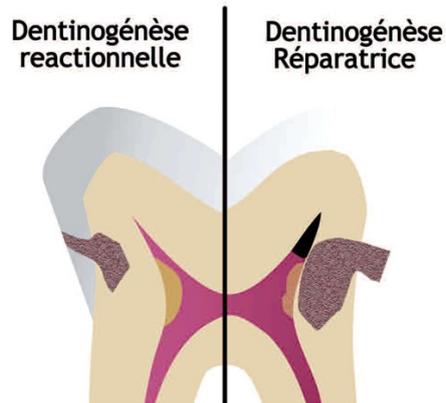


Figure 3 Les deux types de dentinogénèse tertiaire : réactionnelle et réparatrice, d'après (9)

1.1.4.4. L'inflammation

Les irritants parvenant au niveau pulpaire provoquent une réaction inflammatoire ou pulpite, régie par des mécanismes physiopathologiques identiques à ceux qui surviennent dans tout tissu conjonctif (1). Les toxines bactériennes ainsi que les produits de dégradation de la dentine vont transiter dans les tubuli dentinaires dont la perméabilité est augmentée. Les premières cellules rencontrées par les bactéries sont les odontoblastes qui vont déclencher une réponse inflammatoire (10). Face à l'atteinte de l'intégrité de la pulpe, les cellules immunocompétentes (dont les odontoblastes) vont être stimulées *via* leurs récepteurs membranaires et déclencher la réaction inflammatoire. Au fil de la progression de la lésion les cellules de défense (macrophages, lymphocytes B et T) sont recrutées et infiltrent la pulpe, les produits de relargage de ces cellules vont activer des voies de signalisation et participer à l'inflammation pulpaire (1,11).

Les systèmes vasculaires et nerveux de la pulpe vont jouer un rôle important lors du processus inflammatoire :

- la vasodilatation permet l'apport de cellules immunocompétentes et de cellules progénitrices péri-vasculaires (12) ;
- le système nerveux, en réponse à la stimulation par les antigènes bactériens, active la libération de neuropeptides qui participent au déclenchement des mécanismes inflammatoires et activent la réponse immunitaire (13).

1.2. Mécanismes biologiques et critères de cicatrisation lors de l'utilisation de biomatériaux pour la réparation du complexe pulpo-dentinaire

En cas d'effraction pulpaire, la pulpe doit être isolée du milieu extérieur afin de promouvoir une réparation du complexe pulpo-dentinaire. La procédure clinique consiste à réaliser un coiffage pulpaire à l'aide d'un biomatériau adapté et capable d'induire la formation d'une barrière de dentine réparatrice entre la pulpe et le biomatériau. Plusieurs paramètres sont nécessaires pour maximiser les chances de succès clinique du coiffage pulpaire : l'inflammation pulpaire doit être éliminée, le matériau doit être biocompatible et promouvoir la formation du pont dentinaire. Avant la formation du pont dentinaire, différentes étapes se succèdent : l'hémostase, la réponse inflammatoire, telle que décrite précédemment, puis le recrutement des lignées cellulaires responsables de la dentinogénèse.

Lorsque les cellules pulpaires arrivent au contact de la zone de nécrose, elles adoptent une forme cuboïdale puis épineuse avec de nombreux prolongements. Elles se différencient et synthétisent des collagènes de type II et XI (caractéristiques du tissu cartilagineux) puis produisent une matrice extracellulaire riche en collagène et en fibronectine. Une fois minéralisée, cette matrice est appelée fibrodentine. Elle ne contient pas de tubules, est moins minéralisée et structurée que la dentine native. Cette fibrodentine est un préalable à l'adhésion des cellules pulpaires et à la différenciation des odontoblastes de remplacement qui vont alors synthétiser une nouvelle matrice qui va se minéraliser et former l'orthodentine. Cette dernière, contrairement à la fibrodentine, présente des tubuli et une organisation (cellules alignées en périphérie) comparable à la dentine saine (1). Les matériaux de coiffage pulpaire bioactifs interviennent dans cette cascade à différentes étapes. Le relargage des ions calcium et silicium vont promouvoir la formation de tissus durs et la reminéralisation de la dentine (14,15). Des études réalisées sur des dents conservées dans du milieu de culture ont montré que le relargage d'ions calcium et silicium par les biomatériaux stimule la différenciation des cellules progénitrices pulpaires en odontoblastes et augmentent la sécrétion du facteur TGF-(β)1 (16). Le facteur de croissance TGF-(β)1 est sécrété physiologiquement par les odontoblastes. Lors d'une agression bactérienne, la dentine va relarguer ce facteur qui va notamment promouvoir le recrutement et la migration des cellules impliquées dans la cicatrisation pulpo-dentinaire (17).

1.3. Biomatériaux utilisés dans le cadre des stratégies de réparation et de régénération du complexe pulpo-dentinaire

1.3.1. Hydroxyde de calcium.

Historique

L'hydroxyde de calcium était le matériau de choix pour la réalisation de coiffage pulpaire suite aux travaux de Herman en 1920 (18) puis de Zander en 1939 (19).

Composition

C'est une base alcalino-terreuse qui résulte d'une réaction exothermique entre la chaux vive (CaO) et l'eau (H₂O) pour donner l'hydroxyde de calcium de formule Ca(OH)₂ également appelée chaux éteinte ou chaux hydratée.

Propriétés physiques

La résistance à la compression de l'hydroxyde de calcium est faible : environ 6 MPa au bout de 30 minutes, contre 297 MPa pour la dentine (20). L'hydroxyde de calcium est très peu hydrosoluble ce qui limite les effets de nécrose des tissus avec lesquels il est mis en contact. Cette propriété s'oppose à la diffusion alcaline, chose importante car son pH élevé (12,4) serait iatrogène pour la pulpe (pH 6,9-7,1) dans le cas d'une solubilité du matériau.

Propriétés biologiques

Ses propriétés biologiques induisent une différenciation cellulaire conduisant à la sécrétion de dentine tertiaire. D'un point de vue clinique, l'hydroxyde de calcium permet une conservation de la vitalité pulpaire, protège la pulpe des stimuli thermoélectriques et possède une action antimicrobienne du fait de son pH alcalin. Le pH élevé permet également d'agir comme tampon face aux réactions acides entraînées par le processus inflammatoire (21). Cependant, des essais cliniques montrent qu'un échec du coiffage pulpaire réalisé avec l'hydroxyde de calcium peut être observé, lorsque ces études sont menées à long terme, notamment liés à la dégradation graduelle du matériau et aux défauts de structure rencontrés dans le pont dentinaire néoformé (22). Malgré ses propriétés antibactériennes, le pH élevé est responsable de nécroses de la surface de la pulpe. De plus, certaines bactéries (*Enterococcus faecalis* ou les champignons *Candida albicans*) résistent à l'effet bactéricide du biomatériau (23). Les auteurs ont également pu remarquer la formation de calcifications ainsi qu'un manque d'adhésion aux tissus dentaires de l'hydroxyde de calcium (24).

1.3.2. Mineral Trioxide Agregate (MTA®)

Historique

Le MTA® a été développé en 1993 par l'équipe de Torabinejad. A son origine, il était indiqué pour la réalisation d'obturations apicales lors des chirurgies endodontiques *a retro* (25). C'est en 1996 que son utilisation comme matériau de coiffage pulpaire a été décrit dans la littérature.

Composition

Le MTA® est un dérivé du ciment de Portland (matériau utilisé dans la construction). Il est composé de : silicate tricalcique, silicate dicalcique, aluminat tricalcique, aluminoferrite tetracalcique. Il contient également de l'oxyde de bismuth afin de rendre le matériau radio-opaque et du gypse qui est un accélérateur de prise.

Propriétés physiques

Malgré l'ajout de gypse, le temps de prise du MTA® reste long pour une utilisation clinique (2h45). Pour pallier cette problématique, certains fabricants comme Micro-Méga® ont ajouté du carbonate de calcium afin de limiter le temps de prise (20 minutes). L'étude des propriétés d'étanchéité du MTA® a montré que celles-ci sont meilleures que celles mesurées pour l'amalgame ou l'IRM (26). De plus, le MTA® offre une meilleure résistance à la pénétration bactérienne que les ciments oxyde de zinc - eugénol. Du fait du caractère hydrophile du MTA®, ses propriétés ne sont pas altérées ni par le sang ou l'humidité présents lors de sa mise en œuvre.

Propriétés biologiques

Les études menées *in vitro* et *in vivo* ont montré que le MTA® est biocompatible (27,28). Il a également été montré *in vivo* que le MTA® provoque une réaction inflammatoire légère à modérée à 7 jours puis que la réponse inflammatoire réduit après 30 jours (29). De plus, des études *in vivo* ont montré que le MTA® provoque une inflammation pulpaire moindre que celle engendrée par l'hydroxyde de calcium (30). En milieu aqueux, le pH élevé du MTA® (12,5) lui confère une action antibactérienne sur certaines bactéries anaérobies facultatives (31). Le MTA® est un matériau bioactif agissant sur les cellules pulpaires responsables de la dentinogénèse (32). Le pont dentinaire néoformé apparaît deux mois après la réalisation du coiffage pulpaire et fusionne de façon étanche avec les parois dentinaires existantes. Cependant, malgré la calcification uniforme de cette dentine réparatrice, sa structure est différente de la dentine physiologique (morphologie globulaire et non tubulaire) (2).

Toutefois, le pont dentinaire obtenu lors de la réalisation du coiffage pulpaire avec le MTA® est plus important et la dentine est plus uniforme en comparaison à ceux obtenus en utilisant l'hydroxyde de calcium (32,33).

1.3.3. Biodentine™

Historique

La Biodentine™ est un substitut dentinaire bioactif qui a été mis sur le marché en 2010 par la société française Septodont®. Les laboratoires de recherche et développement de cette société ont amélioré les propriétés des ciments tricalciques (augmentation des propriétés mécaniques et biologiques, diminution du temps de prise) pour en faciliter l'utilisation comme biomatériau de coiffage pulpaire.

Composition

Le conditionnement de la Biodentine™ se présente en une capsule de poudre et une dosette de liquide. Une fois le mélange poudre / liquide réalisé, la capsule est à vibrer 30 secondes. Le composant principal de la poudre est le silicate tricalcique et dicalcique. On y retrouve également de l'oxyde de zirconium (radio-opacifiant), du carbonate et chlorure de calcium (charges du matériau) et des polymères (additifs) (34). Le liquide est composé d'eau purifiée (composé majoritaire), de chlorure de calcium (accélérateur de prise) et de polymère hydrosoluble.

Propriétés physiques

Lors de son utilisation en clinique, le temps de prise est de 9 à 12 minutes, mais du fait de sa structure de gel, il faut attendre 28 jours pour obtenir une stabilité mécanique du matériau (35). Lors de la réaction de prise, l'hydratation du silicate tricalcique produit un gel poreux de silicate de calcium hydraté (gel CSH) et d'hydroxyde de calcium (CaOH_2) (Figure 4). Dans les heures et les jours qui suivent la mise en place de la Biodentine™, le carbonate de calcium (CaCO_3) remplit les espaces inter-grains du ciment (20). Les liaisons entre les particules de carbonate de calcium augmentent au cours du temps avec la formation du gel CSH jouant ainsi un rôle dans la fermeture des porosités. En engendrant la formation de microstructures, la réaction d'hydratation permet le développement de la résistance mécanique du matériau (20).

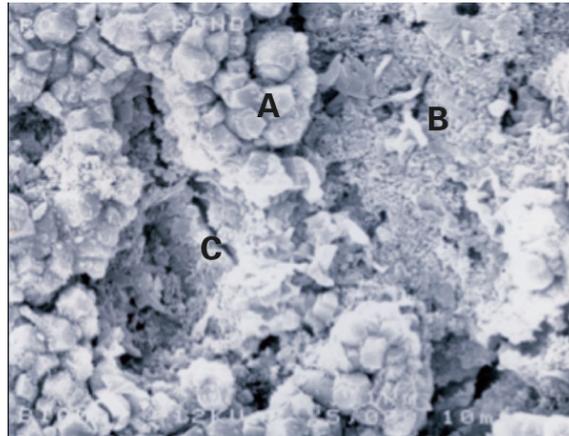


Figure 4 Observation du ciment Biodentine™ au microscope électronique à balayage (MEB). A : cristaux de carbonate de calcium ; B : hydroxyde de calcium ; C : gel CSH.(20)

L'étude des propriétés mécaniques de la Biodentine™ révèle que ce matériau présente des propriétés proches de celles de la dentine physiologique, supérieures à celles du MTA (36) (Figure 5).

| | Dentine | Biodentine™ | MTA |
|--|---------|-----------------|--------------|
| Module élastique (GPa) | 19,5 | 22 | nd |
| Dureté (VHN) | 50-87 | 90 (à 28 jours) | 27 (à 24h) |
| Résistance à la flexion (MPa) | 60 | 34,5 (à 2h) | 15,7 (à 24h) |
| Résistance à la compression (MPa) | 297 | 150 (à 24h) | 40 (à 24h) |

Figure 5 Propriétés mécaniques de la Biodentine™ comparées à celles de la dentine et du MTA, adapté d'après(20)

La Biodentine™ est également résistante à l'hydrolyse : son état de surface est très peu altéré en environnement acide (deux fois moins en comparaison avec un ciment verre ionomère) et la salive n'entraîne pas de phénomène d'érosion significatif (36). La morphologie de l'interface dentine-Biodentine™ permet d'obtenir des propriétés d'adhésion et d'étanchéité à cette jonction. Ceci est dû à la morphologie de l'interface : une zone de diffusion cristalline intra-tubulaire et une zone d'infiltration minérale inter-tubulaire. Cette dernière serait liée à un double effet de l'hydroxyde de calcium libéré lors de la réaction de prise. Il entraîne un mordantage alcalin suivi d'une diffusion minérale (20).

Propriétés biologiques

Les essais précliniques étudiant les propriétés de la Biodentine™ ont montré une biocompatibilité ainsi qu'une absence de cytotoxicité, de mutagénicité et de génotoxicité (ISO 7405 et ISO 10993), et un comportement bioactif (37,38).

Parmi les propriétés bioactives de la Biodentine™ peuvent être citées :

- Sa capacité à promouvoir la formation d'hydroxyapatite au contact du matériau. Ce phénomène nécessite la présence d'ions phosphates exogènes que l'on retrouve dans les fluides biologiques. Cette propriété est responsable du phénomène de reminéralisation à l'interface dentine-Biodentine™ et permet le comblement des défauts d'étanchéité au cours du temps ;
- A l'échelle cellulaire, sa capacité à promouvoir l'adhésion, la migration et la prolifération cellulaire (39) ;
- Son action sur les facteurs de croissance responsables de l'angiogenèse (VEGF et FGF2), de l'inflammation (inhibition de TNF- α) et de la cicatrisation (TGF-(β)1) (17,40,41).

Ces propriétés font de la Biodentine™ un matériau capable de favoriser la stimulation, l'adhésion et la différenciation des cellules pulpaires vers la lignée odontoblastique ainsi que la formation d'un pont de dentine réparatrice.

1.4. Approches basées sur l'ingénierie tissulaire pour la régénération du complexe pulpo-dentinaire

L'ingénierie tissulaire est un domaine d'étude en pleine expansion. Appliquée à l'odontologie, son objectif est de promouvoir la régénération de l'organe dentaire, partiellement ou dans son intégralité, suite à une lésion d'origine pathologique, iatrogène ou traumatique. Un des objectifs de l'ingénierie tissulaire est donc d'impulser les mécanismes de régénération du complexe pulpo-dentinaire. Différentes approches sont employées dans ce but (Figure 6) :

- L'utilisation de cellules souches allogènes, provenant par exemple de banques de cellules puis qui sont transplantées seules ou avec un matériau d'échafaudage. Ces procédures sont complexes et très onéreuses ce qui compromet leur utilisation en clinique (42) ;

- L'utilisation de molécules bioactives capables de recruter les cellules de l'hôte, notamment celles présentes au sein de la pulpe dentaire (43). Ces molécules employées peuvent être par exemple des facteurs de croissance (BMP-2, FGF-2) (44) ou des protéines kinases (43), associés à des échafaudages (par exemple des éponges de collagène). Différents types d'échafaudage peuvent être employés comme les éponges de collagène ou des hydrogels afin de délivrer les molécules bioactives au sein du tissu à régénérer (44,45).

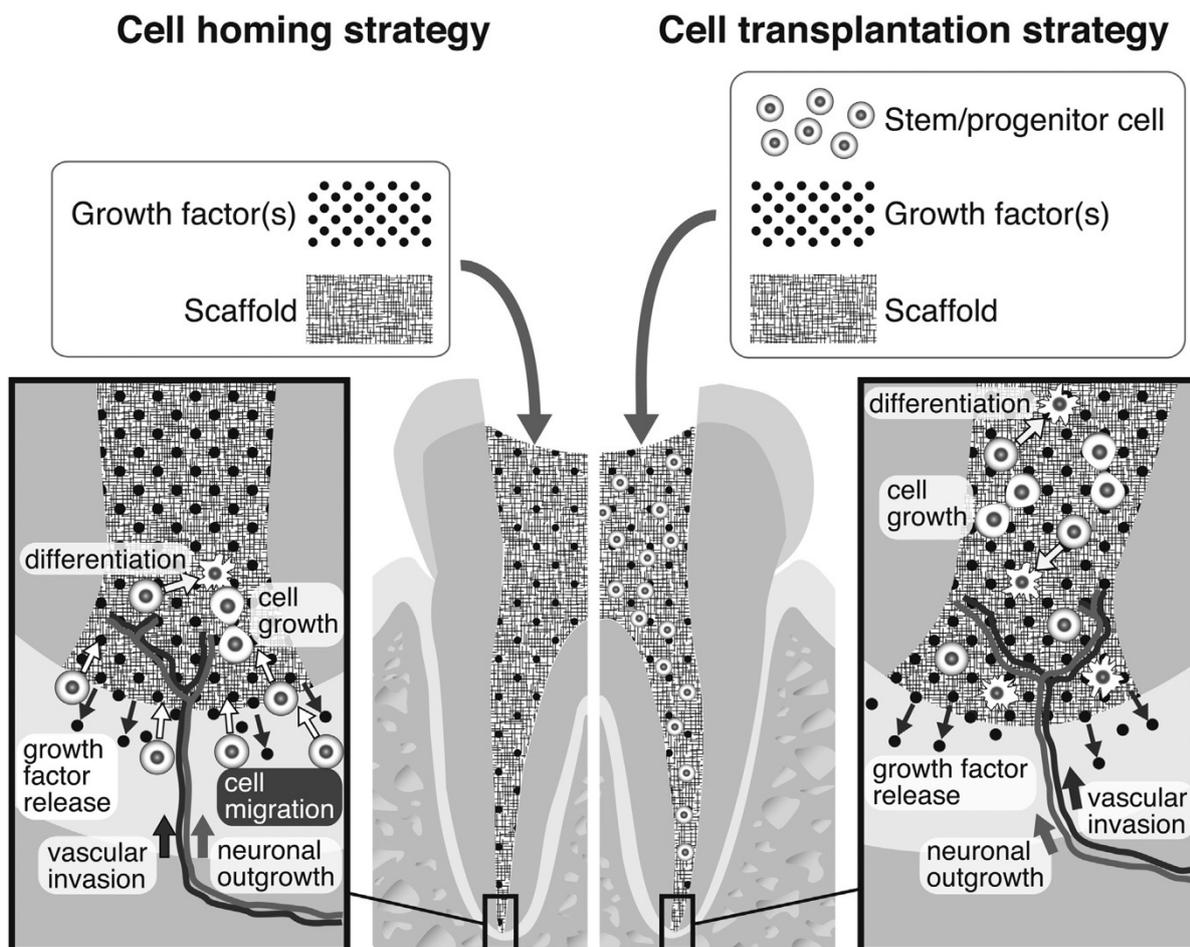


Figure 6 Deux stratégies de régénération de la pulpe dentaire : par apport de facteurs de croissance recrutant les cellules de l'hôte ou par apport de cellules associées à des facteurs de croissance, d'après (44).

Ces différentes stratégies présentent des résultats prometteurs *in vitro* : induction de la migration, de la prolifération et de la différenciation des cellules souches et cellules progénitrices de la pulpe dentaire (42). Les résultats de la revue de littérature de Eramo *et al.* montrent que les études *in vivo* utilisant des techniques d'ingénierie tissulaire pour la

régénération de la pulpe dentaire permettent de créer une néovascularisation et dans certains cas une ré-innervation accompagnée de la formation de dentine présentant une architecture et une densité cellulaire similaires à la dentine native (42,46). Dans ces études, les auteurs soulignent les importantes avancées qui ont été réalisées dans la compréhension des mécanismes sous-jacents la régénération du complexe pulpo-dentinaire à l'échelle cellulaire et moléculaire (47). Les auteurs soulèvent cependant que les modèles *in vivo* utilisés ne semblent pas transposables à l'humain : impossibilité de recréer des environnements pathologiques, comme des lésions périapicales ou des nécroses pulpaires, ou nombre de cellules endogènes trop faible dans les modèles animaux utilisés (48).

1.5. Modèles d'étude utilisés dans le cadre des stratégies de réparation et de régénération du complexe pulpo-dentinaire

Lors du développement d'un biomatériau appliqué à la régénération du complexe pulpo-dentinaire, celui-ci doit répondre au cahier des charges commun aux dispositifs médicaux de classe IIa mais également faire preuve de propriétés bioactives pour participer à la régénération du complexe pulpo-dentinaire. Le biomatériau doit donc répondre aux exigences des normes et directives ISO en vigueur. Les capacités à promouvoir la régénération du complexe pulpo-dentinaire devront également être évaluées afin de s'assurer de l'efficacité et de l'intérêt d'un nouveau matériau. Pour cela, des études sont menées à l'aide de modèles *in vitro* puis *in vivo*.

1.5.1. Modèles *in vitro*

Parmi les essais obligatoires en odontologie, à réaliser *in vitro*, nous retrouvons les essais de cytotoxicité et les essais de génotoxicité (49).

Ces essais sont réalisés dans des récipients adaptés à la culture cellulaire tels que les boîtes de Pétri en verre, les flacons de culture en plastique, les plaques multi-puits et les plaques de micro-titration en plastique (50).

Les essais de cytotoxicité utilisant des techniques de culture cellulaire peuvent servir à déterminer la mort cellulaire (par exemple lyse cellulaire), l'inhibition de la croissance cellulaire, la formation de colonies et les autres effets sur les cellules causés par les dispositifs

médicaux, les matériaux et/ou leurs extraits. Lorsque des essais sont effectués, ils doivent être menés conformément à l'ISO 10993-5 (49).

Les essais de génotoxicité sont menés pour évaluer le potentiel de mutation des gènes, les modifications de la structure ou du nombre des chromosomes et les autres effets toxiques pour les gènes ou l'ADN causés par les dispositifs médicaux, les matériaux et/ou leurs extraits. Lorsque des essais sont effectués, ils doivent être menés conformément à l'ISO 10993-3 (49).

1.5.2. Modèles *in vivo*

Les études *in vivo* sont réalisées sur un modèle animal afin d'évaluer trois paramètres du biomatériau : l'irritation, la toxicité, la cancérogénicité.

Afin d'évaluer le potentiel irritant des composants du matériau, les essais réalisés doivent être adaptés à la voie (peau, œil, muqueuse) et à la durée d'exposition ou contact et doivent être menés conformément à l'ISO 10993-10.

Des essais d'implantation et d'étude de la toxicité (systémique aiguë, subchronique, chronique) sont réalisés pour déterminer les effets d'une exposition unique ou multiple aux dispositifs médicaux, matériaux et/ou leurs extraits. En fonction des paramètres étudiés, la période d'exposition pourra aller de 24 heures (toxicité aiguë) à la durée de vie de l'animal d'essai, par exemple 6 mois pour le rat (toxicité chronique) conformément à l'ISO 10993-11 et l'ISO 10993-6 pour l'implantation.

L'ISO 10993-3 traite de la stratégie permettant d'évaluer la cancérogénicité des dispositifs médicaux, matériaux et/ou leurs extraits sur une période couvrant la plus grande partie de la durée de vie de l'animal de laboratoire. La cancérogénicité peut être traitée par une appréciation du risque incluant l'identification chimique des impuretés, des produits chimiques extractibles ou relargables, l'exposition du patient à ces produits chimiques, les informations relatives à la valeur probante et au mode d'action, si elles sont disponibles dans la littérature scientifique (49).

Ces études *in vivo* font partie des paramètres obligatoires à évaluer lors du développement d'un biomatériau. Pour l'étude de l'efficacité d'un biomatériau capable de promouvoir la régénération du complexe pulpo-dentinaire, il n'existe pas de consensus. Différents paramètres sont évalués par les auteurs avec différents moyens techniques, que ce soit *in vitro* ou *in vivo*.

1.5.3. Modèles *ex vivo*

Bien que les études réalisées *in vitro* permettent d'étudier les interactions cellulaires et la réponse cellulaire à un matériau (viabilité, prolifération, différenciation), elles ne permettent pas d'étudier l'efficacité des matériaux pour la réalisation d'un coiffage pulpaire (51). De plus la plupart des expérimentations visant à étudier les propriétés biologiques des biomatériaux sont réalisées en 2 dimensions (2D) et sont basées sur l'hypothèse que les cultures de cellules en monocouche reflètent le comportement physiologique des tissus. Les modèles 2D utilisés en culture cellulaire ne sont pas représentatifs de l'environnement cellulaire physiologique, tridimensionnel où de nombreux facteurs (biochimiques, mécaniques) influencent les comportements cellulaires (52). Les études *in vivo* permettent de pallier certaines de ces limites pour l'étude des propriétés des matériaux de coiffage pulpaire mais la réaction pulpaire lors d'une exposition à un matériau de coiffage n'est pas nécessairement la même que celle qui serait observée pour la pulpe dentaire humaine (53). C'est dans ce contexte que des équipes de recherche développent des modèles d'études *ex vivo* pour l'étude des mécanismes et des matériaux de coiffage pulpaire à partir de dents humaines extraites (54).

1.6. Objectif du travail de thèse

L'objectif de ce travail était de réaliser une revue de la littérature portant sur les différents modèles *ex vivo* permettant d'étudier les matériaux et stratégies d'ingénierie tissulaire utilisés dans les procédures de réparation et de régénération de la pulpe. Cette revue de la littérature visait à dégager les propriétés essentielles à réunir et proposer un cahier des charges pour la mise au point d'un modèle d'étude *ex vivo* performant pour l'étude des mécanismes de l'inflammation pulpaire et des propriétés - biologiques, biochimiques et mécaniques - des matériaux de coiffage pulpaire.

2. MATERIEL & METHODES

2.1. Stratégie de recherche et sources des données

Une revue de la littérature a été réalisée à partir des bases de données PubMed et Scopus.

Les combinaisons des mots-clés suivantes ont été utilisées :

- PubMed.gov : ((avulsed tooth) OR (tooth model)) AND ((culture model) OR (bioreactor) OR (culture technique, organ)) AND ((pulp capping) OR (silicate cement) OR (tissue engineering) OR (regenerative endodontics)) ;
- Scopus.com : TITLE-ABS-KEY (((avulsed AND tooth) OR (tooth AND model)) AND ((culture AND model) OR (bioreactor) OR (culture AND technique, AND organ)) AND ((pulp AND capping) OR (silicate AND cement) OR (tissue AND engineering) OR (regenerative AND endodontics)))

De plus, la recherche électronique a été complétée par une recherche manuelle portant sur la bibliographie des articles initialement sélectionnés.

La date de publication devait être postérieure à 2000 et seuls les articles rédigés en anglais ou en français ont été retenus. La dernière recherche a été réalisée le 21 septembre 2021.

2.2. Critère d'éligibilité

Les publications devaient avoir un résumé disponible sur les bases de recherche utilisées. Les articles inclus devaient être des études *in vitro* utilisant des dents extraites chez l'Homme et portant sur l'études des propriétés de biomatériaux ou de stratégies d'ingénierie tissulaire pour l'odontologie conservatrice. Les études utilisant seulement les cellules de la pulpe dentaire, la pulpe dentaire isolée, les dents implantées en sous-cutané *in vivo* après extraction, les modèles synthétiques, les modèles d'étude d'autres structures de la dent (périodonte), les études réalisées sur des dents sur arcade (études cliniques et *in vivo* chez l'animal) ont été exclues. Les correspondances, résumés, revues de la littérature et chapitres de livre ont également été exclus.

2.3. Sélection des articles

Cette recherche a permis d'obtenir une liste initiale. Une seconde sélection a été réalisée sur la base des titres et résumés, concernant la correspondance avec le thème de notre recherche.

La troisième sélection s'est opérée sur la lecture des articles afin d'exclure les articles ne correspondant pas à notre objectif. De plus, la recherche électronique a été complétée par une recherche manuelle s'appuyant sur la bibliographie des articles initialement sélectionnés. Les articles ont été organisés et archivés à l'aide du logiciel Mendeley.

2.4. Extraction des données et synthèse

Une grille de lecture a été utilisée pour extraire les données, puis les informations ont été synthétisées sous forme de tableau.

3. RESULTATS

1. Déroulement de la recherche bibliographique

La recherche automatisée sur les bases de données a permis d'identifier 180 documents sur Pubmed et 264 sur Scopus. La désélection des chapitres de livre, méta-analyses et revues a permis d'éliminer 40 références, puis la suppression des doublons (articles retrouvés sur les bases de données Pubmed et Scopus) a été réalisée par le logiciel Mendeley. La lecture des titres et résumés des articles a permis de retenir 31 articles et d'en éliminer 264. Lors de la lecture intégrale des 31 articles, 8 articles présents dans les références de ces derniers ont été ajoutés manuellement et 20 articles ont été exclus car ils ne répondaient pas aux critères d'éligibilité. La Figure 7 présente le diagramme de flux PRISMA détaillant l'intégralité de la recherche effectuée.

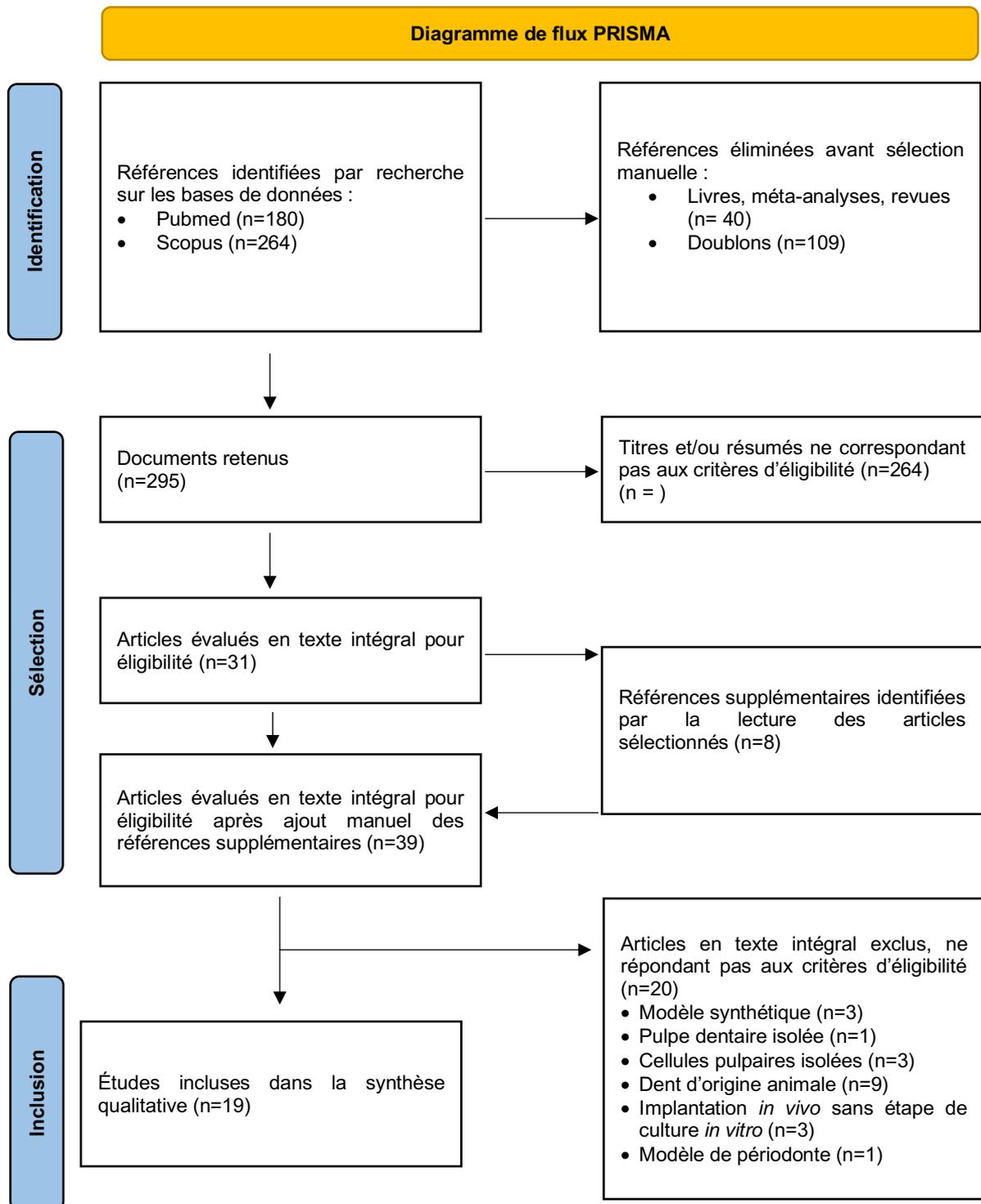


Figure 7 Diagramme de flux PRISMA

2. Synthèse des résultats

Les informations pertinentes relevées dans les 19 articles sélectionnés ont été organisées en 4 tableaux, présentés ci-après, afin d'organiser et présenter les résultats suivants : i) les types de modèles utilisés dans l'étude ; ii) les méthodes de préparation du modèle ; iii) les méthodes de culture du modèle ; iv) les objectifs et moyens d'évaluation rencontrés dans l'étude.

a. Types de modèles utilisés

Parmi les 19 études sélectionnées, des modèles de dents entières ont été utilisés dans 12 d'entre elles et des modèles de coupes de dents dans les 7 autres. Dans la majorité des études, les dents utilisées étaient des 3^{ème} molaires (16 études). Des incisives ont été utilisées dans une étude (55). Une étude portait sur des molaires sans précision supplémentaire (56) et la dernière étude s'intéressait à des dents issues de différentes localisations sans autre précision (57). Les critères de sélection des dents étaient hétérogènes mais une redondance était observée pour certains critères : 9 études précisait que les dents étaient immatures (racines partiellement formées, apex ouverts), 8 études précisait que les dents cariées ou présentant des signes d'inflammation avaient été exclues. Les patients donateurs étaient des sujets de moins de 35 ans dans 6 études, 2 études précisait que les patients avaient plus de 18 ans, l'âge n'était pas précisé dans les autres études (Tableau 1).

b. Méthodes de préparation du modèle

Suite à l'avulsion, les dents étaient immédiatement placées dans un milieu de transport, principalement afin d'éviter tout phénomène de déshydratation. Les milieux de transport étaient majoritairement des milieux de culture (DMEM pour 8 études et α MEM pour 7 études) ou une solution saline physiologique pour une étude (58). Les dents étaient transportées à 4°C dans 4 études (59–62) et à température ambiante dans 2 études (63,64) (aucune précision pour les autres études). Une seule étude précisait que le temps de transport ne dépassait pas 2 heures (62). Avant d'être utilisés en conditions expérimentales, les explants étaient préparés : les tissus annexes étaient retirés à l'aide d'instruments stériles (60,63–67), un rinçage était réalisé à l'éthanol 70% (63,64,68–70) ou à la Chlorhexidine à 0,2% (59,61), puis un rinçage final au PBS était généralement réalisé. Pour les études utilisant des modèles de coupes de dents, la coupe était réalisée après ces étapes de nettoyage (57,63,64) ou

immédiatement après l'avulsion (71–73). Dans certaines études, seul un nettoyage mécanique était réalisé (57,62,65,66) et aucune solution de désinfection chimique n'était employée (Tableau 2).

c. Méthodes de culture du modèle

Lors de la mise en incubateur, les conditions étaient celles classiquement utilisées en culture cellulaire : température de 37° C, 5% de CO₂ et une atmosphère humide sauf lors de l'étude de conditions particulières comme l'effet de l'hypoxie sur certains paramètres (57,71,74). Les milieux de culture employés étaient du DMEM dans 9 études (61–65,68–70,75), du α MEM dans 5 études (57,71,74), du MEM dans 4 études (59,60,66,67). Les milieux de culture étaient supplémentés de sérum de veau fœtal dans les proportions suivantes : 10% dans la majorité des études (57,60,73–75,62,66–72), 15% (63,65), 20% (64). Les milieux de culture de 2 études ne contenaient pas de sérum de veau fœtal (59,61). Dans 16 études, les auteurs avaient utilisé des milieux de culture contenant des antibiotiques (pénicilline/streptomycine), dans 11 études un antifongique (amphotéricine) avait été utilisé, dans seulement 2 études aucun antibiotique ou antifongique n'avait été ajouté au milieu de culture, cependant ces milieux contenaient du β -glycerophosphate (ostéoinducteur) (60,66). Au cours des études, les milieux de culture ont été renouvelés toutes les 24 heures dans 11 études et, dans les 4 études qui ont nécessité un pré-conditionnement, les milieux ont été renouvelés après 48 heures de culture (57,71,73,74). Les durées de culture étaient variables et allaient de 48 heures à 28 jours (Tableau 3).

d. Objectifs et moyens d'évaluation

La vitalité de la dent à la fin de la période de culture a été évaluée à l'aide de colorations de coupes histologiques (65), d'une étude de l'expression génique (63), d'une technique de marquage des cellules apoptotiques (64), de méthodes colorimétriques (MTT) (57,71,72,74) et d'une étude du comportement cellulaire (temps de doublement cellulaire) (70).

L'objectif des articles sélectionnés était d'étudier des matériaux de coiffage pulpaire (8 études) (59–62,66,68–70), des stratégies d'ingénierie tissulaire (7 études) (57,65,71–74), des matériaux de réparation de perforations du plancher pulpaire (56), des matériaux d'obturation apicale (75), des thérapies de la pulpe dentaire (63,67). Afin d'étudier les propriétés des matériaux *in situ* ou la réponse des tissus et cellules dentaires, plusieurs

méthodes ont été utilisées dans les différentes études sélectionnées. Les propriétés des matériaux étudiés étaient : leur capacité d'hydratation (59), leur capacité de minéralisation (60,61,66,69), leur potentielle cytotoxicité (75). Les réponses tissulaires étudiées étaient : la dentinogenèse (60,62,63,68,69), l'angiogenèse (63,64,74), la réaction inflammatoire (68), la production de différents facteurs et protéines (57,71,73). Les réponses cellulaires ont été étudiées, notamment les phénomènes tels que l'apoptose ou la migration (65), la différenciation (62,66,70), la création de colonies et le temps de doublement cellulaire ou la présence de certains marqueurs de surface (70). Afin d'étudier ces propriétés, plusieurs méthodes ont été employées : des techniques d'imagerie en deux dimensions (59,61,66) et en trois dimensions (69), des techniques de biologie moléculaire (56,57,63,64,70–74), et pour de nombreuses études des techniques d'histologie ou immunohistochimie (60,62,64–66,68–70,73) (Tableau 4).

| Auteur, Année | Type de modèle | Type d'explant | Critères de sélection de l'explant |
|----------------------|--|---|--|
| Camilleri, 2014 (76) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Racines immatures et apex ouverts, extraites pour indications orthodontiques |
| Chakka, 2020 (77) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Absence de lésion carieuse ; extraction atraumatique ; racine formée au maximum au 2/3 ; apex immatures |
| El Nawam, 2019 (78) | Coupe (1mm approx., jonction émail-cément) | 3 ^{ème} molaires | Age patient 20-35 ans ; évaluation radiographique : absence de caries, de calcification, de lésion parodontale ; absence de trauma, d'anomalies morphologiques d'origine génétique |
| Gonçalves, 2007 (64) | Coupe (1,5 mm) | 3 ^{ème} molaires | Dents non cariées ; mandibulaire ou maxillaire ; extraites pour indications orthodontiques |
| Janjić, 2018 (57) | Coupe (600 µm) | Différentes localisations, sans précision | Sans signes d'inflammation |
| Janjić, 2018 (79) | Coupe (600 µm) | 3 ^{ème} molaires | Sans signe d'inflammation |
| Janjić, 2017 (71) | Coupe (600 µm) | 3 ^{ème} molaires | Sans signe d'inflammation |
| Jeanneau, 2017 (80) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Dents immatures ; extraites pour indications orthodontiques |
| Kritika, 2021 (81) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Age patient 19-21 ans ; mandibulaire ; dents incluses, immatures |
| Laurent, 2011 (16) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Dents immatures ; extraites pour indications orthodontiques |
| Moghadam, 2014 (56) | Dent entière | Molaires, sans précision | Mandibulaires ou maxillaires ; extraites pour traitement parodontal |
| Müller, 2015 (82) | Coupe (600µm) | 3 ^{ème} molaires | Patient : âge > 18 ans, sans signe de diabète ; dents sans signe d'inflammation |
| Pedano, 2019 (83) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Age patient 15-19 ans ; dents incluses, racines partiellement formées |

| Auteur, Année | Type de modèle | Type d'explant | Critères de sélection de l'explant |
|----------------------|-----------------------|---------------------------|--|
| Pedano, 2021 (84) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Patient : âge 14-18 ans, en bonne santé ; dents incluses, racine partiellement formée |
| Pedano, 2020 (68) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Patient : âge 15-17 ans, en bonne santé ; dents incluses, racine partiellement formée |
| Silva, 2016 (55) | Dent entière | Incisives maxillaires | Sans précision |
| Téclès, 2005 (67) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Dents extraites pour indications orthodontiques |
| Téclès, 2008 (85) | Dent entière | 3 ^{ème} molaires | Age patient 15-18 ans ; dents non-incluses, extraites pour indications orthodontiques, racine formée au maximum au 2/3 |
| Trimmel, 2015 (73) | Coupe (600µm) | 3 ^{ème} molaires | Patient : âge > 18 ans, sans diabète ; pas de signe d'inflammation élimination des dents cariées |

Tableau 1 Type de modèle et choix de l'explant

| Auteur, Année | Milieu de transport | Préparation |
|----------------------|---|--|
| Camilleri, 2014 (76) | 4°C, MEM + 300 IU/mL pénicilline, 300 µg/mL streptomycine, 0,75 µg amphotéricine B | Nettoyage, immersion 10 sec dans solution aqueuse de Chlorhexidine à 0,2%, rinçage 30 sec dans PBS |
| Chakka, 2020 (77) | DMEM + 5% solution antibiotique/ antifongique | Nettoyage sous microscope avec instrument de parodontologie, retrait du ligament et autres tissus de support |
| El Nawam, 2019 (78) | Température ambiante, DMEM + 0,584 g/l L-glutamine, 10000 IU/ml pénicilline, 10000 µg/ml streptomycine, 2.5 µg/ml Amphotéricine B | Retrait des tissus de support avec curette parodontale, désinfection de surface avec éthanol à 70%, coupes |
| Gonçalves, 2007 (64) | Température ambiante, DMEM + 0,584 g/l L-glutamine, 10000 IU/ml pénicilline, 10000 µg/ml streptomycine, 2.5 µg/ml Amphotéricine B | Retrait des tissus de support avec curette parodontale, désinfection de surface avec éthanol à 70%, coupes |
| Janjić, 2018 (57) | Aucun | Coupes directes après avulsion puis mise en milieu de culture |
| Janjić, 2018 (79) | αMEM + 100 U/mL pénicilline G, 100 µg/mL streptomycine, 2.5 µg/mL amphotéricine B | Retrait des tissus de support, coupes |
| Janjić, 2017 (71) | Aucun | Coupes |
| Jeanneau, 2017 (80) | 4°C, MEM + 300 IU/mL pénicilline, 300 µg/mL streptomycine, 0,75 µg amphotéricine B | Nettoyage à l'aide d'instrument stériles (élimination du ligament et du sac folliculaire) |
| Kritika, 2021 (81) | 4°C, DMEM + 300 IU/mL pénicilline, 300 µg/mL streptomycine, 0,75 µg amphotéricine B | Nettoyage, immersion 10 sec dans solution aqueuse de Chlorhexidine à 0,2%, rinçage 30 sec dans 5 mL de PBS |
| Laurent, 2011 (16) | 2h, 4°C, DMEM + 300 IU/mL pénicilline, 300 µg/mL streptomycine, 0,75 µg amphotéricine B | Nettoyage à l'aide d'instrument stériles (élimination du ligament et du sac folliculaire) |
| Moghadam, 2014 (56) | Solution saline physiologique | - |
| Müller, 2015 (82) | Milieu de culture direct après coupe | Coupe suite à l'extraction |

| Auteur, Année | Milieu de transport | Préparation |
|----------------------|---|---|
| Pedano, 2019 (83) | DMEM + 10% Fetal Bovine Serum, 1% penicilline-streptomycine, 1% amphotericine B | Rinçage à l'éthanol 70% (1 min) puis au PBS (1 min) |
| Pedano, 2021 (84) | DMEM + 10% Fetal Bovine Serum, 1% penicilline-streptomycine, 1% amphotericine B | Rinçage à l'éthanol 70% (1 min) puis au PBS (1 min) |
| Pedano, 2020 (68) | DMEM + 10% Fetal Bovine Serum, 1% penicilline-streptomycine, 1% amphotericine B | Rinçage à l'éthanol 70% (1 min) puis au PBS (1 min) |
| Silva, 2016 (55) | - | Stérilisation 35 min à 135 °C, préparation endocanalaire |
| Téclès, 2005 (67) | MEM + 300 IU/mL penicilline, 300 µg/mL streptomycine, 0,75 µg amphotericine B | Nettoyage à l'aide d'instrument stériles (élimination du ligament et du sac folliculaire) |
| Téclès, 2008 (85) | MEM + 300 IU/mL penicilline, 300 µg/mL streptomycine, 0,75 µg amphotericine B | Nettoyage à l'aide d'instrument stériles (élimination du ligament et du sac folliculaire) |
| Trimmel, 2015 (73) | αMEM + 100 U/mL penicilline G, 100 µg/mL streptomycine, 2.5 µg/mL amphotericine B | Coupe |

Tableau 2 Méthodes de transport et de préparation de l'explant

| Auteur, Année | Milieu de culture | Fréq. Changement milieu | Durée culture | Évaluation vitalité dent |
|----------------------|--|----------------------------------|---------------|--|
| Camilleri, 2014 (76) | MEM + 300 IU/mL penicilline, 300 µg/mL streptomycine, 0,75 µg amphotericine B | 24 heures | 14 jours | - |
| Chakka, 2020 (77) | DMEM + 15% FBS, 1% penicilline-streptomycine | 24 heures | 7/14 jours | Histologie (coloration HE) |
| El Nawam, 2019 (78) | DMEM +15% FBS, 0,584 g/l L-glutamine, 10000 IU/ml penicilline, 10000 µg/ml streptomycine, 2.5 µg/ml Amphotericine B | 24 puis 48 heures | 7 jours | Biologie moléculaire (expression genes) |
| Gonçalves, 2007 (64) | DMEM + 20% SVF, 0,584 g/l L-glutamine, 10000 IU/ml penicilline, 10000 µg/ml streptomycine, 2.5 µg/ml Amphotericine B | Non précisé | 7 jours | Marquage des cellules apoptotiques (dUTP Nick End) |
| Janjić, 2018 (57) | αMEM + 10% FBS, antibiotiques (sans précisions) | 48 heures (pré conditionnement) | 2X 48 heures | MTT à 48 heures |
| Janjić, 2018 (79) | αMEM + 10% FBS, 100 U/mL penicilline G, 100 µg/mL streptomycine, 2.5 µg/mL amphotericine B | 48 heures (pré conditionnement) | 2X 48 heures | MTT à 48 heures |
| Janjić, 2017 (71) | αMEM + 10% FBS, antibiotiques (sans précisions) | 48 heures (pré conditionnement) | 2X 48 heures | MTT à 48 heures |
| Jeanneau, 2017 (80) | MEM + 10% FBS, 2 mM β-glycerophosphate | 24 heures | 15 jours | - |
| Kritika, 2021 (81) | DMEM + 300 IU/mL penicilline, 300 µg/mL streptomycine, 0,75 µg amphotericine B | 24 heures | 14 jours | - |
| Laurent, 2011 (16) | DMEM + 10% FBS, 200 UI/mL penicillin, 200 µg/mL streptomycin, 0.5 µg/mL amphotericin B | 24 heures | 2/14/28 jours | - |
| Moghadam, 2014 (56) | Milieu à base de lactose chargé en bactéries (E. faecalis) | 24 heures (ajout de E. faecalis) | 30 jours | - |

| Auteur, Année | Milieu de culture | Fréq. Changement milieu | Durée culture | Évaluation vitalité dent |
|--------------------|--|---------------------------------|---------------|--------------------------------|
| Müller, 2015 (82) | α MEM + 10% SVF, 100 U/mL penicilline G, 100 μ g/mL streptomycine, 2.5 μ g/mL amphotericine B | - | 48 heures | MTT à 48 heures |
| Pedano, 2019 (83) | DMEM + 10% FBS, 1% penicillin-streptomycine, 1% amphotericine B | 24 heures | 7/14/28 jours | Temps de doublement cellulaire |
| Pedano, 2021 (84) | DMEM + 10% FBS, 1% penicillin-streptomycine, 1% amphotericine B | 24 heures | 14 jours | - |
| Pedano, 2020 (68) | DMEM + 10% FBS, 1% penicillin-streptomycine, 1% amphotericine B | 24 heures | 28 jours | - |
| Silva, 2016 (55) | DMEM + 10% FBS, 100 mg/mL penicillin, 100 μ g/mL streptomycine | - | 24 heures | - |
| Téclès, 2005 (67) | MEM + 10% FBS, 200 IU/mL penicilline, 200 μ g/mL streptomycine, 0,75 μ g amphotericine B | Non précisé | 1/14/28 jours | - |
| Téclès, 2008 (85) | MEM + 10% FBS, 2 mM β -glycerophosphate | 24 heures | 1/14/28 jours | - |
| Trimmel, 2015 (73) | α MEM + 10% SVF, 100 U/mL penicilline G, 100 μ g/mL streptomycine, 2.5 μ g/mL amphotericine B | 48 heures (pré conditionnement) | 2X 48 heures | MTT à 48 heures |

Tableau 3 Méthodes de culture du modèle

| Auteur, Année | Élément étudié | Propriété étudiée | Méthode d'étude |
|----------------------|---|---|--|
| Camilleri, 2014 (76) | Matériaux de coiffage pulpaire | Capacité d'hydratation | SEM |
| Chakka, 2020 (77) | Ingénierie tissulaire (thérapie génique) | Réponse cellulaire (apoptose, migration) | Histochimie |
| El Nawam, 2019 (78) | Thérapie Laser | Dentinogenèse / angiogenèse | Biologie moléculaire (RT-PCR) |
| Gonçalves, 2007 (64) | Modèle d'étude pour l'angiogenèse pulpaire / effet facteur de croissance (VEGF) | Angiogenèse | Immunohistochimie |
| Janjić, 2018 (57) | Ingénierie tissulaire | Angiogenèse | Biologie moléculaire (dosage surnageant) |
| Janjić, 2018 (79) | Ingénierie tissulaire | Production facteurs (SOST, DKK-1) | Biologie moléculaire (dosage surnageant) |
| Janjić, 2017 (71) | Ingénierie tissulaire | Production protéine (angiogénine) | Biologie moléculaire : RT-qPCR et ELISA (surnageant) |
| Jeanneau, 2017 (80) | Matériaux de coiffage pulpaire | Potentiel de minéralisation, organisation tissulaire et morphologie de la pulpe | Immunohistochimie |
| Kritika, 2021 (81) | Matériaux de coiffage pulpaire | Capacité de minéralisation | Radiographie 2D, SEM sur coupes |
| Laurent, 2011 (16) | Matériaux de coiffage pulpaire | Différenciation cellules pulpe dentaire et formation de dentine réparatrice | Immunohistochimie |
| Moghadam, 2014 (56) | Matériaux de réparation des perforations du plancher pulpaire | Capacité d'étanchéité des matériaux | Biologie moléculaire (dosage surnageant) |

| Auteur, Année | Élément étudié | Propriété étudiée | Méthode d'étude |
|----------------------|---|---|---|
| Müller, 2015 (82) | Ingénierie tissulaire | Effet d'un inhibiteur sur la régénération pulpaire de patient diabétique | Biologie moléculaire |
| Pedano, 2019 (83) | Validité modèle d'étude + matériau de coiffage pulpaire | Temps de doublement cellulaire, expression des marqueurs de surface, création de colonies cellulaires, capacité de différenciation cellulaire | Biologie moléculaire, immunohistochimie |
| Pedano, 2021 (84) | Matériau de coiffage pulpaire | Minéralisation, formation tissulaire | μCT, immunohistochimie |
| Pedano, 2020 (68) | Matériau de coiffage pulpaire | Réaction inflammatoire de la pulpe, formation de dentine réparatrice | Histochimie |
| Silva, 2016 (55) | Matériau obturation apicale | Cytotoxicité de matériau sur cellules en culture | Biologie moléculaire (MTT, dosage des cytokines), microscopie |
| Téclès, 2005 (67) | Effet thérapie (préparation cavité) | Réponse cellulaire / progéniteurs | Immunohistochimie |
| Téclès, 2008 (85) | Matériaux de coiffage pulpaire | Minéralisation, réponse cellulaire | Immunohistochimie, SEM |
| Trimmel, 2015 (73) | Ingénierie tissulaire | Production de facteur de croissance endothéliaux | Biologie moléculaire (ELISA), immunochimie |

Tableau 4 Objectifs de l'étude et moyens d'évaluation

4. DISCUSSION

Les concepts actuels en odontologie visent à maximiser les chances de conserver la dent vitale. Ainsi les équipes de recherche académiques et les industriels œuvrent au développement de nouveaux matériaux et de nouvelles stratégies pour y parvenir. Ces matériaux n'ont plus pour objectif d'être bio-inertes comme ceux des précédentes générations mais d'être bioactifs. En effet, ils sont développés pour interagir avec les tissus humains afin de promouvoir des mécanismes de cicatrisation. Le développement de ces matériaux repose en partie sur leur évaluation dans les conditions les plus proches du milieu physiologique. L'objectif de ce travail était, au travers d'une revue systématique de la littérature, de répertorier et étudier les propriétés des modèles de dents *ex vivo* actuellement utilisés en laboratoire de recherche. Ceci en vue de proposer un prototype adapté à l'étude des nouveaux matériaux et stratégies thérapeutiques pour la régénération du complexe pulpo-dentinaire en odontologie.

Historiquement, les modèles utilisant des coupes de dents en culture étaient couramment employés pour la recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques pour l'odontologie, notamment les techniques basées sur l'ingénierie tissulaire. Les premières utilisations de ces modèles ont été décrites en 1996 par l'équipe de Magloire et coll. (86) où les explants étaient placés en culture pendant 30 jours. Durant cette période de culture, la viabilité cellulaire était conservée. Néanmoins, les coupes étant placées directement au contact du fond de la boîte de Pétri, cette méthodologie présentait des inconvénients, notamment dans le cas de l'étude de l'effet de facteurs de croissance sur les mécanismes de cicatrisation tissulaire (87). Afin de pallier les limites de ce modèle, en 1998, Sloan et coll. ont développé un modèle de coupe de dents de rats (incisives) inclus dans un gel (agarose et milieu de culture) avant d'être placé en suspension dans des puits contenant du milieu de culture (87). Dans les conditions de cette étude, les auteurs sont parvenus à maintenir en culture les coupes de dents pendant 14 jours, proposant ainsi un modèle qu'ils jugeaient adapté à l'étude de la dentinogénèse et de la réparation tissulaire *in vitro* (87). Ce modèle a ensuite été adapté à la dent humaine et est depuis utilisé dans de nombreuses études récentes (57,71–74). Ce type de modèle offre certains avantages. Tout d'abord, le complexe

dentino-pulpaire est conservé ainsi qu'une partie de son organisation. Ces éléments ont également accès aux nutriments et à l'oxygène présents dans le milieu de culture directement, sans obstacle physique. Ce paramètre permet de modéliser des conditions expérimentales particulières afin d'étudier l'effet de molécules ajoutées au milieu de culture comme des facteurs de croissance (64), de contraintes mécaniques (63) ou environnementales comme l'effet de l'hypoxie (57,71,74). Cependant, ce type de modèle présente des limites. En effet, bien que les éléments du complexe dentino-pulpaire soient conservés, leur organisation au sein de ce modèle est en deux dimensions. Ainsi, l'organisation et la morphologie de la dent dans son entité n'est pas respectée. La pulpe n'est alors plus contenue et confinée dans la chambre pulpaire mais totalement exposée au milieu extérieur. Une autre limite de ce modèle est l'effet iatrogène lié aux méthodes de coupe de la dent, et ce, malgré l'utilisation d'une scie rotative à lame diamantée refroidie par de l'eau durant toute l'étape de coupe. Dans l'étude de Sloan et coll., il a été observé dans certaines zones une modification des odontoblastes qui s'orientent vers une morphologie fibroblastique (87). L'observation des coupes en microscopie électronique à transmission y révèle une couche d'odontoblastes détachée de la pré-dentine et une perte de la morphologie cellulaire caractéristique des odontoblastes, qui est normalement cylindrique/ovoïde et polarisée (6,87).

C'est pourquoi à partir des années 2000, les modèles de dent entière placés en conditions de culture en incubateur ont été utilisés principalement pour l'étude des matériaux de coiffage pulpaire ou par exemple pour comparer des techniques d'ingénierie tissulaire aux matériaux de coiffage pulpaire actuels. La première étude faisant état de l'utilisation et du développement de ce type de modèle a été publiée en 2005 par Téclès et coll. (67). Dans cette étude, les auteurs ont étudié la réponse des progéniteurs de la pulpe dentaire et des cellules souches à l'agression des odontoblastes lors de la préparation mécanique des cavités. Ce modèle d'étude a ensuite été reproduit avec des modifications mineures par de nombreux auteurs, en particulier pour l'étude des matériaux de coiffage pulpaire (59–62,66,68–70). Brièvement, ce modèle utilise des 3^{èmes} molaires immatures qui sont suspendues par leur partie coronaire dans le puits d'une plaque de culture cellulaire lui-même rempli de milieu de culture. L'ensemble est ensuite placé en incubateur dans les conditions d'usage pour la culture cellulaire (67). Ce modèle présente de nombreux avantages puisqu'il conserve la dent dans sa globalité et préserve ainsi les éléments qui la composent et leur organisation. Les auteurs le

décrivent comme un modèle utile dans le futur pour l'étude des mécanismes de la régénération de la dentine et l'évaluation des biomatériaux en dentisterie restauratrice (67). L'équipe de Pedano qui a étudié ce modèle en 2019 s'est intéressée à la survie des cellules de la pulpe dentaire après que la dent ait été placée dans les conditions de culture précédemment décrites pendant 4 semaines. A la suite de cette période de culture, les cellules de la pulpe dentaire avaient conservé leur viabilité, leur capacité de croissance, de division et de différenciation vers différentes lignées (70). D'un point de vue histologique, les observations faites par les auteurs révélaient une organisation des tissus similaire à celles faites lors d'études *in vivo* (70). Cependant, ce type de modèle de culture statique présente certaines limites. Ces limites sont liées à l'absence d'un flux de milieu de culture ce qui prive la dent d'une circulation des nutriments, d'oxygène et une élimination des déchets liés au métabolisme insuffisante. En effet, bien qu'une viabilité cellulaire relative soit observée par l'équipe de Pedano après 4 semaines de culture, la capacité de croissance cellulaire est plus faible, comparée à celle des cellules des dents fraîchement extraites. Les auteurs justifient cette observation par une diffusion insuffisante de milieu de culture aux cellules de la partie coronaire de la dent, entraînant une apoptose de ces cellules (70). Cet élément est une importante limite à l'étude des matériaux de coiffage pulpaire puisque les cellules en périphérie de la pulpe ont un rôle primordial dans les mécanismes de réparation et cicatrisation du complexe dentino-pulpaire (1,17). Cette absence de flux qui prive certains éléments de la dent d'un apport suffisant en nutriments et en oxygène impose aux auteurs de limiter leurs études à des durées n'excédant pas 2 (59–61,65,69) à 4 semaines (62,66–68,70). Il serait cependant pertinent de réaliser des études sur des périodes de culture plus longues, notamment pour observer histologiquement les réponses du complexe pulpo-dentinaire comme la formation d'un pont dentinaire, la percolation bactérienne ou la réponse inflammatoire à moyen terme suite à l'utilisation de matériaux de coiffage pulpaire. Ce type d'études a été réalisé par l'équipe de Nowicka mais nécessite de réaliser l'étude *in vivo* sur des dents qui seront ensuite extraites - pour raisons orthodontiques - 6 semaines après la réalisation des coiffages pulpaire (88). Bien que ce travail ait permis de réaliser une analyse histologique complète des processus faisant suite au coiffage pulpaire avec des biomatériaux (ici Biodentine™ et MTA®) les procédures à mettre en œuvre sont limitantes : une fois les patients sélectionnés, ceux-ci devaient recevoir une procédure de coiffage pulpaire (radiologie, anesthésie, réalisation d'une cavité, mise en place du matériau de coiffage

pulpaire) avant que leur dent soit extraite 6 semaines plus tard. Ces procédures ont contraint les auteurs à avoir un nombre d'échantillons limité (n=11 pour les conditions expérimentales et n=6 pour les contrôles) (88). Cliniquement, la pertinence de cette étude est limitée du fait des conditions d'étude sur des dents saines, ne permettant pas d'étudier la réponse de la pulpe à la Biodentine™ dans des conditions d'inflammation pulpaire comme celles pouvant être rencontrées en clinique. *A contrario*, l'utilisation d'une dent placée en culture *ex vivo* peut permettre de conditionner les milieux afin de reproduire certaines conditions cliniques, comme l'inflammation pulpaire (89), le diabète (90) ou la présence d'une flore bactérienne particulière (56).

L'ensemble des éléments énoncés ci-dessus nous amène à proposer un nouveau modèle d'étude destiné à évaluer des nouveaux matériaux pour la régénération du complexe pulpo-dentinaire en odontologie. Le développement d'un modèle de culture dynamique de dent semble être pertinent pour l'étude des matériaux pour l'odontologie conservatrice, notamment celle des matériaux de coiffage pulpaire. L'objectif de ce modèle serait d'améliorer l'apport de milieu de culture à l'organe dentaire et de favoriser l'élimination des déchets liés au métabolisme. Notre hypothèse est que la mise en culture de la dent à étudier dans un tube de culture, où elle est soumise à un flux permanent de milieu de culture selon un mouvement de va-et-vient permettra d'allonger les durées de culture et d'améliorer les conditions de celle-ci.

Pour la réalisation des études, nous sélectionnerons des 3^{èmes} molaires incluses, extraites pour indications orthodontiques, présentant des apex immatures. En effet, ce type de dents a été sélectionné dans la majorité des études retenues (16 sur 19) car elles présentent deux avantages majeurs: leur obtention est simplifiée du fait du nombre important d'interventions impliquant l'extraction des 3^{èmes} molaires (91), et les apex immatures permettent une meilleure pénétration du milieu de culture aux cellules de la pulpe dentaire. Suite à l'extraction de la dent, le milieu de prélèvement / transport à base de DMEM associé à du sérum de bovin fœtal, des antibiotiques (pénicilline-streptomycine à 1%) et des antifongiques (amphotéricine B à 1%) est à privilégier. En effet, le milieu DMEM est également recommandé pour le stockage d'une dent expulsée suite à un traumatisme alvéolo-dentaire avant sa réimplantation chez le patient. Selon les auteurs, ses excellentes propriétés

optimisant la vitalité cellulaire sont liées à sa composition riche en vitamines, en amino-acides et en glucose (92).

Avant sa mise en culture, la dent devra être préparée afin de limiter les risques de contamination du milieu de culture. Pour cela, le nettoyage devra être mécanique, à l'aide d'instruments stériles, pour le retrait des tissus (ligament et sac folliculaire). Ensuite, un nettoyage chimique avec une immersion, n'exposant pas les apex, dans une solution de Chlorhexidine à 0.2% serait réalisée pour assurer une action antiseptique comme dans le protocole décrit dans les études de Camilleri (59) ou plus récemment de Kritika (61). Le rinçage pendant une minute à l'éthanol (70%), bien que réalisé dans plusieurs études (63,68–70), semble à proscrire à cause de l'effet déshydratant de l'éthanol.

Concernant le choix du milieu de culture, le milieu DMEM est à privilégier pour les raisons évoquées précédemment pour le choix du milieu de transport. Concernant le milieu de culture, celui-ci doit être supplémenté :

- D'une solution antibiotique, la préparation commerciale Pénicilline-Streptomycine des laboratoires Life Technologies® ou MilliporeSigma® sont les solutions de choix en culture cellulaire (93) ;
- D'un antifongique, l'amphotéricine B, afin de limiter le risque de contamination fongique au cours de la culture (93) ;
- De sérum de bovin foetal, qui assure un apport en protéines, amino-acides, vitamines, facteurs de croissance, glucides, lipides, hormones et minéraux nécessaires à la survie et à la prolifération des cellules (93). Une concentration du sérum dans le milieu à 10% comme dans le protocoles de nombreuses études est à privilégier (57,60,73–75,62,66–72). Cette concentration permet un apport important des éléments susnommés puisque les concentrations généralement rencontrées en culture cellulaire sont entre 2 et 10% de sérum dans les milieux de culture (93). Il ne semble pas pertinent d'utiliser des concentrations supérieures comme rencontrées dans les protocoles des étude de Chakka et Nawam (15%) (63,65) ou Gonçalves (20%) (64). En effet, la concentration de sérum augmente proportionnellement la viscosité du milieu de culture (94) et par déduction la diminution de sa capacité de diffusion dans notre modèle de dent en culture.

Afin d'optimiser l'accès de milieu de culture à l'organe dentaire et l'élimination des déchets liés au métabolisme cellulaire, nous avons conçu un prototype de bioréacteur. Comme décrit précédemment, en culture statique, la diffusion passive depuis l'extérieur de l'organe vers les cellules situées au centre de la pulpe dentaire est le seul processus apportant les nutriments et l'oxygène nécessaires au métabolisme cellulaire. A ce titre, il a été démontré que pour des cultures de greffons osseux, les cellules situées à 500/1000 μ m de la surface du greffon souffrent d'hypoxie, entraînant une nécrose centrale dans les conditions de culture statique (95). La conception de notre bioréacteur repose sur les principes de mécanique des fluides des bioréacteurs à flux laminaire. En effet, dans ces bioréacteurs à perfusion indirecte, un système de pompe crée un flux de milieu de culture autour de l'échafaudage ou de l'organe en culture. Ce type de dispositif (Figure 8) permet d'améliorer la diffusion de nutriments et d'oxygène au sein des tissus en culture et offre une meilleure élimination des déchets liés au métabolisme cellulaire. Ainsi, il a été montré que dans le domaine de l'ingénierie tissulaire osseuse, ce type de bioréacteur améliore la prolifération et la différenciation cellulaires ainsi que la capacité de minéralisation et de formation de tissus minéralisés lors de périodes de culture de 5 ou 6 semaines (96,97).

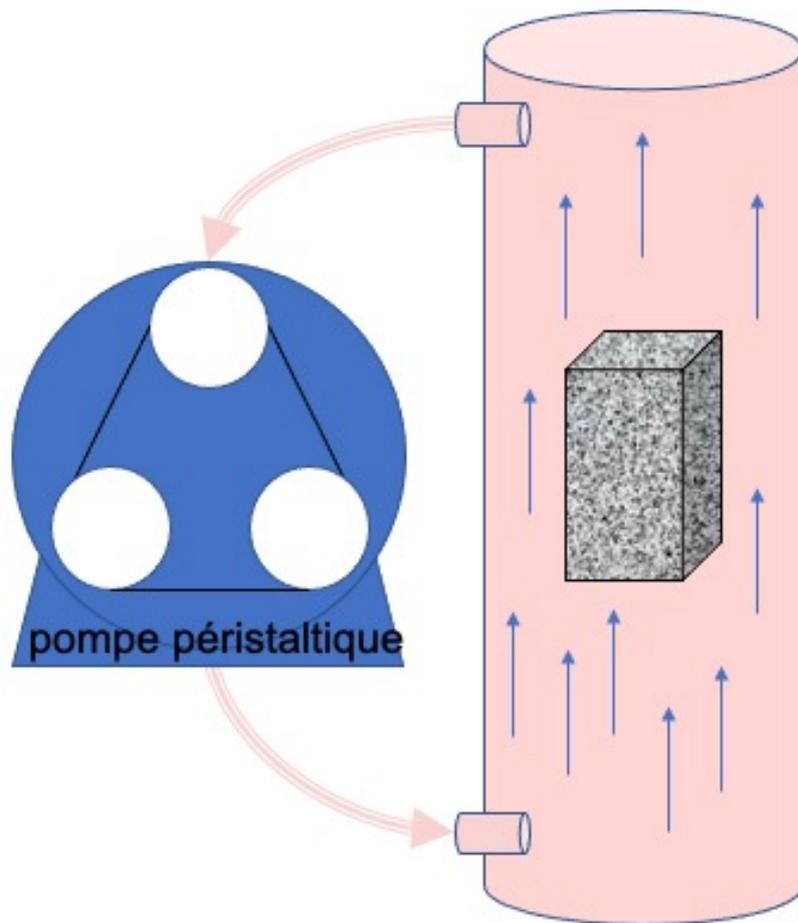


Figure 8 Représentation schématique d'un bioréacteur à perfusion indirecte, la pompe péristaltique crée un flux laminaire de milieu représenté par les flèches bleues.

Du fait de la morphologie de l'organe à étudier, une 3^{ème} molaire aux apex ouverts, il semble pertinent de développer un bioréacteur où l'organe est soumis à un flux laminaire passif ascendant et descendant. Ce type de mouvement permet d'optimiser par la création d'un flux : i) lors du mouvement ascendant, l'apport en oxygène et nutriment aux cellules du complexe pulpo-dentinaire ; ii) lors du mouvement descendant, l'élimination des déchets liés au métabolisme vers le milieu extérieur. Ainsi la dent serait placée et maintenue au centre d'un tube contenant le milieu de culture, un système poussoir alternatif créerait ensuite un mouvement de va-et-vient entraînant le milieu de culture (Figure 9).

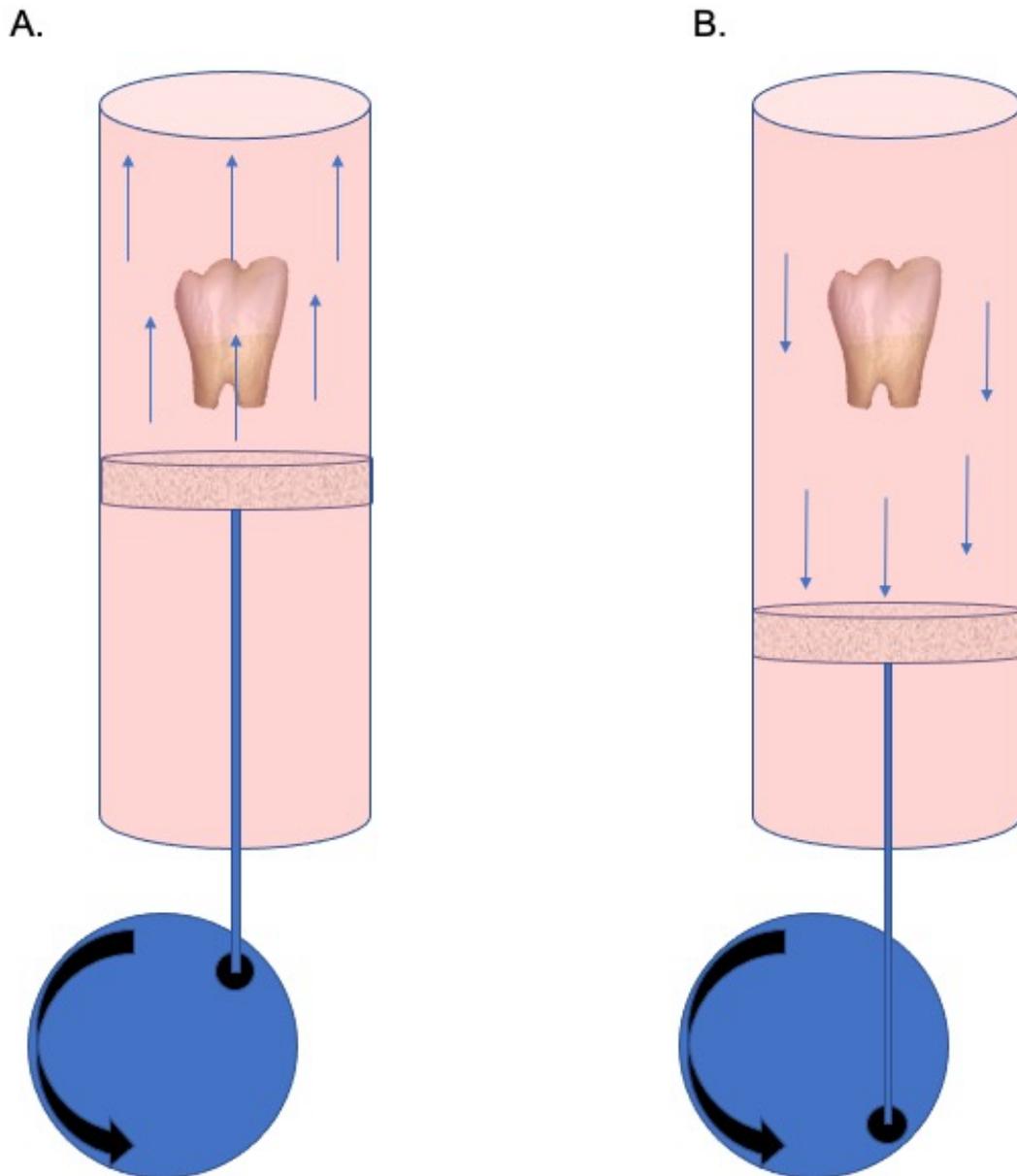


Figure 9 Représentation schématique d'un système de bioréacteur optimisant la conservation d'une dent en culture. A) Phase ascendante du milieu de culture améliorant la diffusion des nutriments et de l'oxygène au sein du complexe pulpo-dentinaire ; B) phase descendante optimisant l'évacuation des déchets liés au métabolisme.

Un prototype présenté en annexe a été conçu afin de valider la faisabilité technique de ce dispositif (Figure 10). La dent a été placée dans une seringue de 60 mL et un dispositif relié à un moteur électrique permet la transformation du mouvement de rotation du moteur en un mouvement de translation alternatif de la tige-poussoir (piston) de la seringue. Ce dispositif pourrait également être couplé à un système permettant le renouvellement quotidien du milieu de culture.

Les perspectives de cette étude seraient de pouvoir valider le système de culture dynamique proposé dans ce travail. Pour cela, il serait pertinent d'étudier la viabilité et le comportement des cellules pulpaires et de les comparer à des cellules issues de dents conservées en culture statique pendant des périodes similaires. Les travaux menés par l'équipe de Pedano en 2019 a permis de réaliser ce type d'étude sur des cellules de dents conservées en culture statique pendant 28 jours (70). Dans cette étude, les auteurs ont ensemencé et mis en culture les cellules de la pulpe des dents conservées en culture pendant 1 à 4 semaines. Différentes analyses du comportement cellulaire ont été réalisées et semblent pertinentes à réaliser afin de valider un modèle de bioréacteur pour la culture *in vitro* d'une dent :

- Le temps de doublement cellulaire, mesuré par comptage cellulaire ;
- Le dénombrement des unités formant des colonies, observé en microscopie après coloration ;
- L'expression de marqueurs de surface des cellules souches mésenchymateuses, étudiée par le marquage à l'aide de certains anticorps (CD34, CD45, CD73, CD90, CD105 et Stro1);
- La capacité de différenciation cellulaire vers différentes lignées après une culture en milieu ostéogénique, chondrogénique ou adipogénique (70).

Ces études du comportement des cellules de la pulpe d'une dent conservée en culture pendant de longues périodes (supérieures à 4 semaines) semblent être un prérequis afin de valider un modèle de bioréacteur. Une fois ces éléments validés, il sera possible de placer au sein du bioréacteur une dent ayant reçu un traitement conservateur (coiffage pulpaire par exemple) afin d'étudier histologiquement les réponses tissulaires et mécanismes de cicatrisation, pendant les durées validées précédemment.

5. CONCLUSION

La conservation de la vitalité pulpaire est un défi thérapeutique lors des traitements en odontologie conservatrice. Pour y parvenir les industriels et laboratoires de recherche développent de nouveaux matériaux et stratégies qui reposent sur une meilleure connaissance des mécanismes biologiques du complexe pulpo-dentinaire. Qu'il s'agisse des matériaux de coiffage pulpaire bioactifs ou des stratégies basées sur les techniques d'ingénierie tissulaire, leur efficacité repose sur le recrutement des lignées cellulaires impliquées dans les mécanismes de cicatrisation du complexe pulpo-dentinaire. A ce jour, il n'existe pas de consensus concernant les modèles d'étude pour évaluer l'impact de ces nouveaux matériaux sur le complexe pulpo-dentinaire. Cette étude a permis de répertorier les différents systèmes utilisés afin de proposer un cahier des charges dans l'objectif de développer et proposer un nouveau modèle d'étude basé sur l'utilisation d'un bioréacteur à perfusion indirecte.

Une autre étude portant sur l'analyse de la viabilité et du comportement cellulaire après des périodes de culture supérieures à 4 semaines au sein de ce bioréacteur est nécessaire. Ceci permettrait de valider la pertinence de ce modèle de bioréacteur pour l'étude des biomatériaux de coiffage pulpaire en laboratoire dans des conditions se rapprochant de celles rencontrées physiologiquement.

6. Références

1. Etienne Piette MG. La dent normale et pathologique . 1st ed. De Boeck, editor. 2001. 85–85 p.
2. Simon S, Cooper P, Smith A, Picard B, Naulin Ifi C, Berdal A. Evaluation of a new laboratory model for pulp healing: preliminary study. *Int Endod J*. 2008 Sep 1;41(9):781–90.
3. Goldberg M, Farge P. Manuel d'histologie et de biologie buccale: la dent et ses tissus de soutien [Internet]. Paris: Masson; 1989. p. ix, 140 p. (Manuels d'odontostomatologie,0986-4148).
4. Trubiani O, Tripodi D, Delle Fratte T, Caputi S, Di Primio R. Human dental pulp vasculogenesis evaluated by CD34 antigen expression and morphological arrangement. *J Dent Res*. 2003 Sep 13;82(9):742–7.
5. Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Begue-Kirn C, Ruch J V., Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol*. 1995 Feb 1;39(1):273–80.
6. Goldberg M, Smith AJ. Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: A biological basis for repair and tissue engineering [Internet]. Vol. 15, Critical Reviews in Oral Biology and Medicine. *Crit Rev Oral Biol Med*; 2004. p. 13–27.
7. Farano V. An investigation into different phosphate glass processing routes and the role of phosphate glass in dental collagen-based scaffolds [Internet]. 2018.
8. Séguier S, Le May O. Histopathologie de la lesion carieuse de l email et de la dentine. In: Encyclopédie Médico-chirurgicale E (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Odontologie. 2002. p. 12 p .
9. Simon S, Cooper P, Berdal A, Machtou P, Smith A. Biologie pulpaire : comprendre pour appliquer au quotidien. *Rev d'odonto-stomatologie*. 2008;37(3):209–35.
10. Meng R, Li D, Feng Z, Xu Q. MyD88 hypermethylation mediated by DNMT1 is associated with LTA-induced inflammatory response in human odontoblast-like cells. *Cell Tissue Res*. 2019;376(3).
11. Hahn C Lo, Falkler WA, Siegel MA. A study of T and B cells in pulpal pathosis. *J Endod*. 1989 Jan 1;15(1):20–6.
12. Sloan AJ, Smith AJ. Stem cells and the dental pulp: Potential roles in dentine regeneration and repair [Internet]. Vol. 13, Oral Diseases. *Oral Dis*; 2007. p. 151–7.
13. Manuja N, Nagpal R, Pandit I, Chaudhary S. Dental pulp neuropathophysiology. *J Clin Pediatr Dent*. 2010 Dec 1;35(2):121–7.
14. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J*. 1995;6(2):85–90.
15. Saito T, Toyooka H, Ito S, Crenshaw MA. In vitro Study of Remineralization of Dentin: Effects of Ions on Mineral Induction by Decalcified Dentin Matrix. *Caries Res*. 2003;37(6):445–9.
16. Laurent P, Camps J, About I. Biodentine TM induces TGF- β 1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *Int Endod J*. 2012 May;45(5):439–48.
17. Farges JC, Romeas A, Melin M, Pin JJ, Lebecque S, Lucchini M, et al. TGF- β 1 induces accumulation of dendritic cells in the odontoblast layer. *J Dent Res*. 2003;82(8):652–6.
18. Dammaschke T. The history of direct pulp capping. *J Hist Dent*. 2008 Mar 1;56(1):9–23.
19. Zander HA. Reaction of the Pulp to Calcium Hydroxide. *J Dent Res*. 1939 Aug 9;18(4):373–9.

20. Semennikova K, Pradelle-Plasse N. Les ciments tricalciques. *Biomatériaux Clin.* 2016 Sep 30;2:16–25.
21. Modena KC da S, Casas-Apayco LC, Atta MT, Costa CA de S, Hebling J, Sipert CR, et al. Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(6):544–54.
22. Leye Benoist F, Gaye Ndiaye F, Kane AW, Benoist HM, Farge P. Evaluation of mineral trioxide aggregate (MTA) versus calcium hydroxide cement (Dycal®) in the formation of a dentine bridge: a randomised controlled trial. *Int Dent J.* 2012 Feb 1;62(1):33–9.
23. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Aust Endod J.* 2001;27(3):115.
24. Girot G. Coiffage direct : hydroxyde de calcium ou MTA ? – L'Information Dentaire [Internet]. L' Information Dentaire. 2016.
25. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review-Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties [Internet]. Vol. 36, *Journal of Endodontics.* J Endod; 2010. p. 16–27.
26. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod.* 1993;19(11):541–4.
27. Fernandes KPS, Santos EM, Redá SH, Motta LJ, Bussadori SK, Teixeira VP, et al. Biocompatibility analysis of MTA, Portland cement and modified Portland cement on cultured fibroblast cells and subcutaneous tissue. *ConScientiae Saúde.* 2010;9(1):11–6.
28. McNamara RP, Henry MA, Schindler WG, Hargreaves KM. Biocompatibility of accelerated mineral trioxide aggregate in a rat model. *J Endod.* 2010 Nov;36(11):1851–5.
29. Salehi I, Mousavi S, Aminoazarbian M-G, Barati M. Biocompatibility of mineral trioxide aggregate and three new endodontic cements: An animal study. *Dent Res J (Isfahan).* 2012;9(1):54.
30. Camilleri J, Pitt Ford TR. Mineral trioxide aggregate: A review of the constituents and biological properties of the material [Internet]. Vol. 39, *International Endodontic Journal.* Int Endod J; 2006. p. 747–54.
31. Hauman CHJ, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: A review. Part 1. Intracanal drugs and substances [Internet]. Vol. 36, *International Endodontic Journal.* John Wiley & Sons, Ltd; 2003. p. 75–85.
32. Tziafas D, Pantelidou O, Alvanou A, Belibasakis G, Papadimitriou S. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. *Int Endod J.* 2002 Mar;35(3):245–54.
33. Faraco IM, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol.* 2001 Aug;17(4):163–6.
34. Camilleri J. *CliniCal insights Biodentine™ Bien plus que de la dentine en capsule ?*
35. Villat C, Tran VX, Pradelle-Plasse N, Ponthiaux P, Wenger F, Grosogeat B, et al. Impedance methodology: A new way to characterize the setting reaction of dental cements. *Dent Mater.* 2010 Dec;26(12):1127–32.
36. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. In: *Dental Materials.* Dent Mater; 2013.
37. Attik GN, Villat C, Hallay F, Pradelle-Plasse N, Bonnet H, Moreau K, et al. In vitro biocompatibility of a dentine substitute cement on human MG63 osteoblasts cells: Biodentine™ versus MTA®. *Int Endod J.* 2014 Dec 1;47(12):1133–41.
38. Laurent P, Camps J, De Méo M, Déjou J, About I. Induction of specific cell responses to

- a Ca₃SiO₅-based posterior restorative material. *Dent Mater.* 2008 Nov;24(11):1486–94.
39. Luo Z, Li D, Kohli MR, Yu Q, Kim S, He W. Effect of Biodentine™ on the proliferation, migration and adhesion of human dental pulp stem cells. *J Dent.* 2014 Apr 17;42(4):490–7.
 40. Peters OA, Galicia J, Arias A, Tolar M, Ng E, Shin SJ. Effects of two calcium silicate cements on cell viability, angiogenic growth factor release and related gene expression in stem cells from the apical papilla. *Int Endod J.* 2016 Dec 1;49(12):1132–40.
 41. El Karim IA, McCrudden MTC, McGahon MK, Curtis TM, Jeanneau C, Giraud T, et al. Biodentine reduces tumor necrosis factor alpha-induced TRPA1 expression in odontoblastlike cells. *J Endod.* 2016 Apr 1;42(4):589–95.
 42. Eramo S, Natali A, Pinna R, Milia E. Dental pulp regeneration via cell homing [Internet]. Vol. 51, *International Endodontic Journal*. Blackwell Publishing Ltd; 2018. p. 405–19.
 43. Neves VCM, Babb R, Chandrasekaran D, Sharpe PT. Promotion of natural tooth repair by small molecule GSK3 antagonists. *Sci Rep.* 2017;7(January).
 44. Morotomi T, Washio A, Kitamura C. Current and future options for dental pulp therapy. Vol. 55, *Japanese Dental Science Review*. Elsevier Ltd; 2019. p. 5–11.
 45. Maisani M, Sindhu KR, Fenelon M, Siadous R, Rey S, Mantovani D, et al. Prolonged delivery of BMP-2 by a non-polymer hydrogel for bone defect regeneration. *Drug Deliv Transl Res.* 2018 Feb 1;8(1):178–90.
 46. Fawzy El-Sayed KM, Jakusz K, Jochens A, Dörfer C, Schwendicke F. Stem Cell Transplantation for Pulpal Regeneration: A Systematic Review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2015 Oct 1;21(5):451–60.
 47. Mao JJ, Robey PG, Prockop DJ. Stem cells in the face: Tooth regeneration and beyond [Internet]. Vol. 11, *Cell Stem Cell*. Cell Stem Cell; 2012. p. 291–301.
 48. Kim SG, Zheng Y, Zhou J, Chen M, Embree MC, Song K, et al. Dentin and dental pulp regeneration by the patient's endogenous cells. *Endod Top.* 2013 Mar;28(1):106–17.
 49. ISO 10993-1:2018(fr), Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 1: Évaluation et essais au sein d'un processus de gestion du risque [Internet].
 50. ISO 10993-5:2009(fr), Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 5: Essais concernant la cytotoxicité in vitro [Internet].
 51. Widbiller M, Lindner SR, Buchalla W, Eidt A, Hiller KA, Schmalz G, et al. Three-dimensional culture of dental pulp stem cells in direct contact to tricalcium silicate cements. *Clin Oral Investig.* 2016 Mar 1;20(2):237–46.
 52. Pampaloni F, Reynaud EG, Stelzer EHK. The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue [Internet]. Vol. 8, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. *Nat Rev Mol Cell Biol*; 2007. p. 839–45.
 53. Emara R, Elhennawy K, Schwendicke F. Effects of calcium silicate cements on dental pulp cells: A systematic review [Internet]. Vol. 77, *Journal of Dentistry*. Elsevier Ltd; 2018. p. 18–36.
 54. Pedano MS, Li X, Jeanneau C, Ghosh M, Yoshihara K, Van Landuyt K, et al. Survival of human dental pulp cells after 4-week culture in human tooth model. *J Dent.* 2019;86:33–40.
 55. Silva EJNL, Senna PM, De-Deus G, Zaia AA. Cytocompatibility of Biodentine using a three-dimensional cell culture model. *Int Endod J.* 2016 Jun 1;49(6):574–80.
 56. Moghadam KN, Aghili H, Mohassel AR, Zahedpasha S, Moghadamnia AA. A comparative study on sealing ability of mineral trioxide aggregate, calcium enriched cement and

- bone cement in forcai perforations. *Minerva Stomatol.* 2014;63(6):203–10.
57. Janjić K, Alhujazy U, Moritz A, Agis H. L-mimosine and hypoxia enhance angiopoietin-like 4 production involving hypoxia-inducible factor-1alpha: Insights from monolayer and spheroid cultures of dental pulp-derived cells and tooth slice cultures. *Arch Oral Biol.* 2018;85:172–7.
 58. Moghadam KN, Aghili H, Mohassel AR, Zahedpasha S, Moghadamnia AA. A comparative study on sealing ability of mineral trioxide aggregate, calcium enriched cement and bone cement in forcai perforations. *Minerva Stomatol.* 2014;63(6):203–10.
 59. Camilleri J, Laurent P, About I. Hydration of biodentine, theracal LC, and a prototype tricalcium silicate-based dentin replacement material after pulp capping in entire tooth cultures. *J Endod.* 2014 Nov 1;40(11):1846–54.
 60. Jeanneau C, Laurent P, Rombouts C, Giraud T, About I. Light-cured Tricalcium Silicate Toxicity to the Dental Pulp. *J Endod.* 2017 Dec 1;43(12):2074–80.
 61. Kritika S, Mahalaxmi S. Evaluation of calcium hydroxide incorporated with niobium pentoxide as a direct pulp capping agent-A preliminary ex vivo tooth culture model analysis. *Endodontology.* 2021;33(2):86–91.
 62. Laurent P, Camps J, About I. Biodentine TM induces TGF-β1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *Int Endod J.* 2012 May;45(5):439–48.
 63. El Nawam H, El Backly R, Zaky A, Abdallah A. Low-level laser therapy affects dentinogenesis and angiogenesis of in vitro 3D cultures of dentin-pulp complex. *Lasers Med Sci.* 2019 Oct 1;34(8):1689–98.
 64. Gonçalves SB, Dong Z, Bramante CM, Holland GR, Smith AJ, Nör JE. Tooth Slice-Based Models for the Study of Human Dental Pulp Angiogenesis. *J Endod.* 2007;33(7):811–4.
 65. Chakka LRJ, Vislislis J, Vidal C de MP, Biz MT, K. Salem A, Cavalcanti BN. Application of BMP-2/FGF-2 gene-activated scaffolds for dental pulp capping. *Clin Oral Investig.* 2020 Dec 1;24(12):4427–37.
 66. Téclès O, Laurent P, Aubut V, About I. Human tooth culture: A study model for reparative dentinogenesis and direct pulp capping materials biocompatibility. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2008 Apr;85(1):180–7.
 67. Téclès O, Laurent P, Zygouritsas S, Burger AS, Camps J, Dejou J, et al. Activation of human dental pulp progenitor/stem cells in response to odontoblast injury. *Arch Oral Biol.* 2005;50(2 SPEC. ISS.):103–8.
 68. Pedano MS, Li X, Camargo B, Hauben E, De Vleeschauwer S, Yoshihara K, et al. Injectable phosphopullulan-functionalized calcium-silicate cement for pulp-tissue engineering: An in-vivo and ex-vivo study. *Dent Mater.* 2020 Apr 1;36(4):512–26.
 69. Pedano MS, Yoshihara K, Li X, Camargo B, Van Landuyt K, Van Meerbeek B. Experimental resin-modified calcium-silicate cement containing N-(2-hydroxyethyl) acrylamide monomer for pulp tissue engineering. *Mater Sci Eng C.* 2021 Jul 1;126(April):112105.
 70. Pedano MS, Li X, Jeanneau C, Ghosh M, Yoshihara K, Van Landuyt K, et al. Survival of human dental pulp cells after 4-week culture in human tooth model. *J Dent.* 2019 Jul 1;86:33–40.
 71. Janjić K, Edelmayer M, Moritz A, Agis H. L-mimosine and hypoxia can increase angiogenin production in dental pulp-derived cells. *BMC Oral Health.* 2017 May 25;17(1).
 72. Müller HD, Cvíkl B, Janjić K, Nürnberger S, Moritz A, Gruber R, et al. Effects of prolyl hydroxylase inhibitor L-mimosine on dental pulp in the presence of advanced glycation

- end products. *J Endod.* 2015 Nov 1;41(11):1852–61.
73. Trimmel K, Cvikl B, Müller HD, Nürnberger S, Gruber R, Moritz A, et al. L-mimosine increases the production of vascular endothelial growth factor in human tooth slice organ culture model. *Int Endod J.* 2015;48(3):252–60.
 74. Janjić K, Cvikl B, Kurzmann C, Moritz A, Agis H. Do hypoxia and L-mimosine modulate sclerostin and dickkopf-1 production in human dental pulp-derived cells? Insights from monolayer, spheroid and tooth slice cultures. *BMC Oral Health.* 2018;18(1):1–9.
 75. Silva EJNL, Senna PM, De-Deus G, Zaia AA. Cytocompatibility of Biodentine using a three-dimensional cell culture model. *Int Endod J.* 2016 Jun 1;49(6):574–80.
 76. Camilleri J, Laurent P, About I. Hydration of biodentine, theracal LC, and a prototype tricalcium silicate-based dentin replacement material after pulp capping in entire tooth cultures. *J Endod.* 2014;40(11):1846–54.
 77. Chakka LRJ, Vislisel J, Vidal C de MP, Biz MT, K. Salem A, Cavalcanti BN. Application of BMP-2/FGF-2 gene-activated scaffolds for dental pulp capping. *Clin Oral Investig.* 2020 Dec 1;24(12):4427–37.
 78. El Nawam H, El Backly R, Zaky A, Abdallah A. Low-level laser therapy affects dentinogenesis and angiogenesis of in vitro 3D cultures of dentin-pulp complex. *Lasers Med Sci.* 2019 Oct 1;34(8):1689–98.
 79. Janjić K, Cvikl B, Kurzmann C, Moritz A, Agis H. Do hypoxia and L-mimosine modulate sclerostin and dickkopf-1 production in human dental pulp-derived cells? Insights from monolayer, spheroid and tooth slice cultures. *BMC Oral Health.* 2018 Mar 9;18(1).
 80. Jeanneau C, Laurent P, Rombouts C, Giraud T, About I. Light-cured Tricalcium Silicate Toxicity to the Dental Pulp. *J Endod.* 2017;43(12):2074–80.
 81. Kritika S, Mahalaxmi S. Evaluation of calcium hydroxide incorporated with niobium pentoxide as a direct pulp capping agent-A preliminary ex vivo tooth culture model analysis. *Endodontology.* 2021;33(2):86–91.
 82. Müller HD, Cvikl B, Janjić K, Nürnberger S, Moritz A, Gruber R, et al. Effects of prolyl hydroxylase inhibitor L-mimosine on dental pulp in the presence of advanced glycation end products. *J Endod.* 2015;41(11):1852–61.
 83. Pedano MS, Li X, Jeanneau C, Ghosh M, Yoshihara K, Van Landuyt K, et al. Survival of human dental pulp cells after 4-week culture in human tooth model. *J Dent.* 2019 Jul 1;86:33–40.
 84. Pedano MS, Yoshihara K, Li X, Camargo B, Van Landuyt K, Van Meerbeek B. Experimental resin-modified calcium-silicate cement containing N-(2-hydroxyethyl) acrylamide monomer for pulp tissue engineering. *Mater Sci Eng C.* 2021;126.
 85. Téclès O, Laurent P, Aubut V, About I. Human tooth culture: A study model for reparative dentinogenesis and direct pulp capping materials biocompatibility. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2008;85(1):180–7.
 86. Magloire H, Joffre A, Bleicher F. An in vitro model of human dental pulp repair. *J Dent Res.* 1996;75(12):1971–8.
 87. Sloan AJ, Shelton RM, Hann AC, Moxham BJ, Smith AJ. An in vitro approach for the study of dentinogenesis by organ culture of the dentine-pulp complex from rat incisor teeth. *Arch Oral Biol.* 1998;43(6):421–30.
 88. Nowicka A, Lipski M, Parafiniuk M, Sporniak-Tutak K, Lichota D, Kosierkiewicz A, et al. Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2013;39(6):743–7.
 89. Chung M, Lee S, Chen D, Kim U, Kim Y, Kim S, et al. Effects of Different Calcium Silicate

- Cements on the Inflammatory Response and Odontogenic Differentiation of Lipopolysaccharide-Stimulated Human Dental Pulp Stem Cells. *Materials (Basel)*. 2019;12(8).
90. Müller HD, Cviki B, Janjić K, Nürnberger S, Moritz A, Gruber R, et al. Effects of prolyl hydroxylase inhibitor L-mimosine on dental pulp in the presence of advanced glycation end products. *J Endod*. 2015 Nov 1;41(11):1852–61.
 91. Friedman JW. The Prophylactic Extraction of Third Molars: A Public Health Hazard. *Am J Public Health*. 2007 Jan 9;97(9):1554.
 92. Adnan S, Khan FR. Storage media for avulsed teeth: a review. *J Pakistan Dent Assoc*. 2015;3(2):54–60.
 93. Arora M. Cell Culture Media: A Review. *Mater Methods*. 2013 Mar 5;3.
 94. Poon C. Measuring the density and viscosity of culture media for optimized computational fluid dynamics analysis of in vitro devices. *bioRxiv*. 2020 Aug 25;2020.08.25.266221.
 95. Muschler GF, Nakamoto C, Griffith LG. Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering. *J Bone Jt Surg - Ser A*. 2004;86(7):1541–58.
 96. Sladkova M, de Peppo GM. Bioreactor systems for human bone tissue engineering. *Processes*. 2014;2(2):494–525.
 97. Yeatts AB, Fisher JP. Bone tissue engineering bioreactors: Dynamic culture and the influence of shear stress. *Bone*. 2011;48(2):171–81.

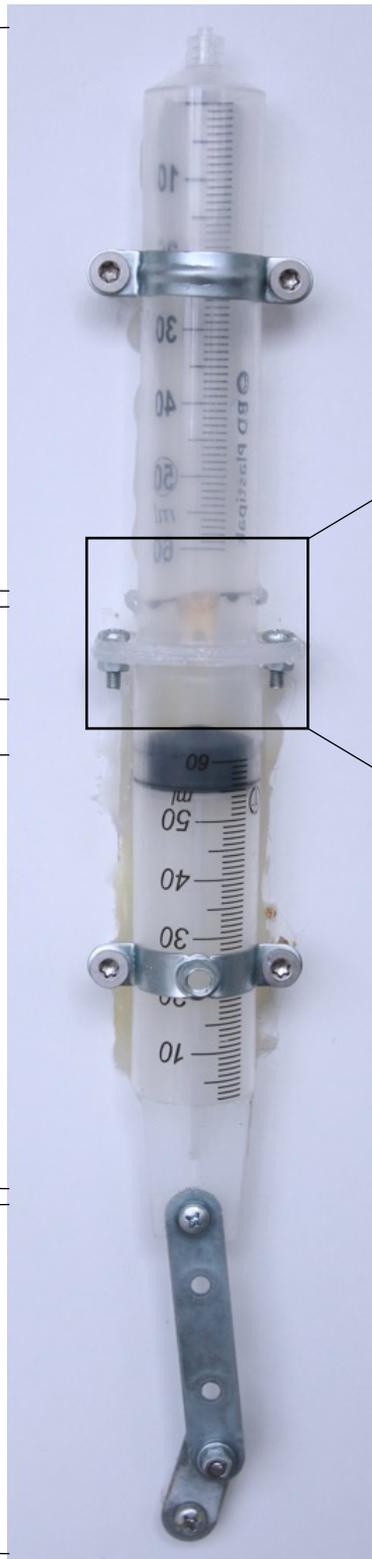
Annexes

Seringue 60 mL
contenant la dent
en son extrémité
inférieure
Conservation d'un
événement (extrémité
supérieure)

Liaison entre les 2
seringues
(étanchéité silicone
+ visserie inox)

Seringue 60 mL,
piston poussoir
modifié

Dispositif de
transformation du
mouvement
rotation/translation



Dispositif de fixation
de la dent (fil
métallique + résine
composite fluide)

Figure 10 Prototype du bioréacteur

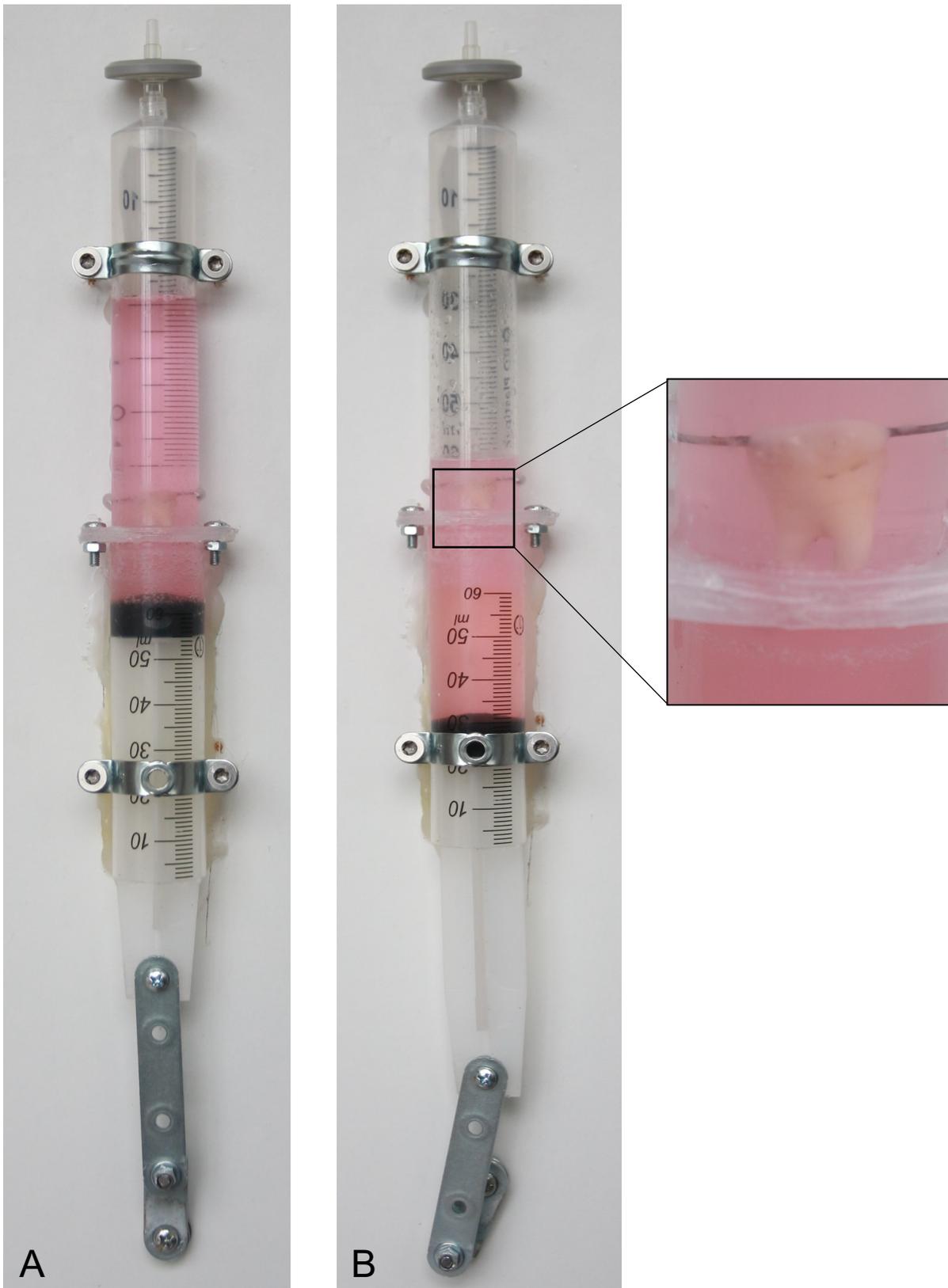


Figure 11 Mise en situation du bioréacteur contenant du milieu de culture cellulaire lors de la phase ascendante (A) puis descendante (B) du piston. Un filtre $0,22\mu\text{m}$ est placé sur l'évent de la seringue supérieure afin de limiter l'entrée de contaminants.

Collège des Sciences de la Santé

UFR des Sciences Odontologiques

Serment

En présence de mes Maîtres et de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de l'art dentaire.

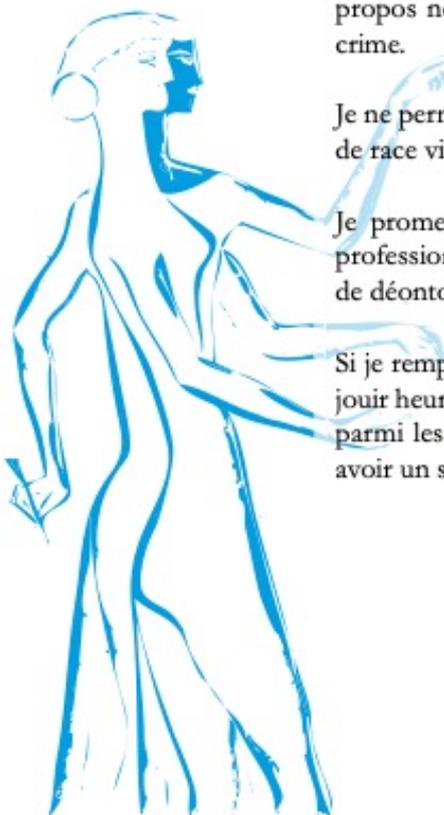
Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un honoraire au-dessus de mon travail. Ma langue taira les secrets qui me seront confiés. Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Mes connaissances et mon état ne serviront ni à diffuser des propos non avérés, ni à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des conditions de croyance, de nation et de race viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je promets et je jure de conformer strictement ma conduite professionnelle aux principes et aux règles prescrites par le code de déontologie.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.



Vu, Le Président du Jury,

Date, Signature :

Vu, la Directrice de l'UFR des Sciences Odontologiques,

Date, Signature :

Vu, le Président de l'Université de Bordeaux,

Date, Signature :

Développement d'un bioréacteur pour l'étude *ex vivo* de biomatériaux appliqués à l'Odontologie : élaboration d'un cahier des charges à partir d'une revue systématique de la littérature

Résumé :

Introduction : A ce jour, il n'existe pas à notre connaissance de modèle d'étude *ex vivo* performant pour l'étude des mécanismes de cicatrisation du complexe dentino-pulpaire et des propriétés des matériaux de coiffage pulpaire. L'objectif de ce travail était de répertorier les différents modèles *ex vivo* utilisés pour l'étude des matériaux visant la réparation et la régénération de la pulpe, afin d'établir un cahier des charges pour la mise au point d'un nouveau modèle d'étude *ex vivo* performant. **Matériel et méthode :** Une revue systématique de la littérature a été réalisée à partir de deux bases de données (Pubmed® et Scopus®). Les études devaient concerner l'étude *ex vivo* des propriétés de biomatériaux ou de stratégies d'ingénierie tissulaire pour l'odontologie conservatrice en utilisant des dents extraites chez l'Homme. **Résultats :** 19 articles ont été inclus dans cette étude. Lors de l'analyse, plusieurs paramètres ont été relevés : les types de modèles utilisés, les méthodes de préparation du modèle, les méthodes de culture du modèle et les moyens d'évaluation des comportements cellulaires et/ou tissulaires. **Discussion :** Différents modèles sont retrouvés dans la littérature. Bien qu'ils visent à se rapprocher des conditions physiologiques, ils présentent certaines limites. La diffusion du milieu de culture aux cellules de la pulpe dentaire étant limitée, ces dernières ont un accès restreint aux éléments nécessaires à leur développement. Ainsi, l'élaboration d'un nouveau modèle reposant sur la conception d'un bioréacteur semble pertinente. La réalisation de la revue de la littérature a permis de dégager les pistes à suivre pour la conception d'un modèle optimal. Une autre étude portant sur l'analyse de la viabilité et du comportement cellulaire après des périodes de culture supérieures à 4 semaines au sein de ce bioréacteur est nécessaire. Celle-ci permettra de valider la pertinence de ce modèle de bioréacteur pour l'étude des biomatériaux de coiffage pulpaire *ex vivo*.

Mots clés : Biologie de la pulpe dentaire ; Ingénierie tissulaire ; Biomatériaux ; Bioréacteur

Bioreactor development for the *ex vivo* study of biomaterials applied to Odontology: elaboration of specifications from a systematic review of the literature

Abstract:

Introduction: To our knowledge, there is currently no efficient *ex vivo* model for the study of the healing mechanisms of the dentin-pulp complex and the properties of pulp capping materials. The objective of this work was to list the different *ex vivo* models used for the study of materials aiming at pulp repair and regeneration, in order to establish specifications for the development of a new efficient *ex vivo* study model. **Material and method:** A systematic review of the literature was performed using two databases (Pubmed® and Scopus®). Studies had to concern the *ex vivo* study of the properties of biomaterials or tissue engineering strategies for conservative dentistry using extracted human teeth. **Results:** 19 articles were included in this study. During the analysis, several parameters were identified: the types of models used, the methods of model preparation, the methods of model culture and the means of evaluating cellular and/or tissue behavior. **Discussion:** Different models are found in the literature. Although they aim to approximate physiological conditions, they have certain limitations. The diffusion of the culture medium to the cells of the dental pulp being limited, cells have a restricted access to the elements necessary for their development. Therefore, the development of a new model based on the design of a bioreactor seems relevant. The review of the literature has allowed us to identify the paths to follow for the design of an optimal model. Another study on the analysis of the viability and the cellular behavior after periods of culture higher than 4 weeks within this bioreactor is necessary. This will validate the relevance of this bioreactor model for the study of *ex vivo* pulp capping biomaterials.

Keywords: Dental pulp biology; Tissue engineering; Biomaterials; Bioreactor