



HAL
open science

Évaluation des propriétés angiogéniques des biomatériaux de coiffage pulpaire

Margot Tessonier

► **To cite this version:**

Margot Tessonier. Évaluation des propriétés angiogéniques des biomatériaux de coiffage pulpaire. Médecine humaine et pathologie. 2022. dumas-04084513

HAL Id: dumas-04084513

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04084513v1>

Submitted on 28 Apr 2023

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

THESE

***POUR OBTENIR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE***

Présentée et publiquement soutenue devant

Aix-Marseille Université
(Président : Monsieur le Professeur Éric BERTON)

Faculté des Sciences Médicales et Paramédicales
(Doyen : Monsieur le Professeur Georges LEONETTI)

Ecole de Médecine Dentaire
(Directeur : Monsieur le Professeur Bruno FOTI)

***Évaluation des propriétés angiogéniques des
biomatériaux de coiffage pulpaire***

Présentée par

TESSONNIER Margot

Née le 11/01/1992
A Marseille

Thèse soutenue le **Judi 13 Octobre 2022**

Devant le jury composé de

Président : Professeur RASKIN Anne

Assesseurs : Dr CATHERINE Jean-Hugues

Dr GIRAUD Thomas

Dr JEANNEAU Charlotte

THESE

***POUR OBTENIR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE***

Présentée et publiquement soutenue devant

Aix-Marseille Université
(Président : Monsieur le Professeur Éric BERTON)

Faculté des Sciences Médicales et Paramédicales
(Doyen : Monsieur le Professeur Georges LEONETTI)

Ecole de Médecine Dentaire
(Directeur : Monsieur le Professeur Bruno FOTI)

***Évaluation des propriétés angiogéniques des
biomatériaux de coiffage pulpaire***

Présentée par

TESSONNIER Margot

Née le 11/01/1992
A Marseille

Thèse soutenue le **Judi 13 Octobre 2022**

Devant le jury composé de

Président : Professeur RASKIN Anne

Assesseurs : Dr CATHERINE Jean-Hugues

Dr GIRAUD Thomas

Dr JEANNEAU Charlotte

ADMINISTRATION

Doyens Honoraires	Professeur	Raymond SANGIUOLO†
	Professeur	Henry ZATTARA
	Professeur	André SALVADORI
	Professeur	Jacques DEJOU
Directeur	Professeur	Bruno FOTI
Directeurs adjoints	Professeur	Michel RUQUET
	Professeur	Anne RASKIN
Chargés de missions		
Formation Initiale	Professeur	Michel RUQUET
Recherche	Professeur	Anne RASKIN
Formation Continue	Professeur	Frédéric BUKIET
Relations Internationales	Professeur	Hervé TASSERY
Internat et Diplômes d'études spécialisées	Professeur	Virginie MONNET-CORTI
Affaires générales	Docteur	Patrick TAVITIAN
Responsable Administrative	Madame	Katia LEONI

PROMOTIONS :

2019 Raymond SANGIUOLO
2020 Gaston BERGER
2021 Joseph MIGOZZI
2022 Jérôme GALLION

LISTE DES ENSEIGNANTS

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS DES CSERD

BUKIET Frédéric (58-01)
FOTI Bruno (58-02)
LE GALL Michel (56-01)
MONNET-CORTI Virginie (57-01)
RASKIN Anne (58-01)
RUQUET Michel (58-01)
TARDIEU Corinne (56-01)
TARDIVO Delphine (56-02)
TASSERY Hervé (58-01)
TERRER Elodie (58-01)

PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS

ABOUT Imad (65)

PROFESSEURS ÉMÉRITES

DEJOU Jacques (58-01)
HUE Olivier (58-01)

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS DES CSERD

ABOUDHARAM Gérard (58-01)	LAN Romain (56-02)
ANTEZACK Angeline (57-01)	LAURENT Michel (58-01)
BELLONI Didier (57-01)	MAILLE Gérald (58-01)
BOHAR Jacques (56-01)	MENSE Chloé (58-01)
CAMOIN Ariane (56-01)	PHILIP-ALLIEZ Camille (56-01)
CAMPANA Fabrice (57-01)	POMMEL Ludovic (58-01)
CATHERINE Jean-Hugues (57-01)	PRECKEL Bernard-Éric (58-01)
GAUBERT Jacques (56-01)	RÉ Jean-Philippe (58-01)
GIRAUD Thomas (58-01)	ROCHE-POGGI Philippe (57-01)
GIRAUDEAU Anne (58-01)	SILVESTRI Frédéric (58-01)
GUIVARC'H Maud (58-01)	STEPHAN Grégory (58-01)
JACQUOT Bruno (58-01)	TAVITIAN Patrick (58-01)
LABORDE Gilles (58-01)	TOSELLO Alain (58-01)

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS ASSOCIÉS

BALLESTER Benoît (58-01)

BLANCHET Isabelle (58-01)

CASAZZA Estelle (58-01)

CHEFS DE CLINIQUE DES UNIVERSITÉS - ASSISTANTS DES HÔPITAUX

ARNIER Canelle (56-01)

BOREL Guillaume (56-02)

BAUDINET Thomas (58-01)

BRINCAT Arthur (57-01)

BROS Agnès (56-01)

CHIARINI Thomas (58-01)

DUPRAT Florence (56-01)

FAURE-BRAC Mathias (57-01)

FERRE Enzo (58-01)

FOUQUES Agathe (56-01)

HAMMOUTENE Stéphane (57-01)

LAFONT Jacinthe (57-01)

LAURENT Camille (58-01)

LIOTARD Alicia (58-01)

MADENIAN Pauline (58-01)

MANSUY Charlotte (58-01)

MARTIN William (56-01)

ONGHENA Tom (56-01)

PASCHEL Laura (58-01)

PILLIOL Virginie (58-01)

PRINCE Fanny (57-01)

RAYNAUD Camille (58-01)

REYNAL Florence (56-01)

ROMAO Vincent (57-01)

ROUSCOFF Eva (57-01)

SADOWSKI Camille (57-01)

TERRER Jérémy (56-01)

VIEILLARD Pierre (56-01)

ASSISTANTE DES UNIVERSITÉS ASSOCIÉ

BROTON Adèle (56-01)

Intitulés des sections CNU :

56^{ème} section : Développement, croissance et prévention

56-01 Odontologie pédiatrique et orthopédie dento-faciale

56-02 : Prévention – Epidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale

57^{ème} section : Chirurgie orale, Parodontologie, Biologie Orale

57-01 : Chirurgie orale – Parodontologie – Biologie orale

58^{ème} section : Réhabilitation orale

58-01 : Dentisterie restauratrice – Endodontie – Prothèses – Fonction-Dysfonction – Imagerie – Biomatériaux

L'auteur s'engage à respecter les droits des tiers, et notamment les droits de propriété intellectuelle. Dans l'hypothèse où la thèse comporterait des éléments protégés par un droit quelconque, l'auteur doit solliciter les autorisations nécessaires à leur utilisation, leur reproduction et leur représentation auprès du ou des titulaires des droits. L'auteur est responsable du contenu de sa thèse. Il garantit l'Université contre tout recours. Elle ne pourra en aucun cas être tenue responsable de l'atteinte aux droits d'un tiers

***A madame la présidente du jury,
Madame la Professeure Anne RASKIN***

Merci d'avoir accepté de présider cette thèse au pied levé

Je n'ai pas eu la chance de travailler avec vous, mais vous nous avez accueilli et suivi tout au long de notre dernière année toujours avec sérieux et gentillesse. Vous avez toujours été disponible pour répondre à mes questions et pour me donner vos conseils.

Veillez trouver ici l'expression la plus sincère de mon respect

***A mon directeur de thèse
Monsieur le Docteur Thomas GIRAUD***

Merci d'avoir accepté de diriger cette thèse.

Vous avez été d'un soutien indéfectible. Merci d'avoir répondu à toutes mes questions, corrigés toutes mes erreurs et mes tableaux quand je ne mettais pas les bons chiffres au bon endroit sans raison.

Vous avez réussi non seulement à répondre à mes interrogations concernant ce travail, tout en m'aidant dans ma pratique de tous les jours lorsque je vous demandais (souvent) un avis pour mes cas du quotidien. J'ai pu effectuer ce travail mais également apprendre sur ma pratique quotidienne grâce à vos précieux conseils et progresser en tant que dentiste, mais aussi en tant que personne.

Sans vous, je n'aurais pas pu réaliser ce manuscrit.
J'ai beaucoup apprécié travailler avec vous et c'était un honneur de pouvoir suivre vos conseils.

Veillez trouver ici l'expression de mon plus profond respect et de ma gratitude.

***Au jury de thèse,
Monsieur le Docteur Jean-Hugues CATHERINE***

Merci d'avoir accepté immédiatement de faire partie de mon jury de thèse.

Je n'aurais pas autant appris dans le service de Chirurgie sans vos précieux conseils. Vous avez toujours été disponible pour transmettre votre savoir avec patience et bienveillance. J'ai toujours beaucoup apprécié travailler avec vous.

Veillez trouver ici le témoignage de ma profonde gratitude et de mon estime à votre égard.

Au jury de thèse

Madame le Docteur Charlotte JEANNEAU

Merci pour ton aide tout au long de ce travail.

Je n'aurai pas pu réaliser ce manuscrit sans tes précieux conseils, tes connaissances et ton implication personnelle.

Tu me l'auras demandé plusieurs fois, mais finalement j'aurais fini par réussir à t'envoyer toutes les parties.

Merci pour ta patience, ton aide, ta bienveillance et tout ce que tu as fait pour moi pendant ces nombreux mois. Merci d'avoir répondu à toutes mes questions, même quand je te les posais plusieurs fois.

REMERCIEMENTS

A l'équipe du laboratoire de recherche de l'ISM

A Monsieur le Professeur Imad ABOU, merci de m'avoir acceptée dans votre laboratoire. Vos précieux conseils et votre gentillesse m'ont été d'une grande aide tout au long de mon travail. Vous avez toujours été à l'écoute et m'avez permis de me sentir parfaitement intégrée au sein de votre équipe. Et pour ça, je vous remercie. Grâce à votre disponibilité et votre bienveillance, je me suis sentie à l'aise et j'ai pu travailler dans les meilleures conditions. Veuillez trouver ici l'expression de mon plus profond respect.

Sandra, mon séjour au labo n'aurait pas été le même sans toi. Tu m'as rapidement mis à l'aide et ta gentillesse a été un moteur moi pendant tout ce travail. Sans toi, je n'aurais jamais pu autant participer à la vie du laboratoire (en tout cas à l'extérieur). Tu as toujours été disponible pour me conseiller avec patience et bienveillance et pour m'aider pour mes manip. Merci.

Aurélie, ne plus t'entendre dire que tu as faim va me manquer. Merci pour tes conseils, tes siestes cachées, ton humour et ta bonne humeur. J'espère qu'un jour je gouterai ta fameuse cuisine, et promis en échange je ferai le dessert. Merci de m'avoir aidé à réaliser les manip et d'avoir été présente.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
I. L'ORGANE DENTAIRE	3
II. LES ATTEINTES DU COMPLEXE PULPO-DENTINAIRE	6
III. MECANISMES DE DEFENSE ET DE REGENERATION PULPAIRE	8
A. MECANISME DE DEFENSE	8
B. LA REGENERATION PULPAIRE	12
1. Généralités.....	12
2. L'angiogenèse	13
IV. TRAITEMENT DES LESIONS CARIEUSES ET MAINTIEN DE LA VITALITE PULPAIRE	15
A. TRAITEMENT DE LA LESION CARIEUSE	15
B. LES DIFFERENTS MATERIAUX DE COIFFAGE DIRECT	17
1. L'hydroxyde de calcium.....	17
2. Le Mineral Trioxide Aggregate (MTA).....	18
3. Le Biodentine™	19
4. Le TheraCal LC®.....	20
OBJECTIFS	21
MATERIELS ET METHODES	22
I. MATERIELS	22
II. CULTURE CELLULAIRE	22
A. FIBROBLASTES PULPAIRES	22
B. CELLULES HUVEC	23
III. PREPARATION DES EXTRAITS DE MATERIAUX	23
IV. "TRAITEMENT" DES CELLULES	24
V. CYTOTOXICITE	25
VI. SECRETION DE FGF-2, VEGF ET PDGF PAR LES FIBROBLASTES PULPAIRES	25
VII. SECRETION DE VEGF ET PDGF PAR LES CELLULES HUVEC	26
VIII. MIGRATIONS DES HUVEC	27
IX. PROLIFERATION DES HUVEC	28
X. ANALYSE STATISTIQUE	28
RESULTATS	29
I. CYTOTOXICITE	29
II. SECRETION DES FACTEURS DE CROISSANCE PAR LES FIBROBLASTES PULPAIRES	29
A. SECRETION DE FGF-2 PAR LES FIBROBLASTES PULPAIRES.....	29
B. SECRETION DE VEGF PAR LES FIBROBLASTES PULPAIRES	30
C. SECRETION DE PDGF PAR LES FIBROBLASTES PULPAIRES	31

III. SECRETION DES FACTEURS DE CROISSANCE PAR LES HUVEC	31
A. SECRETION DE PDGF PAR LES CELLULES HUVEC	31
B. SECRETION DE VEGF PAR LES CELLULES HUVEC.....	32
IV. MIGRATIONS DES CELLULES HUVEC.....	32
V. PROLIFERATION DES CELLULES HUVEC.....	34
DISCUSSION ET CONCLUSION	36
BIBLIOGRAPHIE	A

INTRODUCTION

La dent s'inscrit dans la première étape de l'alimentation, servant à la mastication des aliments, mais également dans l'aspect social de la vie quotidienne. Toute atteinte de son intégrité biologique peut entraîner des conséquences néfastes tout au long de la vie du patient, aussi bien physiques qu'infectieuses ou encore psychologiques. Bien que présentant de nombreuses similitudes avec les autres structures anatomiques de l'organisme, la dent, ou organe dentaire est une structure unique, composée d'une partie minérale et d'une partie vascularisée et hautement innervée avec comme environnement local particulier, la salive.

Selon le rapport de l'IHME (Institute for Health Metrics and Evaluation), concernant la morbidité mondiale en 2019 (1), près de 3,5 milliards de personnes sont touchées dans le monde par des affections bucco-dentaires, et les lésions carieuses non traitées des dents définitives s'avèrent être les plus courantes. La pathologie carieuse, relative à l'attaque acide des bactéries cariogènes présentes dans la salive, va entraîner une dissolution de l'émail, puis de la dentine et finir par former une cavité dans la dent. Cette pathologie est favorisée par certaines habitudes de vie, associées à une mauvaise hygiène bucco-dentaire. Sa progression peut aboutir à une inflammation de la pulpe, appelée pulpite, et nommée dans le langage courant par « rage de dent ».

D'autre part, les traumatismes de la région buccale sont également fréquents et encore plus chez les enfants et jeunes adultes. Les fractures coronaires des dents lactéales à la suite d'un traumatisme peuvent compromettre la vitalité pulpaire et avoir des conséquences sur le développement de la dent définitive. Lorsque ce type de traumatisme touche la dent permanente immature (et d'autant plus lorsque la pulpe dentaire se retrouve exposée), le maintien de la vitalité pulpaire est essentiel pour que la dent puisse finir son édification radiculaire (2). Dans tous les cas, que la dent soit mature ou immature, l'espérance

de vie des dents dévitalisées est moins bonne que celle d'une dent vivante, c'est pourquoi, lorsque cela est indiqué, il faudra tout mettre en œuvre pour garder la pulpe vivante (3).

Malgré les progrès réalisés par l'ingénierie tissulaire et la dentisterie moderne, le maintien de la vitalité pulpaire reste un vrai défi, aussi bien dans l'exposition traumatique de la pulpe que dans le cas des lésions carieuses profondes. Parmi les moyens thérapeutiques disponibles sur le marché actuellement on retrouve divers matériaux biocompatibles de coiffage pulpaire utilisés par les chirurgiens-dentistes. Cette thèse a pour but d'étudier l'influence de certains de ces biomatériaux disponibles, notamment le Biodentine™ et le TheraCal LC®, sur une étape clé permettant le maintien de la vitalité pulpaire : l'angiogenèse pulpaire. L'angiogenèse se définit comme le développement de vaisseaux capillaires à partir de capillaires préexistants, c'est un processus qui intervient notamment dans la cicatrisation (4).

Au cours de l'introduction, nous détaillerons d'abord l'anatomie et la physiologie de l'organe dentaire, avant d'aborder les divers types de pathologies, auxquels le complexe pulpo-dentinaire peut être confronté. Nous aborderons ensuite ses mécanismes de défense et de régénération (dont l'angiogenèse), puis nous nous pencherons sur l'arsenal thérapeutique disponible pour traiter ces atteintes du complexe pulpo-dentinaire.

Nous avons réalisé ce travail de recherche en concevant des expériences reproduisant *in vitro* des attaques bactériennes et des lésions « physiques » sur des cellules pulpaires humaines. Ainsi, à la suite de l'application des biomatériaux sélectionnés, nous avons pu évaluer les différentes réactions des cellules pulpaires, face à la réponse inflammatoire induite. Les méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus, seront présentés dans les parties suivantes de ce manuscrit avant d'y être discutés.

I. L'organe Dentaire

L'organe dentaire est composé, de l'extérieur vers l'intérieur, de l'émail, de la dentine et de la pulpe, qui assure la vitalité de cet organe. Du fait de leur proximité mais aussi de leurs relations histologiques et fonctionnelles, on parle de complexe pulpo-dentinaire (Figure 1).

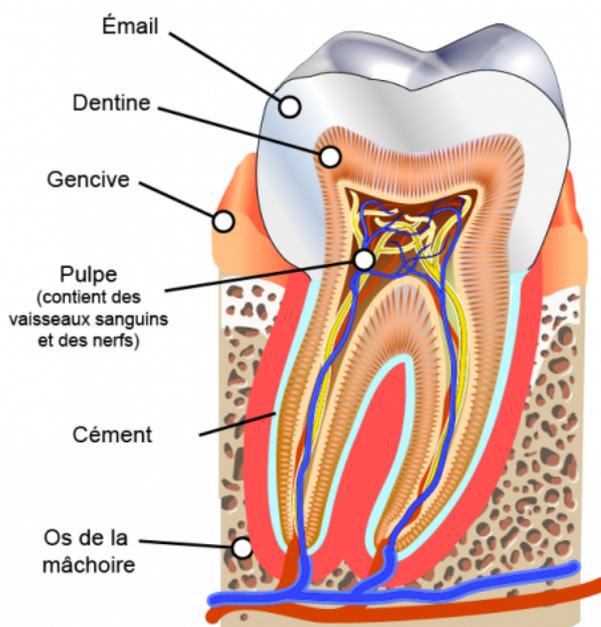


Figure 1 : La composition de la dent (5)

L'émail

Il s'agit de la substance la plus dure et la plus minéralisée de l'organisme (6). L'émail n'est ni vascularisé, ni innervé. Il est acellulaire et comprend moins de 1% de matière organique. Il est composé de cristaux d'hydroxyapatite de calcium imbriqués les uns dans les autres. L'émail est situé sur la partie coronaire de la dent. Sa fonction principale est de protéger les tissus sous-jacents.

La dentine

Elle est le tissu majoritaire de la dent. Elle est localisée sous l'émail pour la partie coronaire, sous le cément pour la partie radiculaire de la dent. La dentine est moins minéralisée que

l'émail mais plus que le ciment ou le tissu osseux. Elle est constituée à 70% d'une phase minérale, 20% d'une phase organique et 10% d'une phase aqueuse (7).

La phase minérale est composée de cristaux d'hydroxyapatite constitués d'ions calcium et d'ions phosphates. Ces ions proviennent du sang et sont transportés grâce aux odontoblastes (8).

La phase organique est composée à 90% de protéines collagéniques et à 10% de protéines non collagéniques. Les protéines collagéniques sont principalement du collagène de type I, mais aussi de collagène de type III et de type V. Les protéines non collagéniques sont des protéines phosphorylées et des protéines non phosphorylées (facteurs de croissance notamment) (7).

La dentine est produite par les odontoblastes qui se composent de deux parties : le corps cellulaire et les prolongements odontoblastiques. Le corps cellulaire se situe dans la pulpe, le long du front de minéralisation, au contact de la pré-dentine (Figure 2), qui est une dentine non minéralisée et en cours de formation. Les prolongements odontoblastiques sont dans la dentine, à l'intérieur de tubulis qui parcourent la dentine, et dont le diamètre se rétrécit en se rapprochant de l'émail pour finir par former une dentine atubulaire, appelée aussi manteau dentinaire au niveau coronaire.

La dentine a pour rôle de protéger la pulpe, et cette dernière assure la formation de la dentine (9).

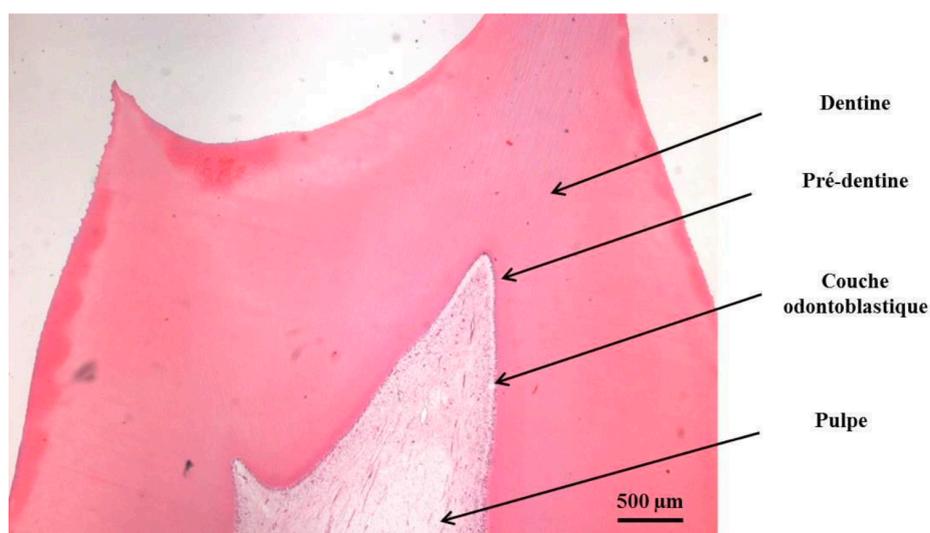


Figure 2 : Coupe histologique d'une dent saine, coloration hématoxyline-éosine (10)

La pulpe

La pulpe assure la vitalité de la dent par l'intermédiaire de vaisseaux sanguins et lymphatiques et de nombreuses fibres nerveuses. Elle se constitue de deux parties : la pulpe camérale et la pulpe radulaire.

La répartition cellulaire n'est pas homogène dans la pulpe, on retrouve une partie dite « dentinogénique » et une partie centrale (11). De nombreuses populations cellulaires ayant toutes un rôle particulier et indispensable au maintien de la santé pulpaire sont présentes, on retrouve :

- Les odontoblastes qui forment la couche odontoblastique. Ce sont des cellules hautement différenciées, elles constituent l'élément caractéristique de la pulpe grâce à leur implication dans la formation de la dentine (12).
- Les fibroblastes pulpaires représentent la population cellulaire majoritaire de la pulpe. Ils ont un aspect fusiforme. Ils sont impliqués dans la synthèse de la matrice extracellulaire de la pulpe. Ils participent aussi au maintien de la viscoélasticité de la pulpe, ce qui permet de limiter les réactions inflammatoires lors des agressions mineures, via la réduction de la pression intra pulpaire Les fibroblastes pulpaires sont également impliqués dans la sécrétion de facteurs de croissance et dans la synthèse des protéines du système Complément (13), largement impliqués les phénomènes de défense et de régénération pulpaire (14)
- Les cellules de défense sont immunocompétentes, en charge de la lutte contre les bactéries pathogènes et capable d'initier la réaction inflammatoire. On distingue des mastocytes, des lymphocytes T et B, des cellules endothéliales, des cellules dendritiques et des macrophages (11,15).
- Les cellules souches pulpaires (dental pulp stem cells, DPSC) sont des cellules mésenchymateuses indifférenciées, présentes à proximité des vaisseaux sanguins sous forme de niches péri-vasculaires (16). Elles sont un réservoir de cellules multipotentes capables de se différencier en odontoblastes ou fibroblastes pulpaires (17). Ces cellules, douées de chimiotactisme, peuvent intervenir rapidement en cas d'atteinte du complexe pulpo-dentinaire (18). De plus, lors des réactions inflammatoires, ces cellules, de même que les fibroblastes pulpaires peuvent proliférer rapidement sous l'influence des protéines du complément (19).

La pulpe et la dentine sont étroitement liées, elles peuvent réagir indépendamment aux différents stimulus, mais tout ce qui affecte la dentine peut affecter la pulpe et inversement (20). La dentine contient les prolongements cytoplasmiques des odontoblastes situés dans la pulpe, assurant ainsi la transmission des informations venant de l'extérieur (Figure 3). La pulpe est ainsi en capacité de se protéger des agressions extérieures (8). La pulpe contient également de nombreux vaisseaux et des nerfs qui arrivent par le foramen apical de la dent. La vascularisation est indispensable pour apporter nutriments et oxygène aux nombreuses cellules présentes dans la pulpe, jouant aussi un rôle important dans la réaction inflammatoire ainsi que dans la régénération pulpaire (21).

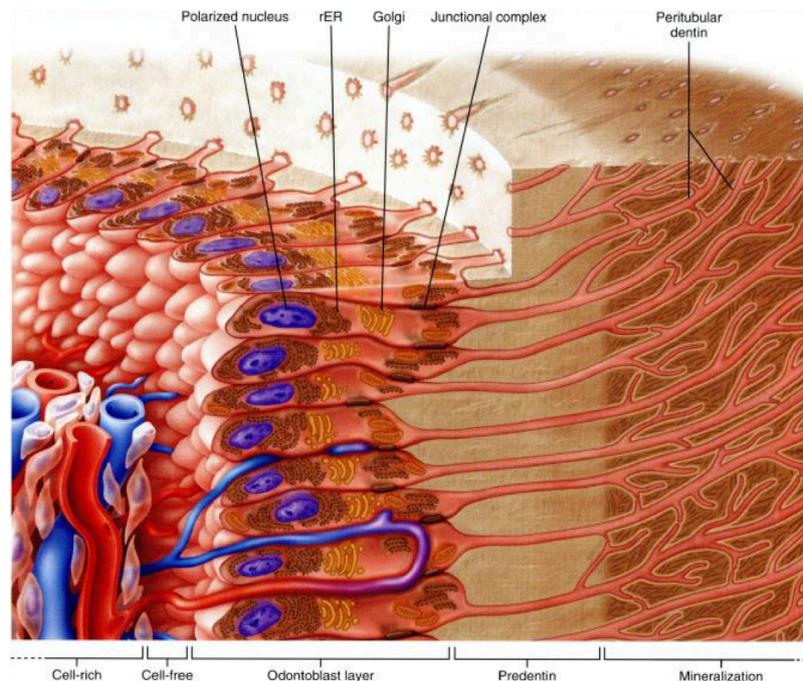


Figure 3: Représentation du complexe pulpo-dentinaire (22)

II. Les atteintes du complexe pulpo-dentinaire

Le complexe pulpo-dentinaire est protégé des agressions extérieures par l'émail, cependant, il existe des situations entraînant une altération de cet émail et une atteinte du complexe pulpo-dentinaire. Les causes d'altération de l'émail sont nombreuses. Elles peuvent être d'origine chimique, thermique, physique, mécanique ou encore bactérienne. Ces dernières sont la principale étiologie des réactions pulpaires via la pathologie carieuse et

également lors de lésions traumatiques. L'environnement buccal est considéré comme un endroit septique. En effet, il contient plus de 700 espèces bactériennes différentes (23). Toutes les bactéries ne sont pas cariogènes, les principales responsables sont des bactéries Gram positif appartenant aux genres Lactobacilles et Streptocoques, en association avec les sucres fermentescibles, substance cariogène (24).

Sur les surfaces dentaires exposées en bouche, les bactéries vont s'organiser en un biofilm entouré d'une matrice extra-cellulaire appelée plaque dentaire (25). La formation de cette plaque dentaire se fait en plusieurs étapes : formation d'une pellicule exogène acquise, film organique qui se fixe sur les surfaces dentaires (Figure 4). Les bactéries vont y adhérer puis mûrir avant de se détacher grâce au nettoyage des dents et aux forces exercées sur la plaque.

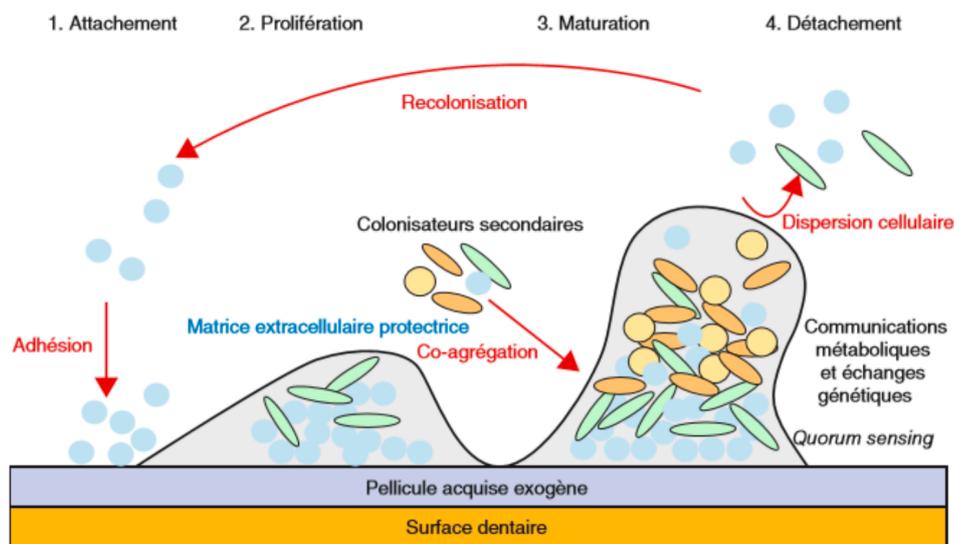


Figure 4 : Représentation schématique de la formation d'un biofilm (26)

Les bactéries vont sécréter des acides qui provoquent la déminéralisation de l'émail. En temps normal, un équilibre se fait entre minéralisation et déminéralisation. Ces variations sont intimement liées à la fluctuation du pH dans la cavité orale. Lors du processus carieux, cet équilibre est rompu, entraînant une altération de l'émail (27) puis une atteinte du tissu dentinaire plus sensible à la déminéralisation en raison de sa composition organo-minérale. Les bactéries, leurs toxines et produits de dégradation vont alors pouvoir pénétrer en

direction du tissu pulpaire (Figure 5), via les tubulis dentinaires (9). Une lésion carieuse proche de la pulpe entrainera quasi systématiquement une réaction pulpaire (25).

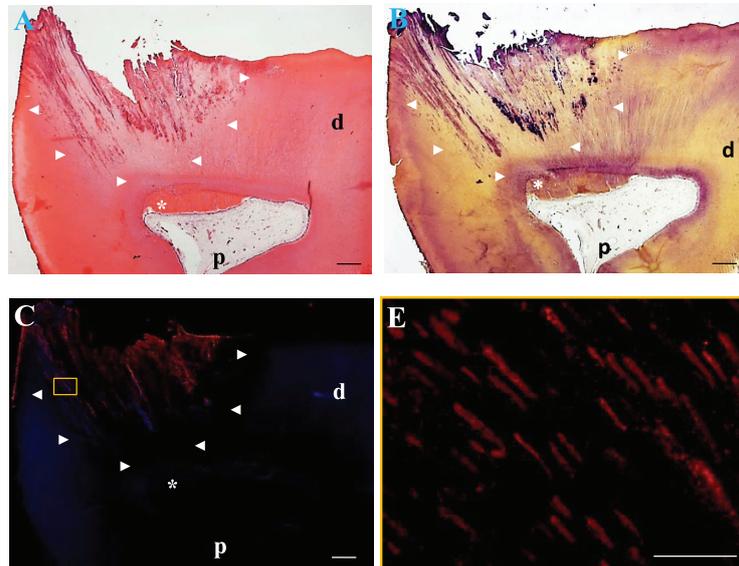


Figure 5 : Détection de *Streptococcus Mutans* dans des coupes de dents cariées humaines. Images représentatives de la coloration de l'hématoxyline éosine (A) et coloration de Gram (B) sur dents cariées. La coupe montre une dentine partiellement détruite par la lésion carieuse, une infiltration bactérienne dans la dentine, une synthèse de dentine réparatrice et un tissu pulpaire sain. Un marquage violet intense, indiquant la présence de bactéries Gram-positives, a été observé dans les dents cariées (B). Immunomarquage de *S. mutans* (rouge) (E). Un marquage intense de *S. mutans* a été observé sur le site lésé des dents cariées (C), ce qui est clairement visible à un grossissement plus élevé dans les tubules dentinaires (E). Les pointes de flèches indiquent des lésions carieuses ; l'astérisque indique la dentine réparatrice ; d : dentine ; p : pulpe ; Barre d'échelle : 500 μm (A, B, C), 50 μm (E). (28)

De la même manière, une lésion traumatique pourra exposer les tissus sous-jacents, à savoir la dentine et la pulpe, les rendant sensibles aux pathogènes du milieu buccal pouvant initier une réaction pulpaire (29).

III. Mécanismes de défense et de régénération pulpaire

A. Mécanisme de défense

Lors des agressions extérieures, la pulpe va mettre en œuvre différents mécanismes pour se défendre, soit par la création d'une ligne de défense dentinaire (Figure 6), soit via l'inflammation.

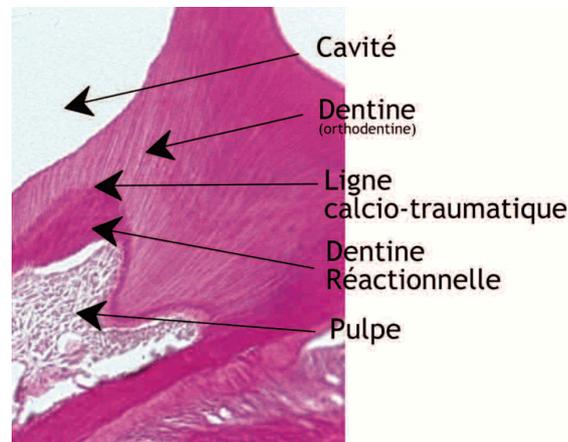


Figure 6 : Coupe histologique frontale d'une molaire de souris après une obturation coronaire (x40, Coloration Van Gieson) (9)

L'inflammation pulpaire appelée « pulpite » est régie par des mécanismes physiopathologiques semblables à ceux de tout tissu conjonctif (11). On distingue différents types de pulpite. D'après le document « Évaluation du parage de plaie de la pulpe par coiffage pulpaire direct » publié par l'HAS en 2019, « la pulpite réversible correspond au niveau clinique à une douleur modérée, provoquée et cessant après application d'un stimulus, la cicatrisation du tissu pulpaire est encore possible à ce stade en cas de suppression de l'étiologie.

La pulpite irréversible se caractérise cliniquement soit par des douleurs d'intensités variables mais persistantes dans le temps, ou par une douleur d'emblée plus intense et spontanée ne cessant pas après application d'un stimulus. Les lésions tissulaires sont importantes et la pulpe va progressivement se nécroser. A ce stade, l'éviction de la totalité de la pulpe camérale et radiculaire de la dent est nécessaire » (30).

On considère que la pulpe commence à réagir lorsque la dentine est atteinte (11). Cette réaction dépend de la vitesse de progression du processus carieux, elle-même influencée par des facteurs exogènes et endogènes (âge de l'individu, nature bactérienne de la lésion, pouvoir tampon de la salive, ...).

La réaction inflammatoire va mettre en jeu différents acteurs pour lutter contre l'agression, des cellules immunocompétentes vont être mobilisées, avec l'intervention notamment de macrophages, de lymphocytes et de plasmocytes. Tous ces mécanismes vont permettre la mise en place d'un processus de défense immunitaire local, via la libération de divers médiateurs de l'inflammation (Tableau 1).

Tableau 1 : Principaux médiateurs de l'inflammation pulpaire (11)

Médiateurs		Origine	Action			
			Vasodilatation	Augmentation de la perméabilité vasculaire	Effet chimiotactique	Autre
Amines vasoactives	Histamine, sérotonine	Mastocytes, leucocytes, basophiles, plaquettes sanguines	+	+	-	Adhérence leucocytaire
Prostaglandines	PGE1, PGE2	Membranes cellulaires	+	Potentialise l'effet d'autres médiateurs	-	Douleur, fièvre
Système des kinines	Bradykinine	Précurseurs plasmatiques	+	+	-	Douleur
Neuropeptides	Substance P, CGRP, NPK, NKA, SOM, ...	Fibres nerveuses sensibles	+/-	+/-	-	Douleur
Système de coagulation	Fibropeptides	Précurseurs plasmatiques	-	+	+	-
Système du complément	C3a	Précurseurs plasmatiques	-	+	-	Opsonisation (C3b)
	C5a			+	+	Adhérence leucocytaire
Cytokines	Interleukines, TGF, TNF α , ...	Macrophages, lymphocytes, Cellules NK, Mastocytes	-	-	+	Adhérence leucocytaire

B. La régénération pulpaire

1. Généralités

La régénération pulpaire fait suite à la phase d'inflammation. Elle fait partie de la phase de résolution. Lors de cette agression, la dentine joue un rôle clé. Dans la partie minérale de celle-ci, des facteurs de croissance sont séquestrés, et se retrouvent libérés lors de la dissolution de la dentine par les bactéries cariogènes.

Des facteurs de croissance tels que le Bone Morphogenic Protein (BMP)-7, le Transforming Growth Factor (TGF) sont libérés et ont un rôle important dans l'angiogenèse pulpaire, sa régénération et la différenciation des odontoblastes (31,32). On retrouve également d'autres facteurs de croissance tels que le Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), le Fibroblast Growth Factor (FGF)-2, le Skeletal Growth Factor (SGF), le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) ou encore l'Insulin-like Growth Factor (IGF)-1 (33,34).

La régénération pulpaire a pour objectif le remplacement des cellules sécrétrices de dentine, les odontoblastes, par des cellules « odontoblast-like » qui vont produire de la dentine réparatrice, et ainsi ralentir, voire annihiler la progression bactérienne, permettant à la pulpe d'entamer une phase de résolution inflammatoire (35). L'existence au sein de la pulpe de cellules capables de se différencier en « odontoblast-like » va permettre la formation d'une couche protectrice indispensable à la régénération de la pulpe. Ces cellules ne sont pas les seules impliquées dans la régénération pulpaire. Des cellules souches ont été mises en évidence dans la pulpe (16), elles constituent entre autre un pool de cellules périvasculaires (17). Ces cellules sont recrutées via la libération des signaux de régénération qui vont entraîner l'activation, la migration et la différenciation de ces cellules (36). *In vitro*, ces cellules ont la capacité de se différencier en un grand nombre de cellules tissulaires différents, et notamment en odontoblastes. Ceux-ci possèdent un corps cellulaire polarisé et des nodules minéralisés, ayant les mêmes caractéristiques que la dentine (37). Les cellules souches pulpaires (DPSCs), sont des cellules souches mésenchymateuses, multipotentes (38). Ces cellules possèdent les marqueurs des cellules souches mésenchymateuses comme STRO1, CD146, CD105, CD44, 3G5, CD29, Nestin ou Filk1 (17,38,39).

La dentine n'est pas le seul réservoir de facteurs de croissance, les fibroblastes pulpaires sont capables de produire *in vitro* les facteurs FGF-2, VEGF et PDGF après un

traumatisme. Les différents facteurs de croissance vont induire la régénération pulpaire par le recrutement de cellules compétentes, ou encore la mise en place de différents mécanismes physiologiques.

TGF- β

Il s'agit d'une protéine dimérique, présente sous forme inactive dans l'organisme. Elle est impliquée dans la régénération pulpo-dentinaire et peut induire la différenciation des cellules souches pulpaires en cellules « odontoblast-like » (40).

FGF-2

Il s'agit de protéines synthétisées par les fibroblastes pulpaires avec un effet pro-angiogénique et un facteur de croissance pour les fibroblastes eux-mêmes (41). On peut leur attribuer une action mitogène, régulatrice, endocrinienne et morphologique. FGF-2 va être impliqué dans la migration et la prolifération des cellules souches (42).

Libérées de façon prolongée et contrôlée, FGF-2 et TGF- β 1 vont induire *in vitro* une migration de cellules souches pulpaires STRO1 et la prolifération des fibroblastes pulpaires (36).

2. L'angiogenèse

L'angiogenèse se définit comme le processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants et est dépendante des facteurs dits angiogéniques. Elle est un élément phare de la régénération pulpaire.

FGF-2

Comme dit précédemment il a un effet pro-angiogénique. Il va avoir une action sur la prolifération des cellules endothéliales, la dégradation de la matrice extracellulaire et en diminuant la communication et l'adhésion intercellulaire (43).

VEGF

Ce facteur de croissance est via ses récepteurs, impliqué dans des processus d'angiogenèse, de vasculogénèse et de régénération tissulaire. Il est également connu pour ses effets vasodilatateurs et pro-inflammatoires (44).

PDGF

C'est un facteur de croissance dérivé des plaquettes, il est un facteur pro-angiogénique (45). Il est impliqué dans la régulation du processus de différenciation des odontoblastes (46) et favorise le chimiotactisme des cellules souches mésenchymateuses (47). Il agit de concert avec les autres facteurs de croissance.

Lors d'une agression bactérienne, l'hypoxie résultant de l'atteinte du complexe pulpo-dentinaire entraîne l'augmentation de l'expression du facteur de transcription Hif-1 (Hypoxia-inducible factor-1). Ainsi, la transcription des gènes codant les facteurs angiogéniques FGF-2, PDGF et VEGF est augmentée en condition d'hypoxie (21). Cette augmentation permet d'activer l'angiogenèse et la régénération des tissus, et donc un retour à une situation non pathologique (Figure 7).

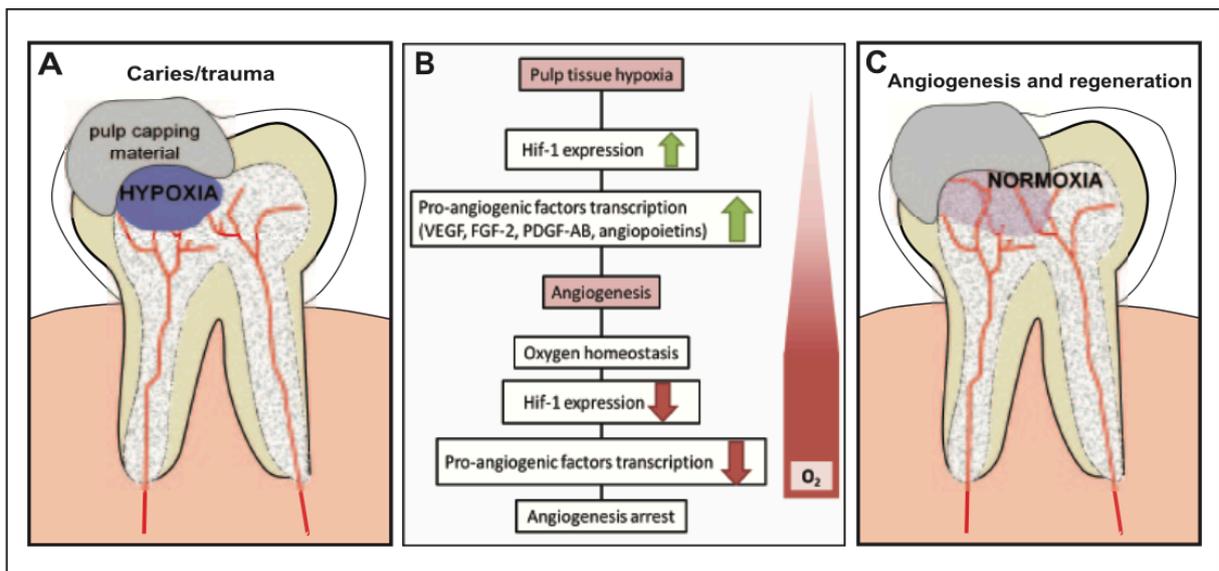


Figure 7 : L'hypoxie est le moteur de l'angiogenèse. (A) L'hypoxie survient après un traitement de coiffage pulpaire du tissu pulpaire endommagé par une lésion carieuse ou un traumatisme. (B) : l'hypoxie de la pulpe entraîne l'augmentation de l'expression du facteur Hif1, connu pour ses propriétés pro-angiogéniques. (B, C) Cela conduit à l'angiogenèse et normalise l'apport en oxygène au tissu hypoxique. Une fois le retour de la normoxie, l'expression de Hif1 est diminuée, ce qui entraîne un arrêt de l'angiogenèse. (21)

IV. Traitement des lésions carieuses et maintien de la vitalité pulpaire

A. Traitement de la lésion carieuse

Si la lésion carieuse est laissée non traitée, elle poursuit sa progression. Afin de l'arrêter, le tissu infecté doit être enlevé : on parle alors d'éviction carieuse. Le but est d'éliminer les tissus contaminés et ainsi retrouver des tissus sains et sans charge bactérienne. L'éviction carieuse est majoritairement réalisée de façon mécanique. Grâce à l'utilisation de fraises, tournant à grande vitesse (200 000 tours/minutes pour un contre angle rouge) qui permettent l'élimination du tissu concerné.

Si les lésions carieuses sont profondes, l'éviction peut entraîner différentes situations. En fonction de la profondeur, le complexe pulpo-dentinaire peut être toujours protégé par une fine couche résiduelle de dentine. Ainsi, lors de l'acte de restauration, on parlera de coiffage pulpaire indirect. Cependant, lors d'une éviction plus invasive, la pulpe dentaire peut être exposée à l'environnement buccal. On parlera alors de coiffage pulpaire direct lors de la restauration.

A ce jour l'éviction carieuse totale impliquant une effraction de la cavité pulpaire n'est plus recommandée. On lui préférera l'éviction carieuse sélective afin de protéger la pulpe (Figure 8). Celle-ci peut se faire de deux façons. En un seul temps, on conserve de la dentine molle en regard de la pulpe, tout en créant une zone propre propice au collage en périphérie (48). Ou alors en deux temps, on parlera de technique « Step Wise ». La lésion est nettoyée et de la dentine déminéralisée est laissée en regard de la pulpe, mais on restaurera avec un matériaux provisoire qui sera déposé intégralement dans un second temps (sous réserve que la vitalité pulpaire est conservée) et remplacée par un matériau définitif (49,50).

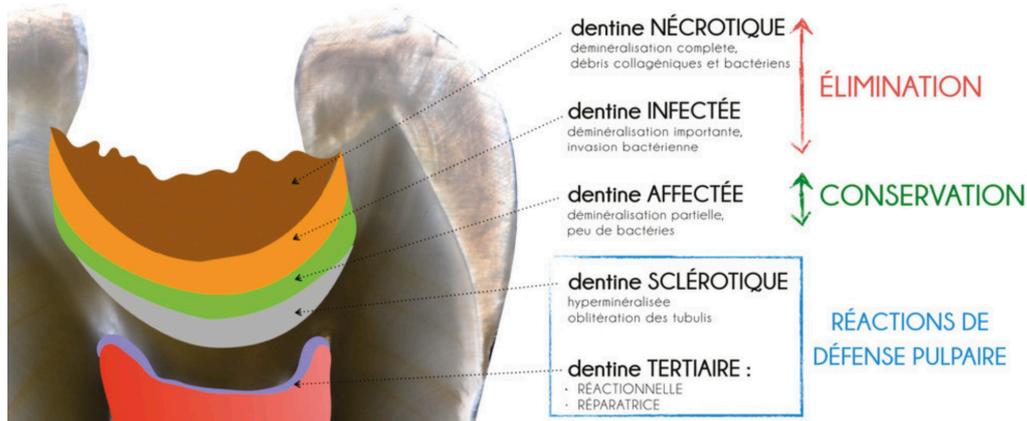


Figure 8 : Différentes couches de la carie dentaire et réactions pulpaires associées (51)

Quelle que soit la technique utilisée, la notion de coiffage aura pour objectif de protéger le complexe pulpo-dentinaire, de façon étanche, afin de prévenir les infections futures et créer un environnement propice à la régénération tissulaire, à l'abri du milieu buccal riche en bactéries (52). Ces thérapeutiques ont pour but de maintenir la vitalité pulpaire malgré une atteinte carieuse profonde.

Si les tissus profonds sont atteints et qu'il y a effraction de la chambre pulpaire, les matériaux utilisés sont en contact direct avec la pulpe (Figure 9). Ces derniers doivent donc bien évidemment être biocompatibles dans cette utilisation et idéalement bioactifs. La biocompatibilité d'un matériau se définit par sa capacité à remplir une fonction spécifique avec une réponse appropriée de l'hôte. Un matériau bioactif se définit par l'induction d'une réponse spécifique, et notamment d'une fonction spécifique du tissu cible (10). Dans le cas de la pulpe dentaire, la fonction recherchée est une action anti-inflammatoire, une action de formation de dentine réparatrice et de régénération pulpaire (53).

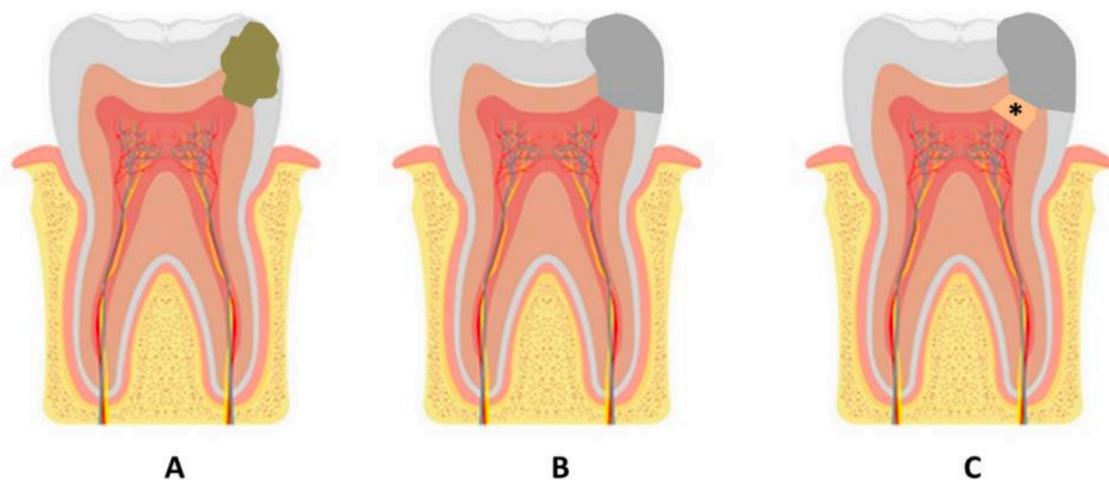


Figure 9 : Schéma d'un coiffage pulpaire direct (10). Représentation d'une lésion carieuse profonde juxta-pulpaire (A), la thérapeutique consiste en la mise en place, après l'éviction de la carie, d'un matériau de coiffage pulpaire direct au contact de la pulpe et éventuellement d'un matériau de restauration (B). L'objectif recherché est l'apposition d'une nouvelle dentine (*) sécrétée par le complexe pulpo-dentinaire permettant sa protection (C)

B. Les différents matériaux de coiffage direct

Il existe différents matériaux de coiffage, avec des propriétés spécifiques. L'utilisation des matériaux de restauration conventionnels au contact de la pulpe est très controversée. Du fait de la présence de résine dans leur composition, ces matériaux sont cytotoxiques (54), ce qui explique les échecs thérapeutiques lors de leur utilisation en coiffage pulpaire directe. Ils entraînent une réaction inflammatoire et il n'y a pas de formation dentinaire (55). On évitera donc d'utiliser les résines composites, les CVI et les CVIMAR pour les coiffages pulpaires directs. Ainsi le matériau de choix a été l'hydroxyde de Calcium ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), dont l'utilisation aujourd'hui décroît de par l'avènement des matériaux à base de silicates de calcium, à savoir le MTA (Mineral Trioxide Aggregate), le Biodentine™ et le TheraCal LC®.

1. L'hydroxyde de calcium

Ce matériau, aussi appelé chaux éteinte ou chaux hydratée, a longtemps été utilisé. Il s'agit d'une fine poudre blanche inodore, dont la formule chimique est $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Il provient du

carbonate de calcium. Il est disponible sous forme de préparation magistrale (poudre de chaux éteinte + eau stérile) et sous forme de préparations commerciales, conditionnées en tube (Figure 10), carpule ou seringue, contenant des durcisseurs. L'hydroxyde de calcium est toxique pour les tissus, cependant, il est peu soluble, ce qui permet de s'opposer à la diffusion alcaline toxique de ce matériau. Le $\text{Ca}(\text{OH})_2$ présente une mauvaise adhérence à la dentine, il n'assure donc pas une bonne étanchéité contre les bactéries (56). En revanche, ce matériau possède des propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes et antihémorragiques (57).



Figure 10 : Exemple de forme commerciale de l'hydroxyde de calcium : Dycal® composé d'une base et d'un catalyseur, de la marque Dentsply® (58)

2. Le Mineral Trioxide Aggregate (MTA)

Il s'agit d'une formulation dérivée du ciment de Portland utilisé dans le bâtiment. Il est apparu dans les années 1990 dans le domaine dentaire sous l'impulsion des travaux de Mahmoud Torabinejad. Ce matériau, initialement commercialisé sous la formulation ProRoot® MTA (Dentsply) (Figure 11) est notamment composé de silicates di et tri-calciques, d'aluminate tricalcique, et d'oxyde de bismuth pour la radio-opacité (59). Il est aujourd'hui largement utilisé en dentisterie restauratrice et en endodontie de par ses propriétés biologiques et bioactives largement démontrées (56,60) et se retrouve actuellement sous de nombreuses formulations commerciales, dont les compositions peuvent légèrement varier. Lors de son utilisation, il faut le mélanger à l'eau afin d'obtenir un gel colloïdal (61). Lors de cette hydratation les silicates forment un gel de silicate de calcium hydraté et de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Ce gel va relarguer des ions calciums Ca^{2+} . Ces ions vont permettre la formation d'hydroxyapatite et vont aussi jouer un rôle dans la différenciation des cellules pulpaires (62). Cependant, les formulations initiales de ces matériaux possèdent un temps de prise très long (4 heures), et

peuvent être difficiles à manipuler ce qui est un inconvénient pour son utilisation pour un coiffage pulpaire.



Figure 11 :Exemple de ciment MTA, ProRoot de chez Denstply (63)

3. Le Biodentine™

Le développement par Septodont en 2010 du matériau Biodentine™ est notable dans le domaine dentaire. Il s'agit d'une formulation à base de silicates tricalciques seulement, sans les autres phases des formulations dérivées du MTA. Il s'agit d'une formulation commercialisée sous forme de carpule à vibrer (Figure 12). La poudre est composée de silicates tricalciques, de carbonate de calcium et d'oxyde de zirconium pour la radio-opacité, le liquide est lui composé de chlorure de calcium, d'eau et de polymères hydrosolubles (64). Ces composés attribuent au matériau un temps de prise très court pour ce type de formulation (12 minutes) avec des propriétés mécaniques supérieures, proches de la dentine naturelle. Ses propriétés adhésives et d'étanchéités sur la dentine et sur l'émail sont également très intéressantes (65). Au niveau biologique, le Biodentine™ va permettre la formation d'un pont dentinaire, la libération des ions calciums et d'alcalinisation du milieu contribuant à ses propriétés antibactériennes. Le Biodentine™ a été largement étudié et possède des propriétés bioactives certaines, aussi bien sur la régénération que sur l'inflammation (66)



Figure 12 : Biodentine™, commercialisé par Septodont (67)

4. Le TheraCal LC®

Commercialisé également depuis le début des années 2010, le TheraCal LC®, développée par Bisco, est composé de silicate de calcium (silicates di et tri-calciques), d'aluminate tricalcique, de sulfate de baryum (pour la radio opacité) ainsi que d'une partie organique, à base de résine. Cette spécificité fait qu'il se présente sous forme de seringue (Figure 13). Il est photo-polymérisable, ce qui réduit considérablement son temps de prise et facilite sa manipulation. Ses propriétés mécaniques sont supérieures à celles du MTA® et du Biodentine™ (68). Au niveau biologique, concernant le coiffage pulpaire direct ses résultats sont moins favorables que ceux de MTA® et Biodentine™ (69,70). En effet, on observe notamment une cytotoxicité du TheraCal LC® sur les odontoblastes et sur les cellules souches pulpaires, ainsi qu'une minéralisation moins importante que lors d'une utilisation du Biodentine™ ou du MTA® (70).



Figure 13 : Présentation du TheraCal LC® (71)

OBJECTIFS

Comme décrit précédemment, l'angiogenèse joue un rôle primordial dans la régénération de l'ensemble des tissus de l'organisme, consécutivement à un processus inflammatoire. Lors d'une thérapeutique de conservation de la vitalité pulpaire, la stimulation de la régénération pulpo-dentinaire est recherchée.

Ainsi, ce travail aura pour but d'évaluer l'effet des biomatériaux utilisés, et plus précisément du TheraCal LC® et du Biodentine™, sur les phénomènes d'angiogenèse au niveau du complexe pulpo-dentinaire. Pour cela, des dosages de certains facteurs de croissance, des quantifications de migration cellulaire et des tests de viabilité cellulaires ont été réalisés, en fonction des matériaux utilisés.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Matériels

Tous les milieux, les réactifs et les consommables de culture cellulaire proviennent de chez Dutscher (Bernolsheim, France).

II. Culture cellulaire

Pour l'ensemble des expérimentations, deux populations cellulaires distinctes ont été utilisées : Des fibroblastes pulpaire humains et des cellules endothéliales « Human Umbilical Vascular Endothelial Cell » (HUVEC).

A. Fibroblastes pulpaire

Dans le laboratoire, les fibroblastes pulpaire utilisés sont obtenus à partir de dents incluses humaines (3^{ème} molaires), extraites pour raisons orthodontiques (avec le consentement éclairé du patient et l'accord du Comité d'éthique n°2022-05-12-003). Brièvement, comme décrit (37), les pulpes sont extraites en condition stérile et fractionnées dans des boites de Pétri puis cultivées dans du milieu « Minimum Essential Medium » (MEM) supplémenté en antibiotiques (10% sérum foetal bovin, 200 UI/mL de pénicilline, 200 µg/mL de streptomycine et 0,50 µg/mL d'amphotéricine B) à 37°C, 5% CO₂. Après 2 à 3 semaines les cellules sont confluentes autour des explants et sont récupérées et triées selon un marqueur spécifique des cellules souches mésenchymateuses, le marqueur STRO-1, par tri magnétique (72). Cette étape permet de séparer les cellules souches pulpaire des fibroblastes, ne présentant pas le marqueur (STRO-1 négatives). Enfin les cellules obtenues sont caractérisées par immunomarquages, permettant l'obtention des cellules souches mésenchymateuses et des fibroblastes pulpaire (13,19). Lors des utilisations, les fibroblastes pulpaire sont décongelés et mis en culture dans du MEM supplémenté (10% sérum foetal bovin, 100 UI/mL de pénicilline, 100 µg/mL de streptomycine et 0,25 µg/mL d'amphotéricine B) à 37°C, 5% CO₂.

Une fois arrivées à confluence, les cellules sont rincées au Phosphate Buffer Saline (PBS) sans calcium ni magnésium (-/-), et décollées à l'aide de Trypsine/EDTA (0,05%) et replacées 5 minutes dans l'incubateur à 37,5°C, 5% CO₂. Les fibroblastes pulpaire sont alors remis en suspension dans du MEM supplémenté, centrifugés pendant 3 minutes à 1000 t/min puis cultivées avec du MEM supplémenté dans les supports appropriés (plaques, flasques..). Les cellules sont utilisées jusqu'au passage 5.

B. Cellules HUVEC

Les cellules HUVEC sont des cellules endothéliales humaines matures isolées de la veine de cordon ombilical, de morphologie pavimenteuse. Ce modèle utilisé au laboratoire est acheté au fournisseur PromoCell (Heidelberg, Allemagne). Les cellules sont par la suite cultivées dans du milieu « Endothelial Cell Growth Medium » (ECGM) auquel est ajouté du « Growth Medium 2 SupplementMix » ainsi que des antibiotiques (100 UI/mL de pénicilline, 100 µg/mL de streptomycine et 0,25 µg/mL d'amphotéricine B). Les cellules sont utilisées jusqu'au passage 5.

III. Préparation des extraits de matériaux

Les différents biomatériaux utilisés (Biodentine™, TheraCal LC® et All-bond Universal® Unit-dose) sont préparés et utilisés selon les recommandations des fabricants dans des moules standardisées en silicone. Des pastilles de matériaux de 2 cm² sont ainsi réalisées. Elles sont ensuite stérilisées à l'aide d'une lampe UV, à raison de 20 minutes par face puis placées à l'incubateur sur la nuit. Par la suite, les pastilles sont incubées soit dans 4 mL de milieu MEM non supplémenté pour les expérimentations directes sur les fibroblastes pulpaire ou dans du milieu ECGM non supplémenté pour les expérimentations directes sur les cellules HUVEC, pendant 24 heures à 37°C. Après ce temps d'incubation, les échantillons sont retirés et les milieux filtrés afin d'obtenir une concentration de 0,5cm²/mL. La concentration finale utilisée est obtenue par dilution à raison de 0,05cm²/mL.

IV. “Traitement” des cellules

Afin de simuler les conditions d’inflammations relatives à la progression d’une lésion carieuse, lors de certaines expérimentations les cellules utilisées sont stimulées *in vitro* par un motif de bactérie Gram Positif, simulant une lésion carieuse et par des lésions physiques. Ainsi, lors de leur utilisation les fibroblastes pulpaire et les cellules HUVEC sont cultivés dans les milieux supplémentés appropriés dans des plaques de 12 puits jusqu’à confluence. Après lavage au PBS les cellules sont, dans un premier temps, stimulées à l’aide de l’acide lipotéichoïque (LTA) (1µg/ml, dilué dans le milieu cellulaire approprié) pendant 4 heures. Le LTA est un acide téichoïque lié à un diglycéride par une liaison ester. Il est présent dans les parois bactériennes des bactéries Gram positif. A l’issue du temps d’incubation, les cellules sont ensuite lésées à l’aide d’une lame de scalpel stérile selon le schéma de 5 traits verticaux et 5 traits horizontaux, pour simuler une lésion « physique » puis lavées à nouveau avec le milieu correspondant au type cellulaire. Enfin, les extraits de biomatériaux réalisés précédemment (Biodentine™, TheraCal LC® ou All-Bond Universal®) sont utilisés pour la culture des cellules étudiées. La condition contrôle correspond à des cellules stimulées au LTA, lésées physiquement mais incubées dans le milieu classique non supplémenté, respectivement MEM pour les fibroblastes et ECGM pour les HUVEC. Les cellules ayant été soumises à ce protocole seront qualifiées de cellules « traitées » dans la suite du manuscrit. Le protocole est récapitulé et schématisé ci-après (Figure 14).

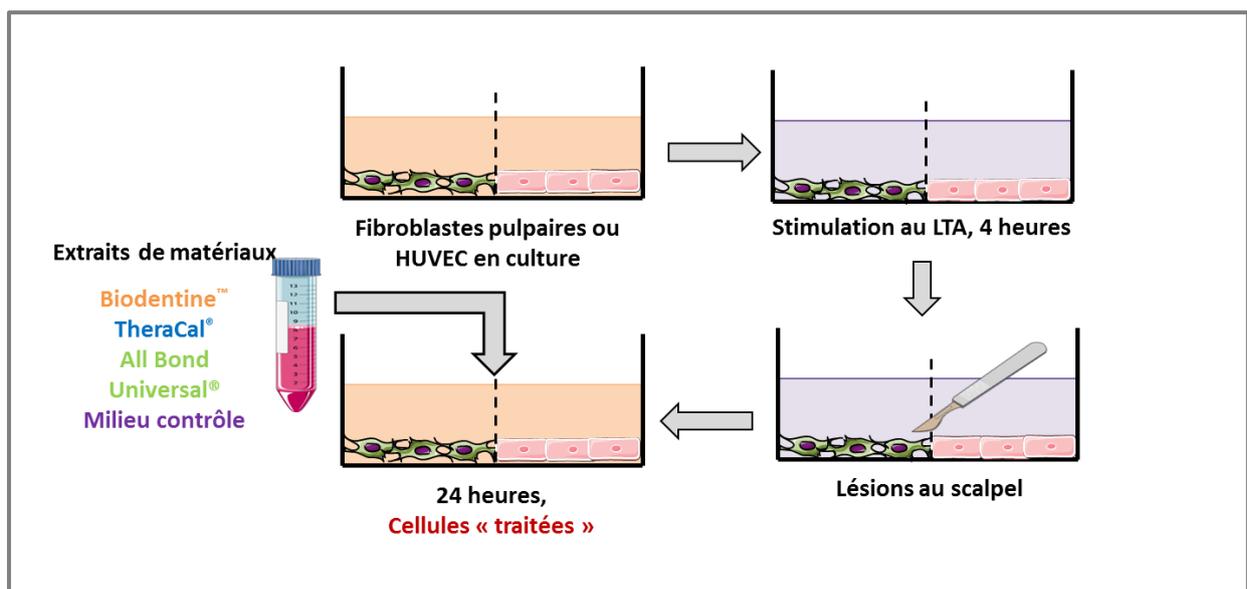


Figure 14: Protocole du traitement des cellules utilisées lors des expérimentations

V. Cytotoxicité

Afin d'évaluer l'effet du « traitement » réalisé sur les fibroblastes pulpaire, des essais de cytotoxicité sont réalisés. Comme décrit précédemment, des fibroblastes pulpaire sont cultivés jusqu'à confluence dans des plaques de 12 ou 6 puits. Puis, les cellules sont mises en contact avec du LTA pendant 4h et lésées à l'aide d'un scalpel stérile. Après lavage (PBS) les cellules sont mises en culture avec du milieu MEM ou avec les extraits de biomatériaux, pendant 24h.

Après incubation, les cellules sont rincées et sont incubées avec du MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium) pendant 2 heures. Ce test se base sur l'activité mitochondriale, qui correspond à la viabilité des cellules. Les mitochondries vont transformer les sels de tétrazolium contenu dans le MTT en cristaux de formazan violets. Après incubation, les membranes cellulaires sont lysées à l'aide de DiMéthylSulfOxyde (DMSO). La concentration en cristaux de formazan est alors quantifiée par spectrophotométrie en utilisant un lecteur de plaques à 550nm. Les données obtenues permettent de déterminer un pourcentage de cellules vivantes en fonction du contrôle (cellules « traitées » puis cultivées dans du milieu MEM).

VI. Sécrétion de FGF-2, VEGF et PDGF par les fibroblastes pulpaire

Les fibroblastes traités sont incubés avec les extraits de biomatériaux ou du milieu MEM (contrôle) pendant 24 heures à 37,5°C, 5% CO₂. Le surnageant est récupéré après ce temps d'incubation et est congelé, les cellules sont remises en culture avec les extraits de biomatériaux (ou milieu contrôle) et incubées à nouveau à 37,5°C, 5% CO₂ pendant 24 heures supplémentaires. Au bout de ces 48 heures, le surnageant est également récupéré.

Une quantification par ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) des facteurs de croissance FGF-2, PDGF et VEGF est réalisée. Celle-ci est effectuée selon les indications du fabricant (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, États-Unis) avec la réalisation en parallèle d'une gamme pour chaque plaque ELISA suivant le protocole décrit par le fabricant grâce à un standard :

- 0 à 1000 pg/mL pour FGF-2 et PDGF.
- 0 à 2000 pg/mL pour VEGF.

Brièvement des plaques de 96 puits sont incubées pendant une nuit à température ambiante avec 100 µL par puits d'anticorps de capture correspondant au facteur recherché puis sont saturées pendant 1 heure avec 300 µL de BSA 1% (Bovine Serum Albumine). Les échantillons sont déposés en triplicat dans les puits pendant 2 heures puis incubés avec l'anticorps de détection du facteur recherché pendant à nouveau 2 heures. Ensuite, les puits sont incubés pendant 20 minutes avec 100 µL de Streptavidine-HRP avant de mettra 100 µL de solution de révélation (Figure 15). Un triple lavage avec un tampon de lavage (PBS et 0,05% Tween) est réalisé entre chaque étape. Enfin, les plaques sont passées dans un lecteur optique de plaque à 650 nm pour obtenir l'absorbance correspondante aux différentes conditions. Après analyse des résultats, ces derniers sont exprimés en pourcentage par rapport au contrôle (fibroblastes traités mais en milieu MEM non supplémenté).

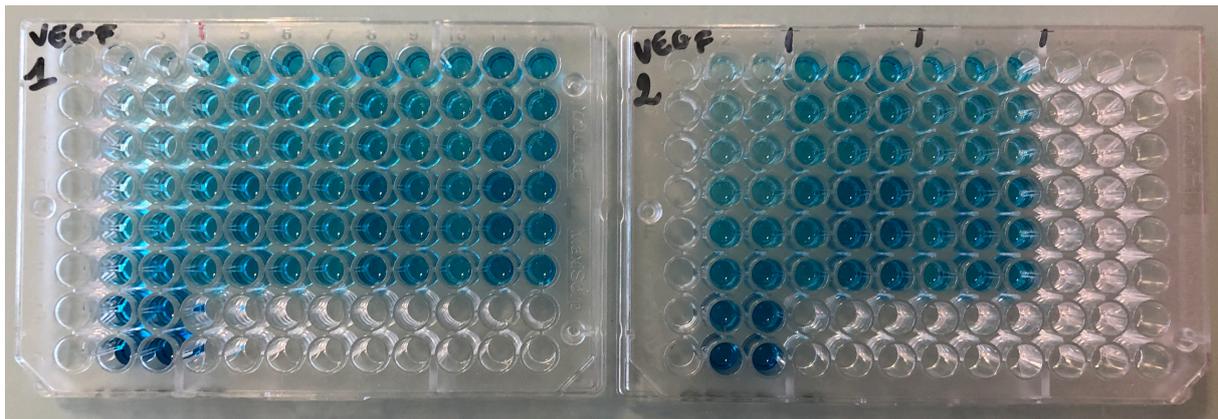


Figure 15 : Photographies représentatives des plaques 96 puits en fin d'expérimentation des tests ELISA

VII. Sécrétion de VEGF et PDGF par les cellules HUVEC

Les HUVEC sont traités de la même façon que les fibroblastes pulpaire et le surnageant est également récupéré à 24 puis 48 heures. Une quantification par ELISA est réalisée pour doser les facteurs PDGF et VEGF dans le surnageant des HUVEC comme décrit précédemment.

VIII. Migrations des HUVEC

La migration cellulaire des HUVEC a été étudiée en utilisant des chambres de Boyden. Ces chambres sont composées de 2 parties, une chambre supérieure et une chambre inférieure. La chambre inférieure correspond à une plaque de culture cellulaire (type 12 ou 24 puits) dans laquelle sont déposés des fibroblastes pulpaire qui, après être arrivés à confluence, sont traités comme décrit précédemment (LTA, lésions et culture avec extraits de biomatériaux ou milieu MEM contrôle). La chambre supérieure correspond à un insert possédant une membrane poreuse (8 μm) qui va permettre la migration des cellules déposées sur celle-ci (Figure 16).

Après comptage grâce à une cellule de Malassez, 30 000 cellules HUVEC dans 100 μL sont déposées dans cette chambre supérieure. Après 24 heures, les chambres supérieures sont récupérées, lavées à l'aide de PBS à deux reprises puis une étape de fixation à l'éthanol à 70° à -20°C est réalisée. Après des nouvelles étapes de lavage, une coloration DAPI est réalisée. Enfin, après deux lavages successifs, la membrane est nettoyée à l'aide d'un écouvillon et les cellules ayant migrées sur la partie inférieure de la membrane sont comptabilisées à l'aide d'un microscope à fluorescence. Le comptage s'effectue sur 5 zones distinctes de la membrane, choisies aléatoirement. Une moyenne des 5 champs est faite et le résultat est exprimé en pourcentage par rapport au contrôle (fibroblastes traités puis cultivés dans du milieu MEM non supplémenté).

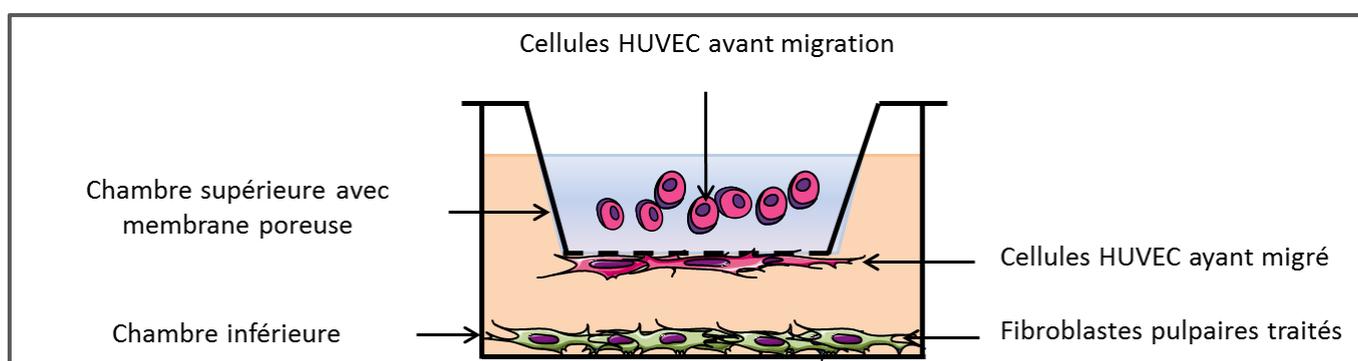


Figure 16: Représentation schématique d'une chambre de Boyden et des conditions de migration

IX. Prolifération des HUVEC

Des cellules HUVEC sont cultivées 24h dans du milieu ECGM enrichi dans des plaques de 96 puits à faible densité (1000 cellules par cm^2). En parallèle des fibroblastes « traités » sont cultivés dans les différents extraits de matériaux (ou milieu contrôle) et le surnageant est récolté après 24H. Ce surnageant est utilisé sur les cellules après lavage au PBS. Un test de viabilité MTT est réalisé après 1 et 3 jours d'incubation comme décrit précédemment (cf IV. Cytotoxicité).

X. Analyse statistique

Toutes les expérimentations ont été réalisées en triplicat, en utilisant au moins trois populations cellulaires différentes. Les données sont exprimées sous forme de moyennes \pm écart-type. Le test de Student (après test de normalité et analyse des variances) a été utilisé pour déterminer la significativité statistique (valeur $p < 0,05$).

RESULTATS

I. Cytotoxicité

Après 24h de culture, aucune différence statistiquement significative n'a été mise en évidence démontrant l'absence de cytotoxicité des extraits de biomatériaux utilisés sur les fibroblastes pulpaire traités en comparaison du milieu MEM contrôle (Figure 17).

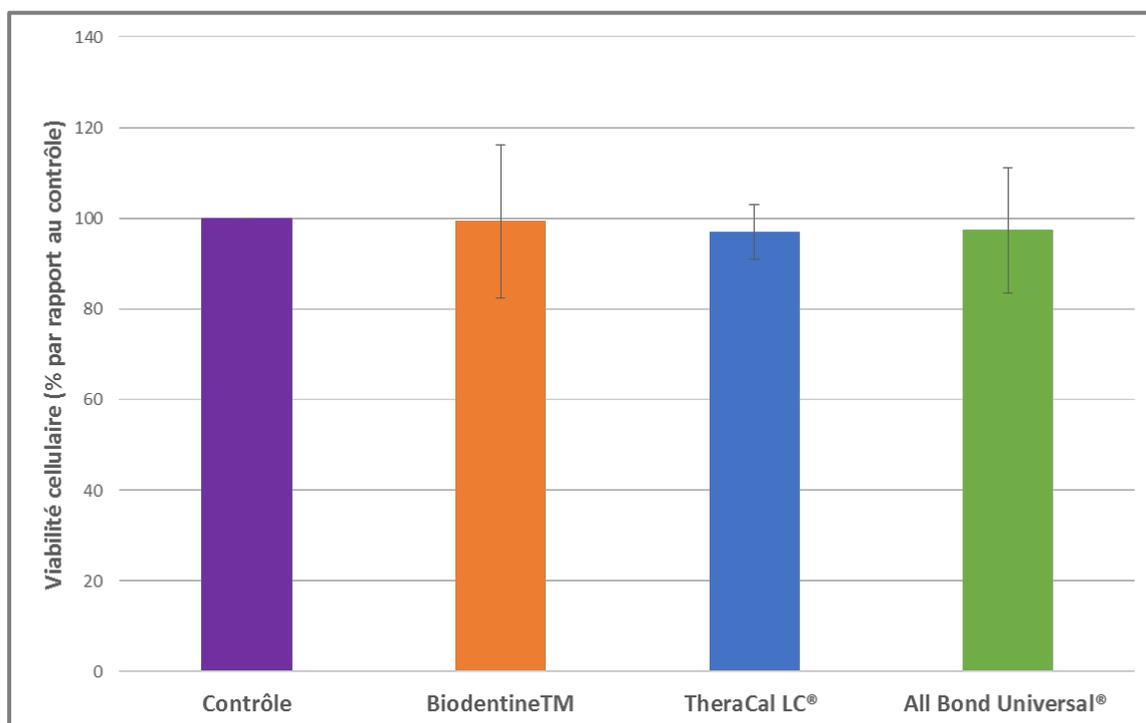


Figure 17 : Évaluation de la viabilité cellulaire par test MTT sur fibroblastes pulpaire traités (après stimulation au LTA et lésions physiques) en fonction des biomatériaux étudiés (0,05cm²/mL)

II. Sécrétion des facteurs de croissance par les fibroblastes pulpaire

A. Sécrétion de FGF-2 par les fibroblastes pulpaire

Une sécrétion de FGF-2 par les fibroblastes pulpaire traités a été quantifiée dans toutes les conditions étudiées (milieu MEM contrôle ou extraits de biomatériaux). Par ailleurs

une augmentation significative à 24h et 48h est observée pour le TheraCal LC® ainsi qu'à 48h pour le All Bond Universal®. Aucune différence par rapport au contrôle n'a été démontrée pour l'utilisation du Biodentine™ (Figure 18).

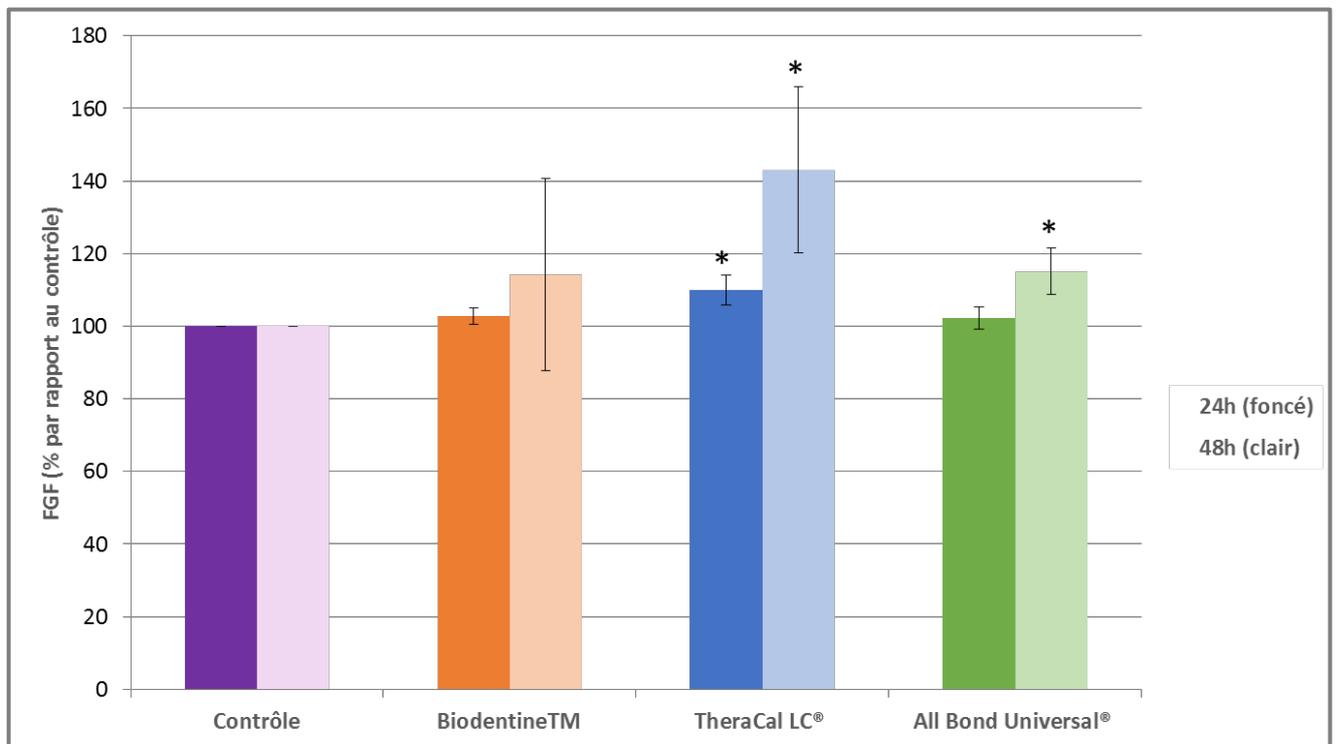


Figure 18: Sécrétion de FGF-2 par les fibroblastes pulpaire. (*) Indique une différence significative par rapport au contrôle ($p < 0,05$).

B. Sécrétion de VEGF par les fibroblastes pulpaire

Les résultats indiquent que les fibroblastes traités (cultivés en milieu MEM contrôle ou avec les extraits de biomatériaux) sécrètent du VEGF à 24 et 48h. Cette sécrétion n'est pas affectée par l'utilisation des matériaux TheraCal LC® et Biodentine™. En revanche, une diminution statistiquement significative de cette sécrétion est observée pour le matériau All Bond Universal® à 24 et 48h (Figure 19).

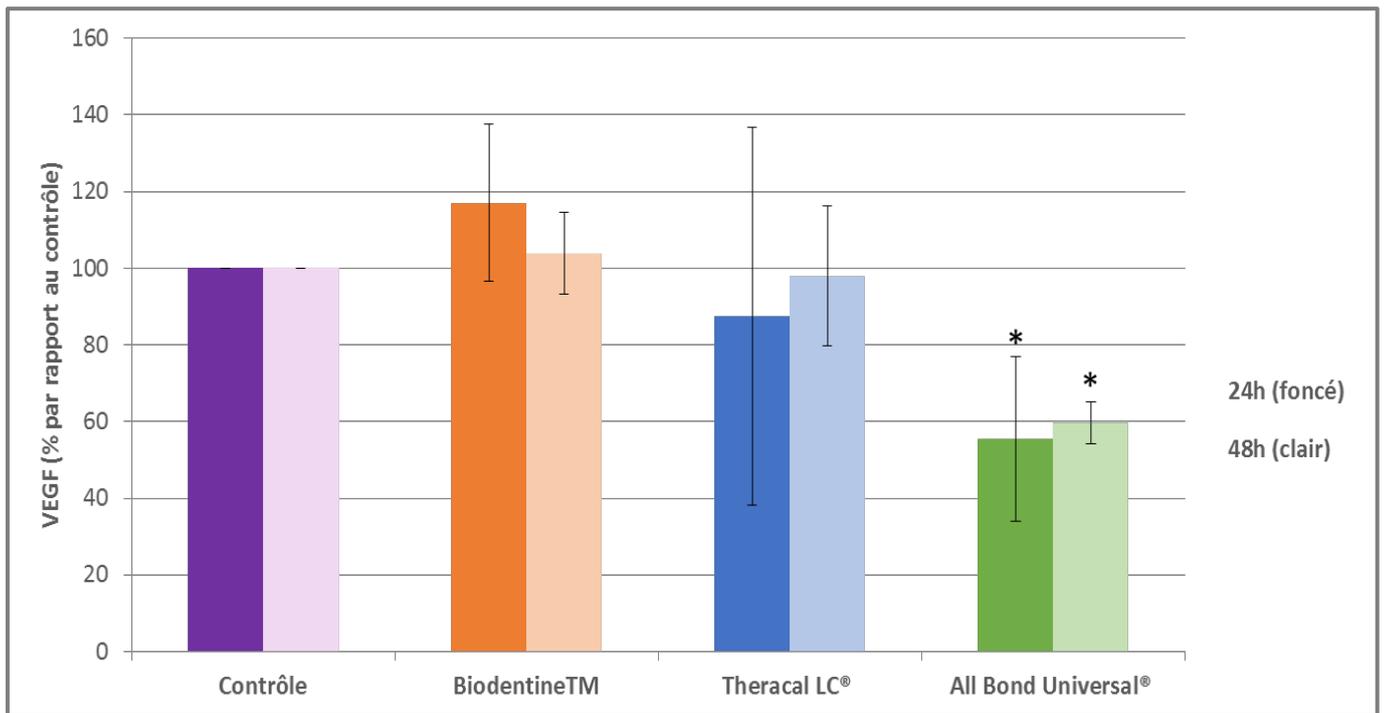


Figure 19: Sécrétion de VEGF par les fibroblastes pulpaire traités à 24 et 48h. (*) Indique une différence significative par rapport au contrôle ($p < 0,05$).

C. Sécrétion de PDGF par les fibroblastes pulpaire

Aucune sécrétion de PDGF par les fibroblastes traités n'a été mise en évidence (résultats non présentés).

III. Sécrétion des facteurs de croissance par les HUVEC

A. Sécrétion de PDGF par les cellules HUVEC

Les résultats mettent en évidence une sécrétion de PDGF par les cellules HUVEC traitées à 24 et 48h. Cependant aucune différence significative n'est observée, indiquant l'absence d'effet du biomatériau utilisé sur cette sécrétion (Figure 20).

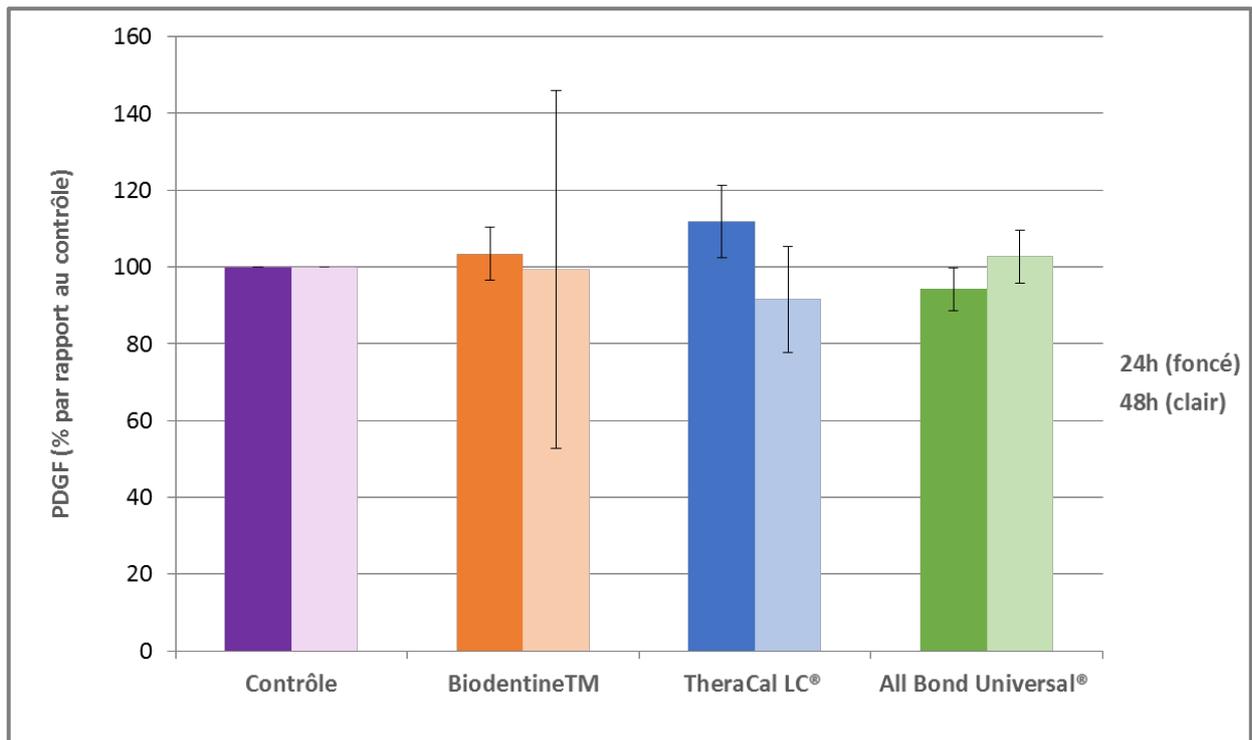


Figure 20: Sécrétion de PDGF par les HUVEC traités à 24 et 48h.

B. Sécrétion de VEGF par les cellules HUVEC

Aucune sécrétion de VEGF par les cellules HUVEC traitées n'a été mise en évidence (résultats non présentés).

IV. Migrations des cellules HUVEC

La migration des cellules HUVEC a été étudiée en cultivant des fibroblastes traités dans la chambre inférieure. Le comptage des cellules ayant migrées a été réalisé après coloration DAPI permettant l'obtention d'images présentées ci-dessous (Figure 21).

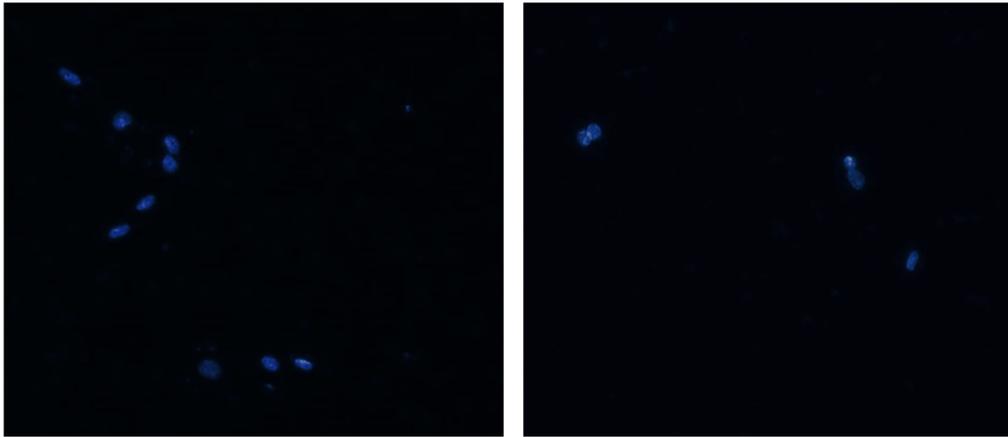


Figure 21: Images représentatives en microscopie à fluorescence après coloration DAPI. Les structures nucléaires sont visualisables permettant le comptage cellulaire. A gauche 9 cellules peuvent être comptées, à droite 5 par exemple

Les résultats indiquent, qu'en comparaison à la condition contrôle (migration cellulaire vers des fibroblastes traités, cultivés en milieu MEM), le niveau de migration des HUVEC a été diminué de manière significative par l'utilisation des matériaux TheraCal LC® et All Bond Universal®. Cette migration n'a pas été entravée par l'utilisation du matériau Biodentine™ (Figure 22).

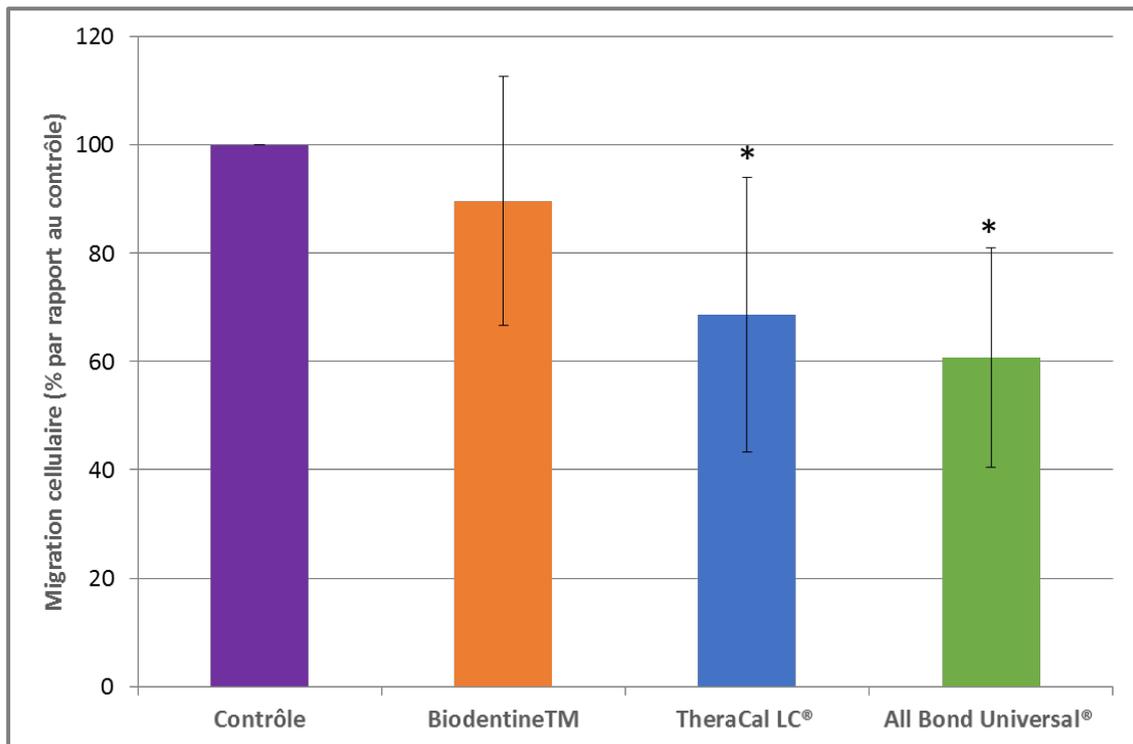


Figure 22: Migration des HUVEC dans les chambres de Boyden. (*) Indique une différence significative par rapport au contrôle ($p < 0,05$).

V. Prolifération des cellules HUVEC

Les résultats indiquent que la prolifération des cellules HUVEC n'est pas affectée par l'utilisation des différents biomatériaux étudiés. En effet, l'utilisation des différents surnageants des fibroblastes traités (milieu MEM contrôle ou biomatériaux) pour la culture des HUVEC à J1 et J3 n'a pas permis de mettre en évidence de différence statistiquement significative (Figure 23).

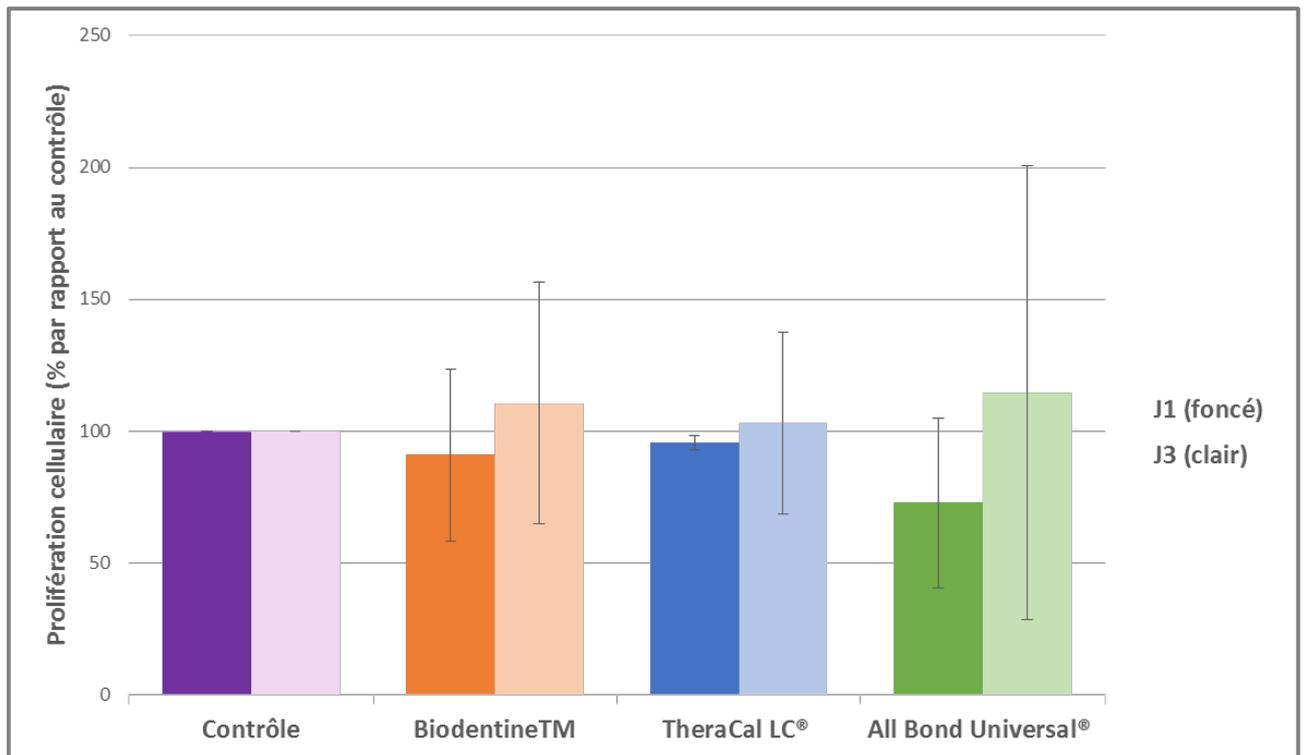


Figure 23: Prolifération des HUVEC à J1 et J3 après mise en culture avec les surnageants de fibroblastes traités (milieu MEM contrôle ou extraits de biomatériaux cultivés pendant 24h).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Dans ce travail de thèse, nous avons en priorité étudié différentes réponses cellulaires (sécrétions de facteur de croissance, migration et prolifération cellulaire notamment) en comparant, pour chaque expérience, des cellules lésées et stimulées au LTA cultivées dans du MEM (groupe contrôle), ou au contact d'extraits de biomatériaux. Ces réponses cellulaires étudiées sont un prérequis nécessaire pour l'organisation d'une régénération pulpo-dentinaire à la suite d'une agression (traumatisme dentaire, lésions carieuses profondes ou encore procédures de restaurations iatrogènes). C'est pourquoi, il nous semblait cohérent d'inclure des biomatériaux tels que Biodentine™ ou TheraCal LC® dans cette étude, pour comprendre leur potentiel de régénération, en concentrant nos efforts sur leurs effets dans l'angiogenèse.

La première étape de notre démarche dans ce travail a été de mettre en relief l'absence de cytotoxicité des biomatériaux, inscrite au cahier des charges de fabrication de ceux-ci relative à leur biocompatibilité. Nous avons montré que l'incubation des fibroblastes pulpaire, avec ces biomatériaux, après « traitement » et aux dilutions utilisées lors de nos expériences, n'entraîne pas de mort cellulaire par rapport au groupe contrôle.

Lorsque la pulpe dentaire est dans une situation pathologique, dans le cadre d'une pulpite réversible par exemple, diverses réponses et cascades protéiques se mettent place au sein du complexe pulpo-dentinaire. L'agression pulpaire par des bactéries déclenchent une réponse inflammatoire locale, impliquant la sécrétion de multiples protéines, de cytokines et aussi de facteurs de croissance. Dans ce travail, nous avons exploré la sécrétion du facteur FGF-2. Celle-ci est augmentée pour le TheraCal LC® à 24h et à 48h, ainsi qu'à 48h avec le All Bond Universal®, alors qu'il n'y a pas de variations pour les populations cultivées avec le Biodentine™. Ces résultats sont en contradiction avec ce qui a pu être observé dans d'autres études. En effet, Giraud et collaborateurs ont montré que la sécrétion de FGF-2 par les fibroblastes pulpaire augmente de façon importante au bout de 4 heures, et reste élevée à 24 et 48 heures, lorsque les cellules sont incubées avec de la Biodentine™ (73).

La sécrétion de VEGF a également été questionnée dans notre étude. Nous avons montré que les fibroblastes pulpaire sécrètent significativement moins de VEGF lorsque ceux-ci sont cultivés avec le All Bond Universal®. Il est difficile de comparer ses résultats à d'autres expériences menées précédemment. Néanmoins, une étude a été réalisée concernant les adhésifs universels (74). Quatre adhésifs ont été utilisés (Optibond Solo Plus, Universal Bond, Prime&Bond Active, FuturaBond M+), non dilués et mis au contact de fibroblastes gingivaux. Le groupe contrôle était composé de cellules non traitées par les adhésifs. Les auteurs ont ainsi montré une augmentation de l'expression des gènes de VEGF (quantifiée par RT-PCR) pour tous les adhésifs après 3h d'incubation. Dans une autre étude, mais réalisée sur des cellules souches pulpaire (DPSC) il a été démontré une augmentation de l'expression par les cellules pulpaire des gènes du facteur VEGF après exposition cette fois ci au matériau Biodentine™ à 7 jours et à 14 jours en comparaison au contrôle et notamment à l'hydroxyde de calcium (75).

Dans ce travail de thèse, nous avons montré que les HUVEC, quant à elles, n'ont pas sécrété de VEGF. Cependant, on retrouve dans la littérature une étude où les résultats montrent que la sécrétion de VEGF par les HUVEC est augmentée. Pour cela, les auteurs précisent que ces cellules ont été mises dans des conditions hypoxiques, y compris pour le groupe contrôle (76). Lors d'une réponse inflammatoire locale, l'environnement tissulaire subit une hypoxie transitoire jusqu'à la phase de résolution de l'inflammation. Comme décrit dans l'introduction, l'hypoxie entraîne l'augmentation de facteurs de transcription, tel que le VEGF, et permet donc l'activation de l'angiogénèse *in fine*.

De plus, nous avons montré qu'aucune sécrétion de PDGF-AB par les fibroblastes pulpaire n'est mise en évidence dans nos expérimentations. Cependant, il a été montré que l'on retrouve une sécrétion de PDGF par des cellules pulpaire non triées, composées de divers phénotypes cellulaires. En effet, Tran-Hung et collaborateurs ont démontré que la sécrétion de PDGF était augmentée après lésion des cellules pulpaire non triées, et retrouve sa valeur de départ après 24h. La mise en contact de ces cellules avec du méthacrylate de 2-hydroxyéthyle (HEMA), n'a pas eu d'impact sur la sécrétion de PDGF-AB (77).

Outre la sécrétion de facteurs de croissance, un élément essentiel de l'angiogenèse nous semblait important d'étudier : la migration cellulaire. Comme dans tous processus de régénération tissulaire, la migration de population cellulaire est une étape clef qui mobilise à la fois des cellules différenciées et des cellules souches. Pour aborder cette question, nous avons utilisé comme modèle les cellules endothéliales embryonnaires, incubées avec différents biomatériaux. De cette manière, nous avons montré que la migration des HUVEC est diminuée par le TheraCal LC® et le All Bond Universal®. Cependant, la Biodentine™ n'entrave pas cette migration. Ce résultat est cohérent avec une étude menée précédemment, dans laquelle, la migration des HUVEC a été étudiée sur Matrigel. Des disques de biomatériaux ont été réalisés par Olcay et collaborateurs, et incubés dans du milieu de culture. Celui-ci a été récupéré et utilisé pour observer les effets vasculaires des matériaux. Les auteurs ont montré que pour tous les matériaux à base de trisilicate de calcium, la migration est augmentée par rapport au contrôle (78).

L'angiogenèse pulpaire est un processus complexe et les facteurs intervenant dans son déroulement sont nombreux. Il existe aujourd'hui une grande diversité de matériaux utilisés en dentisterie et il faudra encore longtemps pour pouvoir explorer tous les mécanismes qu'ils stimulent sur les différents types cellulaires composant la pulpe. De plus concernant l'angiogenèse et les cellules pulpaires, beaucoup d'articles ressortent dans la littérature, mais également beaucoup de conditions différentes, ce qui rend difficile une comparaison avec les résultats obtenus.

Bien que significatifs, ces résultats constituent une étude préliminaire et d'autres expériences nécessiteront d'être réalisées. Les conditions standardisées dans cette étude doivent pouvoir être reproductible.

Les mécanismes angiogéniques sont le résultat d'interactions entre différents facteurs de croissances, mais aussi différentes cellules. Il est difficile, *in vitro* de reproduire ces mécanismes, en particulier de pouvoir observer toutes ces cellules au même endroit au même moment. De ce biais découle le fait que les résultats des thérapies anti-angiogéniques, très utilisées dans le traitement des cancers ne sont souvent pas aussi bons que prévus par rapport aux modèles expérimentaux. Ce constat est la conséquence de l'intervention successives et

des relations entre les facteurs de croissance qui se déroulent lors de la cascade angiogénique (79).

Il existe également une grande variation au sein même d'une même famille de facteurs de croissances. Différents isoformes d'un même facteur existent. C'est le cas par exemple de la famille de PGDF qui est constituée de plusieurs membres (Figure 20). Tous les membres d'une même famille ne se fixent pas sur le même récepteur, ce qui peut impliquer une variation, voire une absence de réponse des cellules même si le facteur de croissance est sécrété. A cela s'ajoute une autre notion, celle de facteur de croissance non actif. Il a été démontré que certains isoformes de PDGF sont sécrétés sous forme latente, nécessitant une protéase pour qu'ils passent sous sa forme active. Celle-ci n'a pas encore été identifiée.

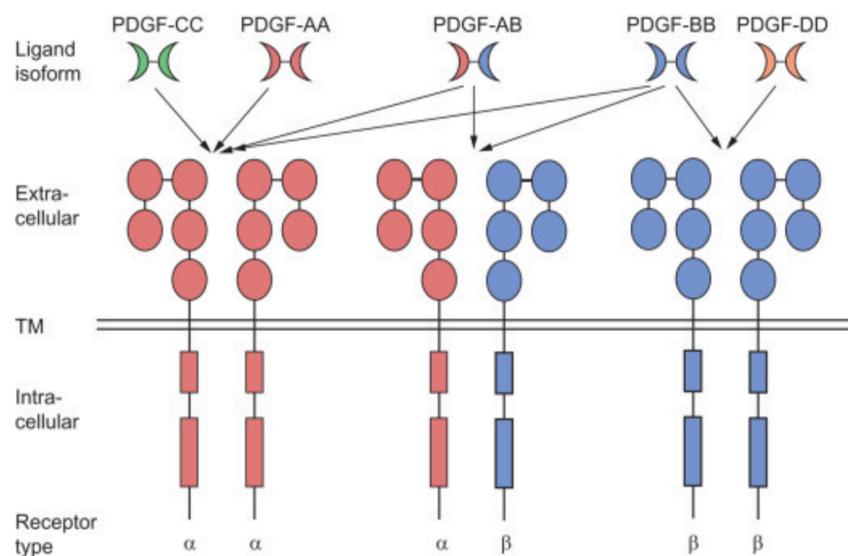


Figure 20 : Les différentes isoformes de dimères de PDGF et les trois types de dimères de récepteurs de PDGF. Les flèches indiquent les formes de PDGF qui se lient au type de récepteur (80)

Du fait de ces variations d'isoformes, toutes les expérimentations ne détectent pas les mêmes choses. Dans cette thèse, les test ELISA utilisés permettaient de mettre en évidence le PDGF-AB. Concernant l'organe dentaire, il a été montré une sécrétion de PDGF-BB (81), principalement au niveau des fibroblastes issus du ligament parodontal (82). Il est possible que ce facteur de croissance reste au niveau local et/ou que ce soit un isoforme différent de celui recherché qui est sécrété, ce qui expliquerait son absence dans le surnageant des fibroblastes pulpaire.

La cascade angiogénique (Figure 24) est indispensable à la mise en place de l'angiogenèse. Il existe en son sein des mécanismes de régulations. Ainsi, le VEGF entraîne une perméabilité vasculaire ainsi que le recrutement des cellules endothéliales. De plus, il peut avoir une action sur le PDGF qui est chargé de la stabilité vasculaire. Le VEGF peut par ses propriétés, inhiber l'action de PDGF et inversement (83). Les conditions *in vitro* sont très différentes de ce qui se passe *in vivo*. Nos expériences sont menées avec un type limité de cellules. Ainsi, les résultats obtenus au cours de ce travail peuvent en être influencé.

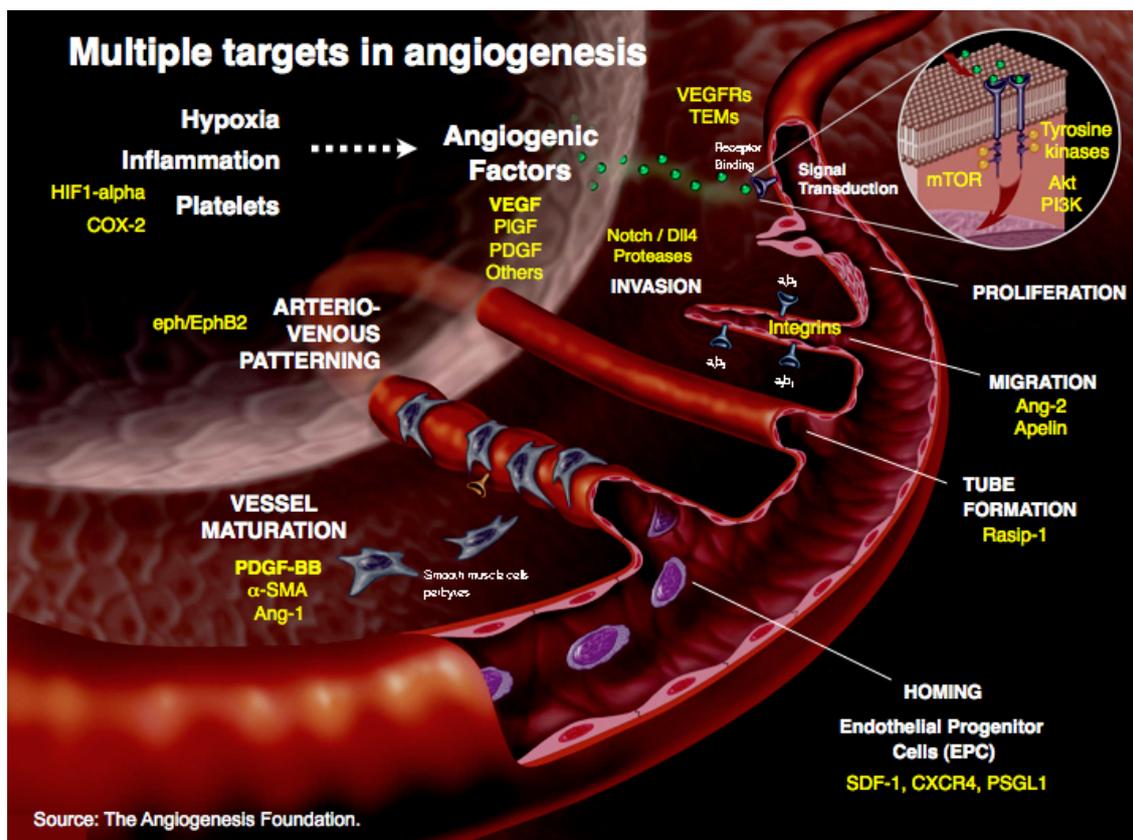


Figure 24 : La cascade angiogénique (84)

Cette pléiotropie permet donc à un même gène d'avoir un impact sur différentes fonctions. C'est le cas de AGGF1, qui code le facteur angiogénique avec le patch G. Ce gène inhiberait la synthèse des cytokines inflammatoires par la voie de signalisation NF-κB et favoriserait l'angiogenèse pulpaire, ce qui montre le lien entre ces deux phénomènes (85).

Le maintien de la vitalité pulpaire reste un des objectifs principaux en dentisterie mais représente également un vrai défi. C'est pourquoi, de nouveaux biomatériaux sont en

permanences développés. C'est le cas du TheraCal PT™, qui a pour but d'être plus efficace que son prédécesseur le TheraCal LC® (utilisé tout au long de ce travail). Des expériences *in vitro* ont été menées et il apparaît que dans ces conditions, le TheraCal PT™ et la Biodentine™ tendent à avoir les mêmes propriétés, en ce qui concerne la cytocompatibilité, la formation de nodules minéralisés, mais également la sécrétion de facteurs odontogènes (86,87). Malgré ces résultats, selon le fabricant, le TheraCal PT™ a pour vocation d'être utilisé le plus souvent dans les cas de biopulpotomie, donc de compléter la gamme de produits et non pas de remplacer son prédécesseur. Ces expériences ont été réalisées *in vitro*, avec des dilutions différentes, il faudra plusieurs années et d'autres études avant d'avoir le recul nécessaire sur l'utilisation et la comparaison des nouveaux matériaux entre eux.

La cascade angiogénique est caractérisée par sa complexité, en permanence soumise à des régulations. L'angiogenèse et la réaction inflammatoire sont des phénomènes étroitement liés et complémentaires. Plusieurs études montrent l'implication de VEGF, facteur angiogénique, dans les phénomènes d'inflammation pulpaire, par son impact sur la vascularisation. Cependant, des études montrent des rôles antagonistes du VEGF et donc un mode d'action différent (88,89).

L'angiogenèse pulpaire est un élément clé de la régénération pulpaire, mais du fait de sa complexité, reste un sujet vaste qui nécessitera encore beaucoup d'études pour comprendre l'étendue de ses processus. Une multitude de types cellulaires, de réactions, de récepteurs, de facteurs sont impliqués dans ce mécanisme. Il existe un grand nombre de conditions différentes (hypoxie, sélection cellulaire, concentration des matériaux, interactions entre les différents types cellulaires, etc ...), ce qui rend très hétérogènes les différents travaux envisagés sur ce sujet et donc complique les comparaisons entre eux. Il faudra encore du temps avant de tout avoir mis en évidence et pouvoir mettre au point le matériau « parfait » pour le coiffage pulpaire.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : La composition de la dent	3
Figure 2 : Coupe histologique d'une dent saine, coloration hématoxyline-éosine.....	4
Figure 3: Représentation du complexe pulpo-dentinaire	6
Figure 4 : Représentation schématique de la formation d'un biofilm	7
Figure 5 : Détection de Streptococcus Mutans dans des coupes de dents cariées	8
Figure 6 : Coupe histologique frontale d'une molaire de souris après une obturation coronaire.....	9
Figure 7 : L'hypoxie est le moteur de l'angiogenèse.....	14
Figure 8 : Différentes couches de la carie dentaire et réactions pulpaires associées.....	16
Figure 9 : Schéma d'un coiffage pulpaire direct	17
Figure 10 : Exemple de forme commerciale de l'hydroxyde de calcium : Dycal®	18
Figure 11 : Exemple de ciment MTA, ProRoot de chez Denstply	19
Figure 12 : Biodentine™, commercialisée par Septodont	20
Figure 13 : Présentation du TheraCal LC®	20
Figure 14: Protocole du traitement des cellules utilisées lors des expérimentations	24
Figure 15 : Photographies représentatives des plaques 96 puits en fin d'expérimentation des tests ELISA.....	26
Figure 16: Représentation schématique d'une chambre de Boyden et des conditions de migration.....	27
Figure 17 : Évaluation de la viabilité cellulaire par test MTT sur fibroblastes pulpaires traités (après stimulation au LTA et lésions physiques) en fonction des biomatériaux étudiés (0,05cm ² /mL)	29
Figure 18: Sécrétion de FGF-2 par les fibroblastes pulpaires	30
Figure 19: Sécrétion de VEGF par les fibroblastes pulpaires traités à 24 et 48h	31
Figure 20: Sécrétion de PDGF par les HUVEC traités à 24 et 48h.	32
Figure 21: Images représentatives en microscopie à fluorescence après coloration DAPI ...	33
Figure 22: Migration des HUVEC dans les chambres de Boyden	34
Figure 23: Prolifération des HUVEC à J1 et J3 après mise en culture avec les surnageants de fibroblastes traités	35
Figure 24 : La cascade angiogénique	40

BIBLIOGRAPHIE

1. Santé bucco-dentaire [Internet]. [cité 30 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
2. Flores MT, Andersson L, Andreasen JO, Bakland LK, Malmgren B, Barnett F, et al. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. I. Fractures and luxations of permanent teeth. *Dental Traumatology*. 2007;23(2):66-71.
3. Caplan DJ, Cai J, Yin G, White BA. Root Canal Filled Versus Non-Root Canal Filled Teeth: A Retrospective Comparison of Survival Times. *Journal of Public Health Dentistry*. 2005;65(2):90-6.
4. Larousse É. Définitions : angiogenèse - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cité 18 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/angiogen%C3%A8se/3473>
5. Prends soin de tes dents à l'aide de la chimie! [Internet]. Parlons sciences. [cité 11 sept 2022]. Disponible sur: <https://parlonssciences.ca/ressources-pedagogiques/les-stim-en-contexte/prends-soin-de-tes-dents-a-laide-de-la-chimie>
6. Le Corps Humain : comprendre notre organisme et son fonctionnement. Quebec Amérique. 2002. (Guides de la connaissance).
7. Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: Structure, Composition and Mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*. 1 janv 2011;3:711-35.
8. Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1 oct 1993;4(5):679-728.
9. Simon S, Cooper P, Berdal A, Machtou P, Smith AJ. Biologie pulpaire : comprendre pour appliquer au quotidien. sept 2008;(37):290-235.
10. Giraud T. Coiffage pulpaire direct : le choix du biomateriau au carrefour des phénomènes d'inflammation et de régénération de la pulpe dentaire [Internet] [These de doctorat]. Aix-Marseille; 2018 [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2018AIXM0128>
11. Etienne Piette, Goldberg M. La dent normale et pathologique. DeBoeck Université. Vol. 1. Bruxelles; 2001. 392 p.
12. Tronstad L, Laudénbach P. Endodontie Clinique. Flammarion médecine-sciences. Paris;

1993. 235 p.

13. Chmilewsky F, Jeanneau C, Laurent P, About I. Pulp Fibroblasts Synthesize Functional Complement Proteins Involved in Initiating Dentin–Pulp Regeneration. *The American Journal of Pathology*. juill 2014;184(7):1991-2000.
14. Jeanneau C, Lundy FT, El Karim IA, About I. Potential Therapeutic Strategy of Targeting Pulp Fibroblasts in Dentin-Pulp Regeneration. *J Endod*. sept 2017;43(9S):S17-24.
15. Jontell M, Okiji T, Dahlgren U, Bergenholtz G. Immune defense mechanisms of the dental pulp. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9(2):179-200.
16. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 5 déc 2000;97(25):13625-30.
17. Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res*. avr 2003;18(4):696-704.
18. 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*. févr 2005;50(2):103-8.
19. Rufas P, Jeanneau C, Rombouts C, Laurent P, About I. Complement C3a Mobilizes Dental Pulp Stem Cells and Specifically Guides Pulp Fibroblast Recruitment. *Journal of Endodontics*. 1 août 2016;42.
20. Lasfargues JJ, Colon P. *Odontologie conservatrice et restauration. Tome 1 : Une approche médicale globale*. Cdp. Paris; 2009. 480 p. (JPIO).
21. Rombouts C, Giraud T, Jeanneau C, About I. Pulp Vascularization during Tooth Development, Regeneration, and Therapy. *J Dent Res*. 1 févr 2017;96(2):137-44.
22. Nanci A. *Ten Cate's Oral Histology*. Elsevier. 2013.
23. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000*. 2006;42:80-7.
24. Campbell K. Oral microbiome findings challenge dentistry dogma. *Nature* [Internet]. 27 oct 2021 [cité 26 avr 2022]; Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/d41586-021-02920-w>
25. Marsh PD. Dental Plaque as a Microbial Biofilm. *Caries Res*. :8.
26. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. févr 1998;25(2):134-44.
27. Kidd E a. M, Fejerskov O. What constitutes dental caries? *Histopathology of carious*

enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res.* 2004;83 Spec No C:C35-38.

28. Can Pulp Fibroblasts Kill Cariogenic Bacteria? Role of Complement Activation - C. Jeanneau, P. Rufas, C. Rombouts, T. Giraud, J. Dejou, I. About, 2015 [Internet]. [cité 18 sept 2022]. Disponible sur: https://journals-sagepub-com.lama.univ-amu.fr/doi/10.1177/0022034515611074?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed

29. Fracture coronaire compliquée, défi endodontique et challenge esthétique: A propos d'un cas clinique | Cas clinique [Internet]. *Le courrier du dentiste.* [cité 18 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.lecourrierdudentiste.com/cas-clinique/fracture-coronaire-compliquee-defi-endodontique-et-challenge-esthetique-a-propos-d-un-cas-clinique.html>

30. Nahmias F, David J. Evaluation du parage de plaie de la pulpe par coiffage pulpaire direct. 2019;62.

31. Vaahtokari A, Vainio S, Thesleff I. Associations between transforming growth factor beta 1 RNA expression and epithelial-mesenchymal interactions during tooth morphogenesis. *Development.* nov 1991;113(3):985-94.

32. Cassidy N, Fahey M, Prime SS, Smith AJ. Comparative analysis of transforming growth factor- β isoforms 1–3 in human and rabbit dentine matrices. *Archives of Oral Biology.* 1 mars 1997;42(3):219-23.

33. Finkelman RD, Mohan S, Jennings JC, Taylor AK, Jepsen S, Baylink DJ. Quantitation of growth factors IGF-I, SGF/IGF-II, and TGF- β in human dentin. *Journal of Bone and Mineral Research.* 1990;5(7):717-23.

34. Roberts-Clark DJ, Smith AJ. Angiogenic growth factors in human dentine matrix. *Arch Oral Biol.* nov 2000;45(11):1013-6.

35. Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *J Dent.* févr 2000;28(2):77-92.

36. Mathieu S, Jeanneau C, Sheibat-Othman N, Kalaji N, Fessi H, About I. Usefulness of Controlled Release of Growth Factors in Investigating the Early Events of Dentine-pulp Regeneration. *Journal of Endodontics.* 1 févr 2013;39(2):228-35.

37. About I, Bottero MJ, de Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA. Human dentin production in vitro. *Exp Cell Res.* 10 juill 2000;258(1):33-41.

38. Huang GTJ, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res.* sept 2009;88(9):792-806.

39. About I, Laurent-Maquin D, Lendahl U, Mitsiadis TA. Nestin expression in embryonic

and adult human teeth under normal and pathological conditions. *Am J Pathol.* juill 2000;157(1):287-95.

40. Dobie K, Smith G, Sloan AJ, Smith AJ. Effects of alginate hydrogels and TGF-beta 1 on human dental pulp repair in vitro. *Connect Tissue Res.* 2002;43(2-3):387-90.

41. Gerwins P, Sköldenberg E, Claesson-Welsh L. Function of fibroblast growth factors and vascular endothelial growth factors and their receptors in angiogenesis. *Crit Rev Oncol Hematol.* juin 2000;34(3):185-94.

42. Kim J, Park JC, Kim SH, Im GI, Kim BS, Lee JB, et al. Treatment of FGF-2 on stem cells from inflamed dental pulp tissue from human deciduous teeth. *Oral Dis.* mars 2014;20(2):191-204.

43. Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and Therapeutic Aspects of Angiogenesis. *Cell.* sept 2011;146(6):873-87.

44. Aguilar-Cazares D, Chavez-Dominguez R, Carlos-Reyes A, Lopez-Camarillo C, Hernandez de la Cruz ON, Lopez-Gonzalez JS. Contribution of Angiogenesis to Inflammation and Cancer. *Front Oncol.* 12 déc 2019;9:1399.

45. Morelli T, Neiva R, Nevins ML, McGuire MK, Scheyer ET, Oh TJ, et al. Angiogenic biomarkers and healing of living cellular constructs. *J Dent Res.* avr 2011;90(4):456-62.

46. Yokose S, Kadokura H, Tajima N, Hasegawa A, Sakagami H, Fujieda K, et al. Platelet-derived growth factor exerts disparate effects on odontoblast differentiation depending on the dimers in rat dental pulp cells. *Cell Tissue Res.* mars 2004;315(3):375-84.

47. Fiedler J, Röderer G, Günther KP, Brenner RE. BMP-2, BMP-4, and PDGF-bb stimulate chemotactic migration of primary human mesenchymal progenitor cells. *J Cell Biochem.* 2002;87(3):305-12.

48. Machiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A, et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020;54(1):7-14.

49. Hayashi M, Fujitani M, Yamaki C, Momoi Y. Ways of enhancing pulp preservation by stepwise excavation—A systematic review. *Journal of Dentistry.* 1 févr 2011;39(2):95-107.

50. Oliveira EF, Carminatti G, Fontanella V, Maltz M. The monitoring of deep caries lesions after incomplete dentine caries removal: results after 14–18 months. *Clin Oral Invest.* 1 juin 2006;10(2):134-9.

51. Belenet HD, Meyer J. Gestion contemporaine des lésions carieuses profondes : le curetage sélectif [Internet]. *L'Information Dentaire.* [cité 14 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.information-dentaire.fr/formations/gestion-contemporaine-des-lsions->

cariieuses-profondes-le-curetage-slectif/

52. Hilton T. Keys to Clinical Success with Pulp Capping: A Review of the Literature. *Oper Dent.* 2009;34(5):615-25.
53. Goldstep DF. Bioactivité en dentisterie restauratrice: guide de ... [Internet]. *Dental Tribune France.* 2021 [cité 27 sept 2022]. Disponible sur: <https://fr.dental-tribune.com/news/bioactivite-en-dentisterie-restauratrice-guide-de-lutilisateur/>
54. Lan WH, Lan WC, Wang TM, Lee YL, Tseng WY, Lin CP, et al. Cytotoxicity of conventional and modified glass ionomer cements. *Oper Dent.* juin 2003;28(3):251-9.
55. Pereira PNR, Sano H, Ogata M, Zheng L, Nakajima M, Tagami J, et al. Effect of region and dentin perfusion on bond strengths of resin-modified glass ionomer cements. *Journal of Dentistry.* 1 juin 2000;28(5):347-54.
56. Aeinehchi M, Eslami B, Ghanbariha M, Saffar AS. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. *Int Endod J.* mars 2003;36(3):225-31.
57. Dammaschke T. The history of direct pulp capping. *J Hist Dent.* 2008;56(1):9-23.
58. DYCAL DENTINE : HYDROXYDE DE CALCIUM (BASEx13gr. + CATALYSEUR x11gr.) - Dentsply [Internet]. [cité 4 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.dentaltix.com/fr/dentsply/dycal-dentine-hydroxyde-de-calcium-basex13gr-catalyseur-x11gr-obturation>
59. Camilleri J, Montesin FE, Brady K, Sweeney R, Curtis RV, Ford TRP. The constitution of mineral trioxide aggregate. *Dental Materials.* 1 avr 2005;21(4):297-303.
60. Koh ET, Torabinejad M, Pitt Ford TR, Brady K, McDonald F. Mineral trioxide aggregate stimulates a biological response in human osteoblasts. *J Biomed Mater Res.* 5 déc 1997;37(3):432-9.
61. Islam I, Chng HK, Yap AUJ. Comparison of the Physical and Mechanical Properties of MTA and Portland Cement. *Journal of Endodontics.* 1 mars 2006;32(3):193-7.
62. An S, Gao Y, Huang Y, Jiang X, Ma K, Ling J. Short-term effects of calcium ions on the apoptosis and onset of mineralization of human dental pulp cells in vitro and in vivo. *Int J Mol Med.* juill 2015;36(1):215-21.
63. ProRoot MTA 0.5gm 1Pc - Dentsply [Internet]. [cité 4 oct 2022]. Disponible sur: <https://dentodeal.com/proroot-mta-dentsply>
64. Villat C, Tran XV, Tran VX, Pradelle-Plasse N, Ponthiaux P, Wenger F, et al. Impedance methodology: A new way to characterize the setting reaction of dental cements. *Dent Mater.* déc 2010;26(12):1127-32.

65. Koubi G, Colon P, Franquin JC, Hartmann A, Richard G, Faure MO, et al. Clinical evaluation of the performance and safety of a new dentine substitute, Biodentine, in the restoration of posterior teeth - a prospective study. *Clin Oral Investig*. janv 2013;17(1):243-9.
66. About I, éditeur. Biodentine™: Properties and Clinical Applications [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2022 [cité 4 oct 2022]. Disponible sur: <https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-80932-4>
67. Biodentine / 5 x 0,7g + liquide [Internet]. Intemerata sklep stomatologiczny. [cité 4 oct 2022]. Disponible sur: https://intemerata.eu/fr/rincage-et-remplissage-des-canaux/373-biodentine-5-x-07g-liquide.html?SubmitCurrency=1&id_currency=3
68. Nielsen MJ, Casey JA, VanderWeele RA, Vandewalle KS. Mechanical properties of new dental pulp-capping materials. *Gen Dent*. févr 2016;64(1):44-8.
69. Camilleri J. Hydration characteristics of Biodentine and Theracal used as pulp capping materials. *Dental Materials*. 1 juill 2014;30(7):709-15.
70. Bortoluzzi EA, Niu LN, Palani CD, El-Awady AR, Hammond BD, Pei DD, et al. Cytotoxicity and osteogenic potential of silicate calcium cements as potential protective materials for pulpal revascularization. *Dent Mater*. déc 2015;31(12):1510-22.
71. THERACAL LC de Bisco [Internet]. Dentyprice. [cité 4 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.dentyprice.com/fonds-de-cavite/3122-theracal-lc.html>
72. Chmilewsky F, Jeanneau C, Laurent P, Kirschfink M, About I. Pulp Progenitor Cell Recruitment is Selectively Guided by a C5a Gradient. *J Dent Res*. 1 juin 2013;92(6):532-9.
73. Giraud T, Jeanneau C, Rombouts C, Bakhtiar H, Laurent P, About I. Pulp capping materials modulate the balance between inflammation and regeneration. *Dent Mater*. janv 2019;35(1):24-35.
74. Pagano S, Lombardo G, Costanzi E, Balloni S, Bruscoli S, Flamini S, et al. Morpho-functional effects of different universal dental adhesives on human gingival fibroblasts: an in vitro study. *Odontology*. 2021;109(2):524-39.
75. Youssef AR, Emara R, Taher MM, Al-Allaf FA, Almalki M, Almasri MA, et al. Effects of mineral trioxide aggregate, calcium hydroxide, biodentine and Emdogain on osteogenesis, Odontogenesis, angiogenesis and cell viability of dental pulp stem cells. *BMC Oral Health*. 2 juill 2019;19(1):133.
76. Lee JE, Kim JY, Jung JH, Shin DH, Park SW. Induction of vascular endothelial growth factor receptor expression in human umbilical vein endothelial cells after repeated bevacizumab treatment in vitro. *Int J Ophthalmol*. 18 juill 2017;10(7):1064-8.
77. Tran-Hung L, Laurent P, Camps J, About I. Quantification of angiogenic growth factors

released by human dental cells after injury. Arch Oral Biol. janv 2008;53(1):9-13.

78. Olcay K, Taşlı PN, Güven EP, Ülker GMY, Öğüt EE, Çiftçioğlu E, et al. Effect of a novel bioceramic root canal sealer on the angiogenesis-enhancing potential of assorted human odontogenic stem cells compared with principal tricalcium silicate-based cements. J Appl Oral Sci. 28:e20190215.

79. Raica M, Cimpean AM. Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)/PDGF Receptors (PDGFR) Axis as Target for Antitumor and Antiangiogenic Therapy. Pharmaceuticals (Basel). 11 mars 2010;3(3):572-99.

80. Heldin CH. Platelet-derived growth factor. In: Encyclopedia of Cancer. 2012. p. 2908-10.

81. Li F, Yu F, Xu X, Li C, Huang D, Zhou X, et al. Evaluation of Recombinant Human FGF-2 and PDGF-BB in Periodontal Regeneration: A Systematic Review and Meta-Analysis. Sci Rep. 6 mars 2017;7(1):65.

82. Jin Y, Ding L, Ding Z, Fu Y, Song Y, Jing Y, et al. Tensile force-induced PDGF-BB/PDGFR β signals in periodontal ligament fibroblasts activate JAK2/STAT3 for orthodontic tooth movement. Sci Rep. 9 juill 2020;10(1):11269.

83. Sequential delivery of VEGF, FGF-2 and PDGF from the polymeric system enhance HUVEC angiogenesis in vitro and CAM angiogenesis. Cellular Immunology. 1 janv 2018;323:19-32.

84. Angiogenesis [Internet]. [cité 3 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.advancedcardioservices.com/Resources/angiogenesis>

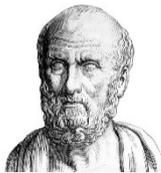
85. Shen S, Shang L, Liu H, Liang Q, Liang W, Ge S. AGGF1 inhibits the expression of inflammatory mediators and promotes angiogenesis in dental pulp cells. Clin Oral Invest. 1 févr 2021;25(2):581-92.

86. Sanz JL, Soler-Doria A, López-García S, García-Bernal D, Rodríguez-Lozano FJ, Lozano A, et al. Comparative Biological Properties and Mineralization Potential of 3 Endodontic Materials for Vital Pulp Therapy: Theracal PT, Theracal LC, and Biodentine on Human Dental Pulp Stem Cells. Journal of Endodontics. 1 déc 2021;47(12):1896-906.

87. Rodríguez-Lozano FJ, López-García S, García-Bernal D, Sanz JL, Lozano A, Pecci-Lloret MP, et al. Cytocompatibility and bioactive properties of the new dual-curing resin-modified calcium silicate-based material for vital pulp therapy. Clin Oral Invest. 1 août 2021;25(8):5009-24.

88. Botero TM, Son JS, Vodopyanov D, Hasegawa M, Shelburne CE, Nör JE. La signalisation MAPK est requise pour le VEGF induit par le LPS dans les cellules souches de la pulpe. J Dent Res. 1 mars 2010;89(3):264-9.

89. Artese L, Rubini C, Ferrero G, Fioroni M, Santinelli A, Piattelli A. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Expression in Healthy and Inflamed Human Dental Pulps. *Journal of Endodontics*. 1 janv 2002;28(1):20-3.



SERMENT MEDICAL

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'HIPPOCRATE.

Je promets et je jure, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine Dentaire.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

J'informerai mes patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des connaissances pour forcer les consciences.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois déshonoré et méprisé de mes confrères si j'y manque.

TESSONNIER Margot – Évaluation des propriétés angiogéniques des biomatériaux de coiffage pulpaire

Th. : Chir. dent. : Marseille : Aix –Marseille Université : 2022

Rubrique de classement : Sciences Biologiques

Résumé

Le maintien de la vitalité pulpaire est un enjeu majeur en odontologie. Le contrôle de l'inflammation et la mise en place de la régénération en sont des prérequis indispensables. Au sein de ces évènements l'angiogenèse se définit comme le développement de vaisseaux capillaires à partir de capillaires préexistants. Lors d'une effraction pulpaire, différents matériaux de coiffage direct sont disponibles pour permettre la conservation de la vitalité de l'organe dentaire que ce soit consécutivement à la progression d'une lésion carieuse ou suite à une lésion traumatique. Le but de cette étude a été d'évaluer les conséquences de l'application des biomatériaux de coiffage choisis (Biodentine™, TheraCal LC®, et un adhésif universel le All Bon Universal®) sur des étapes clés de l'angiogenèse. Ainsi, ce travail a porté sur deux populations cellulaires distinctes, les fibroblastes pulpaires et les cellules endothéliales en simulant une lésion carieuse à l'aide d'un motif bactérien et de la réalisation de lésions cellulaires physiques. La sécrétion de facteur de croissance (PDGF, FGF-2 et VEGF), la migration et la prolifération cellulaire ont été étudiées. Les notions importantes liées à l'angiogenèse dans un contexte de coiffage pulpaire seront rappelées dans une première partie du travail. Par la suite, l'ensemble des méthodes utilisées pour ce travail expérimental seront présentées ainsi que les résultats obtenus. Ces derniers seront enfin discutés dans la dernière partie du manuscrit.

Mots clés : angiogenèse, coiffage pulpaire direct, biomatériaux, fibroblastes pulpaires, cellules endothéliales

TESSONNIER Margot - Evaluation of the angiogenic properties of pulp capping biomaterials

Abstract

Maintaining pulp vitality is a major issue in dentistry. Inflammation control and regeneration are essential prerequisites. Within these events, angiogenesis is defined as the development of capillary vessels from pre-existing capillaries. Consecutively to pulp exposure, numerous direct pulp capping materials are available to allow dental organ vitality preservation whether following the progression of a carious lesion or traumatic lesion. The aim of this study was to evaluate the consequences of the application of selected capping biomaterials (Biodentine™, TheraCal LC®, and a universal adhesive, All Bon Universal®) on key steps of angiogenesis. Thus, this work focused on two distinct cell populations, pulp fibroblasts and endothelial cells by simulating a carious lesion using a bacterial pattern and performing physical cell damage. Growth factor secretion (PDGF, FGF-2 and VEGF), cell migration and proliferation were studied. The important notions related to angiogenesis in a context of direct pulp capping will be recalled in the first part of the work. Subsequently, all the methods used for this experimental work will be presented as well as the results obtained. These will be finally discussed in the last part of the manuscript.

Keywords : angiogenesis, direct pulp capping, biomaterials, pulp fibroblasts, endothelial cells