

UNIVERSITE DE STRASBOURG
FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année 2021

N°19

THESE

Présentée pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire
le 26/02/2021

par

STEYER Alicia

Née le 12/03/1994 à STRASBOURG

MODELES ANIMAUX POUR LA REGENERATION ENDODONTIQUE *IN VIVO*

Président : Professeur Olivier HUCK

Assesseurs : Docteur Florence FIORETTI

Docteur Fabien BORNERT

Docteur Sonia DESCHAMPS-LEHNARDT

Membre invité : Docteur Jacky HUA

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE DE STRASBOURG

Doyen : Professeur Corinna TADDEI-GROSS

Doyens honoraires : Professeur Robert FRANK

Professeur Maurice LEIZE

Professeur Youssef HAIKEL

Professeurs émérites : Professeur Henri TENENBAUM

Responsable des Services Administratifs : Mme Françoise DITZ-MOUGEL

Professeurs des Universités

Vincent BALL

Agnès BLOCH-ZUPAN

François CLAUSS

Jean-Luc DAVIDEAU

Youssef HAIKEL

Olivier HUCK

Maria-Cécile MANIERE

Florent MEYER

Maryline MINOUX

Anne-Marie MUSSET

Corinna TADDEI-GROSS

Béatrice WALTER

Matthieu SCHMITTBUHL

Département (Juin 2014)

Ingénierie Chimique, Energétique - Génie des Procédés

Sciences Biologiques

Odontologie Pédiatrique

Parodontologie

Odontologie Conservatrice - Endodontie

Parodontologie

Odontologie Pédiatrique

Sciences Biologiques

Odontologie Conservatrice - Endodontie

Prévention - Epidémiologie - Economie de la Santé - Odontologie Légale

Prothèses

Prothèses

Sciences Anatomiques et Physiologiques, Occlusodontiques - Biomatériaux -

Biophysique - Radiologie

Maîtres de Conférences

Youri ARNTZ

Sophie BAHI-GROSS

Yves BOLENDER

Fabian BORNERT

Abdessamad BOUKARI

Claire EHLINGER

Olivier ETIENNE

Florence FIORETTI

Catherine-Isabelle GROS

Sophie JUNG

Nadia LADHARI

Département (Mar. 2020)

Davide MANCINO

Damien OFFNER

Catherine PETIT

François REITZER

Martine SOELL

Marion STRUB

Xavier VAN BELLINGHEN

Delphina WAGNER

Département (Aout 2021)

Etienne WALTMANN

Biophysique moléculaire

Chirurgie Buccale - Pathologie et Thérapeutique - Anesthésiologie et Réanimation

Orthopédie Dento-Faciale

Chirurgie Buccale - Pathologie et Thérapeutique - Anesthésiologie et Réanimation

Chirurgie Buccale - Pathologie et Thérapeutique - Anesthésiologie et Réanimation

Odontologie Conservatrice - Endodontie

Prothèses

Odontologie Conservatrice - Endodontie

Sciences Anatomiques et Physiologiques - Biophysique - Radiologie

Sciences Biologiques

Sciences Anatomiques et Physiologiques, Occlusodontiques - Biomatériaux -

Biophysique

Odontologie Conservatrice - Endodontie

Prévention - Epidémiologie - Economie de la Santé - Odontologie Légale

Parodontologie

Odontologie Conservatrice - Endodontie

Parodontologie

Odontologie Pédiatrique

Prothèses

Orthopédie Dento-Faciale

Prothèses

Equipes de Recherche

Nadia JESSEL

Philippe LAVALLE

Pierre SCHAAF

Bernard SENGER

INSERM / Directeur de Recherche/Directrice d'UMR

INSERM / Directeur de Recherche

UNISTRA / Professeur des Universités / Directeur d'UMR

INSERM / Directeur de Recherche

A Madame le Docteur Florence FIORETTI

Je vous remercie de l'honneur que vous m'avez fait de devenir ma directrice de thèse. Vous avez su m'aiguiller et me montrer la voie durant la rédaction de ma thèse. Je vous remercie également pour votre douceur et votre bonne humeur toujours constante. Grâce à vous et vos idées toujours brillantes, j'ai pu ressortir le meilleur de moi-même pour compléter la rédaction de cette thèse.

A Monsieur le Professeur Olivier HUCK

Je vous remercie du fond du cœur d'avoir accepté de présider cette thèse. Je vous prie d'agréer à l'expression de mes sentiments les plus distingués pour ces heures passées dans l'unité fonctionnelle de parodontologie où vous avez toujours su m'apprendre et me former au mieux et toujours dans la bonne humeur.

A Monsieur le Docteur Fabien BORNERT

De vous voir siéger au jury de ma thèse est un grand honneur, c'est pourquoi je vous remercie du temps que vous m'avez consacré. Vous avez toujours su transmettre vos connaissances avec beaucoup d'entrain et de bienveillance. Je vous remercie mille fois car votre discipline et votre soif de connaissance m'a permis de devenir la dentiste que je suis.

A Madame le Docteur Sonia DESCHAMPS

Je vous remercie pour le temps que vous avez pu me consacrer au cours de ces dernières années et pour votre bienveillance. Je suis honorée de vous compter parmi les membres du jury pour cette thèse.

A mes parents

Je suis tellement fière d'être parvenu à finaliser ce cursus scolaire, et tout cela c'est grâce vous ! Je vous remercie mille fois d'avoir fait de moi ce que je suis, de m'avoir transmis les valeurs morales qui comptent et qui font de moi une femme comblée de bonheur. Je vous remercie également de m'avoir soutenue pendant toutes ces années d'études. Je vous aime fort et vous remercie du fond du cœur.

A ma famille

Je vous remercie tous, vous qui avez fait de moi ce que je suis, vous qui m'avez soutenu. Les réunions de famille ont toujours été des moments agréables grâce à vous tous. Je tiens tout particulièrement à remercier deux personnes hors du commun, deux personnes exceptionnelles, Mamie Joséphine et Papi René, je vous remercie d'avoir tout fait pour moi et pour ma famille, d'avoir été aimants, compréhensifs et toujours présents, que ce soit pour moi ou pour les autres. Votre bonté et votre bienveillance est sans limites. Je vous remercie du fond du cœur d'avoir pris part à mon éducation et de m'avoir donné tant d'amour !

A Xavier, mon compagnon,

Merci de m'avoir supporté pendant ces périodes de doutes, de stress. Merci de m'avoir soutenue, et de m'avoir aimé tous les jours sans conditions même pendant les moments difficiles. Et surtout merci pour cette vie à deux que tu m'offres tous les jours, je te remercie plus que tout ! J'espère que la vie nous réserve encore de nombreuses années de bonheur à deux.

Aux pingouins, mes amis,

Je vous remercie tout particulièrement pour ces dizaines (ou plus ?) de soirées endiablées, qui me font sourire à chaque fois que j'y repense. Je vous remercie pour votre soutien dans les moments de doutes et d'être si réactif sur notre conversation Facebook, je dois admettre que ça m'a sauvé la mise quelques fois ! J'espère qu'on pourra tous se retrouver bientôt autour d'une table avec beaucoup trop de nourriture et de boissons ! Merci pour tous les pingouins !

A Annlyse, ma meilleure amie et à la bande,

Parce que je ne pouvais pas faire de remerciements sans te citer, toi ma meilleure amie, toi qui est aussi folle que moi, je te remercie pour ton soutien dans les moments les plus durs, mais je te remercie surtout pour tous ces fous rires que l'on peut compter par centaines ! J'espère qu'on pourra encore faire de nombreuses soirées de folies.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ABREVIATIONS	3
LISTE DES FIGURES	4
INTRODUCTION	6
I. BIOMATERIAUX ET LEURS CARACTERISTIQUES POUR LA REGENERATION ENDODONTIQUE	7
1. Cellules souches.....	7
a. Définition d'une cellule souche	7
b. Cellule souche mésenchymateuse (Mesenchymal Stromal Cells).....	8
c. Cellule souche de la pulpe dentaire (Dental Pulp Stem Cells (DPSC)).....	9
d. Cellules souches de la moelle osseuse (Bone Marrow Stem Cells (BMSC))	10
e. Cellules souches du follicule dentaire (Dental Follicle Stem Cells (DFSC)).....	11
f. Cellules souches de la papille apicale (Stem Cell from apical papilla (SCAP))	12
g. Cellules souches des dents déciduales humaines exfoliées (Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth (SHED)).....	13
h. Cellules souches dérivées de l'adipose (Adipose Derived Stem Cell (ADSC))	14
2. Matrices	15
a. Poly D-L Lactide-co-glycolide (PLG).....	15
b. Chitosan.....	16
c. Microsphères spongieuses de nano-fibres PLLA (Poly-L Lactique Acide).....	16
d. Fibroïne de soie	17
e. Collagène.....	17
f. Atélocollagène.....	18
g. Matrice dentinaire traitée (TDM).....	18
h. Hydroxyapatite et le phosphate tricalcique (HA/TCP)	19
3. Facteurs de croissances	20
a. Facteur de croissance concentré (CGF : Concentrated Growth Factor)	21
b. Facteur de stimulation des colonies de granulocyte (granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF)).....	21
c. Facteur 1 dérivé des cellules stromales (stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)).....	21
d. Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)	21
e. Protéine osseuse morphogénique (BMP).....	22
f. Facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF).....	22
g. Facteur de croissance des fibroblastes (FGF)	22
II. CADRE LEGAL DES MODELES ANIMAUX	24

1.	Différents modèles.....	24
a.	Souris.....	24
b.	Rat.....	25
c.	Chien.....	26
d.	Furet.....	27
e.	Cochon.....	28
f.	Lapin	29
2.	Législation	30
a.	Convention STE 123	30
b.	Commission nationale de l'expérimentation animale.....	31
c.	Comité d'éthique pour l'expérimentation animale (CEEA)	32
d.	Principe des 3 R.....	33
3.	Répercussion sur les modèles	34
III.	META ANNALYSE.....	36
1.	Transplantation des cellules souches.....	36
a.	Transplantation dans le canal.....	36
b.	Transplantation ectopique.....	38
2.	Implantation de matrices cellularisées et fonctionnalisées	40
a.	Cellules souches.....	40
b.	Matrices	42
c.	Facteurs de croissances	43
d.	Modèles animaux.....	45
e.	Méthodes d'implantation	46
3.	Méta-analyse.....	48
a.	Modèle animal / méthodes de transplantation	48
b.	Modèles animaux / cellules souches.....	49
c.	Modèles animaux / facteurs de croissance	50
d.	Modèles animaux / matrices	51
e.	Méthode de transplantation / cellules souches	52
f.	Méthode de transplantation / facteurs de croissance	53
g.	Méthode de transplantation / matrices.....	54
h.	Cellules souches / facteur de croissance	55
i.	Cellules souches / matrices	56
4.	Synthèse.....	56
	CONCLUSION	59
	BIBLIOGRAPHIE.....	63

TABLE DES ABREVIATIONS

ADST : Adipose Derived Stem Cell
bFGF : basic Fibroblast Growth Factor
BMP : Bone morphogenic protein
BMSC : Bone Marrow Stem Cell
CEEA : Comité d’Ethique pour l’Expérimentation Animale
CGF : Concentrated Growth Factor
CVI : Ciment de Verre Ionomère
DFSC : Dental follicle Stem Cell
DPSC : Dental Pulp Stem Cell
HA/TCP : HydroxyApatite / Tri-Calcium Phosphate
MSC : Mesenchymal Stromal Cell
SCAP : Stem Cell from Apical Papilla
PDGF : Platelet Derived Growth Factor
PLG : Poly D-L Lactide-co-glycolide
PLLA : Poly-L Lactique Acide
SHED : Stem cell from Human Exfoliated Deciduous teeth
TDM : Treated Dentin Matrix
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Source des cellules souches adultes dans la région maxillo-faciale (1)
- Figure 2 : 3ème molaire extraite, possédant une papille apicale (*) contenant les cellules souches de la papille apicale
- Figure 3 : Résumé des différents types de cellules souches et de leurs caractéristiques
- Figure 4 : Structure du poly D-L Lactide-co-glycolide
- Figure 5 : Structure du chitosan
- Figure 6 : Structure du PLA
- Figure 7 : Structure de la fibroïne de soie arrangée en feuillets plissés antiparallèles
- Figure 8 : Principe d'assemblage du collagène
- Figure 9 : Structure moléculaire de l'atélocollagène et du collagène
- Figure 10 : structure de la TDM au microscope électronique (20)
- Figure 11 : Structure moléculaire du phosphate tricalcique
- Figure 12 : Résumé des différentes matrices utilisées et de leurs caractéristiques
- Figure 13 : Synthèse des actions et des origines des différents facteurs de croissance
- Figure 14 : Crâne de souris
- Figure 15 : Crâne de rat
- Figure 16 : Crâne de chien
- Figure 17 : Crâne de furet (30)
- Figure 18 : Crâne de cochon
- Figure 19 : Crâne de lapin (34)
- Figure 20 : Schéma représentant les étapes pour la demande de projet d'expérimentation sur les modèles animaux
- Figure 21 : Pourcentage des différentes cellules utilisées
- Figure 22 : Pourcentage des différentes matrices utilisées
- Figure 23 : Pourcentage des différents facteurs de croissance utilisés
- Figure 24 : Pourcentage des différents modèles animaux utilisés
- Figure 25 : Pourcentage des différentes méthodes de transplantation
- Figure 26 : Tableau de valeur représentant les modèles animaux utilisés en fonction du mode de transplantation
- Figure 27 : Tableau de valeur représentant les cellules souches utilisées en fonction des modèles animaux

Figure 28 : Tableau de valeur représentant les facteurs de croissance utilisés en fonction des modèles animaux

Figure 29 : Tableau de valeur représentant les matrices utilisées en fonction des modèles animaux

Figure 30 : Tableau de valeur représentant les cellules souches utilisées en fonction du mode de transplantation

Figure 31: Tableau de valeur représentant les facteurs de croissance utilisés en fonction du mode de transplantation

Figure 32 : Tableau de valeur représentant les matrices utilisées en fonction du mode de transplantation

Figure 33 : Tableau de valeur représentant les facteurs de croissance utilisés en fonction des cellules souches

Figure 34 : Tableau de valeur représentant les matrices utilisées en fonction des cellules souches

Figure 35 : Synthèse des associations possibles

INTRODUCTION

Malgré les différentes politiques de prévention bucco-dentaire, la prévalence de la pathologie pulpaire reste importante dans notre société actuelle. Elle peut être consécutive à un traumatisme ou à une cause bactérienne. Dans le cadre d'un traumatisme, il est observé une nécrose d'abord aseptique due à la rupture du paquet vasculo-nerveux, puis une nécrose septique due au passage de bactéries dans la pulpe dentaire nécrosée, alors incapable de se défendre. La cause bactérienne, quant à elle, va être impliquée lors de la présence de caries profondes, la pulpe passe alors par plusieurs stades. Tout d'abord, une inflammation de la pulpe se met en place, appelée pulpite, cette inflammation est au départ réversible (si la cause est éliminée (la carie) il y a une réversion de l'inflammation), puis elle devient irréversible (même en éliminant la cause, la pulpe reste inflammatoire). Arrive ensuite le stade de nécrose, cette fois ci directement septique, puisqu'il s'agit de la colonisation par des bactéries.

Aujourd'hui la seule thérapie utilisée dans le cadre des pathologies pulpaires irréversibles des dents matures est le traitement endodontique. Il s'agira de réaliser l'exérèse complète du tissu pulpaire, puis un protocole de désinfection et enfin de finir en utilisant une pâte d'obturation afin d'éviter l'apparition ou la récurrence d'infection. Cette technique ne permet pas la ré-innervation ou la revascularisation de la pulpe, par conséquent, la sensibilité due à la pulpe dentaire (sensation de froid, de chaud, où même douleurs suite à une carie) ne sera plus ressentie sur cette dent.

Différentes techniques de régénération pulpaire se sont ainsi développées depuis plusieurs années avec un versant *in vitro* puis *in vivo*. A partir de certaines cellules souches et d'une matrice spécifique, il est possible d'obtenir un tissu aux caractéristiques similaires à la pulpe dentaire.

Cette thèse aura pour but de faire la méta-analyse de différentes études *in vivo* sur la régénération pulpaire à partir d'une matrice cellularisée. Pour cela, il va être d'abord présenté les différents biomatériaux utilisés et de leurs caractéristiques, cela comprend les cellules souches, les matrices et les cofacteurs utilisés. Ensuite, les différents modèles animaux ainsi que de la législation qui encadre l'utilisation de ceux-ci en laboratoire seront traités. Pour finir, un établissement d'une méta-analyse de différentes études sur la régénération pulpaire sera réalisée afin de déterminer les meilleurs matrices cellularisées et modèles animaux à utiliser, en fonction de la stratégie régénérative choisie.

I. BIOMATERIAUX ET LEURS CARACTERISTIQUES POUR LA REGENERATION ENDODONTIQUE

1. Cellules souches

Différents types de cellules souches sont utilisés dans le cadre de l'ingénierie tissulaire et notamment dans la régénération pulpaire. Ce sont des cellules souches qui peuvent être présentes chez l'adulte ou uniquement chez le sujet jeune.

Sept types de cellules vont pouvoir être utilisées dans la régénération pulpaire :

- Cellules souches mésenchymateuses (MSC : Mesenchymal Stem Cells)
- Cellules souches de la pulpe dentaire (DPSC : Dental Pulp Stem Cells)
- Cellules souches de la moelle osseuse (BMSC : Bone Marrow Stem Cells)
- Cellules souches du follicule dentaire (DFSC : Dental Follicle Stem Cells)
- Cellules souches de la papille apicale (SCAP : Stem Cells from Apical Papilla)
- Cellules souches des dents déciduales humaines exfoliées (SHED : Stem cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth)
- Cellules souches dérivées de l'adipose (ADSC : Adipose Derived Stem cells)

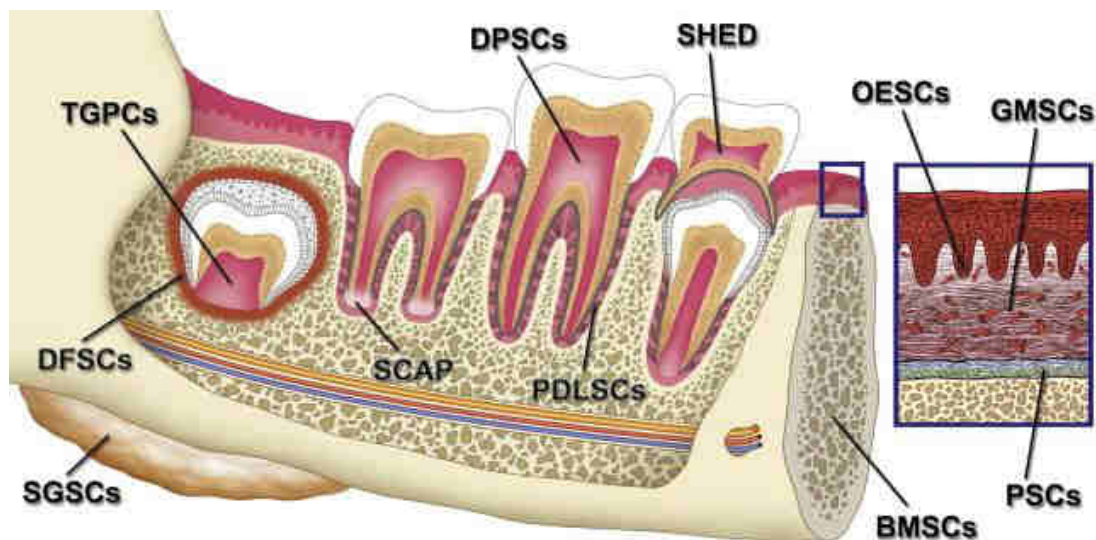


Figure 1 : Source des cellules souches adultes dans la région maxillo-faciale (1)

a. Définition d'une cellule souche

Une cellule souche est une cellule indifférenciée, capable à la fois de s'engager dans une voie de différenciation ou de s'auto-renouveler. Chez l'embryon ces cellules vont être d'abord totipotentes, c'est-à-dire que chacune de ces cellules peut créer un organisme entier avec ses annexes embryonnaires, ce sont les premières cellules de l'embryon.

Ensuite, apparaissent les cellules pluripotentes qui sont capables de créer tous les tissus embryonnaires mais pas les annexes embryonnaires. Ces annexes embryonnaires sont représentées chez les mammifères par l'amnios, la vésicule vitelline, l'allantoïde, le placenta et le cordon ombilicale. Elles ont un rôle dans le développement et la survie de l'embryon en assurant les fonctions vitales telles que la respiration, la nutrition et l'excrétion.

Les cellules multipotentes sont engagées dans un lignage cellulaire donné, mais peuvent se différencier en différents types de cellules. Elles sont présentes dans beaucoup d'organes tels que la moelle osseuse, la pulpe dentaire, la peau, le tissu adipeux... Les cellules souches adultes qui sont intéressantes dans la régénération pulpaire sont multipotentes.

Les cellules souches unipotentes ne peuvent donner qu'un seul type cellulaire. Elles sont importantes car elles permettent le renouvellement du stock de cellules adultes différenciées.

b. Cellule souche mésenchymateuse (Mesenchymal Stromal Cell)

- Origine

Les MSC sont des cellules présentes chez l'adulte quel que soit l'âge. A l'origine, ces cellules ont été découvertes dans la moelle osseuse, mais elles sont en réalité présentes dans de nombreux organes comme la peau, le tissu adipeux ou encore le ligament et la pulpe des dents chez l'adulte. (1) Embryologiquement, ces cellules dérivent de la crête neurale.

- Caractéristiques

Toutes les MSC sont adhérentes au plastique, c'est un critère indispensable pour les reconnaître. Elles sont également capables de former des colonies *in vitro*. Elles expriment à leur surface les marqueurs CD105, CD73, CD90. Elles ont un temps de doublement cellulaire en culture de 2.5 à 5 jours.

- Capacités de différenciation

Les MSC sont des cellules multipotentes, elles peuvent se différencier en os, en cartilage ou en tissu adipeux, c'est une caractéristique commune de ces cellules (2). Elles sont aussi capables, en présence de structures dentaires ayant un potentiel de différenciation, de régénérer de nouveaux tissus dentaires *in vivo*. (3)

- Isolation

Le prélèvement de ces cellules est différent en fonction du type de cellules prélevées, il peut être plus ou moins invasif en fonction de sa localisation. Après le prélèvement, les cellules vont être triées par des sélections d'adhérence au substrat.

(4)

c. Cellule souche de la pulpe dentaire (Dental Pulp Stem Cell (DPSC))

- Origine

Les DPSC sont présentes dans la pulpe dentaire des dents matures et ce quel que soit l'âge du patient. Cependant, chez les personnes âgées, une rétraction pulpaire entraîne une diminution de la quantité de prélèvement effectué et donc une diminution de la quantité de cellules souches. Elles résident dans des niches, qui sont des endroits spécifiques à leur développement. Embryologiquement, les DPSC sont originaires de la crête neurale.(5)

- Caractéristiques

Ce sont des MSC, donc elles sont adhérentes aux supports plastiques et sont capables de former des colonies *in vitro*. Elles présentent à leur surface les marqueurs 3G5, STRO-1, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD146, CD166 et CD271. Les DPSC sont des cellules avec une forte capacité de croissance et de différenciation. Leur temps de dédoublement en culture est de 24 à 42h.

- Capacités de différenciation

Naturellement, elles vont permettre la production d'odontoblastes afin d'effectuer une apposition de dentine suite à un traumatisme dont l'origine peut varier (bactérienne, chimique, mécanique). Elles sont multipotentes (6) c'est-à-dire qu'elles peuvent donner plusieurs types de cellules mais qui sont déjà engagées dans une voie de différenciation. Elles sont capables de s'engager dans la voie de l'ostéogenèse (formation d'os), de la chondrogenèse (formation de cartilage), de la myogenèse (formation de muscle), de la neurogenèse (formation de tissu nerveux) et de l'adipogenèse (formation de tissu adipeux) en fonction du milieu dans lequel elles se trouvent. Les cellules souches d'origine dentaire ont la capacité de régénérer un tissu dentaire complet *in vivo*. (7)

- Isolation

L'isolation de ces cellules est faite en extirpant la pulpe dentaire. Le plus souvent, la pulpe de la 3^{ème} molaire ou d'une dent extraite pour raison orthodontique

sera utilisée. Cette pulpe est ensuite mise en contact avec des collagénases (enzymes capables de rompre les liaisons peptidiques du collagène) et des dispases (protéases capables de cliver la fibronectine, le collagène IV et I) afin de les mettre en suspension. Ensuite, elles seront mises en culture, en effet, il est obtenu très peu de cellules en raison de la taille du prélèvement effectué. Les cellules pourront être mises en culture 6 mois sans changements de morphologie ou d'expression des marqueurs spécifiques aux DPSC, après ce délai des diminutions de la capacité de différenciation et des anomalies chromosomiques peuvent être observées. (5)

d. Cellule souche de la moelle osseuse (Bone Marrow Stem Cell (BMSC))

- Origine

Ce sont des cellules présentes dans la moelle osseuse. Il y a deux types de BMSC, les cellules issues de la crête iliaque et les cellules issues des os oro-faciaux. Les cellules issues des os oro-faciaux dérivent uniquement de la partie crâniale de la crête neurale, tandis que celles issues de la crête iliaque sont issues du mésoderme. C'est pourquoi ces deux types de BMSC sont différentes d'un point de vue phénotypique et fonctionnel. (1)

- Caractéristiques

Ce sont des MSC, elles sont donc adhérentes aux matrices plastiques et sont capables de former des colonies *in vitro*. Elles expriment à leur surface les marqueurs CD29, CD44, CD105 et CD166. Leur temps de doublement est d'environ 6 jours.

- Capacités de différenciation

Ce sont des cellules multipotentes, elles sont capables de se différencier en une multitude de cellules du tissu conjonctif. Elles ont un grand potentiel dans la régénération osseuse mais pas uniquement car elles sont également capables de se différencier en cellules endothéliales, en tissu adipeux ou en cellules à fonction neuro-ectodermique. (8)

Les cellules souches dérivées de la crête iliaque vont former plus d'os compact avec un tissu hématopoïétique, tandis que les cellules dérivées des os oro-faciaux vont former de l'os sans tissu complémentaire. Le potentiel adipogénique des cellules souches des os oro-faciaux est moindre en comparaison à celles de la crête iliaque. Les BMSC issues des os oro-faciaux sont donc plus adaptées à une régénération osseuse au niveau des os de la face, elles seront idéales dans le cadre d'un comblement osseux en vue d'une pose implantaire. (1)

- Isolation

Pour obtenir ces cellules souches, une intervention invasive est nécessaire. Il est nécessaire de les récupérer de l'os iliaque ou des os maxillaires. Dans le cas des cellules prélevées sur l'os iliaque (sous anesthésie générale), il a été démontré une diminution du potentiel et de la quantité des cellules avec l'âge. Dans le cas d'un prélèvement sur les os oro-faciaux, une chirurgie implantaire avec récupération des copeaux d'os permettra d'isoler et de récupérer les cellules. Dans ce cas, les BMSC sont présentes dans les mêmes quantités quel que soit l'âge du patient. (1)

Cette isolation ne permet d'obtenir que très peu de cellules souches, il faut donc les mettre en culture plus longtemps, ce qui entraîne un risque de perte de potentiel de différenciation voire d'aberrations chromosomiques.

e. Cellule souche du follicule dentaire (Dental Follicle Stem Cell (DFSC))

- Origine

Les DFSC sont présentes dans le follicule dentaire, c'est-à-dire dans l'enveloppe qui contient la dent en développement avant que celle-ci ne fasse son éruption. Embryologiquement, elles sont issues de la crête neurale

- Caractéristiques

Les DFSC sont des MSC, elles adhèrent donc aux substrats plastiques et sont capables de former des colonies *in vitro*.(9) Elles expriment à leur surface les marqueurs CD9, CD10, CD13, CD29, CD44, CD49d, CD59, CD73, CD90, CD105, CD106 et CD166. Elles ont une capacité de prolifération élevée, en effet leur temps de doublement cellulaire est d'environ 72h.

- Capacités de différenciation

Naturellement, leur différenciation va s'effectuer au moment de la formation radiculaire, plus précisément au moment de la fusion de la gaine de Hertwig avec l'épithélium externe et interne, les DFSC vont alors se différencier en cémentoblastes ou en ostéoblastes, ce sont ces cellules qui sont à l'origine du parodonte.

In vitro, il est possible d'impliquer ces cellules dans d'autres lignages cellulaires, celui des ostéoblastes, des hépatocytes et des cellules neurales. Chez l'Homme, des différenciations ostéogéniques sont possibles mais les différenciations adipogéniques ou chondrogéniques n'ont pas été détectées pour ce type de cellules.

- Isolation

Les DFSC peuvent être isolées lors de l'extraction des 3^{èmes} molaires incluses, en prenant le sac folliculaire, elles sont ensuite mises en suspension dans une solution contenant des collagénases et des dispases avant d'être mises en culture, elles peuvent également être congelées et conservées pendant de nombreuses années.

f. Cellule souche de la papille apicale (Stem Cell from apical papilla (SCAP))

- Origine

Les SCAP se retrouvent dans la partie apicale de la racine, au moment de la formation radiculaire, c'est la papille apicale. Embryologiquement les SCAP dérivent de la crête neurale.

- Caractéristiques

Les SCAP sont des BMC, elles sont donc adhérentes aux supports plastiques et sont capables de former des colonies *in vitro*. Elles possèdent une très bonne capacité de prolifération, de migration et permettent une meilleure régénération de la matrice dentinaire que les DPSC. Cela peut faire penser que les cellules souches provenant de structures en développement (SCAP, DFSC) sont plus efficaces que les cellules issues de tissus développés (DPSC). Leur temps de doublement cellulaire est d'environ 40 heures. Elles expriment à leur surface les marqueurs CD49d, CD51/61, CD56, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146 et CD166.

- Capacités de différenciation

Ces cellules ont une capacité de différenciation ostéogénique permettant la minéralisation d'une matrice 3D. Elles permettent également la formation de dentine. Les SCAP peuvent s'engager dans d'autres lignages cellulaires, tel que l'adipogenèse, la chondrogenèse ou la neurogenèse. (10)

- Isolation

Elles peuvent être isolées lors de l'extraction de la 3^{ème} molaire si celle-ci est en formation. Les SCAP se limitent donc aux dents dont la partie radiculaire est encore en formation. De fines lamelles de cette papille apicale peuvent être coupées et mises en culture les cellules souches peuvent être isolées en les mettant en suspension avec des dispases et collagénases avant d'être mises en culture.

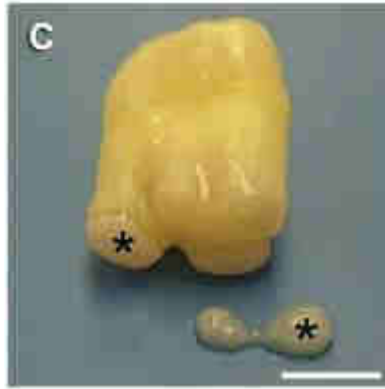


Figure 2 : 3^{ème} molaire extraite, possédant une papille apicale (*) contenant les SCAP

g. Cellule souche des dents déciduales humaines exfoliées (Stem Cell from Human Exfoliated Deciduous Teeth (SHED))

- Origine

Les SHED sont présentes dans la pulpe des dents déciduales exfoliées. Embryologiquement, elles proviennent de la crête neurale.

- Caractéristiques

Elles font partie de la famille des MSC donc présentent une adhérence aux surfaces plastiques et sont capables de former des colonies *in vitro*. Ces cellules présentent à leur surface les marqueurs CD13, CD44, CD73, CD90, CD105, CD146. Elles ont un temps de doublement cellulaire d'environ 40 heures

- Capacités de différenciation

Elles ont un meilleur potentiel de prolifération et une meilleure capacité ostéogénique que les DPSC. (11) Elles ont spécifiquement la capacité de former un tissu osseux avec une structure lamellaire en recrutant des cellules hôtes. Cette capacité spécifique peut être expliquée par la nature même des dents déciduales qui permet une résorption radiculaire tout en apposant de l'os en remplacement. (1) Les SHED ont également un potentiel de différenciation neurogénique, chondrogénique et adipogénique. (12)

- Isolation

Les SHED sont considérées comme une source non invasive de cellules souches, en effet, elles proviennent des dents de lait exfoliées ce qui ne nécessite aucun geste particulier pour les récupérer. La pulpe est alors extraite puis soumise à différents agents (dispases et collagénases). Il est ensuite possible de les mettre en culture, ou

de les congeler pour les conserver dans des banques spécifiques prévues à cet effet en vue d'une utilisation ultérieure.

h. Cellule souche dérivée de l'adipose (Adipose Derived Stem Cell (ADSC))

- Origine

Ce sont des cellules très présentes chez les mammifères, y compris chez l'adulte. Elles se retrouvent dans le tissu adipeux. Embryologiquement, elles proviennent du mésoderme.

- Caractéristiques

Elles expriment à leur surface CD9, CD29, CD54, CD105, CD166, CD44, CD71, CD10, CD 13, CD73, CD90, CD146, CD55, CD59, CD34 et CD29. Leur population cellulaire double en 2 à 4 jours.

- Capacités de différenciation

Elles ont des caractéristiques semblables aux DPSC pour la régénération pulpaire. C'est pourquoi elles peuvent être considérées comme une bonne solution de remplacement, car elles sont plus nombreuses et plus faciles à récupérer que les DPSC. (11) Elles ont un potentiel de différenciation adipogénique, ostéogénique, chondrogénique, neurogénique, myogénique et endothélial.

- Isolation

Un prélèvement de graisse va être réalisé par liposuction, puis une centrifugation va permettre d'isoler la partie contenant les cellules souches. Enfin une digestion par collagénases va être requise avant la mise en culture des cellules. (13)

Cellules	MSC	DPSC	BMSC	DFSC	SCAP	SHED	ADSC
Origine embryologique	Crête neurale	Crête neurale	Mésoderme / Crête neurale	Crête neurale	Crête neurale	Crête neurale	Mésoderme
Situation	Nombreux organes	Pulpe dentaire	Moelle osseuse	Follicule dentaire	Apex racines en formation	Pulpe des dents déciduales exfoliées	Tissu adipeux
Marqueurs	CD105 CD73 CD90	CD29 CD44 CD73 CD90 CD105 CD146 CD166 CD271	CD29 CD44 CD105 CD166	CD9 CD10 CD13 CD29 CD44 CD49d CD59 CD73 CD90 CD105 CD106 CD166	CD49d CD51/61 CD56 CD73 CD90 CD105 CD106 CD146 CD166	CD13 CD44 CD73 CD90 CD105 CD146	CD 9 CD29 CD54 CD105 CD166 CD44 CD71 CD10 CD 13 CD73 CD90 CD146 CD55 CD59 CD34 CD29
Voies de différenciation	Ostéogenèse Chondrogenèse Adipogenèse	Ostéogenèse Chondrogenèse Adipogenèse Neurogenèse Myogenèse	Ostéogenèse Chondrogenèse Adipogenèse Neurogénique	Ostéogenèse Neurogénique	Ostéogenèse Chondrogenèse Neurogenèse Adipogenèse	Ostéogenèse Chondrogenèse Adipogenèse Neurogénique	Ostéogenèse Chondrogenèse Adipogenèse Neurogenèse Myogenèse
Temps de doublement de la population	60 à 120 heures	24 à 42 heures	144 heures	72 heures	40 heures	40 heures	24 à 48 heures

Figure 3 : Résumé des différents types de cellules souches et de leurs caractéristiques (1) (2) (3) (4)

2. Matrices

Les matrices sont des surfaces en trois dimensions qui vont permettre le développement du tissu à régénérer (dans notre cas la pulpe dentaire). Elles vont représenter le support sur lequel les cellules vont évoluer, proliférer et se différencier. Les matrices doivent être biocompatibles et biodégradables pour permettre leur invasion par le tissu régénéré.

a. Poly D-L Lactide-co-glycolide (PLG)

Le PLG est un aminoacide synthétique biocompatible utilisé pour la libération de macromolécules notamment dans le cadre de thérapies régénératives. Il est soluble dans la plupart des solvants organiques. Sa dégradation se fait par hydrolyse et n'implique aucune activité enzymatique.

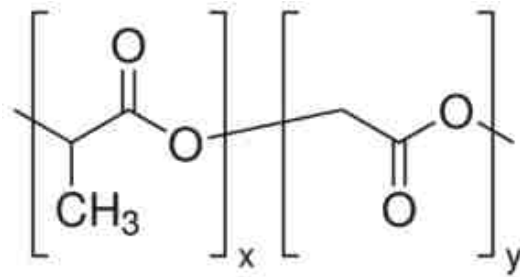


Figure 4 : Structure du poly D-L Lactide-co-glycolide

b. Chitosan

C'est un polysaccharide désacétylé de la chitine, qui est retrouvé dans les coquilles des crustacés. C'est une molécule soluble, biodégradable, antibactérienne et biocompatible, qui permet également l'adhésion cellulaire. Il est utilisé pour la libération de substances actives dans le cadre des thérapies régénératives. Il va être dégradé de manière enzymatique. (14) (15)

Le chitosan est un composé favorable à la régénération pulpaire mais également à l'apposition de dentine en raison de sa capacité à induire la minéralisation. Il promeut également la migration, la prolifération et la différenciation odontoblastique des DPSC. (16) Il va être utilisé en association avec le collagène. (17) (18) (19)

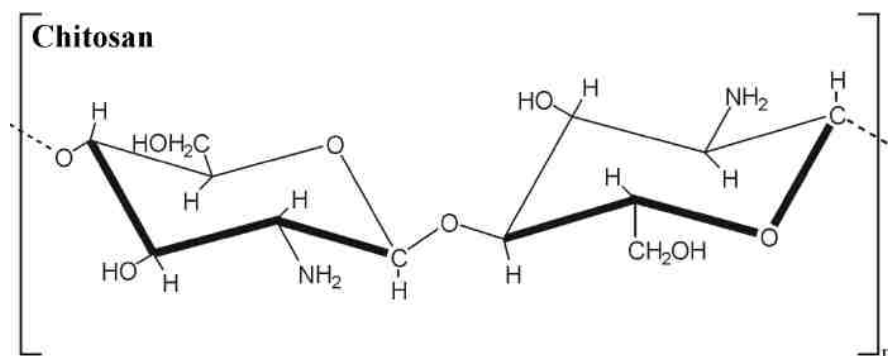


Figure 5 : Structure du chitosan

c. Microsphères spongieuses de nano-fibres PLLA (Poly-L Lactique Acide)

Le PLLA est un polyester synthétique très utilisé dans les recherches de régénération tissulaire. Il est biodégradable, biocompatible et thermoplastique. Il permet également la libération de substances actives. Il va être présenté sous forme de fibres ce qui lui permet de prendre de nombreuses formes et notamment la forme de microsphères. (20)

Cette matrice promeut la multiplication et la différenciation cellulaire en odontoblastes, mais également la minéralisation. (21)

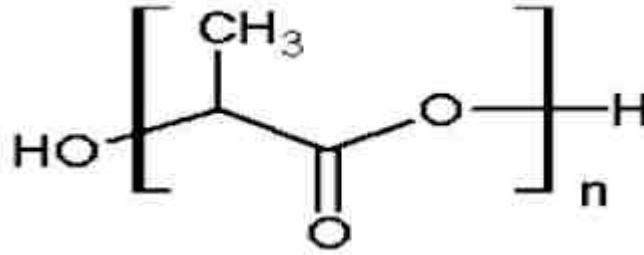


Figure 6 : Structure du PLLA

d. Fibroïne de soie

La fibroïne de soie est un matériau naturel obtenu grâce à l'élevage de Bombyx du murier, ou ver à soie. Elle permet la délivrance de substances actives, de plus elle est biocompatible et possède une très bonne résistance mécanique. (22)

La fibroïne de soie permet une bonne différenciation, adhésion et multiplication cellulaire. Comparé à une matrice collagénique, elle offre une stabilité mécanique supérieure ainsi qu'une dégradation moins rapide. C'est une très bonne matrice pour la régénération de tissus durs et donc de tissus dentaires. (23)

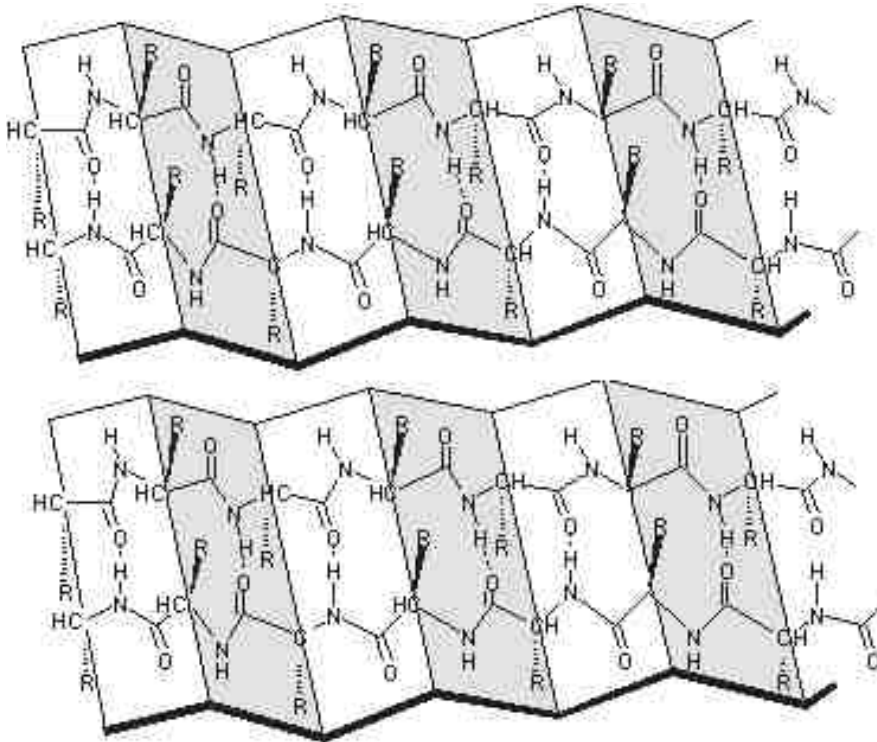


Figure 7 : Structure de la fibroïne de soie arrangée en feuillets plissés antiparallèles

e. Collagène

Le collagène de type I est la fibre prédominante dans les tissus durs donc dans l'os et la dentine. Dans le cadre de la régénération pulpaire, il permet l'accélération de la différenciation des odontoblastes et une meilleure minéralisation. Cependant, ce

matériau n'est pas idéal s'il est utilisé seul en raison du risque de transmission des pathogènes, des risques de réaction inflammatoires et de ses mauvaises propriétés mécaniques. Les polymères montrent davantage de stabilité, et de potentiel de dégradation (biodégradable). (21)

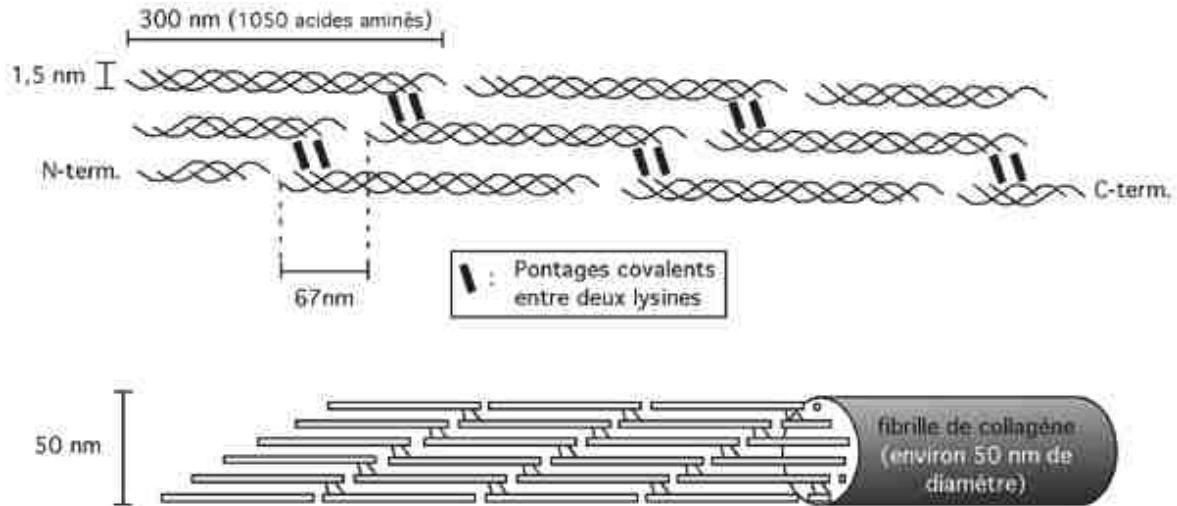


Figure 8 : Principe d'assemblage du collagène

f. Atélocollagène

L'atélocollagène est un dérivé du collagène de type I obtenu en retirant les télopeptides N- et C- terminaux. Il est dégradé par les protéases ce qui en fait un matériau biodégradable. Il a une faible action antigénique. Il résiste donc mieux au rejet immunitaire, mais n'est pas idéal pour l'adhésion et la différenciation cellulaire. (24)

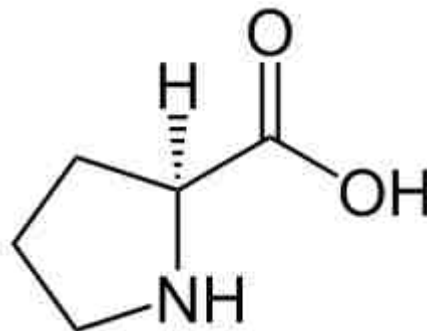


Figure 9 : Structure moléculaire de l'atélocollagène et du collagène

g. Matrice dentinaire traitée (TDM)

La TDM est constituée de dentine qui aura été traitée par différents processus. Elle est obtenue grâce à une stérilisation complète de la dentine prélevée, puis par application d'un gradient de solution d'EDTA afin d'éliminer la couche superficielle. La dentine est ensuite plongée dans une solution antibiotique 72h, avant d'être rincée

pour obtenir le matériau final. (25) C'est un matériau biocompatible, qui permet le relargage de facteurs de croissance, il permet aux cellules de bien adhérer au substrat ce qui augmente le potentiel de dentinogenèse. La TDM va être dégradée de manière enzymatique via les métalloprotéases.

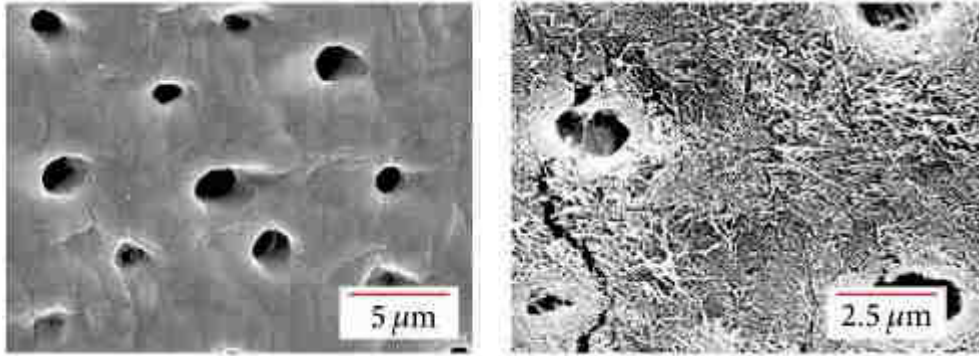


Figure 10 : Structure de la TDM au microscope électronique (25)

h. Hydroxyapatite et le phosphate tricalcique (HA/TCP)

L'hydroxyapatite est une molécule minérale de la famille des phosphates. Elle est cristallisée dans le système hexagonal. Chez l'Homme, elle est retrouvée principalement dans la dentine, l'émail et l'os. Tout comme l'hydroxyapatite le phosphate tricalcique est une molécule minérale de la famille des phosphates, il est très proche de l'hydroxyapatite, il est retrouvé dans les additifs alimentaires, dans les dentifrices et en tant que supplément alimentaire. Ces molécules, n'ont pas de très bonnes propriétés mécaniques. (26) Cependant, elles permettent l'incorporation de substances actives (notamment des protéines), et permettent une adhésion cellulaire par adsorption. Les hydroxyapatites se dégradent généralement assez rapidement dans l'organisme par hydrolyse. (27)

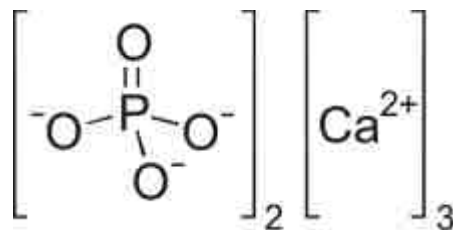


Figure 11 : Structure moléculaire du phosphate tricalcique

	PLG	Chitosan	PLLA	Fibroïne de soie	Atélocollagène	Collagène	TDM	HA/TCP
Biocompatible	+	+	+	+	+	+/-	+	+
Mode de dégradation	Hydrolytique	Enzymatique	Hydrolytique	Enzymatique	Enzymatique	Enzymatique	Enzymatique	Hydrolytique
Permet le relargage de substance active	+	+	+	+	-	-	+	+
Adhésion cellulaire	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+/-

Figure 12 : Résumé des différentes matrices utilisées et de leurs caractéristiques

(25) (27) (26) (16)

3. Facteurs de croissances

Les facteurs de croissances sont des molécules nécessaires à la croissance d'un organisme ou d'un micro-organisme. Dans le cadre de la régénération pulpaire, ils vont permettre l'augmentation de la prolifération et/ou de la différenciation des cellules nécessaires à la création d'un nouveau tissu pulpaire *in vivo*.

Dans le cadre des recherches associées à la régénération pulpaire, sept facteurs de croissance sont le plus souvent utilisés.

- Le facteur de croissance concentrés (CGF : Concentrated Growth Factor)
- Le facteur de stimulation des colonies de granulocyte (granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF))
- Le Facteur 1 dérivé des cellules stromales (stromal cell-derived factor-1 (SDF-1))
- Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF))
- La protéine osseuse morphogénique (Bone Morphogenic Protein (BMP))
- Le facteur de croissance dérivé des plaquettes (Platelet Derived Growth Factor (PDGF))
- Le facteur de croissance des fibroblastes de base (basic Fibroblast Growth Factor (bFGF))

a. Facteur de croissance concentré (CGF : Concentrated Growth Factor)

Le CGF est un concentré de facteurs de croissances et de cytokines qui est isolé par centrifugation de sang. Ces facteurs de croissance peuvent être inclus dans certaines matrices en tant que substance active. Ils ont des propriétés antimicrobiennes due à leur forte concentration en leucocytes. (28)

Le CGF promeut la réparation endothéliale, épithéliale et épidermale. Il va relarguer rapidement des facteurs de croissances et ainsi permettre une inhibition du relargage des cytokines pro-inflammatoires. Il promeut la prolifération, la migration et la différenciation odontogénique, mais aussi la guérison de plaies dans le cadre de chirurgies. (29)

b. Facteur de stimulation des colonies de granulocyte (granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF))

Le G-CSF est une glycoprotéine qui favorise le relargage de cellules souches et de granulocyte dans le sang par la moelle osseuse. Naturellement, il va être produit par les macrophages, l'endothélium, et d'autres cellules responsables de l'immunité. Il permet la survie, la prolifération et la différenciation des neutrophiles.

Dans le cadre dentaire, ces facteurs induisent la migration et réduisent le pourcentage d'apoptose des cellules souches. (30)

c. Facteur 1 dérivé des cellules stromales (stromal cell-derived factor-1 (SDF-1))

Le SDF-1 est une protéine chimiokine encodée par le gène CXCL 12 (chromosome 10). Cette protéine est naturellement exprimée dans le cœur, le cerveau, le thymus, le rein, le foie, la rate et la moelle osseuse. Embryologiquement, elle a un rôle dans ostéogénèse, mais à l'âge adulte cette protéine va plutôt intervenir sur l'angiogénèse.

Dans le cadre de la régénération pulpaire SDF-1 optimise le recrutement cellulaire ainsi que l'angiogénèse. (26)

d. Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)

Le VEGF est une protéine principalement exprimée par les macrophages, les plaquettes, les kératinocytes, les cellules rénales mais également de manière anarchique par les cellules cancéreuses ce qui entraîne une croissance plus rapide des tumeurs. C'est un facteur de croissance angiogénique qui permet la néoformation de vaisseaux, ainsi que l'agrandissement de vaisseaux existants.

Dans le cadre de la régénération pulpaire, le VEGF va promouvoir la vascularisation du tissu pulpaire néoformé, cependant il a une durée de vie courte, il a donc un usage limité par administration systémique. Pour augmenter son efficacité, une adjonction d'héparine semble nécessaire. (31) L'intérêt de ce facteur de croissance est limité, car les cellules souches utilisées, secrètent d'elles même des complexes de facteurs de croissance angiogéniques en milieu hypoxique. (32)

e. Protéine osseuse morphogénique (BMP)

La BMP est une protéine exprimée par de nombreux types cellulaires. Elle intervient dans la formation et la maintenance de nombreux organes tel que les os, le cartilage, les muscles, les reins et les vaisseaux sanguins. Cette protéine a de nombreux rôles dans la régularisation du lignage cellulaire, elle promeut la morphogénèse, la différenciation, la prolifération mais également l'apoptose, selon les conditions. (33)

Dans le cadre de la régénération pulpaire, les BMP augmentent la différenciation odontogénique des cellules souches et promeuvent la minéralisation et la formation d'ostéo-dentine. C'est un excellent facteur de croissance pour permettre la régénération de tissu dentinaire. (34)

f. Facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF)

Le PDGF est une protéine essentiellement sécrétée par les plaquettes. En stimulant leur récepteur, ce facteur de croissance augmente la production de certaines protéines qui permettent la prolifération et la division cellulaire. Ce facteur permet donc de réguler la croissance et la division cellulaire, mais c'est également un facteur promoteur de l'angiogénèse.

Dans le cadre des études sur la régénération pulpaire le PDGF promeut la différenciation odontoblastique et la prolifération cellulaire. Il permet également l'angiogénèse et facilite la migration cellulaire. (31)

g. Facteur de croissance des fibroblastes (FGF)

Le FGF est une protéine et une molécule de signalisation principalement sécrétée par les fibroblastes. Ces molécules activent la migration et la prolifération des cellules cibles. Elles permettent également de réguler les lignages cellulaires.

Dans le cadre de la régénération pulpaire les FGF, tout comme le G-CSF, ont des effets positifs sur la migration, la prolifération et des effets anti-apoptotiques, de plus ils stimulent l'angiogénèse.

Caractéristiques	Lieux de production	Effets dans les études de régénération pulpaire
Facteur de croissance		
CGF	Ensemble des cellules sanguines	Prolifération Différenciation odontogénique Migration
G-CSF	Macrophages Cellules endothéliales Cellules immunitaires	Migration Anti apoptotique
SDF-1	Cœur Rein Cerveau Thymus Foie Rate Moelle osseuse	Recrutement cellulaire Angiogenèse
VEGF	Macrophages Plaquettes Kératinocytes Cellules rénales Cellules cancéreuses	Angiogenèse
BMP	Os Cartilage Muscle Vaisseaux sanguins Reins	Différenciation odontogénique
PDGF	Plaquettes	Prolifération Différenciation odontogénique Angiogenèse Migration
FGF	Fibroblastes	Migration Prolifération Anti-apoptotique Angiogenèse

Figure 13 : Synthèse des actions et des origines des différents facteurs de croissance (33) (34) (35)

II. CADRE LEGAL DES MODELES ANIMAUX

1. Différents modèles

Différents modèles animaux vont être utilisés dans le cadre de la régénération pulpaire. Les espèces choisies vont varier en fonction des protocoles d'études et du respect de l'éthique. Six modèles animaux vont être détaillés ici, ce sont les principaux modèles retrouvés dans les études de régénération pulpaire :

- La souris
- Le rat
- Le chien
- Le furet
- Le cochon
- Le lapin

a. Souris

- Généralités sur la denture

La souris est un mammifère de l'ordre des rongeurs. Elle possède 16 dents définitives, mais ne présente pas de dents déciduales. La formule dentaire de la souris est composée de 4 incisives séparées par un diastème avant les 12 molaires.

Les incisives sont fortes, longues et bien implantées dans l'alvéole dentaire. Elles sont taillées en forme de biseau et se distinguent des autres dents par leur croissance continue, en effet la souris a un régime alimentaire essentiellement sec, ce qui entraîne une forte usure des incisives. Les incisives vont permettre à l'animal de ronger des surfaces, mais également de segmenter les aliments avant leur arrivée sur les molaires.

Les molaires sont aplaties et sillonnées de rubans d'émail transversaux qui permettent de broyer la nourriture par des mouvements antéro-postérieurs.

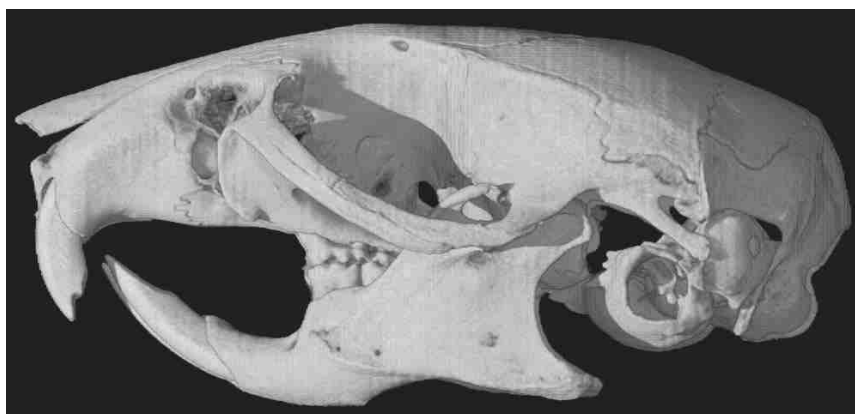


Figure 14 : Crâne de souris

- Utilisation pour la régénération pulpaire

La souris va être préférentiellement utilisée comme modèle de transplantation, c'est-à-dire que des fragments dentaires humains avec de la matrice cellularisée insérée dans les canaux des fragments dentaires vont être transplantés en sous-cutané sur le dos de la souris. La souris va à ce moment servir « d'incubateur ». (36) Les souris sont le plus souvent utilisées en raison de leur ressemblance avec le génotype humain, de leur prix bas et de leur reproduction rapide. (11) Elles représentent une grande majorité des animaux utilisés dans l'expérimentation (59.6%). (37)

Le travail direct sur les dents de souris est peu effectué en raison de leur petite taille. De plus les incisives de souris ont une croissance de type continue, ce qui n'est pas représentatif de l'être humain. (38)

b. Rat

- Généralités sur la denture

Le rat est un mammifère de l'ordre du rongeur. Les rats ont une denture qui présente 12 molaires et 4 incisives à croissance continue. Les incisives et les molaires sont séparées par un diastème dû à l'absence de prémolaires et de canines.

Chez les rats comme chez les souris les molaires sont recouvertes d'une couche d'émail avant d'atteindre la dentine puis la pulpe dentaire, en revanche les incisives ne sont recouvertes d'émail que sur la partie vestibulaire. La morphologie est la même que les dents de la souris, cependant les dents sont un peu plus grandes.



Figure 15: Crâne de rat

- Utilisation dans la régénération pulpaire

Le travail sur les dents de rats peut être réalisé plus facilement que sur les dents de souris en raison de leur plus grande taille. Il est donc plus fréquent de voir des études directes sur les dents de rats que sur les dents de souris. (11) Cependant, les rats vont être plus fréquemment utilisés pour des transplantations dans la capsule rénale. Ils sont souvent utilisés en raison de leur prix bas et de leur reproduction rapide. Les rats représentent 9.8% des animaux utilisés dans les expérimentations animales. (37)

c. Chien

- Généralités sur la denture

Le chien est un mammifère de l'ordre des carnivores. A l'âge adulte, le chien possède 42 dents : 12 incisives, 4 canines, 16 prémolaires et 10 molaires (4 au maxillaire et 6 à la mandibule). Il présente également une denture déciduale présentant 28 à 32 dents (nombre variable de prémolaires en fonction des races) qu'il perdra entre 4 et 6 mois. Morphologiquement, les incisives sont petites, tandis que les canines (ou crocs) sont longues et charnues. Les molaires quant à elles sont de taille croissante, elles sont coupantes et effilées jusqu'à la carnassière (plus grosse molaire chez les carnivores), puis elles sont de tailles décroissantes, elles sont plus mamelonnées et aplaties.

Le chien partage de nombreuses similitudes avec l'Homme en terme de réponses physiopathologiques et de structure dentaire. (40) En effet chez le chien comme chez l'homme, la dent comporte une couche émail, puis dentine, puis la pulpe au centre de la dent. Contrairement à la souris, les dents du chien ne présentent pas de croissance continue.



Figure 16 : Crâne de chien

- Utilisation dans la régénération pulpaire

Les chiens peuvent servir dans les thérapeutiques intra-canaliaires, en effet, leurs dents sont suffisamment grandes pour effectuer ce type de traitement. (41)
L'expérimentation sur les chiens reste peu majoritaire (0.2%). (37)

d. Furet

- Généralités sur la denture

Le furet est un mammifère de l'ordre des carnivores. Le furet adulte possède 34 dents : 12 incisives, 4 canines, 12 prémolaires et 6 molaires (4 molaires mandibulaires et 2 maxillaires). Il possède également une denture déciduale de 30 dents qui laisse place aux dents adultes entre un mois et demi et deux mois et demi.

Morphologiquement, les dents du furet sont caractéristiques de l'ordre des carnivores, avec de petites incisives, et de longues et puissantes canines (crocs) pour attraper ses proies. Les dernières prémolaires maxillaires et les premières molaires mandibulaires forment les dents carnassières servant à déchirer la viande.



Figure 17: Crâne de furet (42)

- Utilisation dans la régénération pulpaire

Les dents de furet sont suffisamment larges pour permettre une utilisation directe de la dent en intra-canalaires. L'utilisation de la canine du furet adulte pour les expérimentations est la plus fréquente. (43)

e. Cochon

- Généralité sur la denture

Le cochon est un mammifère appartenant à l'ordre des artiodactyles. A l'âge adulte, il possède 44 dents : 12 incisives, 4 canines, 16 prémolaires et 12 molaires. Il possède également une denture lactéale composée de 32 dents : 12 incisives, 4 canines et 12 molaires. Le remplacement des dents déciduales se fait entre un an et un an et demi.

Morphologiquement, les incisives sont décroissantes de mésial en distal, les incisives inférieures servent à la préhension des aliments tandis que les incisives supérieures servent à fouiller les sols. Les canines sont peu volumineuses chez le jeune, tandis qu'elles le sont beaucoup plus chez l'adulte, elles créent un dimorphisme sexuel, car les canines seront plus longues chez le mâle. Ce sont les seules dents à croissance continue chez le porc, cependant la croissance est faible, surtout chez la femelle et l'individu castré. Les prémolaires sont placées dans un ordre croissant de mésial en distal, de plus leur complexité s'intensifie au fur et à mesure du rapprochement des molaires. Les molaires sont également placées par ordre croissant, elles comportent des cuspides et tubercules, assez rapidement effacés avec l'âge, leur surface devient rapidement plane. A chaque cuspide correspond une racine, ainsi la dernière molaire comporte six racines. (44)



Figure 18 : Crâne de cochon

- Utilisation dans la régénération pulpaire

Les dents du porc sont relativement semblables aux dents humaines ce qui permet de procéder à une expérimentation intra-canalair, directement sur la dent, dans les mêmes conditions que celles faites sur l'Homme. Les DPSC de porcs sont presque semblables à celles de l'Homme, elles ont de légères différences morphologiques, mais sont semblables dans leur capacité de formation du complexe pulpe / dentine. La plupart du temps, c'est la deuxième incisive latérale qui va être utilisée, en raison de sa similitude avec l'incisive latérale humaine. Les prémolaires sont également très semblables aux prémolaires humaines, elles peuvent également être utilisées sauf la première prémolaire, qui est bien souvent trop petite. Les molaires ont une complexité radiculaire trop élevée pour permettre une intervention, de plus elles sont difficiles à opérer en raison de leur localisation postérieure dans la gueule. Dans les expériences sur le porc, des cellules allogéniques sont utilisées la plupart du temps, réduisant ainsi le risque de rejet de greffe. (43)

f. Lapin

- Généralités sur la denture

Le lapin est un mammifère appartenant à l'ordre des rongeurs. A l'âge adulte, il possède 28 dents, 6 incisives (4 au maxillaire, 2 à la mandibule), 10 prémolaires (6 au maxillaire, 4 à la mandibule), et 12 molaires. Toutes les dents du lapin sont à croissance continue. Les incisives servent à couper les végétaux, tandis que les dents jugales (molaires et prémolaires) servent à broyer les aliments. Les incisives et les

dents jugales sont séparées par un grand diastème. La denture de lait ne concerne pas les incisives, car les incisives adultes sont présentes dès la naissance, le lapin présente une denture complète définitive dès l'âge de 5 semaines.



Figure 19 : Crâne de lapin (46)

- Utilisation dans la régénération pulpaire

Les lapins sont moins populaires et sont donc utilisés moins fréquemment dans ce type d'études. Les cellules pulpaire du lapin montrent d'excellentes capacités prolifératrices. C'est un modèle animal qui comme la souris va être surtout utilisé comme modèle de transplantation, notamment sous-cutané. (47)

2. Législation

a. Convention STE 123

La législation française concernant l'utilisation expérimentale de modèles animaux découle de la convention STE 123, qui a été créée par le conseil de l'Europe en 1985. Elle appelle à diminuer le nombre d'expérimentation et encourage le développement de méthodes alternatives.

La convention concerne les modèles animaux. Le terme « modèle animal » est défini par toutes formes de vie vertébrés, non humain, y compris les formes larvaires indépendantes et / ou capable de reproduction, mais ce terme exclu les formes embryonnaires ou fœtales. L'expérimentation ne peut être faite que pour des buts précis :

- La prévention des maladies
- La preuve de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments

- Le diagnostic ou le traitement de maladies
- La protection de l'environnement
- La recherche scientifique
- L'enseignement et la formation
- Les enquêtes médico-légales

Les animaux doivent provenir d'élevages agréés pour des fins expérimentales. Il doit y avoir un minimum d'animaux concernés pour avoir des résultats fiables, de plus le choix des espèces doit être judicieux afin de sélectionner les espèces le moins susceptible de ressentir la douleur, la souffrance et l'angoisse. (48) Des mesures types analgésie ou anesthésie doivent être mises en œuvre pour éviter l'altération du bien-être, sauf si ces mesures sont jugées plus délétères et angoissantes que le geste lui-même. De plus les animaux doivent être logés dans des espaces suffisamment grands afin qu'ils puissent jouir d'un minimum de liberté. Leurs besoins physiologiques doivent être satisfaits autant que possible (nourriture, eau, soins, santé et bien-être).

Cette convention énonce que pour tout projet, il doit y avoir un accord du ministère de la recherche, une autorisation sera alors délivrée pour une durée maximale de 5 ans. De plus, tout établissement utilisant des animaux à des fins de recherche doit avoir été agréé par un arrêté préfectoral après visite vétérinaire par la direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations, cet arrêté est valable 6 ans. Un agrément supplémentaire est nécessaire pour les animaux génétiquement modifiés. Le personnel manipulant les animaux doit également avoir une qualification appropriée. Une qualification supplémentaire est nécessaire pour les animaux non domestiques.

b. Commission nationale de l'expérimentation animale

Elle est placée auprès du ministère de l'agriculture et de la recherche et est chargée de donner son avis concernant toutes modifications des dispositions législatives ou réglementaires sur l'expérimentation animale. Elle donne également des avis sur la mise en place de procédures expérimentales évitant l'utilisation d'animaux vivants, l'élevage des animaux de laboratoire, les méthodes afin d'améliorer les conditions de vie des animaux de laboratoire, ainsi que des formations adaptées pour les manipulateurs de ces animaux.

Cette commission se compose de membres titulaires, de membres suppléants, d'experts et d'un secrétariat. Les membres titulaires sont représentés par huit représentants d'état, qui représentent :

- Le ministre de la recherche
- Le ministre de l'agriculture
- Le ministre de l'enseignement supérieur
- Le ministre de la santé
- Le ministre de l'éducation nationale
- Le ministre de l'industrie
- Le ministre de la protection de la nature
- Le ministre de la défense.

Il y a également douze personnalités qualifiées représentant :

- Le secteur de la recherche publique
- Le secteur de la recherche privée
- Les associations de protection des animaux
- Les professionnels de l'expérimentation animal

Chaque secteur étant représentés par 3 personnalités qui sont chacune élues pour 3 ans. Les membres suppléants sont présents pour remplacer les membres titulaires absents. Les experts ne sont invités à s'exprimer que sur un sujet spécifique présent à l'ordre du jour, afin d'obtenir une expertise concrète. Le secrétariat est assuré par les services du ministère de la recherche.

La commission se réunit généralement deux fois par an, elle peut également être réunie à titre exceptionnel sous demande du ministère de la recherche ou de l'agriculture, ou d'au moins la moitié de ces membres titulaires.

c. Comité d'éthique pour l'expérimentation animale (CEEA)

Il y a plusieurs CEEA répartis sur l'ensemble du territoire. La mission du comité d'éthique est de réaliser l'évaluation éthique de l'expérimentation qui doit être jointe à la demande d'autorisation de projet au ministère de la recherche.

Pour être agréé un comité doit justifier de compétences pluridisciplinaires, respecter la charte nationale et disposer de moyens suffisants. Ils doivent disposer d'un minimum de 5 personnes désintéressées du projet (si ce n'est pas le cas cela provoquerait un avortement de la décision). Sur ces cinq personnes minimums, doivent être présents :

- Des chercheurs
- Des personnes amenées à participer aux expériences
- Des personnes affectées à l'entretien et aux soins des animaux
- Des vétérinaires

- Des personnes extérieures témoignant un intérêt pour la protection animale.
(49)

Ces personnes vont évaluer la justification du projet, la justification d'utilisation des modèles animaux et les conditions de réalisation du projet. Ils offrent en conséquence une garantie supplémentaire sur le bien-fondé de la recherche avec des modèles animaux ainsi que des protocoles destinés à minimiser la souffrance animale et à maximiser les alternatives non animales. En outre, ce comité d'éthique permet de faire respecter le principe des 3R. (50)

d. Principe des 3 R

Le principe des 3R permet de réduire, raffiner et remplacer. La réduction du nombre d'animaux utilisés figure dans le préambule de la convention STE 123. Cette limitation peut se faire par différentes voies. Pour commencer, il est indispensable de limiter le nombre d'expériences, en traitant uniquement les expériences réellement indispensables. Ensuite, il faut réduire le nombre de répétitions jugées inutiles, notamment en réduisant la répétition d'études ayant déjà été faites à l'étranger, ceci demande évidemment une harmonisation des normes et une reconnaissance de la validité des données scientifiques des études déjà réalisées, notamment à l'étranger. Il est également nécessaire de rédiger un protocole expérimental avant toute expérimentation, une bonne préparation de l'étude permet d'obtenir de plus grandes chances d'arriver aux résultats escomptés, et évitera la reprise de nouvelles études avec d'autant plus de modèles animaux. En conséquence, le comité d'éthique devra trouver de meilleurs protocoles, voir en rejeter, afin de choisir les meilleurs modèles animaux, ainsi que le nombre le plus adéquat en fonction de l'étude concernée. L'utilisation de modèle statistique permettra une bonne estimation du nombre d'animaux nécessaires.

Il faudra également raffiner les expérimentations, c'est-à-dire les optimiser dans l'objectif de réduire voire supprimer les douleurs ou l'angoisse subies par les animaux, tout en obtenant un maximum d'informations pertinentes. Raffiner l'expérimentation va donc consister en un choix soigneux du modèle animal utilisé, d'améliorer ses conditions de vie (transport, lieu de vie), mais aussi de planifier correctement le protocole. Le raffinement va également concerner les méthodes et les modes opératoire choisis, ainsi il faut privilégier les méthodes non invasives, recourir à l'anesthésie / analgésie afin d'éviter les tests douloureux, réduire la durée de certains tests (notamment toxicologique), étudier des situations aiguës plutôt que chroniques,

et appliquer des techniques d'euthanasie appropriées dans les cas où l'animal doit être sacrifié.

Le mieux est bien évidemment de remplacer, les chercheurs sont invités dès qu'ils le peuvent à remplacer les modèles animaux par des modèles *in vitro* ou statistiques. (51)

3. Répercussion sur les modèles

La réalisation d'une étude scientifique reposant sur des modèles animaux nécessite une autorisation accordée par le ministre de la recherche. Cette autorisation est déposée par le responsable de projet. Elle contient

- La proposition de projet
- Le résumé non technique
- La justification du projet
- Les méthodes utilisées (les points limites, l'absence de répétition de l'étude, la réutilisation des modèles animaux, la limitation des douleurs, souffrances et angoisses subit par les animaux).

L'autorisation de projet ne peut être demandée que si elle fait l'objet d'un avis favorable au CEEA. L'avis du CEEA porte sur la préparation des animaux, le choix du modèle et son utilisation, le protocole expérimental et le degré de gravité (suppression possible des douleurs, l'utilisation d'outils statistiques). Cet avis a une validité de 5 ans. Aujourd'hui la rédaction de demande d'autorisation de projet se fait via des sites et plateformes dédiées.

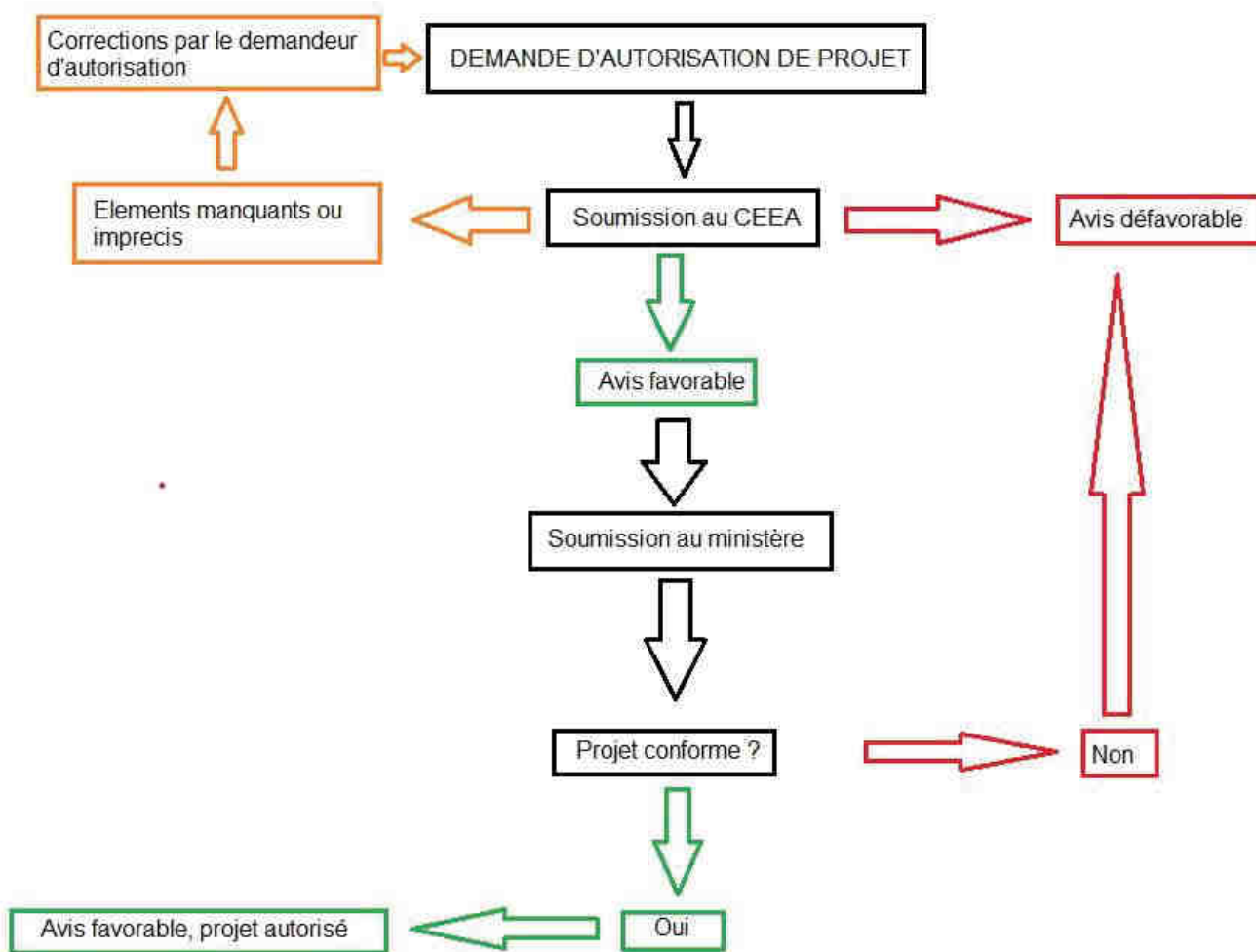


Figure 20 : Schéma représentant les étapes pour la demande de projet d'expérimentation sur les modèles animaux (48) (49) (50) (51)

III. META ANNALYSE

1. Transplantation des cellules souches

a. Transplantation dans le canal

- Technique

Dans cette technique de régénération pulpaire par matrice cellularisée introduite dans le canal d'une dent *in vivo*, il est possible de réaliser la régénération pulpaire sur des dents matures ou immatures, avec différents choix de cellules souches possibles. Une fois les cellules souches isolées, il faut effectuer la préparation de la dent où va avoir lieu la régénération pulpaire. Pour cela, la pulpectomie de la dent est réalisée après avoir mis en place un champ opératoire (digue). Le traitement va être classique avec le passage de limes dentaires, puis s'en suit un élargissement du foramen apical pour les dents matures, en effet le foramen apical est le seul endroit où passent tous les vaisseaux et nerfs qui viennent alimenter la pulpe dentaire. La réouverture du foramen apical a donc une importance capitale dans la régénération de la pulpe, il va non seulement permettre la néo-vascularisation et la ré-innervation, mais également permettre la migration des cellules endogènes. Il faudrait un apex ouvert de 1.1 mm minimum, mais pour des résultats optimaux, il faudrait un apex ouvert à 1.5 mm. (52)

Ensuite, une désinfection avec en alternance d'hypochlorite de sodium dilué à 6% et de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) va être effectuée, chacun des produits rincés au sérum physiologique avant application du second produit. La cavité est ensuite temporairement remplie de ciment hydraulique, favorisant la mise en place d'une pâte présentant une action antibiotique en intra-canal, puis la dent est refermée à l'aide d'une résine composite. Le choix de la pâte antibiotique est très importante, elle doit permettre la désinfection du canal tout en limitant les effets indésirables des antibiotiques sur les cellules souches utilisées plus tard. Il a été démontré que l'utilisation d'une désinfection simple à l'hypochlorite laissait encore 90% de la flore bactérienne, tandis qu'avec l'utilisation d'une pâte antibiotique pendant deux semaines, seule 30% des bactéries sont encore efficaces. Aujourd'hui, de nouvelles technologies ont fait leur apparition pour assurer la désinfection canal : le laser d'irradiation et la désinfection par activation de la solution d'irrigation par embout ultrasonore. Ces solutions semblent suffisamment fiables pour remplacer les pâtes antibiotiques et donc limiter les effets indésirables sur les cellules souches.

Plus tard, une réouverture est effectuée, avec un rinçage au sérum physiologique, puis une re-désinfection à l'hypochlorite de sodium et au peroxyde d'hydrogène avant un passage avec une solution d'EDTA qui sera finalement rincée avec du sérum physiologique. Par la suite un séchage soigneux sera effectué avant la mise en place des cellules souches et de la matrice dans le canal. Les cellules souches vont être introduites à l'aide d'une canule, en étant attentif à l'absence de bulles. Le tout sera ensuite refermé grâce à un CVI (Ciment de Verre Ionomère). (53)

- Modèles

La plupart du temps, ces études utilisent des chiens comme modèles en raison de la taille des dents et de leurs ressemblances morphologiques aux dents humaines. Les expériences vont être menées la plupart du temps sur les canines, les incisives ou les prémolaires du chien qui sont semblables dans leur anatomie mais également dans leur formation du complexe pulpe dentine à celle de l'Homme. De plus la régénération pulpaire chez le chien peut être affectée par des facteurs environnementaux et par la génétique de manière similaire à l'être humain. Cependant, la dent mature du chien comporte bien souvent un apex fermé en forme de delta, ce qui rend la désinfection compliquée en cas d'infection, c'est pourquoi les dents matures ne seront utilisées que dans les cas de dents sans infection, ayant reçu une pulpectomie. Dans un premier temps, les dents étaient extraites pour la mise en place des cellules souche qui étaient injectées par le foramen apical après une section de 1 mm faite dans le foramen, les dents étaient ensuite réimplantées. Dans un second temps les expériences ont évolué, aujourd'hui, il n'y a plus besoin de réaliser une extraction / réimplantation puisque la matrice cellularisée est injectée par la cavité d'accès de la dent.

Le furet est utilisé depuis de nombreuses années en recherche endodontique. Dans les protocoles de régénération pulpaire la canine du furet adulte va souvent être utilisée, cependant une nécrose ne va jamais être induite en raison de la difficulté de désinfection de l'apex qui présente souvent de multiples arborisations. Seules les canines immatures ne présentent pas cette arborisation et sont donc utilisable même dans le cas de nécrose bactérienne.

Le cochon nain a été approuvé comme étant un modèle dans la régénération pulpaire. En effet le porc est un animal très proche de l'homme sur le plan génétique, physiologique et anatomique, de plus leurs dents sont semblables sur le plan morphologique temps bien au niveau canalaire, qu'au niveau de la dent en elle-même,

les deuxièmes incisives latérales maxillaires sont semblables aux incisives latérales humaines. Les incisives centrales et premières incisives latérales maxillaires ne peuvent être utilisées pour ce type d'étude, car elles sont trop longues et d'anatomie trop complexe. Le cochon est un animal délicat à manipuler, plus que le chien, pour chaque phase de l'expérimentation, il est nécessaire de sédaté l'animal, même pour les contrôles post-opératoires, contrairement au chien qui peut rester à l'état vigile. (54)

Les grands modèles animaux sont souvent peu utilisés dans la recherche dentaire en raison des difficultés techniques qu'ils représentent, de leur coût ainsi que leur difficulté d'obtention. Cependant, ils sont une étape obligatoire afin d'obtenir des résultats fiables avant l'expérimentation clinique. (54)

b. Transplantation ectopique

- Techniques

Il existe plusieurs méthodes de transplantation ectopiques, elles sont généralement utilisées en première intention pour établir une validation de la matrice / cellules souches à établir le complexe pulpe-dentine.

La transplantation sous cutanée va être réalisée par injection ou insertion de divers matériaux accompagnées de cellules souches en sous cutanée sur la partie dorsale de l'animal. Les cellules utilisées sont généralement d'origine humaine, c'est pourquoi les animaux devront être immunodéficients. Il existe deux méthodes utilisées dans la transplantation sous cutanée. Tout d'abord, il y a la méthode ectopique pure qui consiste à observer la formation d'un complexe dentine-pulpe grâce à l'injection de cellules souches et de granules d'hydroxyapatites et de tri-calcium phosphate. La deuxième méthode est semi-ectopique, elle consiste en l'insertion de fragments dentaires en sous cutané. Les fragments dentaires peuvent être représentés par des tranches de dent en coupe horizontale, ou par des fragments de la partie la plus apicale d'une dent. Les tranches de dent sont transplantées au niveau dorsal en sous-cutané, l'espacement entre les deux tranches de dent simule alors le canal dentaire. (55) L'avantage de ces études est la possibilité d'utilisation de cellules souches humaines, cela permettra de voir les réactions cellulaires humaines *in vivo*. Dans ce cas les animaux devront être immunodéficients, afin que leurs corps ne rejettent pas les cellules, ou morceau de dent introduits dans leur corps. Il existe déjà de tels modèles disponibles sur le marché, cependant ils sont génétiquement modifiés donc soumis à plus d'autorisations d'utilisation (autorisation pour l'utilisation d'animaux

génétiqnement modifié). L'inconvénient de ce type d'étude est que l'épaisseur entre deux coupes de dent est variable, ce qui affecte significativement la fiabilité de ces études. (11) De plus, la vascularisation du tissu sous cutanée est bien différente de la vascularisation de la pulpe normale en intra-canalair, il a également été démontré que la transplantation de longs fragments dentaires avec un apex relativement fermé (inférieur à un millimètre) entraînait des résultats inconstants dus à la difficulté pour le système vasculaire et nerveux de la souris d'atteindre l'intérieur du fragment dentaire. (55) Ces études ne sont également pas très fiables en raison de la population cellulaire mixte, à la fois animale et humaine obtenue dans le tissu régénéré. En plus de tous ces inconvénients, la technique est très différente de celle qui pourrait être utilisée sur l'être humain. (54)

La transplantation de cellules souches dans l'os de la mâchoire est une technique très peu repndue. Des cellules souches ainsi que des fragments dentaires d'une dent fraîchement extraite vont être injectés directement dans l'alvéole laissée vide par l'extraction. Ces études sont surtout utilisées pour montrer la capacité de différenciation de certaines cellules souches, notamment les DPSC et les ADSC, à former un organe dentaire complet de novo. (56)

La transplantation de cellules souches dans la capsule rénale est une technique qui consiste à encapsuler les cellules souches grâce à un gel avant de les introduire dans la capsule rénale. Que ce soit les études de transplantation sous cutanée ou de transplantation dans la capsule rénale, elles ne sont pas assez fiables, car elles ne peuvent pas reproduire les conditions intra-canalaires où le milieu est soumis à des forces de mastication et des restrictions en terme de vascularisation et d'innervation (dues au foramen apical). En conséquence, seul un traitement intra-canalair est justifiable pour valider de nouvelles méthodes ou de nouveaux matériaux avant de passer aux études cliniques. Ces études intermédiaires sont cependant indispensables, pour valider les nouvelles techniques et matériaux. Ce sont donc des études de première intention. (31)

- Modèles

Les modèles animaux pour la transplantation sous cutanée et la transplantation rénale sont généralement de petits animaux, ils sont plus faciles à entretenir, à obtenir et sont moins chers. On va utiliser notamment la souris, le rat et en moindre mesure le lapin. Ce sont des études de tri, pour valider la nouvelle méthode, et/ou la nouvelle

matrice, et/ou les nouvelles cellules souches utilisés avant de passer en études intra-canaliaires.

Dans la transplantation de cellules souches dans l'os de la mâchoire, de plus gros animaux sont utilisés, généralement ce sont les lapins et les cochons nains qui vont être le plus adaptés à ce type d'études. (31).

2. Implantation de matrices cellularisées et fonctionnalisées

a. Cellules souches

- DPSC

Les DPSC sont certainement les cellules les plus utilisées sur les modèles de régénération pulpaire *in vivo*. La plupart du temps, elles sont d'origine humaine, prélevées sur les troisièmes molaires ou les dents extraites pour raison orthodontique. Cependant, elles peuvent également, dans le cadre des expérimentations intra-canaulaire, être issue de tissu autologue de l'animal en question. Elles sont utilisées dans diverses méthodes avec une combinaison de différentes matrices et facteurs de croissance. Ces cellules sont utilisées dans 52.2% des études de régénération pulpaire. (31)

- SCAP

Les SCAP sont le deuxième type cellulaire le plus utilisé dans les études *in vivo*. Elles proviennent d'éléments de la dent en formation, donc il n'est pas possible d'en obtenir tout au long de la vie de l'individu. Ces cellules sont généralement d'origine humaine, sauf dans certaines études de transplantation intra-canaulaire où elles peuvent être issues de l'animal utilisé pour l'étude. Lorsqu'elles sont d'origine humaine, elles sont généralement prélevées sur des troisièmes molaires immatures. Les SCAP ont une prolifération et une capacité de minéralisation plus rapide que les DPSC, de plus elles ont une capacité de migration plus élevée que celles-ci. Les SCAP sont représentées dans 11.6% des études. (31)

- DFSC

Les DFSC sont le troisième type cellulaire le plus utilisé dans les études *in vivo*. Tout comme les SCAP, elles proviennent d'éléments de la dent en formation, elle ne se retrouve donc pas chez l'adulte. Les DFSC vont être soit d'origine humaine, prélevées sur des troisièmes molaires immatures, soit d'origine animale dans le cadre des transplantations intra-canaliaires. Comme les SCAP, en raison de leur provenance d'éléments en formation, elles sont plus performantes que les DPSC sur le plan de la

prolifération, de la migration et de leur capacité de minéralisation. Les DFSC sont représentées dans 8.7% des études *in vivo*. (31)

- BMSC

Les BMSC sont moins utilisées encore que les DFSC dans les études *in vivo*. Ce sont des cellules qui vont être prélevées dans la moelle osseuse, une intervention invasive est donc nécessaire pour les isoler. C'est pourquoi ces cellules sont rarement d'origine humaine, et vont plutôt être utilisées dans les méthodes de régénération pulpaire intra-canalaires. Elles ont plus de capacités de différenciation que les DPSC. Elles sont utilisées dans 5.8% des études *in vivo*. (31)

- SHED

Les SHED sont plus rarement utilisées que les BMSC. Elles proviennent du tissu pulpaire récupéré dans les dents de lait exfoliées, elles sont donc considérées comme l'une des rares sources de cellules souches non invasives. Cependant, puisqu'elles ne sont disponibles que sur les dents déciduales, ces cellules souches ne sont pas présentes chez l'adulte. Les SHED sont dans tous les cas d'origine humaine et sont toujours utilisées dans les méthodes de transplantation sous cutanées. Tout comme les SCAP et les DFSC, elles proviennent de tissus en formation, elles ont donc des capacités de régénération et de prolifération plus élevées que les DPSC. Elles représentent 4.3% des cellules utilisées dans la régénération pulpaire *in vivo*. (31)

- ADSC

Les ADSC sont le type cellulaire le moins utilisé. Elles peuvent être d'origine humaine dans le cadre des transplantations sous cutanées ou dans la capsule rénale, ou alors d'origine animale dans les études à méthodologie intra-canalaires ou à transplantation dans l'alvéole dentaire. Ces cellules peuvent être considérées comme une alternative censée aux DPSC, puisqu'elles sont présentes en quantité considérable chez les mammifères quel que soit l'âge. Elles représentent 2.9% des cellules utilisées dans la régénération pulpaire *in vivo*. (31)



Figure 21 : Pourcentage des différentes cellules utilisées (31)

b. Matrices

- Collagène

Le collagène est la matrice la plus utilisée. Cependant, il ne va pas être utilisée dans tous les cas de transplantation. En effet dans les transplantations *in vivo* dans la capsule rénale, il n'est presque pas utilisé. Il est représenté dans 25% des études. (31)

- TDM

La TDM est également très utilisée, notamment dans le mode de transplantation sous cutanée et dans la transplantation dans la capsule rénale, où elle aidera à la dentinogenèse pour les études où un processus de création de dent de novo est privilégiée. Elle ne sera pas ou quasiment pas utilisée dans le mode de transplantation intra-alvéolaire ou intra-canalair. Elle est représentée dans 13.3% des études. (31)

- HA/TCP

Ces molécules minérales sont tout autant utilisées en tant que matrice que la TDM. Tout comme la TDM, elles sont principalement utilisées dans les modes de transplantation sous cutanée et dans la capsule rénale. Mais contrairement à la TDM, elles sont également utilisées dans les études de transplantation dans l'alvéole. Ces molécules représentent 13.3% des matrices utilisées. (31)

- PLLA

Le PLLA va être un peu moins représenté, cependant il peut être utilisé dans tous les modes de transplantation. Cette molécule est très intéressante car elle permet la libération de substances actives. Il représente 10% des matrices utilisées. (31)

- PLG

Il est encore moins représenté que le PLLA, il est présent dans presque tous les modes de transplantation sauf le mode de transplantation intra-canalair. Tout comme le PLLA, cette protéine permet la libération de substances actives. Le PLG représente 6.7% des matrices utilisées.

- Atélocollagène

Dérivé du collagène, l'atélocollagène va être uniquement présent dans les transplantations intra-canalaies. Il représente 6.7% des matrices utilisées. (31)

- Fibroïne de soie

La fibroïne de soie est peu représentée, c'est même la moins fréquemment utilisée de toutes les matrices. Cette non utilisation résulte du fait qu'elle a encore été très peu utilisée dans ce type d'étude, cependant elle a déjà été largement utilisée dans d'autres types de régénérations tissulaires tel que la peau, les os et le cartilage. Elle présente de très bonnes propriétés mécaniques. Elle se retrouve dans les études sous cutanées ou encore dans les études intra-canalaires. Elle représente seulement 3.3% des matrices utilisées. (31)

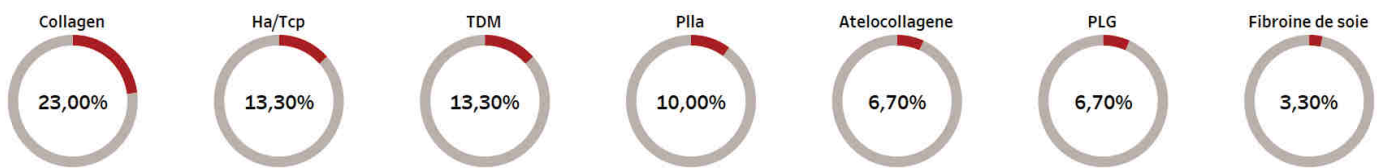


Figure 22 : Pourcentage des différentes matrices utilisées (31)

c. Facteurs de croissances

- Protéines des TDM

Les facteurs de croissance des protéines TDM sont les premiers utilisés en terme de fréquence, il s'agit simplement de dentine traitée et désinfectée. C'est la concentration de facteur de croissance le plus simple d'utilisation puisqu'il ne s'agit pas de molécules purifiées et qu'il est disponible en extrayant des troisièmes molaires définitives ou des dents nécessitant d'être extraites pour les traitements orthodontiques. Ce sont les mêmes dents qui sont extraites pour le prélèvement de certaines cellules souches comme les DPSC, les SCAP ou les DFSC. Les protéines des TDM représentent 18.9% des facteurs de croissances utilisés. (31)

- BMP

Les BMP sont des protéines qui sont largement utilisées dans le cadre de la régénération pulpaire, et ce, quel que soit la méthode de transplantation. Elle va être encapsulée dans une matrice de collagène, PLLA ou PLG, afin de lui permettre une libération progressive. Ce facteur de croissance va permettre le recrutement de cellules souches, et notamment des cellules souches nécessaires à la régénération pulpaire. Ce facteur de croissance est utilisé dans 16.2% des cas. (31)

- G-CSF

Le G-CSF est une glycoprotéine qui est également largement rencontré dans les études de régénération pulpaire. Le G-CSF est surtout représenté dans les études à méthode de transplantation intra-canaulaire, c'est même le principal facteur de croissance utilisé dans cette méthode. Tout comme les BMP, le G-CSF entraîne le recrutement des cellules souches qui permettent la régénération pulpaire. Cette glycoprotéine va représenter 16.2% des facteurs de croissance utilisés. (31)

- SDF

Le SDF est une protéine chimiokine qui est bien moins utilisée que les facteurs cités précédemment. Cette protéine va être principalement retrouvée dans des méthodes de transplantation intra-canaulaire, mais aussi dans une moindre mesure dans les modes de transplantation sous-cutanés. Tout comme les BMP et les G-CSF, le SDF est un facteur qui permet le recrutement des cellules souches nécessaires à la régénération pulpaire. Dans le cadre des études de régénération pulpaire il représente 8.1% des facteurs de croissance utilisés. (31)

- VEGF

Le VEGF est une protéine utilisée à la même fréquence que le SDF, cependant il n'est pas utilisé pour les mêmes raisons. En effet, le VEGF est une protéine promotrice de la vascularisation, permettant ainsi la néo-vascularisation, mais également l'agrandissement du réseau vasculaire déjà existant. Il va être principalement utilisé dans les méthodes de transplantation sous-cutanées. Le VEGF représente 8.1% des facteurs de croissance utilisés dans les études de régénération pulpaire. (31)

- FGF

Les FGF sont des protéines de croissance secrétées par les fibroblastes. Ils vont être principalement utilisés dans la régénération pulpaire sous-cutanée. Les FGF représentent 8.1% des facteurs de croissance utilisés. (31)

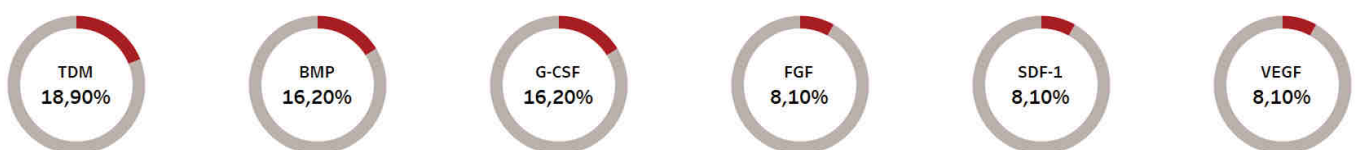


Figure 23 : Pourcentage des différents facteurs de croissance utilisés (31)

d. Modèles animaux

- Souris

La souris, comme tous les modèles *in vivo* utilisés pour la régénération pulpaire est un mammifère possédant une denture lactéale et une denture permanente. Elle est très représentée dans les études *in vivo*, cependant elle ne sera utilisée que dans les études ectopiques, les dents de souris étant trop petites pour intervenir directement en intra-canalaires. La souris représente 72.4% des animaux représentés dans les études *in vivo* pour la régénération pulpaire. (31)

- Chien

Le chien est très représenté dans les études *in vivo* intra-canalisaires, en effet leurs dents sont relativement proche de celle de l'Homme ce qui permet de faire des études aux résultats assez fiables pour permettre une transposition. Les chiens sont des animaux plus complexes à acquérir que les souris, c'est pourquoi ils sont moins représentés. Dans les études sur la régénération pulpaire, les chiens représentent 10.3% des animaux utilisés. (31)

- Rat

Le rat est tout aussi représenté que le chien, il peut être utilisé aussi bien pour des études ectopiques, que pour des études intra-canalisaires. Leurs dents sont plus grandes que celle de la souris, ce qui permet de travailler directement dessus. C'est un animal plus petit que le chien, ce qui permet utilisation plus facile, cependant leurs dents ont des caractéristiques morphologiques et physiques plus éloignées de l'Homme que les dents du chien, ce qui en fait un modèle moins précis. Les rats représentent tout de même 10.3% des animaux utilisés dans les études de régénération pulpaire. (31)

- Cochon

Le cochon, dans ce type d'étude va être utilisé sous sa forme miniature, beaucoup plus simple à manipuler et à élever (besoin de moins d'espace pour le même nombre d'individu par rapport aux cochons d'élevage). Tout comme les chiens, ils vont être représentés dans les méthodes de transplantation orthoptiques. Leurs dents sont très semblables à celles de l'Homme, ce qui permet une transposition à l'Homme assez facile et fiable. Le cochon nain représente 5.2% des animaux utilisés dans la régénération pulpaire. (31)

- Lapin

Le lapin n'est pas très utilisé dans les études de régénération pulpaire, en effet il a des dents morphologiquement très éloignées de celles de l'Homme, de plus sa taille est moins avantageuse que celle de la souris pour effectuer des études ectopiques. Il ne représente que 1.7% des animaux utilisés dans ce type d'étude. (31)

- Furet

Finalement, le furet est très peu utilisé dans ce type d'étude, et ce malgré la ressemblance de ses dents avec celles de l'Homme. Il sera principalement utilisé dans les méthodes intra-canalaires.

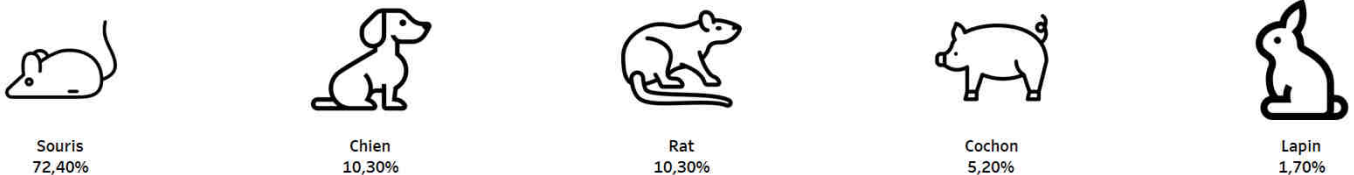


Figure 24 : Pourcentage des différents modèles animaux utilisés (31)

e. Méthodes d'implantation

- Sous cutanée

La méthode de transplantation sous cutanée est de loin la plus utilisée. Elle peut se faire via des coupes de dent ou des fragments de dent. Dans la plupart des cas ces études sont réalisées avec des dents et des cellules souches d'origine humaine. Ce sont des études relativement simples à mettre en œuvre, cependant elles ne sont pas très fiables, ni très précises, car la mise en sous cutané des fragments dentaires apporte une vascularisation et une innervation beaucoup plus importante que le milieu naturel où les vaisseaux doivent passer par le foramen apical, de plus le milieu sous cutané est très différent de l'os de la mâchoire, ce qui peut entraîner un important biais dans ce type d'étude pour leur transposition à l'Homme. La colonisation cellulaire se fait par des cellules animales, ce qui peut ajouter un biais supplémentaire. Cette méthode de transplantation représente 65% des études. (31)

- Intra canalaire

C'est la deuxième méthode la plus utilisée dans les études de régénération pulpaire *in vivo*. Elles sont très fiables et représentent bien le milieu naturel présent chez l'Homme. En effet, il s'agit de traiter des dents qui sont sur arcade, cette méthode est donc très proche du mode opératoire endodontique classique. Les cellules

souches utilisées pour ce type d'études peuvent être d'origine animale (cellule souches prélevées sur l'animal où va se faire la transplantation) ou humaine dans de plus rares cas. Cependant, l'utilisation de telles méthodes nécessite des modèles animaux plus volumineux, et plus proche en terme de dentition de l'Homme. Cette méthode représente 16.7% des méthodes utilisées. (31)

- Dans la capsule rénale

La méthode de transplantation dans la capsule rénale est relativement proche de la méthode de transplantation en sous cutanée, cependant il ne s'agira pas de ramener des fragments dentaires dans la capsule rénale mais d'apporter des cellules souches et ainsi de montrer la différenciation possible de différents types cellulaires en présence de dentine. Cette méthode, comme la transplantation sous cutanée est peu fiable, en raison des conditions de croissance des cellules souches totalement différentes du milieu naturel. La transplantation dans la capsule rénale, permet surtout de montrer la capacité de différenciation des cellules souches en recréant les différentes structures de l'organe dentaire à partir d'une même colonie de cellules. Cette méthode représente 13.3% des types de transplantation utilisés dans la régénération pulpaire *in vivo*. (31)

- Dans l'alvéole

C'est la méthode de transplantation la moins utilisée, elle consiste en l'apport d'une matrice cellularisée dans une alvéole dentaire fraîche suite à une avulsion. Cette méthode a pour avantage de se trouver sur le bon site de prolifération (l'os de la mâchoire), cependant elle est surtout utilisée, tout comme les études de transplantation de la capsule rénale, pour montrer les capacités de différenciation d'un type cellulaire. Elle ne reproduit pas les conditions de vascularisation et d'innervation de la dent dans son milieu naturel puisqu'il n'y a pas de foramen apical qui limite le passage des vaisseaux. De plus, ces études sont nécessairement faites sur des animaux de plus gros gabarit ce qui augmente le coût des études. Cette méthode de transplantation représente 5% des méthodes utilisées dans les études de régénération pulpaire *in vivo*. (31)



Figure 25 : Pourcentage des différentes méthodes de transplantation (31)

3. Méta-analyse

La méta-analyse de cette thèse portera sur la revue d'étude « The role of stem cell therapy in regeneration of dentine-pulp complex: a systematic review » qui regroupe 60 études de régénération pulpaire *in vivo*. (31) Ces données ont été étoffées en reprenant les différentes études de l'article et en affinant les différents critères intéressants pour cette thèse.

a. Modèle animal / méthodes de transplantation

	Transplantation			
	Transplantation sous cutanée	Transplantation intra-canaulaire	transplantation dans la capsule rénale	Transplantation dans l'alvéole
 Souris	64,29%		3,57%	
 Chien		14,29%		
 Rat		1,79%	8,93%	
 Cochon		1,79%		3,57%
 Lapin				1,79%

Figure 26 : Tableau de valeur représentant les modèles animaux utilisés en fonction du mode de transplantation (31)

Ce tableau représentant les modèles animaux utilisés en fonction du mode de transplantation, il illustre bien que la transplantation sous cutanée est dominée par l'utilisation de la souris, en effet c'est un animal petit, facile d'entretien, qui correspond bien à ce type de transplantation. Grâce à l'utilisation de souris immunodéficientes, il

est possible d'utiliser des cellules et fragments dentaires d'origine humaine tout en évitant les problèmes de rejets de greffe.

Dans la transplantation intra-canaulaire le chien domine, suivi par le rat et le cochon, ce type de méthode n'est donc utilisable qu'avec les modèles animaux les plus imposants, afin de pouvoir travailler directement sur les dents. De plus l'utilisation augmentée du chien et du cochon pour ce type d'étude est due à une similarité accrue entre la dent animale et la dent humaine.

La transplantation dans la capsule rénale concerne le rat et la souris, avec en majorité des études sur le rat, car pour ce type d'étude, il n'est pas nécessaire d'avoir de gros animaux.

Finalement, la transplantation dans l'alvéole dentaire est représentée majoritairement par le cochon, mais également dans une moindre mesure par le lapin.

b. Modèles animaux / cellules souches

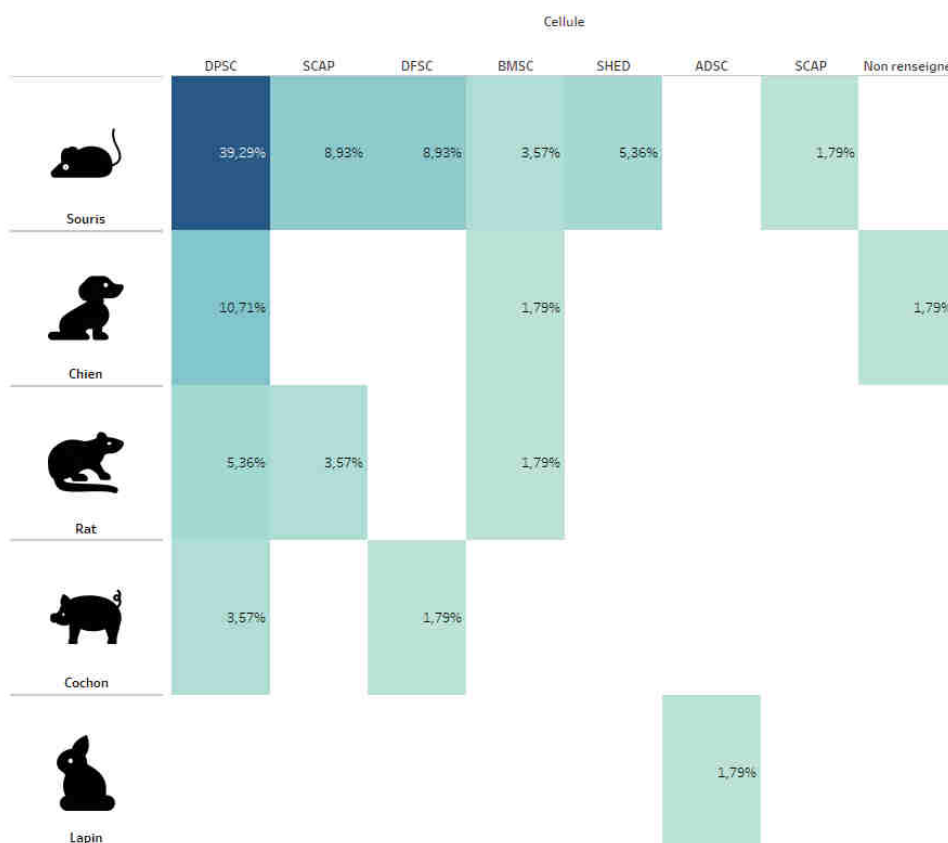


Figure 27 : Tableau de valeur représentant les cellules souches utilisées en fonction des modèles animaux (31)

Ce tableau permet de voir que les DPSC sont utilisées dans beaucoup d'études quel que soit le modèle animal. Ce sont les cellules de référence en ce qui concerne la régénération pulpaire. Elles sont présentes quel que soit l'âge de l'individu.

Les DPSC ne sont cependant pas représentées pour le lapin qui est le seul modèle animal à être utilisé avec les ADSC. Les études montrant les ADSC comme cellules permettant la régénération pulpaire sont assez récentes ce qui explique sa faible utilisation, mais il s'agit d'une source de cellules souches prometteuse car facile d'accès et présente quel que soit l'âge du sujet. Dans les différents tableaux, les résultats sur le lapin sont à interpréter avec précaution, car seules deux études utilisant le lapin sont répertoriées.

La souris sera représentée avec presque tous les types cellulaires sauf les ADSC, qui comme dit précédemment sont uniquement utilisées chez le lapin.

Le chien lui va être utilisé avec les DPSC et les BMSC.

Le rat sera représenté avec les DPSC, les BMSC mais également les SCAP.

Finalement, le cochon lui sera utilisé avec les DPSC en majorité puis secondairement avec les DFSC. Le cochon est un animal assez peu représenté dans les études sur la régénération pulpaire, c'est pourquoi il faut interpréter les résultats obtenus dans les différents tableaux avec précaution.

c. Modèles animaux / facteurs de croissance

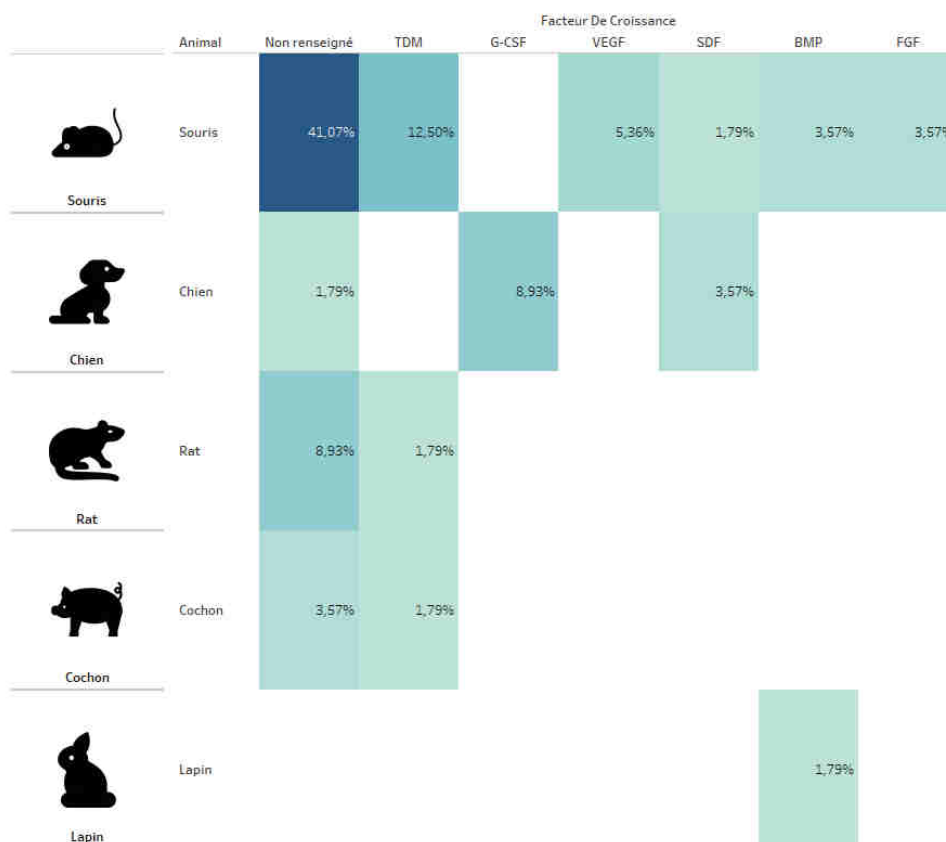


Figure 28 : Tableau de valeur représentant les facteurs de croissance utilisés en fonction des modèles animaux (31)

Ce tableau permet tout d'abord de montrer que les facteurs de croissances utilisés pendant les études sont assez peu souvent renseignés, en effet les valeurs non renseignées prédominent. Cependant, en passant outre les facteurs de croissances non renseignés, la TDM est utilisée avec presque tous les modèles animaux excepté le chien et le lapin. C'est le facteur de croissance majoritairement utilisé pour la souris et c'est le seul facteur de croissance utilisé pour le rat et le cochon. L'utilisation en grande quantité de TDM est dû au fait que lors de l'utilisation de TDM en tant que matrice, il sera également utilisé en tant que facteur de croissance. C'est un facteur de croissance plus facile et moins onéreux à obtenir que d'autres facteurs de croissance purifiés.

Le VEGF et le FGF sont uniquement utilisé chez la souris. Tandis que le G-CSF sera uniquement utilisé chez le chien.

d. Modèles animaux / matrices






	Matrice							
	Non renseigné	TDM	Collagène	HA/TCP	PLLA	Atelocollagène	PLG	Firboine de soie
 Souris	19,64%	12,50%	8,93%	12,50%	8,93%		3,57%	1,79%
 Chien	1,79%		3,57%			7,14%		1,79%
 Rat	3,57%	5,36%			1,79%			
 Cochon	1,79%	1,79%	1,79%					
 Lapin			1,79%					

Figure 29 : Tableau de valeur représentant les matrices utilisées en fonction des modèles animaux (31)

Tout comme le tableau sur les facteurs de croissance utilisés, beaucoup d'études n'ont pas renseigné les matrices qu'ils ont utilisé dans leur étude. Cependant, la TDM est la matrice la plus quantitativement utilisée, elle va être utilisée chez la souris

principalement, mais également chez le rat et le cochon. En revanche la matrice qui est utilisée chez le plus de modèles animaux est le collagène, il est associé à tous les animaux sauf le rat.

L'aétlocollagène lui est uniquement associé au chien, tandis que le PLG et le HA/TCP uniquement à la souris.

e. Méthode de transplantation / cellules souches



Figure 30 : Tableau de valeur représentant les cellules souches utilisées en fonction du mode de transplantation (31)

Ce tableau indique que quel que soit le mode de transplantation utilisé ce sont les DPSC qui sont les cellules souches les plus utilisées.

Dans la transplantation sous cutanée presque tous les types cellulaires sont représentés, sauf les ADSC qui ne sont représentées que dans les transplantations dans l'alvéole.

Les études avec des transplantations intra-canaulaires vont utiliser les DFSC et les BMSC en plus des DPSC dans leurs études.

Les études utilisant les transplantations dans la capsule rénale vont utiliser les DPSC bien sûr, mais également les SCAP et les BMSC.

f. Méthode de transplantation / facteurs de croissance



Figure 31: Tableau de valeur représentant les facteurs de croissance utilisés en fonction du mode de transplantation (31)

Tout comme dans les tableaux représentant les modèles animaux par rapport aux méthodes de transplantation, bon nombre d'études n'ont pas renseigné les facteurs de croissance utilisés. En passant outre, dans la transplantation sous cutanée presque tous les facteurs de croissance sont utilisés, avec une majorité d'utilisation pour la TDM.

Dans la transplantation intra-canaulaire c'est l'utilisation du G-CSF qui domine, ensuite il y a le SDF et finalement la TDM.

Dans le cadre de la méthode de transplantation dans la capsule rénale seule la TDM est utilisée.

Finalement, seul le BMP est utilisé dans la transplantation dans l'alvéole.

g. Méthode de transplantation / matrices

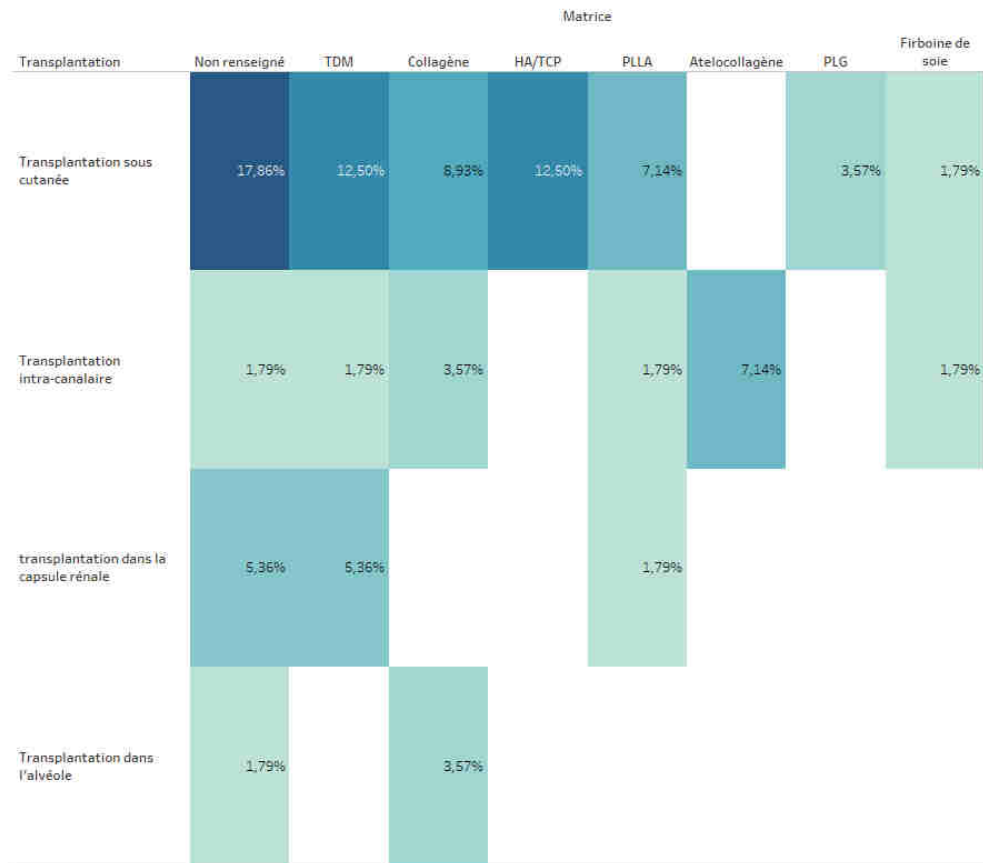


Figure 32 : Tableau de valeur représentant les matrices utilisées en fonction du mode de transplantation (31)

Tout comme le tableau sur les facteurs de croissance utilisés, beaucoup d'études n'ont pas renseigné les matrices qu'ils ont utilisé dans leur étude. Cependant, il est possible de voir que la TDM, le collagène et le HA/TCP sont les 3 principales matrices utilisées.

Dans les études où la méthode est la transplantation sous cutanée, les matrices les plus utilisées sont la TDM et le HA/TCP, la seule matrice qui n'est pas utilisée est l'aélocollagène, qui n'est utilisé que dans les méthodes de transplantation intra-canaulaire, où cette matrice est dominante, ce qui n'est pas une surprise puisqu'elle est la seule matrice utilisée pour le chien, or le chien est uniquement et majoritairement représenté dans les méthodes de transplantation intra-canaulaire.

La transplantation dans la capsule rénale utilise la TDM et le PLLA dans un second temps.

Le collagène est la seule matrice utilisée dans les méthodes de transplantation dans l'alvéole.

h. Cellules souches / facteur de croissance

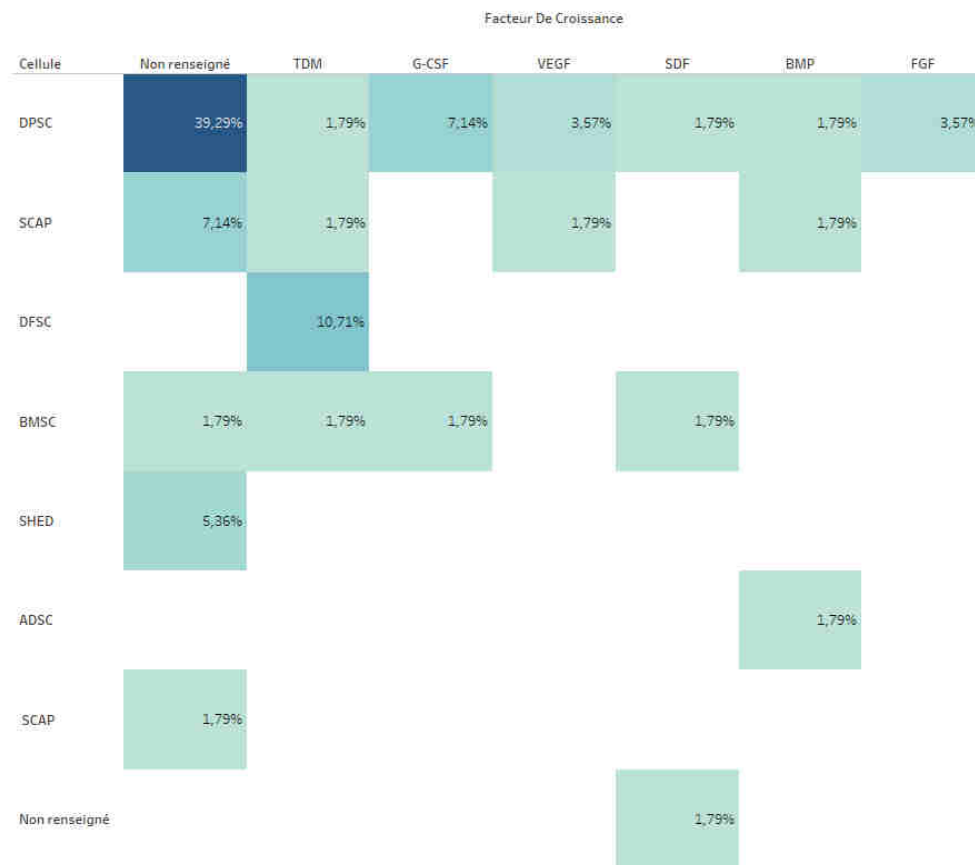


Figure 33 : Tableau de valeur représentant les facteurs de croissance utilisés en fonction cellules souches (31)

Tout comme dans les précédents tableaux, beaucoup d'études n'ont pas renseigné les matrices utilisées ce qui se traduit par une puissance des facteurs non renseignés. Cependant, en passant outre ces facteurs, c'est toujours la TDM qui est dominante tant sur le plan quantitatif, que sur le nombre de types cellulaires où elle est impliquée. Elle va être surtout utilisée avec les DFSC, c'est le seul facteur de croissance utilisé avec ce type de cellule.

Les DPSC vont être associées avec tous les types de facteurs de croissance, avec une prédominance pour le G-CSF.

Les ADSC quant à elles, seront utilisées uniquement avec les BMP, cependant les résultats sont à contraster car il n'y a encore que peu d'études représentant ces cellules.

i. Cellules souches / matrices

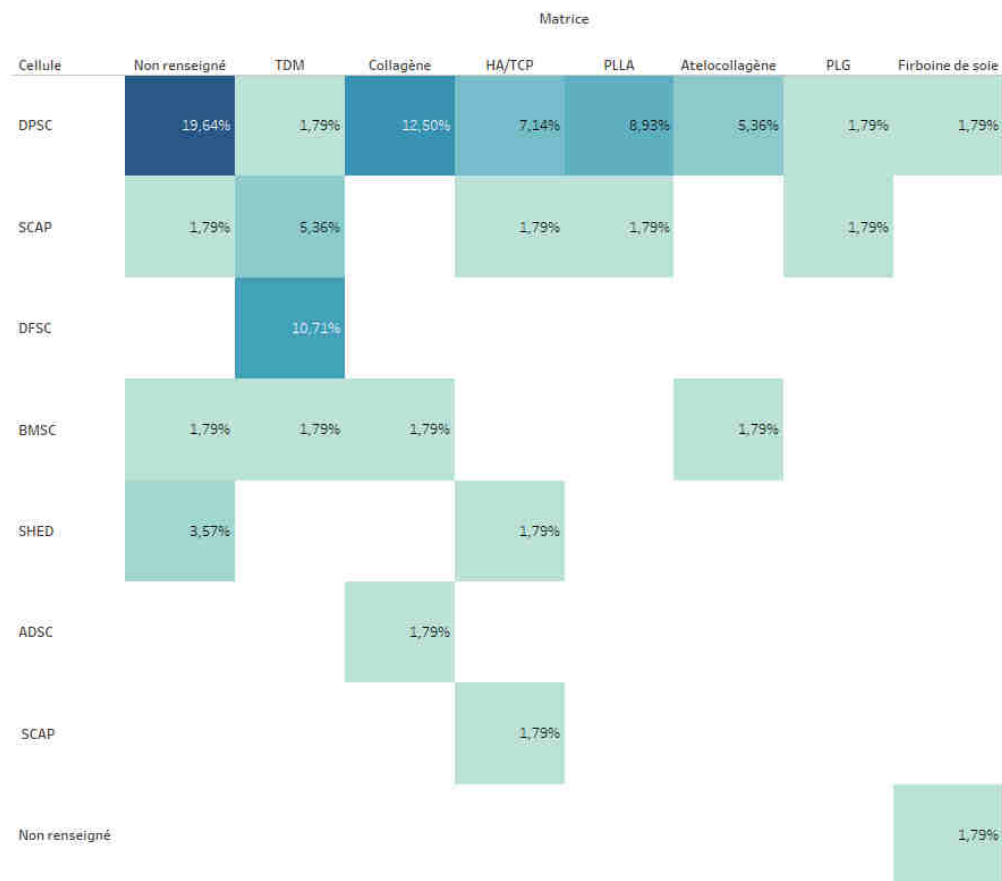


Figure 34 : Tableau de valeur représentant les matrices utilisées en fonction des cellules souches (31)

Tout comme les autres tableaux représentant les matrices, dans de nombreuses études les matrices ne sont pas renseignées, ce qui entraîne un assez grand pourcentage de matrices non renseignées. En passant outre la colonne non renseignée, la matrice la plus utilisée est la TDM, elle est utilisée avec quatre types cellulaires différents, les DPSC, les SCAP, les DFSC et les BMSC.

Les DPSC sont représentées avec tous les types de matrices, mais la matrice principalement utilisée va être le collagène, puis le PLLA puis le HA/TCP. C'est le seul type cellulaire qui est utilisé avec la fibroïne de soie. En effet, cette matrice est encore peu utilisée malgré ces propriétés très intéressantes, elle est encore récente dans les études sur la régénération pulpaire.

Les SHED sont utilisées uniquement avec du HA/TCP tandis que les ADSC uniquement avec du collagène.

4. Synthèse

Ce tableau récapitulatif montre chaque association possible en fonction des facteurs de croissance, des matrices, des modèles animaux, des cellules et des méthodes de transplantation utilisés.

Comme beaucoup de facteurs de croissances et de matrices n'ont pas été renseignés, certaines cases mettent en relation des facteurs non renseignés. Cependant, ce tableau permet de tirer les associations les plus fréquentes. Il est alors obtenu pour la transplantation sous cutanée l'utilisation de la souris avec les DPSC et le TDM en facteur de croissance et en matrice. Pour la transplantation intra-canalair l'association la plus utilisée sera le chien, avec les DPSC, l'atélocollagène et le G-CSF. Pour la transplantation dans la capsule rénale, l'association la plus utilisée sera l'utilisation du rat, avec les BMSC et le TDM en facteur de croissance et matrice. Finalement, pour la transplantation dans l'alvéole l'association la plus représentée sera le lapin avec les ADSC, dans une matrice de collagène et avec la BMP comme facteur de croissance.

Ce tableau montre bien l'importance de la souris et du mode de transplantation ectopique et notamment sous cutanée dans les études de régénération pulpaire.

CONCLUSION

Ce travail de bibliographie a été créé dans le but de déterminer les meilleurs modèles animaux disponibles pour les études de régénération pulpaire.

Dans un premier temps, les différentes cellules souches utilisées ont été présentées, ainsi que leur localisation dans le corps, leurs caractéristiques et leur potentiel de différenciation. Ainsi, il a pu être déterminé deux grands types de cellules souches : les cellules souches présentes tout au long de la vie de l'individu, ce sont les DPSC, les BMCS et les ADSC et les cellules souches uniquement présentes à un moment de la vie de l'individu, ce sont les DFSC, les SHED et les SCAP. Les SHED sont les seules cellules qui ne nécessitent pas de prélèvement invasif, puisque ces cellules sont prélevées dans la pulpe des dents déciduales exfoliées. Globalement, les cellules prélevées sur les organes en formation (DFSC et SCAP) sont plus performantes sur le plan de la différenciation, de la migration et de la prolifération. L'utilisation des ADSC dans les expériences de régénération pulpaire est relativement nouvelle. Elles sont très prometteuses, car leur prélèvement est facile chez les mammifères et surtout, elles se comportent de la même manière que les DPSC qui sont les cellules de références dans ces études.

Les matrices vont être un soutien pour la formation du tissu, elles doivent être bio-compatibles et biodégradables. Différentes matrices existent dans ce type d'étude, la « Treated Dentin Matrix » TDM est la plus utilisée. Aujourd'hui des matrices plus évoluées sont utilisées et notamment la fibroïne de soie qui a des propriétés mécaniques particulièrement intéressantes. Les matrices sont également utilisées en fonction de leur capacité à stocker et libérer progressivement des substances actives ou facteurs de croissance.

Les facteurs de croissance vont être utilisés pour améliorer la régénération du tissu néoformé. Ils peuvent avoir différentes caractéristiques et agir sur la prolifération, la différenciation, l'apoptose, mais également sur la vascularisation. Ce dernier effet est moins recherché car la croissance en milieu hypoxique due au foramen apical entraîne déjà un effet angiogénique.

Dans un second temps, ont été étudiés les modèles animaux utilisés dans les études de régénération pulpaire, mais également l'implication des différentes instances pour réguler l'utilisation des animaux dans les études mais aussi pour favoriser leur bien-être et la minimisation de leurs souffrances. Les animaux utilisés

dans ce type d'étude sont la souris, le rat, le chien, le cochon, le furet et le lapin. Chaque animal possède ces propres spécificités dentaires. Les animaux dont la denture se rapprochent le plus de l'homme sont le chien et le cochon. Cependant ce sont également les animaux les plus complexes à obtenir auprès des conseils d'éthique.

Dans la troisième partie, ont été décrits les différentes méthodes de transplantation dans les études de régénération pulpaire, mais également la corrélation entre les différents modèles, cellules, matrices, facteurs de croissance et méthodes utilisés. L'implantation sous cutanée ou dans la capsule rénale utilise principalement de petits animaux tels que la souris ou le rat. Elle a pour avantage la détermination du potentiel de différenciation des différentes cellules, mais également de valider la fonctionnalité de la stratégie régénérative avec des matrices, des cellules, ou des facteurs de croissance innovants. Ces méthodes sont le plus souvent utilisées avec une matrice de TDM et ses facteurs de croissance. Ce sont des études de première intention.

La méthode de transplantation intra-canalair est ce qui se rapproche le plus de l'application clinique recherchée chez l'Homme. Elle permet le développement du tissu pulpaire néo formé dans des conditions similaires à l'être humain. La majorité des études utilisant cette méthode utilisent une matrice hydrogel fonctionnalisée avec du G-CSF. Cette matrice se présente sous forme de gel ce qui facilite son insertion dans le canal dentaire. Ce sont des études de deuxième intention dont les résultats peuvent permettre d'aboutir sur des études de phases cliniques.

Cette analyse de données permet de montrer que le modèle animal le plus utilisé et le meilleur modèle animal pour les études de première intention est la souris. La souris a pour avantage d'être petite, avec une reproduction rapide et des modèles immunodéficients existants déjà sur le marché. Elle va être uniquement utilisée dans les études sous cutanée ou de transplantation dans la capsule rénale. Ces modes de transplantation ne reproduisent pas les conditions de développement naturel du tissu pulpaire dans l'espace endodontique et aboutissent à l'obtention d'une population cellulaire le plus souvent mixte. Ce qui constitue un niveau de validation *in vivo* insuffisant pour passer aux études de phases cliniques.

Le meilleur modèle animal pour les études de deuxième intention est le chien. Il permet de reproduire des conditions de développement du tissu pulpaire similaire à l'Homme, car il possède des dents aux caractéristiques proches de l'être humain. C'est un meilleur modèle que le cochon car il est plus compliant pour les soins. Cependant ce sont des animaux plus durs à obtenir auprès des conseils d'éthique et plus dur à entretenir. Un biais dans la transposition à l'être humain peut être mis en avant car les cellules souches animales utilisées dans ces études n'ont pas exactement les mêmes caractéristiques que les cellules souches humaines. Cependant c'est le meilleur modèle pour faire une transposition de résultats à l'homme.

Les résultats de ce travail permettront à terme d'envisager une transposition de résultats des études *in vivo* à l'Homme plus aisée en comprenant l'implication et la fonctionnalité de chaque matériel utilisé. En effet, il est capital de pouvoir choisir le « design » expérimental et le modèle animal le plus adapté à la stratégie régénérative évaluée. Aujourd'hui déjà, des études *in vivo* précliniques de première et de deuxième intention bien ciblées ont permis à des équipes japonaises d'élaborer un protocole clinique expérimental sur l'être humain. Les résultats cliniques ont été très bons avec 100% des dents revitalisées répondant aux tests de vitalité après leur stratégie régénérative. (55) Nul doute que ces premiers résultats cliniques obtenus dans la continuité d'une expérimentation *in vivo* de qualité seront suivis par de nombreux autres travaux pour la révolution des pratiques endodontiques de demain.

SIGNATURE DES CONCLUSIONS

Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

Nom - prénom de l'impétrant : STEYER Alicia

Titre de la thèse : Modèles animaux pour la régénération pulpaire in vivo

Directeur de thèse : Docteur Florence FIORETTI

VU

Strasbourg, le : 22 JAN 2021

Le Président du jury,



Professeur O. HUCK

VU

Strasbourg, le : 03 FEV. 2021

Le Doyen de la Faculté
de Chirurgie Dentaire de Strasbourg,



Professeur C. TADDEI-GROSS

BIBLIOGRAPHIE

1. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources. *Journal of Prosthodontic Research*. 2012. (56(3), 151–165)
2. Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: Biology and potential clinical uses. *Experimental Hematology*. 2000. (28(8), 875–884)
3. S Shi, P M Bartold, M Miura, B M Seo, P G Robey, S Gronthos. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthodontics & Craniofacial Research - Wiley Online Library*. 2005. (8(3), 191-199)
4. Horwitz EM, Andreef M, Frassoni F. Mesenchymal Stromal Cells. *Current Opinion in Hematology*. 2006. (13(6), 419-425)
5. Tatullo M, Marrelli M, Shakesheff KM, White LJ. Dental pulp stem cells: function, isolation and applications in regenerative medicine. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2015. (9(11), 1205-1216)
6. Ashri NY, Ajlan SA, Aldahmash AM. Dental pulp stem cells. *Saudi Med J*. 2015. (36(12), 1391-1399)
7. Shi S, Bartold PM, Miura M, Seo BM, Robey PG, Gronthos S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod Craniofac Res*. 2005. (8(3), 191-199)
8. Hassan HT, El-Sheemy M. Adult bone-marrow stem cells and their potential in medicine. *J R Soc Med*. 2004. (97(10), 465-471)
9. Honda MJ, Imaizumi M, Tsuchiya S, Morsczech C. Dental follicle stem cells and tissue engineering. *Journal of Oral Science*. 2010. (52(4), 541-552)
10. Kang J, Fan W, Deng Q, He H, Huang F. Stem Cells from the Apical Papilla: A Promising Source for Stem Cell-Based Therapy. Vol. 2019, *BioMed Research International*. Hindawi; 2019

11. Bakhtiar H, Mazidi S A, Mohammadi Asl S, Ellini MR, Moshiri A, Nekoofar MH, et al. The role of stem cell therapy in regeneration of dentine-pulp complex: a systematic review. *Prog Biomater.* 2018. (7, 249-268)
12. Masako Miura, Stan Gronthos, Mingrui Zhao, Bai Lu, Larry W. Fisher, Pamela Gehron Robey, and Songtao Shi SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003. (100(10), 5807–5812)
13. Jeffrey M. Gimble, Adam J. Katz, and Bruce A. Bunnell Adipose-Derived Stem Cells for Regenerative Medicine. *Circulation research* vol. 100,9. 2007. (100(9), 1249-1260)
14. Zein N, Harmouch E, Lutz J-C, Fernandez De Grado G, Kuchler-Bopp S, Clauss F, et al. Polymer-Based Instructive Scaffolds for Endodontic Regeneration. *Materials (Basel).* 2019. (12(15), 2347)
15. Keller L, Offner D, Schwinté P, Morand D, Wagner Q, Gros C, et al. Active Nanomaterials to Meet the Challenge of Dental Pulp Regeneration. *Materials (Basel).* 2015. (8(11), 7461-7471)
16. Aguilar A, Zein N, Harmouch E, Hafdi B , Bornert F, Offner D, et al. Application of Chitosan in Bone and Dental Engineering. *Molecules.* 2019. (24(16), 3009)
17. Eap S, Bécavin T, Keller L, Kökten T, Fioretti F, Weickert J-L, et al. Nanofibers implant functionalized by neural growth factor as a strategy to innervate a bioengineered tooth. *Adv Healthc Mater.* 2014. (3(3), 386-391)
18. Fioretti F, Mendoza-Palomares C, Avoaka-Boni MC, Ramarosan J, Bahi S, Richert L, et al. Nano-odontology: nanostructured assemblies for endodontic regeneration. *J Biomed Nanotechnol.* 2011. (7(3), 471-475)
19. Fioretti F, Mendoza-Palomares C, Helms M, Al Alam D, Richert L, Arntz Y, et al. Nanostructured assemblies for dental application. *ACS Nano.* 2010. (4(6), 3277-3287)

20. Santoro M, Shah SR, Walker JL, Mikos AG. POLY(LACTIC ACID) NANOFIBROUS SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016. (107, 206-212)
21. Wang J, Ma H, Jin X, Hu J, Liu X, Ni L, et al. The effect of scaffold architecture on odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells. *Biomaterials.* 2011. (32(31), 7822-7830)
22. Veerabhadrapa* SUDW and GH. Silk Fibroin Based Drug Delivery Applications: Promises and Challenges [Internet]. Vol. 19, *Current Drug Targets.* 2018. (19(10), 1177–1190)
23. Woloszyk A, Holsten Dircksen S, Bostanci N, Müller R, Hofmann S, Mitsiadis TA. Influence of the Mechanical Environment on the Engineering of Mineralised Tissues Using Human Dental Pulp Stem Cells and Silk Fibroin Scaffolds. *PLoS One.* 2014. (9(10))
24. Zhu Q, Sun H, Yang D, Tighe S, Liu Y, Zhu Y, et al. Cellular Substrates for Cell-Based Tissue Engineering of Human Corneal Endothelial Cells. *Int J Med Sci.* 2019. (16(8), 1072-1077)
25. Chen Y, Yu Y, Chen L, Ye L, Cui J, Sun Q, et al. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells: A New Therapeutic Option for Tooth Regeneration. *Stem Cells Int.* 2015 (2015)
26. Wang H. Hydroxyapatite degradation and biocompatibility. Ph.D. Thesis. 2004
27. Garcia SD. Les Hydroxyapatites, un système basique atypique modulable par la synthèse: vers l'identification des sites actifs. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2012 (281)
28. Kumar Y P. Role of CGF (Concentrated Growth Factor) in periodontal regeneration. *JDHODT.* 2018. (9(5))
29. Xu F, Qiao L, Zhao Y, Chen W, Hong S, Pan J, et al. The potential application of concentrated growth factor in pulp regeneration: an in vitro and in vivo study. *Stem Cell Res Ther.* 2019. (10(1), 134)

30. Nakashima M, Iohara K, Murakami M, Nakamura H, Sato Y, Arijji Y, et al. Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Res Ther.* 2017. (8(1), 61)
31. Bakhtiar H, Mazidi S A, Mohammadi Asl S, Ellini MR, Moshiri A, Nekoofar MH, et al. The role of stem cell therapy in regeneration of dentine-pulp complex: a systematic review. *Prog Biomater.* 2018. (7, 249-268)
32. Rong Kuang, Zhanpeng Zhang, Xiaobing Jin, Jiang Hu, Songtao Shi, Longxing Ni, Peter X Ma. Nanofibrous Spongy Microspheres for the Delivery of Hypoxia-primed Human Dental Pulp Stem Cells to Regenerate Vascularized Dental Pulp. *Acta Biomater.* 2016. (33, 225-234)
33. Katagiri T, Watabe T. Bone Morphogenetic Proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016. (8(6))
34. Wang W, Dang M, Zhang Z, Hu J, Eyster TW, Ni L, et al. Dentin regeneration by stem cells of apical papilla on injectable nanofibrous microspheres and stimulated by controlled BMP-2 release. *Acta Biomater.* 2016. (36, 63-72)
35. Zhang M, Jiang F, Zhang X, Wang S, Jin Y, Zhang W, et al. The Effects of Platelet-Derived Growth Factor-BB on Human Dental Pulp Stem Cells Mediated Dentin-Pulp Complex Regeneration. *Stem Cells Transl Med.* 2017. (6(12), 2126-2134)
36. Huang GT, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS, et al. Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Eng Part A.* 2010. (16(2), 605-615)
37. Animaux utilisés à des fins scientifiques. La Fondation Droit Animal, Ethique et Sciences. [cité 11 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.fondation-droit-animal.org/informations-juridiques/animaux-utilises-a-des-fins-scientifiques/>
38. Kim S, Lee S, Jung H-S, Kim S-Y, Kim E. Development of a mouse model for pulp-dentin complex regeneration research: a preliminary study. *Restor Dent Endod.* 2019. (44(2))

39. Rat Behavior and Biology : Les dents du rat - Association Agorat du Rat Domestique [Internet]. Disponible sur:
http://www.agorat.org/articles/Rat_Behavior_and_Biology_:_Les_dents_du_rat
40. Huang Y, Tang X, Cehreli ZC, Dai X, Xu J, Zhu H. Autologous transplantation of deciduous tooth pulp into necrotic young permanent teeth for pulp regeneration in a dog model. *Journal of International Medical Research*. 2019. (47(10), 5094-5105)
41. Huang Y, Tang X, Cehreli ZC, Dai X, Xu J, Zhu H. Autologous transplantation of deciduous tooth pulp into necrotic young permanent teeth for pulp regeneration in a dog model. *J Int Med Res*. 2019 (47(10), 2094-5105)
42. Martes_foina_MHNT_ZOO_2010.9.2._Crane.jpg (4882×2904) Disponible sur:
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/bb/Martes_foina_MHNT_ZOO_2010.9.2._Crane.jpg
43. Nakashima M, Iohara K, Bottino MC, Fouad AF, Nör JE, Huang GT-J. Animal Models for Stem Cell-Based Pulp Regeneration: Foundation for Human Clinical Applications. *Tissue Eng Part B Rev*. 2019. (25(2), 100-113)
44. SCD_T_2002_0325_GERARD.pdf [Internet]. [cité 14 sept 2020]. Disponible sur: http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCD_T_2002_0325_GERARD.pdf
45. Yoyo. L'Homme est-il omnivore ? [Internet]. 2016 [cité 14 sept 2020]. Disponible sur: https://hitek.fr/actualite/homme-est-il-omnivore_7437
46. Anatomie compar [Internet]. [cité 28 sept 2020]. Disponible sur:
http://www.jeanduperrex.ch/Site/Anatomie_compar.html
47. El-Backly RM, Massoud AG, El-Badry AM, Sherif RA, Marei MK. Regeneration of dentine/pulp-like tissue using a dental pulp stem cell/poly(lactic-co-glycolic) acid scaffold construct in New Zealand white rabbits. *Australian Endodontic Journal*. 2008. (34(2), 52-67)
48. La réglementation et l'éthique de l'expérimentation animale. Inserm - La science pour la santé. [cité 28 sept 2020]. Disponible sur:

<https://www.inserm.fr/recherche-inserm/ethique/utilisation-animaux-fins-recherche/reglementation-et-ethique-experimentation-animale>

49. Comité d’Ethique [cité 28 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.ram.cnrs.fr/index.php/comite-d-ethique>
50. Les comités d’éthique et l’autorisation de projet. Recherche animale. [cité 28 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.recherche-animale.org/decouvrir-la-recherche-animale/lethique-de-la-recherche/les-comites-dethique>
51. La règle des 3 R : réduire, raffiner, remplacer. Inserm - La science pour la santé. [cité 5 oct 2020]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/professionnels-recherche/recherche-pre-clinique/experimentation-animale/regle-3-r-reduire-raffiner-remplacer>
52. Yang J, Yuan G, Chen Z. Pulp Regeneration: Current Approaches and Future Challenges. *Front Physiol.* 2016. (7, 58)
53. Nakashima M, Iohara K, Murakami M, Nakamura H, Sato Y, Arijji Y, et al. Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Res Ther.* 2017 (8(1), 61)
54. Zhu X, Liu J, Yu Z, Chen C-A, Aksel H, Azim AA, et al. A Miniature Swine Model for Stem Cell-Based De Novo Regeneration of Dental Pulp and Dentin-Like Tissue. *Tissue Eng Part C Methods.* 2018. (24(2), 108-120)
55. Nakashima M, Iohara K, Bottino MC, Fouad AF, Nör JE, Huang GT-J. Animal Models for Stem Cell-Based Pulp Regeneration: Foundation for Human Clinical Applications. *Tissue Eng Part B Rev.* 2019. (25(2), 100-113)
56. Hung C-N, Mar K, Chang H-C, Chiang Y-L, Hu H-Y, Lai C-C, et al. A comparison between adipose tissue and dental pulp as sources of MSCs for tooth regeneration. *Biomaterials.* 2011. (32(29), 6995-7005)

Résumé : Malgré les différentes politiques de prévention bucco-dentaire, la prévalence des pathologies pulpaires reste importante. La thérapie utilisée dans le cadre des pathologies pulpaires irréversibles des dents matures demeure le traitement endodontique. Néanmoins, différentes stratégies de régénération pulpaire ont été développées depuis plusieurs années. A partir de différentes cellules souches et de matrices spécifiques, il est possible d'obtenir un tissu aux caractéristiques similaires à celles de la pulpe dentaire. Le but de cette thèse bibliographique est d'analyser différentes études *in vivo* de régénération pulpaire à partir d'une matrice cellularisée afin de comprendre quels modèles *in vivo* sont les plus pertinents. Dans la première partie, sont définis les caractéristiques et les biomatériaux utilisés pour soutenir les différentes stratégies régénératives. Dans la deuxième partie, sont présentés les différents modèles animaux de régénération endodontique et le cadre légal de leur utilisation. Dans la troisième partie, est proposée une méta-analyse d'études sur la régénération pulpaire qui permet de situer l'intérêt des différents modèles *in vivo* en fonction de la stratégie régénérative choisie. Ce travail permet de situer les vrais niveaux d'avancées et d'intérêts de ces modèles animaux pour la validation *in vivo* de stratégies régénératives endodontiques, qui devraient révolutionner les pratiques endodontiques de demain.

Rubrique de classement : ENDODONTIE

Mots clés : Régénération endodontique, Etudes *in vivo*, Modèles animaux, Cellules souches, Matrices, Facteurs de croissance

Me SH : Pulp regeneration, in vivo studies, animal models, stem cells, matrix, growth factor

Jury :

Président : Professeur Olivier HUCK

Assesseurs : Docteur Florence FIORETTI

Docteur Fabien BORNERT

Docteur Sonia DESCHAMPS-LEHNARDT

Membre invité : Docteur Jacky HUA

Coordonnées de l'auteur :

STEYER Alicia

2 rue de l'Eglise

67600 HILSENHEIM

Alicia.steyer@outlook.fr